التفاعلات الأيضية فى الخلية البكتيرية

تأليف

دكتور / محمد نجيب أبو سعدة

مراجعة

أ. د. / راوية فتحي جمال

أ. د. محمد علي البرلسي

المكتبة الأكاديمية

التفاعلات الأيضية

فى

الخلية البكتيرية

تاليف

دكتور / محمد نجيب إبراهيم أبو سعدة

دكتوراه الميكروبيولوجى جامعة هوهنهايم - شتوتجارت - المانيا

أستاذ الميكروبيولوجيا المساعد كلية الزراعة - جامعة عين شمس

مراجعة

أ.د/ راوية فتحى جمال

قسم الميكروبيولوجيا

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

أ.د/ محمد على البرلسى

قسم الميكروبيولوجيا

كلية الزراعة - جامعة عين شمس

الناشر

المكتبة الأكاديمية

١٩٩٨

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

بسم الله الرحمن الرحيم

إهداء

* إلى وجه الله تعالى
* إلى كل من علمنى حرفًا
* إلى روح والدَّى عليهما رحمة الله
* إلـــــى زوجتى ورفيقه عمرى
* إلـــــــــــــــى أولادى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

بعض الاختصارات الشائعة مرتبة أبجديا

Commonly abbreviations in alphabetical order

Co A	Coenzyme A
cyt.	Cytochrome
DH	dehydrogenase
DNA	deoxyribonucleic acid
FAD	Flavine adenine dinucleotide
FBP	Fructose -1,6- biphosphate
Fd	Ferredoxin
F-6P	Fructose -6- phosphate
G-6P	Glucose -6- phosphate
GSH	Glutathione (reduced form)
KDPG	2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconic acid
NAD(P)+	Nicotinamide adenine dinucleotide (Phosphate)
NAD(P)H.H+	reduced form of NAD(P)
PALP	
PEP	phosphoenolpyruvate
Pi	Orthophosphate
PPi	Pyrophosphate
PQQ	Pyrroloquinoline quinone
RNA	Ribonucleic acid
TCA	Tricarboxylic acid cycle
THFA	
TPP	Thiamine diphosphate
UQ	Ubiquinone

<u>Pathways</u>

ED	Entner-Doudoroff pathway
EMP	Embden-Meyerhof-Paranas pathway
HMP	Hexose monophosphate pathway
PK	Phosphoketolase

أسماء بعض الميكروبات المعدلة حديثاً

List of some recent bacterial names

FORMER NAMES	New designation (Bergey,s Manual, 1984 and 1994)
Acetobacter peroxydans	*Acetobacter pasteurianus*
Acetobacter xylinum	*Acetobacter aceti var. xylinum*
Acetomonas suboxidans	*Gluconobacter oxidans*
Aerobacter aerogenes	*Enterobacter aerogenes*
Bacterioides rumin	*Fusobacterium ruminicoli*
Butyribacterium sp.	*Eubacterium sp.*
Diplococcus glycinophilus	*Peptococcus anaerobius*
Ferrobacillus ferrooxidans	*Thiobacillus ferrooxidans*
Hydrogenomonas eutropha	*Alcaligenes eutrophus*
Micrococcus denitrificans	*Paracoccus denitrificans*
Moraxella calcoaceticus	*Acinotobacter calcoaceticus*
Nitrosocystis oceanus	*Nitrosococcus oceanus*
Propionibacterium pentosaceum	*Propionibacterium acidi-propionici*
Pseudomonas acidovoraus	*Comamonas aeruginose*
Pseudomonas testosteroni	*Comamonas testosteroni*
Sarcina lutea	*Sporosarcina leutus*
Streptococcus cremoris	*Lactobacillus lactis subsp.cermoris*
Streptococcus faecalis	*Enterococcus faecalis*
Streptococcus lactis	*Lactobacillus lactis subsp. lactis.*
Vibrio succinogenes	*Wolinella succinogenes*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مقدمة

الحمد لله والصلاة والسلام على رسوله الكريم وبعد .... عملا بقول رسول الله ﷺ « إذا مات ابن آدم انقطع عمله إلا من ثلاث صدقة جارية أو علم ينتفع به أو ولد صالح يدعو له » لذا اقدمت على إصدار هذا المؤلف رغم ما فى الطريق من أشواك أكثر من الورود ومن نقد أكثر من الشكر ومن الألم أكثر من السعادة ولكن فى النهاية فإن الكمال لله وحدة .... فالله أرجو أن يكون هذا خالصا لوجهه الكريم .... ولمصرنا الحبيبة راجيا رد جزءا من جميلها علينا .. وإلى أساتذتى الاجلاء أرجو أن يحوز قبولهم ... ولتلاميذى وأولادى أرجو أن يكون ذكرى ينتفع بها ... ولنفسى فى النهاية لعله يكون علما نافعا وشفيعا يوم الدين .

من المعروف أن علم الكائنات الدقيقة (الميكروبيولوجيا) من العلوم الديناميكية التى يأتى كل يوم بجديد فيه مما يجعل من الصعب ملاحقة التطورات المستمرة التى تحدث على فترات متقاربة فيه سواء من الناحية التقسيمية للميكروبات أو الفسيولوجية بما تتضمنه من عمليات التخليق الحيوى وتقنيات الحصول على الطاقة اللازمة للنمو وأهم من ذلك النواحى التطبيقية لهذا العلم والتى تتسع فى كثير من المجالات الصناعية والطبية والزراعية .

ومن هنا حاولت التوصل إلى نقطة توازن فى كتاب يضم بين دفتيه قدرًا كبيرًا من الأسس العلمية والتقنيات الحديثة التى تبحث فى أحد الأفرع الرئيسية لهذا الحقل وهو مجال التفاعلات الايضية فى الخلية البكترية بدءًا من قوانين الديناميكا الحرارية التى تحكم علاقات الطاقة فى الأنظمة المختلفة ومرورًا بالانزيمات الميكروبية ومرافقاتها ثم الدخول فى التحولات الأيضية فى مختلف المجاميع الميكروبية بداية من الميكروبات التى تستطيع تمثيل الضوء (الفوتوتروفيه) ثم الميكروبات التى تستخدم بدائل الاكسجين كمستقبل نهائى للالكترونيات (التنفس اللاهوائى) ثم الميكروبات التى تقوم بعملية التنفس الهوائى من كيموأوتوتروفية وهتيروتروفيه ثم ميكروبات التخمير ومتضمنا تحولات الكربوهيدرات والدورات المختلفة للتمثيل الايضى لها وتحولات الهيدروكربونات والبروتينيات والأحماض العضوية والأمينية وذلك فى منظومة متناسقة ومنظمة لحد بعيد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وأخيرًا فإننى أهدى هذه الثـمرة العلمية إلى المكتبة العربية التى تـخلو تقريبًا من مؤلف بلغة الضاد سواء قديم أو حـديث فى هذا الفرع من العلم (فسيولوجيا الـبكتريا) راجيا من الله حسن القبول والثواب . ولـقد حرصت على كتابه المصطلحات العلـمية واسماء المركبات الكيمياوية باللغتين العربية والإنجليزية لتحقيق الفائدة لطلاب الكليات العلمية المختلفة .

كما أود أن أشكـر كل من قدم لى العون والنـصح والمساعدة من أساتـذتى الاجلاء فى مراجعة المادة العلمية وظهور هذا المؤلف فى صورتـه النهائية وأخص بالذكر الأستاذة الفاضلة أ. د. راوية فتحـى جمال والأخ العزيز أ. د. محـمد على البرلسى بـقسم الميكروبيـولوچيا بكلية الزراعة جامعة عـين شمس على ما بذلوه من جهد كبير فى المراجعة وسـيظل جميلهما يطوق عنقى .

المؤلف

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فهرس محتويات الكتاب

Subjects Index

الموضــــوع	الصفحة
١ . الباب الأول : الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية	٣١
١ . ١ قوانين الديناميكا الحرارية	٣٣
١ . ٢ الطاقة الحرة	٣٦
١ . ٣ الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية	٣٧
١ . ٤ تفاعلات الأكسدة والاختزال	٤٠
١ . ٥ حفظ الطاقة وانطلاقها	٤٢
١ . ٦ الفسفرة المؤكسدة (بانتقال الالكترون)	٤٤
١ . ٧ الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل	٤٩
أسئلة للمراجعة	٥٣
المراجع	٥٤
٢ . الباب الثانى : الانزيمات - المرافقات الانزيمية - القوى المحركة للنمو البكتيرى	٥٥
٢ . ١ تعريف وخواص الانزيمات	٥٧
٢ . ٢ سرعة التفاعلات الانزيمية	٥٩
٢ . ٣ تقسيم الانزيمات	٦٢
٢ . ٤ المرافقات الانزيمية	٦٤
٢ . ٤ . ١ المرافقات الانزيمية الناقلة للايدروجين (نيوكليدات النيكوتين أميد - نيوكليدات الفلافين - الكينونات - حمض الليبوئيك - الجلوتاثيون - حامض الاسكوربيك)	٦٦

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

	الموضـــوع	الصفحة
٢ . ٤ . ٢	المرافقات الانزيمية الناقله للالكترونات	٧٢
	I - السيتوكروم	
	II - الفيرودوكسين	
	III - الفلافودوكسين	
٢ . ٤ . ٣	المرافقات الانزيمية الناقلة للمجاميع	٧٧
	I - الناقلة للفوسفات	
	II - الناقلة لمجموعة ذات ذرة كربون واحدة (ميثونين، THFA)	
	III - الناقلة لمجموعة ذات ذرتين كربون (TPP، CoA)	
	IV - الناقلة لمجاميع أخرى (PALP، B_{12})	
٢ . ٥	القوى المطورة للنمو البكتيرى	٨٦
٢ . ٥ . ١	المزارع ذات الدفعة الواحدة	٨٦
٢ . ٥ . ١	المزارع المستمرة	٩٢
	أسئلة للمراجعة	٩٧
	المراجع	٩٨
٣ - الباب الثالث	**البكتريا الممثلة للضوء والتحولات الايضية فى وجود الضوء**	**٩٩**
٣ . ١	نبذة تاريخية عن التحولات الفوتوتروفية	١٠١
٣ . ٢	تقسيم البكتريا الممثلة للضوء	١٠٢
٣ . ٢ . ١	بكتريا الكبريت الخضراء	١٠٢
٣ . ٢ . ٢	بكتريا الكبريت الارجوانية	١٠٤
٣ . ٢ . ٣	البكتريا الارجوانية الغير كبريتية	١٠٥
٣ . ٣	الصبغات البكتيرية	١٠٧
٣ . ٣ . ١	الكلوروفيل البكتيرى	١٠٧

الموضوع		الصفحة
٣ . ٢ . ٢	الكاروتينات	١٠٨
٣ . ٢ . ٣	أماكن وجود الصبغات	١٠٩
٣ . ٣ . ٤	تنظيم وتخليق الصبغات وحواملها	١٠٩
٣ . ٤	أسس عملية الفسفرة الضوئية	١١٠
٣ . ٤ . ١	الفسفرة الضوئية الحلقية	١١٠
٣ . ٤ . ٢	الفسفرة الضوئية الغير حلقية	١١١
٣ . ٥	عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية	١١٣
٣ . ٦	عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف لاهوائية	١١٧
٣ . ٦ . ١	فى بكتريا الكبريت الخضراء Chlorobacteriaceae	١١٧
٣ . ٦ . ٢	فى بكتريا الكبريت الارجوانية Thiorhodaceae	١١٨
٣ . ٦ . ٣	فى البكتريا الارجوانية الغير كبريتية Athiorhodaceae	١٢٠
٣ . ٧	التحولات الايضية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء Photometabolisms	١٢١
٣ . ٧ . ١	تحولات الايدروجين والكبريت غير العضوى	١٢٢
٣ . ٧ . ٢	تحولات الاسيتات	١٢٤
٣ . ٧ . ٣	تحولات البيروفات	١٢٦
٣ . ٧ . ٤	تحولات الفورمات	١٢٦
٣ . ٧ . ٥	تحولات السكسينات	١٢٧
٣ . ٧ . ٦	تحولات الاسيتون والكحولات	١٣٠
٣ . ٧ . ٧	تحولات الميثان	١٣٠
٣ . ٧ . ٨	تحولات المركبات الحلقية	١٣١
٣ . ٨	دورة حمض الستريك لاهوائيا وتثبيت CO_2 اختزاليا	١٣٢
٣ . ٩	تثبيت النتروجين ضوئيا	١٣٤

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة		الموضـــوع	
١٣٥		مستقبل الالكترون فى البكتريا الارجوانية	٣ . ١٠
١٣٧		أسئلة للمراجعة	
١٣٨		المراجع	
١٤١		**٤ . الباب الرابع : التنفس اللاهوائى**	
١٤٥	Sulfate respiration	البكتريا المختزلة للكبريتات أو	٤ . ١
١٤٦		اختزال الكبريتات باستخدام الايدروجين كمعطى للالكترون	٤ . ١ . ١
١٥١		اختزال الثيوسلفات فى وجود الايدروجين	٤ . ١ . ٢
١٥٣		اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للالكترونات	٤ . ١ . ٣
١٥٧	Nitrate respiration	البكتريا المختزلة للنترات أو	٤ . ٢
١٥٩		اختزال النترات تحت الظروف الاتوتروفية	٤ . ٢ . ١
١٦٠		اختزال النترات تحت الظروف الهتيروتروفيه	٤ . ٢ . ٢
١٦٥	Carbonate respiration	ك أ٢ كمستقبل للالكترون أو	٤ . ٣
١٦٥		تكوين الميثان	٤ . ٣ . ١
١٦٩		تكوين الاسيتات	٤ . ٣ . ٢
١٦٩		تكوين السكسينات من الفيومارات	٤ . ٣ . ٣
١٧١		اختزال الحديديك إلى الحديدوز	٤ . ٤
١٧٢		أسئلة للمراجعة	
١٧٣		المراجع	
١٧٥		**٥ - الباب الخامس : تمثيل الكربوهيدرات**	
١٧٧	Glucose metabolism	تحولات الجلوكوز	٥ . ١
١٧٧	EMP–pathway	دورة التحلل الجليكولى	٥ . ١ . ١

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

	الموضـــــوع		الصفحة
٥ . ١ . ٢	دورة السكريات المفسفرة	Hexose monophosphate (HMP) Pathway or pentose shunt	١٨٥
٥ . ١ . ٣	دورة	Entner–Doudoroff (ED)	١٩٣
٥ . ١ . ٤	دورة	Phosphoketolase (PK)	١٩٩
٥ . ١ . ٥	ميكانيكية انتقال الجلوكوز		٢٠٣
٥ . ٢	تحولات الفركتوز	Fructose metabolism	٢٠٥
٥ . ٣	تحولات اللاكتوز	Lactose	٢٠٧
٥ . ٤	تحولات المانوز	Mannose	٢٠٩
٥ . ٥	تحولات الالوز	Allose	٢١٠
٥ . ٦	تحولات الجلوكونات	Gluconate	٢١٠
٥ . ٧	تحولات المانيتول	Mannitol	٢١٣
٥ . ٨	تحولات سوربيتول	Sorbitol	٢١٥
٥ . ٩	تحولات الانيوسيتول	Inositol	٢١٧
٥ . ١٠	تحولات الاحمض الهكسيورنية	Hexouronic acid	٢١٩
٥ . ١١	تحولات البنتوز والبنتيتول	Pentose & Pentitol	٢٢٠
٥ . ١٢	تحولات الجليسرول	Glycerol	٢٢١
٥ . ١٣	تحولات الجليكول	Glycol	٢٢٣
٥ . ١٣ . ١	أكسدة الكحولات الأولية		٢٢٤
٥ . ١٣ . ٢	أكسدة الكحولات الثانوية		٢٢٦
٥ . ١٤	تحولات البيوتاندول	2,3 Butanediol	٢٢٧
	أسئلة للمراجعة		٢٢٩
	المراجع		٢٣٠

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الصفحة	الموضوع
٢٣٣	**٦ . الباب السادس : التنفس الهوائي**
	Chemolithotrophic bacteria
٢٣٦	٦ . ١ بكتريا التأزت Nitroso-group
٢٤١	٦ . ٢ بكتريات التأزت Nitro-group
٢٤٥	٦ . ٣ بكتريا الايدروجين Knallgas bacteria
٢٤٩	٦ . ٤ بكتريا أكسدة الحديد Iron-oxidizing bact.
٢٥٦	٦ . ٥ بكتريا أكسدة الكبريت Sulfer oxidizing bact.
٢٦٦	٦ . ٦ الفرق بين الميكروبات الاوتوتروفيه والهتيروتروفيه
٢٦٨	٦ . ٧ تثبيت ك أ٢ أوتوتروفيا من خلال دورة كالفن
٢٧٥	أسئلة للمراجعة
٢٧٦	المراجع
٢٧٩	**٧ - الباب السابع : التنفس الهوائي**
	Chemoorganotrophic bacteria
٢٨١	٧ . ١ دورة حمض الستريك TCA
٢٨١	٧ . ١ . ١ تكوين استيل كوانزيم A
٢٨٤	٧ . ١ . ٢ خطوات دورة TCA
٢٩٠	٧ . ٢ دورة DCA (Glyoxylate)
٢٩١	٧ . ٣ تحولات الاحماض الكربوكسيلية
٢٩١	٧ . ٣ . ١ تحولات السترات
٢٩٢	٧ . ٣ . ٢ تحولات المالات
٢٩٣	٧ . ٣ . ٣ تحولات الجليكولات
٢٩٤	٧ . ٣ . ٤ تحولات الطرطرات
٢٩٦	٧ . ٣ . ٥ تحولات الاوكسالات والفورمات
٢٩٧	٧ . ٣ . ٦ تحولات المالونات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الموضـــوع	الصفحة

٧ . ٣ . ٧ تحولات الجلوتارات ٢٩٨

٧ . ٣ . ٨ تحولات البروبيونات ٣٠٠

٧ . ٣ . ٩ تحولات اللاكتات ٣٠١

٧ . ٤ تنظيم تحولات الأحماض الكربوكسيلية ٣٠١

٧ . ٥ تحولات الأحماض الأمينية ٣٠٥

٧ . ٥ . ١ تحولات حمض اليوريك والالنتوين ٣٠٦

٧ . ٥ . ٢ تحولات التربتوفان ٣٠٩

٧ . ٥ . ٣ تحولات الثريونين ٣١٣

٧ . ٥ . ٤ تحولات الليسين ٣١٥

٧ . ٥ . ٥ تحولات الهيدروكسى برولين ٣١٧

٧ . ٥ . ٦ تحولات الفالين ٣١٨

٧ . ٥ . ٧ تحولات الهستيدين ٣١٩

٧ . ٥ . ٨ تحولات الارجينين ٣٢٠

٧ . ٦ تحولات الايثانول ٣٢١

أسئلة للمراجعة ٣٢٣

المراجع ٣٢٤

٨ . الباب الثامن : تحولات الهيدروكربونات ٣٢٧

Hydrocarbon metabolism

٨ . ١ طرق أكسدة الأحماض الدهنية ٣٢٩

٨ . ١ . ١ الأكسدة من النوع ألفا α-oxidation ٣٢٩

٨ . ١ . ٢ الأكسدة من النوع بيتا ß–oxidation ٣٢٩

٨ . ١ . ٣ الأكسدة من النوع أوميجا ω-oxidation ٣٣٠

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الموضـــوع			الصفحة
٨ . ٢	أكسدة الالكانات والالكينات		٣٣١
٨ . ٢ . ١	الأكسدة من طرف واحد	monoterminal	٣٣١
٨ . ٢ . ٢	الأكسدة من الطرفين	diterminal	٣٣٢
٨ . ٢ . ٣	أكسدة الميثان		٣٣٣
٨ . ٢ . ٤	أكسدة البروبان		٣٣٦
٨ . ٢ . ٥	أكسدة الديكان	n–Decane	٣٣٦
٨ . ٢ . ٦	أكسدة الغيرديكان	undecane	٣٣٧
٨ . ٣	أكسدة الهيدروكربونات الحلقية		٣٣٨
٨ . ٣ . ١	الاعداد لكسر الحلقة		٣٣٨
٨ . ٣ . ٢	كسر الحلقة		٣٤٠
	ortho cleavage (I)		
	Meta cleavage (II)		
٨ . ٣ . ٣	تحولات	D–Maudelate	٣٤٣
٨ . ٣ . ٤	تحول النفثالين	Naphthalene	٣٤٤
٨ . ٣ . ٥	تحول	Anthracene & phenanthrene	٣٤٥
٨ . ٣ . ٦	تحول هيدروكسي بنزوات		٣٤٦
٨ . ٣ . ٧	تحول الزيلينول	3,4–xylenol	٣٤٧
٨ . ٣ . ٨	تحولات	Gentisate	٣٤٨
٨ . ٣ . ٩	تحولات	Anthranilic acid	٣٤٩
٨ . ٣ . ١٠	تحولات	Thymol	٣٥٠
٨ . ٣ . ١١	تحولات	P–xylene	٣٥٠
٨ . ٤	تحولات الهيدروكربونات الحلقية الهالوجينية		٣٥١
٨ . ٥	تحولات الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسي الكيلية		٣٥٣
٨ . ٥ . ١	تحول ٤ – كلوروفينوكسي اسيتات		٣٥٤

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الموضـــوع	الصفحة

٨ . ٥ . ٢ تحول ٤ - كلورو - ٢ - ميثيل فينوكسى اسيتات	٣٥٥
٨ . ٥ . ٣ تحول ٢, ٤ داى كلوروفينوكسى استيات	٣٥٧
٨ . ٥ . ٤ تحولات DDNU , DDMS , DDD , DDT	٣٥٨
٨ . ٥ . ٥ تحولات الريبوفلافين	٣٥٩
٨ . ٥ . ٦ تحولات فيتامين B_6 (Pyridoxine)	٣٦١
٨ . ٥ . ٧ تحولات سلفونات التولوين	٣٦٣
٨ . ٥ . ٨ تحولات Pipecolate	٣٦٤
٨ . ٥ . ٩ تحول 2-furoic acid	٣٦٥
٨ . ٦ انزيمات Oxygenases	٣٦٦
أسئلة للمراجعة	٣٦٨
المراجع	٣٦٩
٩ . الباب التاسع : التخمرات	٣٧٣
٩ . ١ مقدمة عامة	٣٧٥
٩ . ٢ تخمرات بكتريا حمض البروبيونيك Propionibacteria	٣٧٨
٩ . ٢ . ١ تكوين حمض البروبيونيك من الجلوكوز	٣٧٩
٩ . ٢ . ٢ تكوين حمض البروبيونيك من اللاكتات	٣٨٢
٩ . ٣ تخمرات بكتريا الكلوستريديم المحلله للسكريات Saccharolytic clostridia	٣٨٣
٩ . ٣ . ١ تكوين الاستيات	٣٨٥
٩ . ٣ . ٢ تكوين البيوتيرات	٣٩٠
٩ . ٣ . ٣ تكوين الاسيتون ، الايزوبروبانول ، البيوتال ، الايثانول	٣٩٢
٩ . ٣ . ٤ تكوين اللاكتات	٣٩٤
٩ . ٣ . ٥ تكوين البيوتريك من الايثانول والاسيتات	٣٩٤
٩ . ٣ . ٦ تكوين السكسينات	٣٩٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الموضـــوع		الصفحة

٩ . ٤	تخمرات Enterobacteriaceae	٣٩٨
٩ . ٤ . ١	الميكروبات المنتجة لخليط الأحماض mixed acids	٣٩٩
٩ . ٤ . ١ . ١	تكوين الاسيتالدهيد	٤٠١
٩ . ٤ . ١ . ٢	تكوين الايثانول	٤٠٢
٩ . ٤ . ١ . ٣	تكوين الاستيات	٤٠٢
٩ . ٤ . ١ . ٤	تكوين ك ا$_2$ ، يد$_2$ من الفورمات	٤٠٣
٩ . ٤ . ١ . ٥	تكوين السكسينات	٤٠٤
٩ . ٤ . ١ . ٦	تكوين اللاكتات	٤٠٥
٩ . ٤ . ٢	الميكروبات المنتجة للبيوتاندول	٤٠٦
٩ . ٤ . ٢ . ١	تكوين الاسيتوين acetoin	٤٠٦
٩ . ٤ . ٢ . ٢	تكوين البيوتاندول من الاسيتوين	٤٠٩
٩ . ٤ . ٣	الميكروبات المنتجة للجليكول ثلاثى المثيلين	٤١٠
٩ . ٤ . ٤	تنظيم تحولات الكربوهيدرات فى الميكروبات اللاهوائية (pasteur and crabtree effect)	٤١٠
٩ . ٥	تخمرات بكتريا حمض اللاكتيك Lactobacillaceae	٤١٢
٩ . ٥ . ١	تخمر الجلوكوز بواسطة	٤١٢
٩ . ٥ . ١ . ١	Homofermentative lactobacteria	٤١٣
٩ . ٥ . ١ . ٢	Heterofermentative lactobacteria	٤١٤
٩ . ٥ . ٢	تخمر الفركتوز	٤١٦
٩ . ٥ . ٣	تخمر المالات	٤١٧
٩ . ٥ . ٤	تخمر الطرطرات	٤١٩
٩ . ٥ . ٥	تخمر اللاكتوز بواسطة N-streptococci	٤٢٠
٩ . ٥ . ٦	تخمر ديزوكسى ريبوز Deoxyribose	٤٢١
٩ . ٥ . ٧	تحول البيوتين	٤٢٢

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الموضـــوع		الصفحة

٩ . ٦	الفسفرة ونظام انتقال الالكترون فى بكتريا حمض اللاكتيك		٤٢٣
٩ . ٧	تخمرات بكتريا الكلوستريديم المحلله للبروتينات		
		Proteolytic clostridia	٤٢٧
٩ . ٧ . ١	تحولات الأحماض الأمينية المفردة		٤٢٨
٩ . ٧ . ١ . ١	تحولات الارجيثين	Arginine	٤٣٠
٩ . ٧ . ١ . ٢	تحولات الجليسين	glycine	٤٣٠
٩ . ٧ . ١ . ٣	تحولات السيرين	serine	٤٣٢
٩ . ٧ . ١ . ٤	تحولات الثريونين	threonine	٤٣٢
٩ . ٧ . ١ . ٥	تحولات التربتوفان	tryptophane	٤٣٣
٩ . ٧ . ١ . ٦	تحولات الليسين	Lysine	٤٣٤
٩ . ٧ . ١ . ٧	تحولات الاورنيثين	ornithine	٤٣٥
٩ . ٧ . ٢	تحولات زوج من الاحماض الامينية		٤٣٧
٩ . ٧ . ٣	تحولات الاحماض الامينية مع أحماض كيتونية		٤٤٠
٩ . ٧ . ٣ . ١	تحول الألانين		٤٤٠
٩ . ٧ . ٣ . ٢	تحولات امينوبيوترات		٤٤٢
	أسئلة للمراجعة		٤٤٥
	المراجع		٤٤٧

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فهرس الصور والأشكال

Figures index

رقم الشكل	عنوانه	الصفحة
الباب الأول		
١.١	التركيب الكيمياوى للمركبات الفوسفاتية الغنية بالطاقة	٤٢
١.٢	تفاعلات الأكسدة والاختزال فى السلسلة التنفسية	٤٥
١.٣	النظام العام لانتقال الالكترونات	٤٦
١.٤	الاحتمالات المختلفة لنظام انتقال الالكترون فى الكائنات الدقيقة	٤٦
١.٥	السلسلة التنفسيه والفسفرة بانتقال الالكترون	٤٩
١.٦	تصور عام لنظام انتقال الالكترون فى البكتريا الهوائية ، والاختيارية واللاهوائية	٥١
الباب الثانى		
٢.١	العلاقة بين سرعة التفاعل الإنزيمى ومادة التفاعل	٥٩
٢.٢	تقدير Vmax (السرعة القصوى) ، K_m (ثابت ميخائيل) من lineweaver - Burk plot	٦٠
٢.٣	التركيب البنائى لمركبى NAD^+ ، $NADP^+$	٦٧
٢.٤	دور NAD^+ / $NADH.H^+$ فى التلامس الإنزيمى	٦٨
٢.٥	التركيب البنائى لمركب FAD	٦٩
٢.٦	التركيب البنائى لفيتامين K	٧٢
٢.٧	التركيب البنائى لسيتوكروم b	٧٣
٢.٨	توزيع الطاقة من ATP للتخليق الحيوى لمكونات الخلية	٧٩
٢.٩	ميكانيكية عمل المرافق الإنزيمى المثيونين	٨٠
٢.١٠	مركب تتراهيدروفوليك ومشتقاته	٨١
٢.١١	دور البيوتين فى تفاعلات تثبيت ك أ٢	٨١
٢.١٢	التركيب البنائى لمركب بيروفوسفات الثيمين TPP	٨٢
٢.١٣	كيفية أنطلاق ك أ٢ وانتقال الأسيتالدهيد بملامسة (TPP)	٨٣
٢.١٤	التركيب البنائى للمركب كوانزيم A (CoA)	٨٤
٢.١٥	تكوين Schiff's base من مادة التفاعل والمرافق بيريدوكسال فوسفات (PALP)	٨٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

٢.١٦	تقدير معدل النمو المتخصص (μ) من المنحنى القياسى	٨٩
٢.١٧	العلاقة بين معدل النمو المخصص للبكتريا (μ) وتركيز مادة التفاعل (S) ومنه يمكن تحديد ثابت تشبع مادة التفاعل (K_S)	٩٠
٢.١٨	تقدير μ_m ، K_s باستعمال lineweaver - Bruk plots	٩١

الباب الثالث

٣.١	الشكل المورفولوچى (الظاهرى) لبكتريا الكبريت الخضراء	١٠٣
٣.٢	الشكل المورفولوچى لبكتريا الأرجوانية والبكتريا الأرجوائية غير الكبريتية	١٠٥
٣.٣	الفرق بين الكلوروفيل a ، الكلوروفيل البكترى بأنواعه (a, b, c, d, e)	١٠٨
٣.٤	الأنسياب الحلقى وعملية الفسفرة الحلقية فى النباتات	١١٠
٣.٥	اختزال $NADP^+$ فى بكتريا اختزال الكبريت بواسطة معطى أيدروجين خارجى	١١٢
٣.٦	الفسفرة الغير حلقية وتكوين القوة المختزلة فى بكتريا الكبريت اللاهوائية	١١٢
٣.٧	عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف لاهوائية (z-scheme)	١١٥
٣.٨	نظام انتقال الألكترون عبر أغشية Thylakoid فى البكتريا الفوتوتروفية	١١٦
٣.٩	ميكانيكية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى فى بكتريا الكبريت الخضراء	١١٨
٣.١٠	نظامى انتقال الالكترون (الحلقى والمفتوح) فى بكتريا الكبريت الأرجوانية	١٢٠
٣.١١	نظام أنسياب الالكترون المؤدى لاختزال NAD^+ بواسطة الأيدروجين فى البكتريا الممثلة للضوء	١٢٢
٣.١٢	نظام انتقال الالكترون للاختزال الضوئى للأيدروجين الناتج من الثيوسلفات	١٢٣
٣.١٣	ميكانيكية تحول الأسيتات إلى البولى هيدروكسى بيوترات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*	١٢٤

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

٣.١٤	التحولات الأيضية للسكسينات بواسطة *R. rubrum*	١٢٨
٣.١٥	التحولات الأيضية في وجود بكتريا *R. rubrum , chromatium* للأسيتات والأحماض ثنائية الكربوكسيل	١٣٣
٣.١٦	ميكانيكية انتقال الالكترون من المعطى إلى المستقبل وتكوين القوة المختزلة بواسطة البكتريا الأرجوانية	١٣٦

الباب الرابع

٤.١	اختزال السلفات باستخدام الأيدروجين بواسطة *Desulfovibrio desulforicans*	١٤٧
٤.٢	اختزال الثيوسلفات في وجود الأيدروجين	١٥١
٤.٣	اختزال الثيوسلفات في وجود lipoamide بواسطة *Thiobacillus denitrificans*	١٥٢
٤.٤	كيفية اختزال الثيوسلفات لاهوائيًا بمصاحبة إنزيم *rhodanese*	١٥٢
٤.٥	اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للالكترون (تحولات اللاكتات والبيروفات)	١٥٣
٤.٦	ميكانيكية تحول اللاكتات واختزال السلفات بواسطة بكتريا اختزال الكبريتات	١٥٥
٤.٧	سلسلة انتقال الالكترون في التنفس الهوائي واللاهوائي (النيتراتي) بواسطة ميكروبي *Pseudomenas aerugenosa* ، *Micrococcus denitrificans*	١٦١
٤.٨	المرافقات الإنزيمية prosthetic group في بكتريا الميثان	١٦٧
٤.٩	تكوين الفيومارات من السكسينات بواسطة Fumarte reductase	١٧٠

الباب الخامس

٥.١	دورة التحول الجليكولي (EMP - pathway)	١٧٨
٥.٢	دورة السكريات السداسية أحادية الفوسفات (HMP - cycle)	١٨٦
٥.٣	دورة (ED - pathway) Entner - Doudorof	١٩٤
٥.٤	تداخل بين الدورات الرئيسية الثلاث EMP ، HMP ، ED	١٩٨
٥.٥	دورة phosphoketolase (PK)	٢٠٠
٥.٦	دورة PK في *Acetobacter xylinum*	٢٠٢

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

٥.٧	تقنيات انتقال الجلوكوز الأربع خلال الغشاء	٢٠٤
٥.٨	الطرق المختلفة لتحولات الفركتوز الأيضية	٢٠٦
٥.٩	تحولات اللاكتوز فى Streptococci	٢٠٧
٥.١٠	تحولات المالتوز فى *Aerobacter aerogenes*	٢٠٩
٥.١١	تحولات الجلوكوز والجلوكونات فى بكتريا حمض الخليك	٢١١
٥.١٢	تحولات myoinositol	٢١٧
٥.١٣	تحولات الأحماض الهكسويورنيه	٢١٩
٥.١٤	تصور عام لتحولات البنتوز ، البنتيتول	٢٢٠
٥.١٥	تحولات ٢,٣ بيوتاندول بواسطة *Aerobacter*	٢٢٨

الباب السادس

٦.١	المركبات الوسطية فى أكسدة الأمونيا بواسطة *Nitrosomonas sp.*	٢٣٩
٦.٢	انتقال الالكترون العكسى فى *Nitrosomonas sp.*	٢٤٠
٦.٣	نظام انتقال الالكترون العكسى فى *Nitrobacter sp.*	٢٤٢
٦.٤	سلسلة انتقال الالكترون فى *N. winogradskyi*	٢٤٤
٦.٥	نظام انتقال الالكترونات فى *Hydrogenomonas eutropha* النامية تحت ظروف اتوتروفيه	٢٤٧
٦.٦	أكسدة الحديدوز بواسطة *Ferrobacillus Ferrooxidans*	٢٥١
٦.٧	النمو الاتوتروفى والنمو الهيتروتروفى والتحولات الأيضية فى *Thiobacillus ferroxidans*	٢٥٤
٦.٨	انتقال وأكسدة مركبات الكبريت بواسطة Thiobacilli	٢٥٨
٦.٩	ميكانيكية اكسدة مركبات الكبريت وتكوين الطاقة	٢٥٩
٦.١٠	الدورة الحلقية لاكسدة الثيوسلفات	٢٦٠
٦.١١	تفاعلات أكسدة واختزال المركبات الكبريتية فى الطبيعة	٢٦١
٦.١٢	نظام انتقال الالكترونات فى Thiobacilli	٢٦٣
٦.١٣	تحولات الأسيتات بواسطة الميكروب الأتوتروفى الختمى *Thiob. neapolitanus*	٢٦٤
٦.١٤	تصور عام لدورة كالفن (الريبولوزبيوفوسفات)	٢٦٨
٦.١٥	دورة تثبيت ك أ$_٢$ المضاعفة فى *Chromatium*	٢٧٣

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

الباب السابع

١.٧	دورة حمض الستريك (TCA) ، تفريعة glyoxylate في التنفس الهوائى	٢٨٥
٢.٧	تكوين أوكسو جلوتارات بواسطة *Acetomonas suboxydans*	٢٩٣
٣.٧	تحولات الطرطرات بواسطة *Ps. putido*	٢٩٥
٤.٧	تحولات الأوكسالات والفورمات بواسطة *Ps. oxalaticas*	٢٩٦
٥.٧	تحول المالونات فى *Ps. fluorescens*	٢٩٨
٦.٧	تحول البروبيونات فى *E. coli*	٣٠٠
٧.٧	التفاعلات الأيضية التى تمد الخلية بالطاقة والكربون أثناء النمو على الأسيتات	٣٠٢
٨.٧	كيفية الحصول على مركبات C_4 (المالات ، الاكسال استيات) من المركبات C_3 (البيروفات ، فوسفو إينول بيروفات)	٣٠٥
٩.٧	تحولات حمض البوريك والالنتوين	٣٠٨
١٠.٧	تحولات التربتوفان بواسطة pseudomanads	٣٠٩
١١.٧	تحولات التربتوفان بواسطة المجموعة الرابعة ويمثلها *Ps. aerugenosa*	٣١٢
١٢.٧	تحولات الليسين بواسطة *Ps. putida*	٣١٦
١٣.٧	تحولات الفالين بواسطة *Ps. aerugenesa*	٣١٨
١٤.٧	تحولات الهستيدين الهوائية	٣٢٠

الباب الثامن

١.٨	دورة الريبولوز مونو فوسفات لتثبيت الفورمالدهيد	٣٣٤
٢.٨	تمثيل المركبات C_1 عبر دورة السيرين	٣٣٥
٣.٨	أكسدة n.Decane بواسطة الميكروبات	٣٣٧
٤.٨	أكسدة المركبات undecane	٣٣٨
٥.٨	طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى Catechol	٣٣٩
٦.٨	طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى protocatechuate	٣٣٩

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

٧.٨	كسر الحلقة بطريقة ortho cleavage وتحولات oxoadipate pathway	٣٤١
٨.٨	كسر الحلقة بطريقة meta - cleavage	٣٤٢
٩.٨	تحولات D - mandelate كنموذج لكسر حلقة البنزين بطريقة *ortho - cleavage*	٣٤٣
١٠.٨	أكسدة النفثالين بواسطة Pseudomonads	٣٤٤
١١.٨	تحولات phenanthrene ، anthracene	٣٤٥
١٢.٨	تحولات هيدروكسى بنزوات في *Ps. putida*	٣٤٦
١٣.٨	تحولات ٢,٤ الزيلينول بواسطة Pseudomonads	٣٤٧
١٤.٨	تحولات Gentisate بواسطة Pseudomonads	٣٤٨
١٥.٨	تحولات anthranilic بواسطة *Nocordia*	٣٤٩
١٦.٨	تحولات الثيمول بواسطة *Ps. putida*	٣٥٠
١٧.٨	تحولات P-xylene	٣٥١
١٨.٨	تحولات P - فلوروبنزوات بواسطة Pseudomonads	٣٥٢
١٩.٨	تصور عام للأكسدة الأولية للأحماض الكربوكسيلية الفينوكسى الكيلية	٣٥٤
٢٠.٨	تحولات ٤ - كلوروفينوكسى أسيتات	٣٥٥
٢١.٨	تحولات مبيد العشب الهرمونى ٢- كلورو - ٢ - مثيل فينوكسى أسيتات	٣٥٦
٢٢.٨	تحول ٢,٤ داى كلوروفينوكسى أسيتات	٣٥٧
٢٣.٨	تحولات DDT ، DDD ، DDMS ، DDNU	٣٥٨
٢٤.٨	تحول الريبوفلافين بواسطة *Pseudomonas RF*	٣٦٠
٢٥.٨	تحولات فيتامين B_6 (Pyridoxine)	٣٦١
٢٦.٨	تحولات التولوين سلفونات	٣٦٤
٢٧.٨	تحولات L - pipecolate بواسطة *Ps. putida*	٣٦٥
٢٨.٨	تحولات حمض 2 - furoic	٣٦٦

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

الباب التاسع

١.٩	ملخص التفاعلات والنواتج لأهم العمليات التخمرية والميكروبات التى تقوم بها	٣٧٦
٢.٩	طريق ميثيل مالونيل كوانزيم A لتكوين البربيونات	٣٨١
٣.٩	تكوين حمض البروبيونيك باستخدام اللاكتات كمصدر للكربون	٣٨٢
٤.٩	تكوين الأسيتات ، الأسيتون ، البيوترات ، البيوتانول ، الإيثانول بواسطة Saccharolytic clostridia	٣٨٤
٥.٩	عملية نزع ك أ٢ من البيروفات من النوع Clostridial type	٣٨٦
٥.٩ a	التحول المباشر لـ ك أ٢ إلى الأسيتات	٣٨٧
٦.٩	التحول الغير مباشر لـ ك أ٢ إلى الأسيتات بواسطة Clostridia	٣٨٩
٧.٩	تكوين حمض البيوتيريك من أسيتيل كوانزيم A بواسطة Clostridia	٣٩١
٨.٩	تكوين البيوترات أثناء تخمر الإيثانول والأسيتات بواسطة *Cl. kluyveri*	٣٩٤
٩.٩	تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة *Cl. kluyveri*	٣٩٦
١٠.٩	تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة Enterobacteraceae مستعملاً دورة TCA العكسية	٤٠٤
١١.٩	التصورات الثلاث لتكوين الأسيتوين من البيروفات	٤٠٧
١٢.٩	تكوين اللاكتات من الجلوكوز بواسطة Homofermentation	٤١٤
١٣.٩	التخمر بواسطة Heterofermentative lactobacilli	٤١٥
١٤.٩	تحولات الفركتوز بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك	٤١٧
١٥.٩	تحولات الجليسين بواسطة proteolytic clostridia	٤٣١

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الصفحة

١٦.٩	تصور عام لتفاعلات الثريونين	٤٣٣
١٧.٩	تحولات الليسين بواسطة *Cl. sticklandii*	٤٣٥
١٨.٩	تحولات الاورنيثين فى *Cl. sticklandii*	٤٣٦
١٩.٩	تحولات الأورنيثين بواسطة *Cl. botulinum*	٤٣٦
٢٠.٩	تفاعلات نزع وانتقال مجموعة الأمينو de - and transaminotion فى الميكروبات اللاهوائية	٤٣٨
٢١.٩	تفاعل Stickland والإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فيه	٤٣٩
٢٢.٩	تحولات الآنين بواسطة *Cl. propionicum*	٤٤٢

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

فهرس الجداول

رقم الجدول	عنوانه	الصفحة
١-١	جهد الأكسدة والاختزال وأمثلة لبعض معطيات ومستقبلات وناقلات الألكترون	٤٧
٢-١	المرافقات الإنزيمية والمجاميع التى تنقلها	٦٥
٣-١	مقارنة بين العائلات الرئيسية للبكتريا الممثلة للضوء	١٠٦
٥-١	تقدير نسب الدورات الأيضية الرئيسية الثلاث (EMP ، HMP ، ED) فى بعض الميكروبات	١٩٧
٩-١	حصر لميكروبات Clostridia طبقًا لخواص التخمر من مواد داخلة ونواتج نهائية	٣٨٣
٩-٢	التركيب الكمى والنوعى للنواتج المكونة بواسطة المجموعة المنتجة لخليط الأحماض والمجموعة المنتجة للبيوتاندول فى Enterobacteriaceae	٣٩٩
٩-٣	تقسيم بكتريا حمض اللاكتيك حسب نوع التخمر	٤١٣

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الأول
الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية

Thermodynamics of Bioreactions

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الأول
الديناميكا الحرارية للتفاعلات الحيوية
Thermodynamics of Bioreactions

١-١ قوانين الديناميكية الحرارية :

تحتاج الميكروبات لتخليق معظم المكونات الكيماوية فى الخلية إلى مصدر طاقة تحت الظروف الطبيعية (بيئة غذائية مناسبة وحموضة متعادلة ودرجة حرارة منخفضة نسبيا) . وعادة فإن تفاعلات الهدم تكون منتجه للطاقة exergonic ($- \Delta F$) بينما تفاعلات التخليق والبناء تكون مستهلكة للطاقة endergonic ($+ \Delta F$) . ولذا لتخليق أى مكونات جديدة بالخلية فإن التفاعلات الكيمياوية الداخلة لابد أن ترتبط أو تتلازم مع تفاعلات منتجه للطاقة . ولدراسة تفاعلات انتاج الطاقة وانتقالها فإنها تعتمد على الديناميكا الحرارية حيث انها الجزء الاساسى والمحدد فى الفيزياء المتعلقة بكتلة المادة ليس من ناحية خواص الجزئ أو الذرة ولكن من ناحية خواص المادة مثل الحجم والضغط والحرارة والكثافة .

القانون الأول للديناميكية الحرارية :

« الكمية الكلية للطاقة فى الطبيعة ثابته » .

ومن المعروف أن معظم صور الطاقة تكون فى صورة حرارة وجميع العمليات الكيماوية أو الفيزيقية أما تستهلك أو تنتج حرارة من أو إلى الوسط المحيط بها . فالعملية المصحوبة بإنتاج حرارة تسمى exothermic والعملية المصحوبة بإمتصاص حرارة تسمى endothermic وعندما تكون العملية حيوية داخل الخلايا الحية تستخدم اصطلاحى endergonic & exergonic للتفاعلات المنتجة أو المستهلكة للطاقة على الترتيب .

وأيضا من المعروف أن انتقال الحرارة أو الطاقة يكون نتيجة اختلاف الحرارة بين الأجسام حيث تنساب من الدافئة إلى الباردة .

فإذا أخذنا نظاما معزولا ذو محتوى طاقة معين وإعطيناه الرمز q للحرارة فإن الحرارة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المضافة للنظام لابد أن تظهر « كـتغير فى الطاقة الداخلة ΔE » للنظام أو فى كـمية الشغل الكلى w الحادث بواسطة النظام فى الوسط المحيط به أى أن :

$$q = \Delta E + w \quad \text{or} \quad \Delta E = q - w$$

والقيمة المطلقة لـ "E" والتى تـسمى بالطاقة الداخلة لا يمكـن تقديرها ولكن الذى يعنينا هو التغـير فى E حيـث أن ΔE لا تعتـمد على الوسـيلة أو الطـريقة pathway الحادث بواسطته التغير بينما q ، w تعتمد تماما على pathway .

وفى كثير من الأحوال فإن اضافة الطاقة كحرارة للـنظام يؤدى إلى تغير فى الحجم بينما الضغط ثابت (الهواء الجوى) فتأخذ المعادلة الشكل التالى .

$$\Delta E = q - p\Delta v - w$$

حيث p = الضغط الثابت

Δv = التغير فى الحجم

w = هى الشغل المتغير

وحيـــث أن $P\Delta v$ تقترب من الشغـل المفيد للعمل فلقد وجد من الانـــسب أن ترتبط بـ ΔE كالتالى :

$$\Delta E + P\Delta v = q - w$$

وبما أن التفاعلات الحيوية تتم عند ضغط ثابت (الهواء الجوى) ولكن ليس عند حجم ثابت فإن الـتغير فـــى الطاقة $\Delta E + P\Delta v$ يمكن اسـتبدالـه بالمصطلح ΔH أو مـــا يـســمى enthalpy change أى التغير فى المحتوى الحرارى .

$$\Delta H = q - w = \Delta E + P\Delta v \qquad (١)$$

وعند ثبات الضغط فإن ΔH تمثل الطاقة أو الحرارة المدمصه فـى التفاعل أما عند ثبات الضغط وأيضا ثبات الحجم فإن ذلك يعنى عدم وجود شغل وعندئذ .

$$\Delta H = \Delta E$$

ويمكـــن تقدير enthalpy change (ΔH) للتفاعـل بسهولة بواسـطـة جـهاز

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

قياس الكالورى Calormetry ويأخذ الحرارة T فى الأعتبار تبعا لمعادلة الغازات العامة $Pv = n\,RT$

حيث n تمثل عدد المولات

R = ثابت الغازات (١,٩٨٧ كالورى / مول / درجة)

T = درجة الحرارة المطلقة (صفر°م + ٢٧٣)

وبالتالى تأخذ المعادلة (١) الشكل التالى :

$$\Delta H = \Delta E + n\,RT$$

ولقد أمكن تقدير المولر من enthalpy كالتالى $\Delta H = - 673.000$ cal / mole

حيث الكالورى هو كمية الطاقة اللازمة لرفع حرارة ١ جرام ماء من ١٤,٥° م إلى ١٥,٥° م والعلامة السالبة (-) تدل على أنه تفاعل منتج للطاقة exergonic .

وهذه الحرارة تنتج بسبب احتواء جزئ المادة العضوية المعقدة على كمية طاقة ضخمة وعند تحليلها إلى مركبات ثابتة أبسط مثل ك أ٢ ، يد٢ أ ذات محتوى طاقة أقل بكثير فإن الحرارة (الطاقة) تنطلق .

ويلاحظ أنه فى الأنظمة الحيوية فإن الحرارة ليست الطريقة المثلى لانتقال الطاقة لان المكونات المختلفة للخلية الحية اساسا isothermal وإذا لم يكن هناك فرق جهد حرارى فإن الحرارة لا يمكن تحويلها إلى شغل تحت أى ظرف ولهذا فإن القانون الأول لا يمكنه شرح أو تفسير انتقال الطاقة التلقائى spontaneons transformation بالكامل .

القانون الثانى للديناميكية الحرارية :

« الكمية الكلية للطاقة الكامنة entropy فى الطبيعة تزداد » .

فى أغلب التفاعلات الكيمياوية فإن الطاقة الكيمياوية تتحول إلى طاقة حرارية thermal energy والتى تتكون بدورها من :

- عامل الكثافة intensity factor
- عامل السعة capacity facfor

وهذا العامل يمكن وصفه q / T وبما أن الحرارة تنساب من الأجسام الساخنة إلى الأجسام الباردة فإن المعادلة التالية يمكن تطبيقها على أى انتقال حرارى .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

$$(q / T)_{system} + (q / T)_{surrounding} = \text{positive value}$$

$$\therefore \sum (q / T) > 0$$

ويمكن تمثيل entropy بالرمز S ويقاس بالكالورى / مول وعـند أى حرارة معطاة فإن الجوامـد تكون ذات طاقـة كامنه منخفضة نسبيا بيـنمـا السوائل متـوسط امـــا الغازات فعالية جدا .

والطاقة الكامنة entropy (S) هى جزء من المحتوى الحرارى enthalpy (H) والذى يحتمل عدم استعماله فى تجهيز الشغل المفيد والناتج T x S حيث T هى الحرارة المطلقة تمثل الطاقة المفقودة فى تكوين الحركة العشوائية للجزئ Raudam meleclar motions ولذا فإن القانون الثـانى للديناميكيـة الحرارية يحدد الطاقة الـكامنة entropy كحالة عشوائـية للطاقة والغير ميسرة لعمل شغل .

القانون الثالث للديناميكية الحرارية :

« الطاقة الكامنة entropy فى كل المواد النقية عند الصفر المطلق هو صفر » .

فإذا كان النظام متعادلا فإن

$$q = T \Delta S$$

وإذا لم يكن متعادلا

$$T \Delta S > q$$

وبالتعويض فى معادلة القانون الأول (1) عند التعادل فإن :

$$\Delta H = T \Delta S - w \qquad (2)$$

وفى التفاعلات الحيوية فإن

$$\Delta H < T \Delta S - w$$

٢٠١ الطاقة الحرة :

وتمثل مكونات الطـاقة الكلية للنظام القادرة علـى عمل شـغل تحت ظروف isothermal

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وهذا يعنى اعتمادة على حالة النظام وليس على الأسلوب pathway فعندما يحدث تغير فى الحالة (كما هو الوضع فى معظم التفاعلات الكيمياوية) فإنه يلاحظ تغير فى الطاقة الحرة يسمى ΔF والطاقة الحرة عندئذ هى طاقة مفيدة usuful energy بينما الطاقة الكامنة entropy هى طاقة هدم degraded energy .

عموما فإن ΔF هى الطاقة الميسرة للاستخدام المصاحب للشغل .

$$\therefore \ \Delta F = - w$$

فمثلا إذا تغير النظام من حالة لاخرى عند نفس درجة الحرارة فإن التغير فى الطاقة الحرة المصاحبة لهذا التغير يكون (بالتعويض فى معادلة 2) .

$$\Delta F = \Delta H - T \Delta S \qquad (3)$$

وعند التعادل فإن التغير فى الطاقة الحرة يكون صفرا

$$\Delta F = 0$$

$$\therefore \ \Delta H = T \Delta S$$

٣٠١ الديناميكيا الحرارية للتفاعلات الحيوية :

عادة التفاعلات الكيمياوية منتجه للطاقة exothermic إلا أن الحرارة المشاركة خلال العمليات المنتجة للطاقة لا تتطابق مع التغير فى الطاقة الحرة .

وفى التفاعلات الكيمياوية التقليدية يمكن قياس ΔH فقط بينما تقدير الطاقة الحرة أو التغير فيها ΔF يعتمد على كفاءه القياس للقوى الكهربية المحركة electromotive forces أو ثابت التعادل "K" للتفاعل العكسى

فمثلا التفاعل

$$A + B \rightleftharpoons C + D$$

فإن الثابت k يمكن حسابه كالتالى

$$K = \frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ومن ثمّ يمكن حساب المعادلة

$$\Delta F^{o} = - RT \ln K \qquad (4)$$

حيث :

ΔF^{o} = التغير فى الطاقة الحرة تحت ظروف قياسيه

R = ثابت الغازات

T = الحرارة المطلقة

$\ln K$ = اللوغاريتم الطبيعى لثابت التفاعل

وهذا التغير القياسى فى الطاقة ΔF^{o} ثابت لأى تفاعل معطى ويجب عدم الخلط بينه وبين التغير فى الطاقة الحرة فى الظروف العادية ΔF حيث يمكن استخدام المعادلة التالية لحسابهما .

$$\Delta F = \Delta F^{o} + RT \ln \frac{[C] \times [D]}{[A] \times [B]}$$

ولان معظم التفاعلات الحيوية تتم عند الاس الايدروجينى (pH) المتعادل فإن الرمز ΔF^{o} يستعمل للدلالة على التغير القياسى فى الطاقة الحرة عند pH 7 .

مثال :

لحساب ثابت التفاعل والتغير فى الطاقة الحرة للتفاعل

$$\text{Glucose 1 - P} \xrightleftharpoons{\text{mutase}} \text{Glucose 6 - P}$$

$$K = \frac{\text{Glucose 6 - P}}{\text{Glucose 1 - P}} = \frac{0.019}{0.001} = 19$$

ويكون التغير القياسى فى الطاقة الحرة عند حرارة ٢٥ْ م ، pH 7 هو

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$\Delta F^{0} = - RT \ln K$$
$$= - 1.987 \times 298 \times \ln 19$$
$$= - 1745 \text{ cal / mole}$$

وبمعنى أخر فإن هناك نقص فى الطاقة الحرة حوالى ١٧٤٥ كالورى عند تحويل واحد مول جلوكوز ١ - فوسفات إلى واحد مول جلوكوز ٦ - فوسفات عند ٢٥ م° ، 7 pH .

وسلسلة التفاعلات الكيمياوية فى الخلايا الحية تسمى التفاعلات الايضية metabolic pathways ولهذا يجب حساب السلسلة (التعاقب) ككل .

مثال :

$$A + B \underset{}{\overset{-6000}{\rightleftharpoons}} C + D$$

$$D + E \underset{}{\overset{-4000}{\rightleftharpoons}} G + H$$

$$H + I \underset{}{\overset{+3000}{\rightleftharpoons}} J + K$$

فيكون التغير فى الطاقة الحرة ΔF كالتالى :

$$\Delta F = -6000 - 4000 + 3000 = -7000 \quad \text{cal / male of (A)}$$

والطاقة الناتجة من مثل هذه التفاعلات المتعاقبة اما تستعمل مباشرة فى تفاعلات مستهلكة للطاقة enderganic أو تخزن لتكوين مركبات غنية بالطاقة (ليس كحرارة ولكن كطاقة كيمياوية) وتوجد عدة أنواع من هذه المركبات فى الكائنات الدقيقة مثل :

أ) مشتقات حمض الفوسفوريك مثل ATP ، UTP , acyl phosphates .

ب) مشتقات الاحماض الكربوكسيلية مثل استيل كوانزيم Acetyl Coenzyme A .

واهمهم جميعا مركب ATP (adenosine triphosphate) حيث ينقل الطاقة الكيمياوية الناتجة من تفاعلات الاكسدة إلى العمليات أو التفاعلات التى تحتاج للطاقة داخل الخلية .

$$ATP \rightleftharpoons ADP + \text{Ⓟ} + \text{Energy}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٤,١ تفاعلات الاكسدة والاختزال :

التفاعلات المنتجة للـطاقة عادة هى تفاعلات اكسدة oxidation وتعرف الأكسدة عموما بأنهـا فقد الالكتـرون بينما الاخـتزال هو اكتـساب الالكترون ولـذا يعبر عن اكـسده جزئ الايدروچين كالتالى :

$$H_2 - 2e^- \rightleftharpoons 2H^+$$

ولابد أن يستقبل الالكترون بواسطة عامل مؤكسد oxidizing agent كالمثال التالى :

$$H_2 - 2e^- \rightleftharpoons 2H^+$$

$$2Fe^{3+} + 2e^- \rightleftharpoons 2Fe^{2+}$$

$$H_2 + 2Fe^{3+} \rightleftharpoons 2H^+ + 2Fe^{2+}$$

وجزئ الأكسچين يمكن أن يعمـل كعامل مؤكسد بنفس الطريقة السابـقة حيث يكتسب اما اثنين أو اربعة الكترونات .

$$O_2 + 2e^- \rightleftharpoons O_2^{2-} \xrightleftharpoons{2H^+} H_2O_2$$

$$O_2 + 4e^- \rightleftharpoons 2O^{2-} \xrightleftharpoons{4H^+} 2H_2O$$

$$\Delta F = -57 \text{ kcal / mole } H_2O$$

وحيث انه لابد من وجود تيـار كهربى لنقل الالكترون ما بين معطـى لإلكترون وقرينة مستقـبل الالكترون فإن يمكن قـياس فرق الجهد الكهربـى كميا الذى يعرف بجـهد الاكسدة والاختزال redox potentiol وبالتالى حساب كمية الطاقة الحرة .

ويحسب فرق الجهد E_h بين العنصر وايونه طبقا لمعادلة ارنست Nernst كالتالى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$E_h = E_o + \frac{RT}{nF} \ \ln \ \frac{(Aox)}{(Ared)}$$

$$\therefore \ \ \Delta E = (\frac{RT}{nF}) \ln K \quad or \quad nF \Delta E = RT \ln K \qquad ....\ (5)$$

وعندما يكون نشاط الاكسده مماثل لنشاط الاختزال فإن المعادلة تصبح :

$$E_h = E_o$$

وقد يستخدم الرمز E_{m7} ليعبر عن فرق الجهد القياسى (E_o) عند اختزال ٥٠ ٪ من الوسط وعند pH 7.0 (أى عند نقطة الوسط midpoint) .

مثال :

لحساب الطاقة الحرة القياسية (ΔF^o) فى تفاعلات الاكسده والاختزال البيولوجية للتفاعل .

$$\text{lactate + acetaldehyde} \rightleftharpoons \text{pyruvate + Ethanol}$$

وذلك عند pH 7.0 علما بأن Em لنظام لاكتات / بيروفات هى 0.19 V - ولنظام اسيتالدهيد / ايثانول هى 0.20V -

$$\therefore \ \ \Delta Em_7 = - 0.20 - (-0.19) = - 0.01V$$

ومن التعويض فى معادلتى (4) , (5) يكون

$$\Delta F^o = - nF \ \Delta \ Em \qquad ....\ (6)$$

حيث n = عدد الالكترونات = 2

F = ثابت فارادى 96.500C

Δ Em = الفرق بين قيم Em للنظامين

$$\Delta F^o = -2 \times -0.0l \times \frac{96.500}{418}$$

$$= 461.72 \ \text{cal}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥،١ حفظ الطاقة وانطلاقها : Energy storage and release

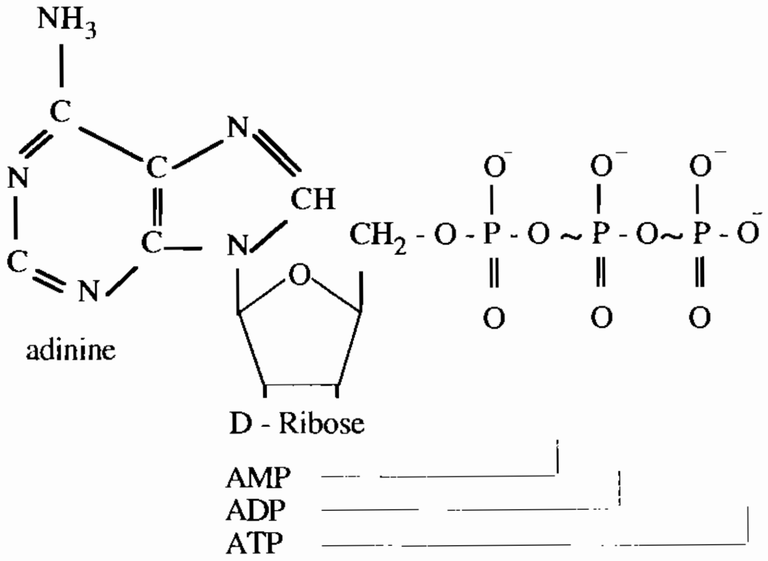
يوجد نظام لتحويل الطاقة الناتجة من تفاعلات الاكسدة داخل الخلايا الحية لتستخدم فى التفاعلات المستهلكة للطاقةوذلك بتكوين مركبات فوسفاتية خاصة لتخزين الطاقة والتى يمكن استعادته بتحول ATP إلى ADP أو ما يسمى acceptor - Ⓟ وقد عرفت كيفية هذا التفاعل بالكامل حيث لوحظ عند عزل ATP لأول مرة من العضلات حدوث تفاعل تحلل مائى انزيمى مع تكوين ADP وفوسفات معدنى.

$$ATP^{4-} + H_2O \longrightarrow ADP^{3-} + HPO_4^{2-} + H^+$$

مع انطلاق كمية طاقة (حرارة) محسوسة وقد قدرت عند 7.0 pH ودرجة حرارة ٢٥ ْم كالتالى :

$$\Delta F^0 = -7000 \ cal / mole$$

وهذه الكمية من الطاقة (7000 cale) لا تمثل الطاقة الحرة الحقيقية المنطلقة أثناء تحليل ATP لأن ADP ، ATP لا توجد فى الخلايا فى تركيزات متعادلة كما أنهما يكونا مع Mg^{++} مركبات معقدة مما يؤدى إلى اختلال التوازن فى المعادلة السابقة ولقد افترح hehninger سنة ١٩٦٥ انها تصل إلى ١٢٠٠٠ كالورى / مول .



شكل ١-١ : التركيب الكيمياوى للمركبات الفوسفاتية الغنية بالطاقة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والطاقة الحرة الناتجة من التحليل المائى لـ ATP اعلى بكثير من الناتجة من تحلل الاسترات البسيطة أو الجليكوسيدات وهذا احد الأسباب التى دعت إلى تسمية ATP بالمركب الفوسفات الغنى بالطاقة حيث يتميز بخاصتين اساسيتين :

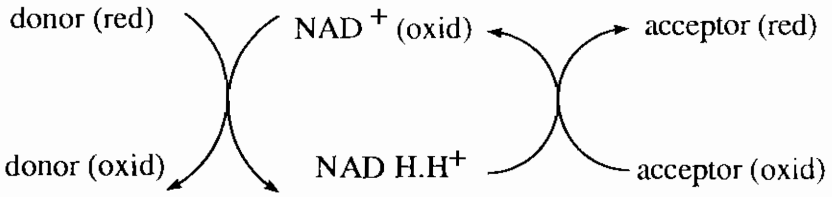
أولاً: البناء الكيماوى يحتوى على ٣ انواع من الهياكل البنائية هى الحلقة الارومانية المعروفة بالادينين مرتبطة برابط جليكوزيديه مع سكر الريبوز الخماسى الذى يرتبط به مجاميع الفوسفات المرتبطة ببعضها بروابط استربه .

وعند pH 7.0 فإن بناء البولى فوسفات الخطى (المستقيم) للمركب ATP يتأين بالكامل معطيا ATP ذو اربع شحنات سالبة فإذا تحللت مجموعة الفوسفات الطرفية فإن الكهروستاتيكية بين المجاميع تتفكك وتتوزع جزئيا على ADP^{3-} ، ايون الفوسفات PO_4^{2-} .

ثانياً: نواتج التحليل ADP + HPO_4^{2-} ثابتة والوضع الجديد لالكترونات ADP يتكيف بسرعة عند كسر الرابطة بطريقة لا تحتاج إلى طاقة كبيرة . وعند كسر وتأين مجاميع الفوسفات الثلاثة بالكامل فإن مركبات ثابتة ذاتية تتكون بالاتحاد مع Mg^{++} ، Ca^{++} .

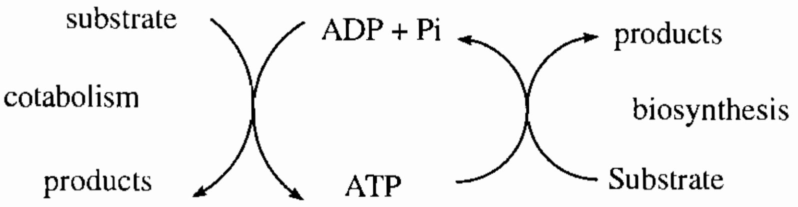
كيفية حفظ الطاقة فى ATP : هناك طريقتان

(١) يعقب عملية الاكسدة (للمعطى) عملية اختزال للمركبات الوسطية (المستقبل) وانتقال الشحنات المختزلة يجرى بواسطة حوامل اكسدة واختزال وسطية مثل NAD^+ , $NAD\,P^+$ كالتالى .



(٢) اكسده المواد الداخلة فى تفاعل الهدم Catabolite يتبعه عملية انتقال طاقة للتفاعلات الحيوية التخليقية التى تحتاج لطاقة endergonic وعندئذ فإن ATP يخلق ثم يهدم مرة أخرى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com .



وفى كلا الحالتين فإن تفاعلات الهدم والتخليق تـتقابل أو تتلازم عبر ميكانيكية الأكسدة والاختزال وكلاهما يؤديـان لانتاج وحفظ وانطلاق الطاقة عن طريق استـرة الفوسفات التى تعرف بالفـسفرة التى تقسم إلى قـسمين يطلق عليهما :

(١) الفسفرة المؤكسدة oxidative phosphorylation .

(٢) الفسـفرة عند مستوى مادة التفاعل substrale level phosphorylation .

٦٠١ الفسفرة المؤكسدة : oxidative or e-transport phosphorylation

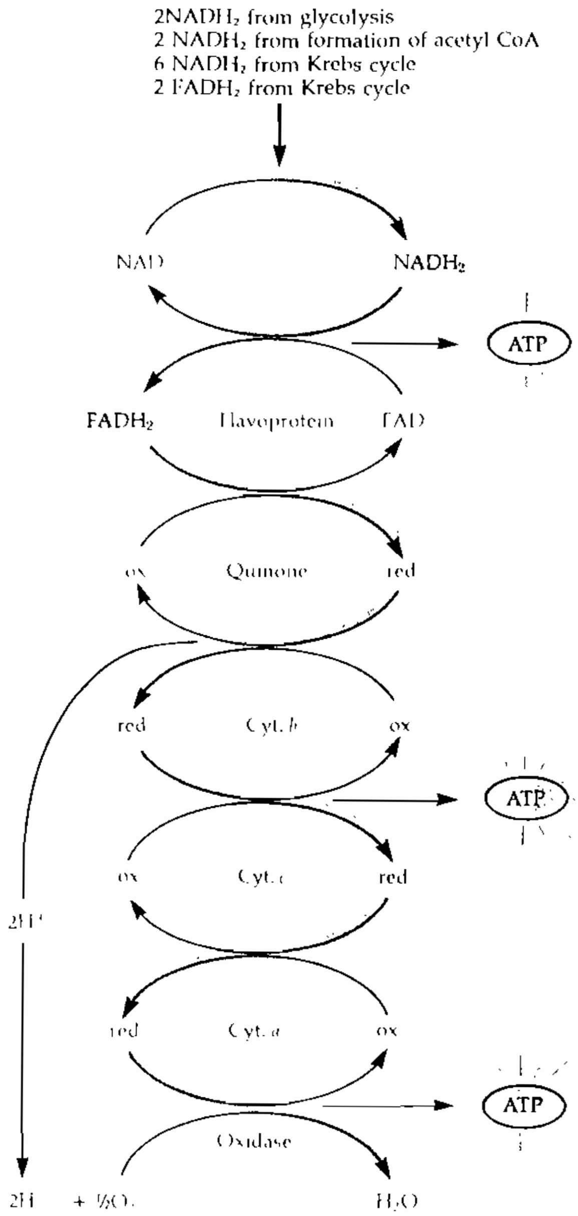
أثناء اكسدة مادة التفاعل فإن الالكترونيات تنطـلق وتستقبل بواسطة عامل مؤكسد . فلو فرضنا أن مـادة التفاعل جزئ الايـدروچين والعامل المؤكـسد هو الاكـسچين فـإن فرق الجهد بينهما سيكون .

$$\Delta Em = 0.81 - (-0.42) = 1.23 \text{ V}$$

والذى يعادل $\Delta F^o = 57$ kcal / mole طبقا لقانون $\Delta F^o = - n F \Delta Em$ السابق .

وفى تفاعلات الخلـية الحية فإن جزئ الايدروچين يعتـبر كمعطى للإلكترون ثـم تنتقل الالكترونات لمواد وسطية تعمـل كحامل للالكترون مثل NAD^+ , $NADP^+$ حيث يختزل هذا الحامل إلى $NADH.H^+$, $NADPH.\ H^+$ وفرق الجهد لهذا الاختزال هو 1.12V أى ما يعادل $\Delta F^o = - 52$ kcal وهذه الكمـية من الطاقة يمكـن أن تؤدى لتحطيـم الخلية إذا انطلقت فى شكل حرارة ولهذا تقوم الخلية بتقسيم هذا التفاعل إلى عدد من الخطوات الفردية الصغيرة بمعنى أن $NAD(P)H.H^+$ غير قادرة على التفاعل مـباشرة مع الاكـسچين ولكن تتفاعل مـع عدد من المركبات الوسطيـة فى عدة خطوات متتالـية وهو ما يطلق عليـه سلسلة تفاعلات الاكسدة والاختزال أو سـلسلة انتقال الالكترونات وبالتالى تصـبح الخلية قادرة على حفظ جـزء من الطاقـة فى صورة طاقـة كيميـاوية (ATP) وهذا النـظام يعرف فى النـهاية بالسـلسلة التنفسية .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

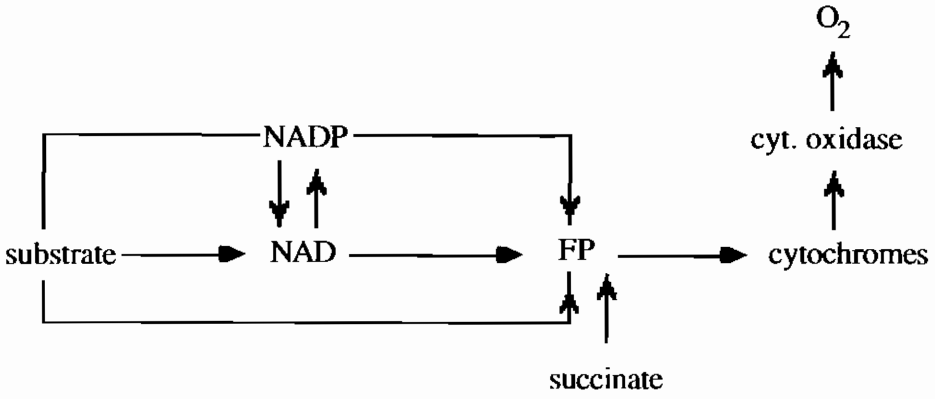


شكل ١-٢ : تفاعــلات الاكسدة والاختزال فـــي السلسلة التنفسة نقـــلا عـــن

Tortora etal, 1986

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

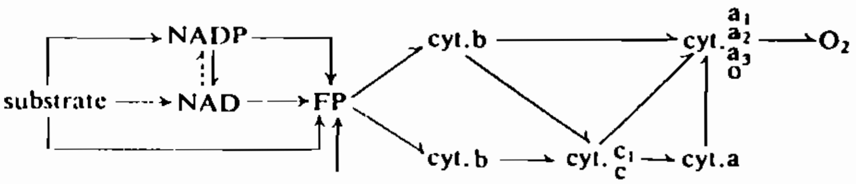
وبالرغم من ان ميكانيكية انتقال الالكترون فى الثدييات قد درست جيدا إلا أنها فى الخلية البكتيرية مازالت محل الدراسة والسبب الرئيسى فى ذلك الاختلافات الكبيرة بين التفاعلات الايضية فى أنواع البكتيريا المختلفة . والصيغة العامة لهذا الميكانيكية قد لخصها Dolin سنة ١٩٦١ كما يلى :



شكل ١-٣ : النظام العام لانتقال الالكترونات

حيث ينتقل الالكترون من مادة التفاعل (donor) إلى NAD^+ والذى ينقله بدوره إلى السيتوكروم عبر الفلافوبروتين أما نوع أو عدد مكونات السيتوكروم فإنها تختلف من نوع لآخر فى البكتريا وايضا باختلاف ظروف النمو للنوع الواحد وقد تكون هذه الصيغات على صورة سيتوكروم a , a_3 , b , $C.$, C_1 . أو قد يحدث عدد من التداخلات بينهم والاختلاف الرئيسى بين الثدييات والبكتريا فى نظام السيتوكروم يبدو فى وجود oxidases عديدة فى البكتريا .

ويمكن تلخيص الطرق المختلفة الممكن حدوثها فى مختلف أنواع البكتريا كمايلى :



شكل ١-٤ الاحتمالات المختلفة لنظام انتقال الالكترونات فى الكائنات الدقيقة

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

والسيتوكروم فى النظام البكتيرى الذى يرتبط مع جزئيات غير ذائبة داخل الخليه له القدرة على التحول بمعدلات عالية جدا والصور الأكثر شيوعا لتوليفات السيتوكروم البكتيرى يمكن تلخيصها فى الجدول التالى مع بعض صور معطيات ومستقبلات وحاملات الالكترون .

Couple	E_0' (V at pH 7.0)
$2\,H_2O \rightleftharpoons O_2 + 4\,H^+ + 4\,e$	+0.816
$NO_2^- + H_2O \rightleftharpoons NO_3^- + 2\,H^+ + 2\,e$	+0.421
$H_2O_2 \rightleftharpoons O_2 + 2\,H^+ + 2\,e$	+0.295
Cyt. $a_3^{2+} \rightleftharpoons$ cyt. $a_3^{3+} + 1\,e$	+0.285
Cyt. $a^{2+} \rightleftharpoons$ cyt. $a^{3+} + 1\,e$	+0.290
Cyt. $c^{2+} \rightleftharpoons$ cyt. $c^{3+} + 1\,e$	+0.250
Succinate $\rightleftharpoons$ fumarate $+ 2\,H^+ + 2\,e$	+0.031
$H_2 \rightleftharpoons 2\,H^+ + 2\,e$ (pH 0)	0.0
Cyt. $b^{2+} \rightleftharpoons$ cyt. $b^{3+} + 1\,e$ (pH 7.4)	−0.040
Lactate $\rightleftharpoons$ pyruvate $+ 2\,H^+ + 2\,e$	−0.19
FADH $+ H^+ \rightleftharpoons FAD^+ + 2\,H^+ + 2\,e$	−0.22
NADH $+ H^+ \rightleftharpoons NAD^+ + 2\,H^+ + 2\,e$	−0.32
NADPH $+ H^+ \rightleftharpoons NADP^+ + 2\,H^+ + 2\,e$	−0.324
$H_2 \rightleftharpoons 2\,H^+ + 2\,e$	−0.414
Glyceraldehyde 3-P $+ H_2O \rightleftharpoons$ 3-phosphoglycerate $+ 3\,H^+ + 2\,e$	−0.57
α-Ketoglutarate $+ H_2O \rightleftharpoons$ succinate $+ CO_2 + 2\,H^+ + 2\,e$	−0.673
Pyruvate $+ H_2O \rightleftharpoons$ acetate $+ CO_2 + 2\,H^+ + 2\,e$	−0.699

جدول ١-١ : جهد الاكسدة والاختزال وصور بعض معطيات ومستقبلات وناقلات الالكترونات نقلا عن Dolin , 1961

ومن الجدول السابق يمكن معرفة أن اكثر معطيات الالكترونات جهدا هى الجليسرلدهيد ، حمض الكتيوجلوتاريك ، حمض البيروفيك إلى مركبات الكربونيل والكربوكسيل .

وترجع أهمية السلسلة التنفسية فى امكانية نقل الطاقة الحرة الناتجة فى كل خطوة إلى طاقة كيمياوية بواسطة تكون ATP وتخزينه وتعتمد كمية الروابط الفوسفواسترية الغنية بالطاقة (P ~) على ΔF للتفاعل وعلى عدد الخطوات الممكنة لحفظ الطاقة .

وكمثال :

إذا تفاعل امول $NAD\,H.\,H^+$ مع 0.5 مول اكسچين وخرجت كمية طاقة مقدارها ٥٢

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

كيلو كالورى (كما سبق حسابه) فإن تكوين ٣ مول ATP من Pi + ADP يحتاج حوالى ٢١ كيلو كارى وهكذا فإن ٤٠٪ من الطاقة ستتحول فقط . كما ان بعض مواد التفاعل التى تختزل (ليس بواسطة NAD^+) ولكن بواسطة FP (الفلافوبروتين) مثل السكسينات كما بالرسم السابق أو بواسطة Cyt. C فإنها تحتاج أقل من ٣ مول ATP علما بأن الاكسجين هو المستقبل النهائى للالكترون .

ونتيجة مثل هذه الحسابات يعبر عنها بـ P/o ratio حيث تمثل هذه النسبة كمية الفوسفات التى أُسترت (P ~) بالنسبة لذرة الاكسجين .

ولكن يظل السؤال الهام فى عملية الفسفرة المؤكسدة قائماً وهو ما هى الميكانيكية التى تتحول بها الطاقة الحرة الناتجة إلى المركب ATP وحتى الآن يوجد افتراضين اساسيين :

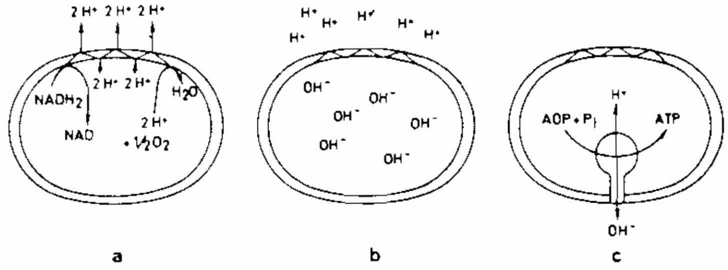
(١) نظرية slater عن التقابل (التلازم) الكيمياوى chemical coopling خلال (عبر) المركبات الوسطية الغنية بالطاقة C~A والذى تتشابه مع فسفرة مادة التفاعل ويعيب هذه النظرية أنه حتى الآن لم يعزل أى من الوسطيات الغنية بالطاقة .

(٢) نظرية Mitchell عن chemoiosmosis حيث يلزم أولا وجود فرق فى التركيز الكهروكيمياوى وتعتمد على افتراض انه أثناء تفاعلات الاكسدة والاختزال بملامسة الانزيمات المرتبطة على الغشاء السيتوبلازى فإن ايون H^+ يتكون فقط خارج الغشاء اما ايون OH^- فداخله حيث يتبادل H^+ مع K^+ بينما OH^- مع Cl^- مسببا تدرج كهروكيمياوى القادر على احداث شغل مفيد ويعتقد أن هذا التدرج يتوازن (يتعادل) عند مناطق معينة مع تكوين حوامل غنيه بالطاقة وطاقة هذه الحوامل كافيه لربط الفوسفات المعدنى برابط استر مع ADP وتكوين ATP اما فرق الجهد عبر الغشاء فهو نتيجة Proton translocation .

ولقد طورت حديثا هذه النظرية كما يصورها رسم (رقم ١-٥) معتمدة على تصور وجود بناء غشائى داخلى كما هو الحال فى الكائنات الراقية eucaryotes (الميتوكوندريا) أو فى البكتيريا Procaryotes (الغشاء السيتوبلازمى) وتنتقل المكافئات المختزلة (البروتون أو الالكترون) المشتقة من مادة التفاعل عبر الغشاء مكونة تدرج كهروكيمياوى ذو جهد موجب على السطح الخارجى وجهد سالب على السطح الداخلى للغشاء وينتج عن هذا التدرج ما يعرف بـ proton motive force وهى القوه اللازمة لتخليق ATP من Pi + ADP فى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وجود انزيم متخصص على السطح الداخلى للغشاء (ATP - Synthase) بسبب هجرة البرتونات من السطح الخارجى إلى الداخلى للغشاء ولذا اطلق على تكوين ATP بهذا الأسلوب electran transport phosphorylation .



(a) NADH$_2$ oxidation and proton extrusion; (b) electrochemical gradient between inner and outer surfaces; (c) regeneration of ATP as a consequence of the backflow of protons

شكل (١-٥) : رسم توضيحى لعملية الفسفرة بانتقال الالكترون (شليجل ١٩٨٦)

٧٠١ الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل : Substrate level phosphorylation

يُعتقد أن تفاعل الاكسدة والاختزال مع انطلاق كمية طاقة حرة كبيرة يؤدى إلى تخليق ATP مباشرة بدون الحاجة إلى سلسلة انتقال الالكترونات وقد اثبت Lehninger سنة ١٩٦٥ هذا الافتراض بتفاعل حقيقى يلاحظ كمايلى :

عملية اكسده الالدهيد إلى حمض الكربوكسيل فى وسط مائى يؤدى لانتاج طاقة كبيرة .

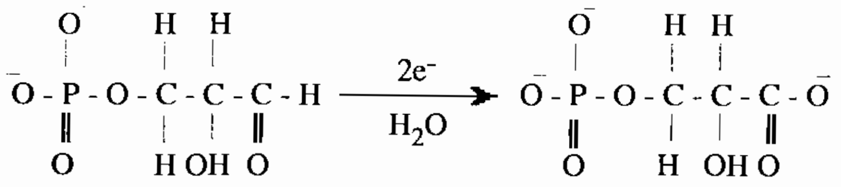
$$R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-H + H_2O \longrightarrow 2H + R-\underset{\underset{O}{\|}}{C}-O^- + H^+$$

$$\Delta F^o \cong -7000 \text{ Cal / mole}$$

وفى داخل الخلية الحية فإن هذه الطاقة لا تفقد بسهولة كحرارة ولكن يخزن معظمها .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وعلى سبيل المثال اكسده ٣-فوسفو جليسرلدهيد إلى حمض ٣ فوسفوجليسرات أثناء اكسدة الجلوكوز .



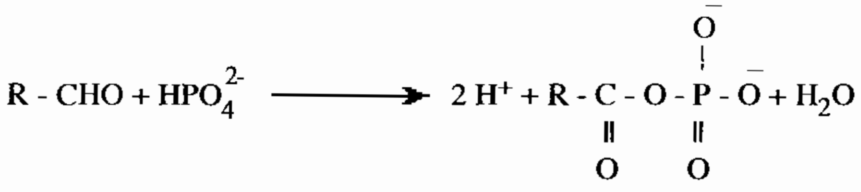
$$R-CHO + HPO_4^{2-} + ADP^{3-} \longrightarrow 2H^+ + R-COO^- + ATP^{4-}$$

$$\Delta F^o = O \ Cal / mole$$

وهكذا فإن الطاقة الحرة (7000 cal / mole ~) الناتجة من أكسدة الالدهيد تدمص فى تكوين ATP من ADP والفوسفات وبالتالى فإن ناتج التفاعل هو Zero cal / mole .

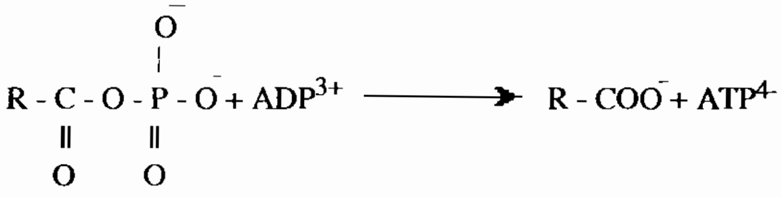
ويحدث انتقال الفوسفات من خلال خطوتين مستقلتين يلامس كل منهما انزيم مستقل .

خطوة (١):



حيث تخزن الطاقة فى رابطة الفوسفات المرتبطة مع حمض الكربوكسيل وهذا يعتبر مركب وسطى .

خطوة (٢):



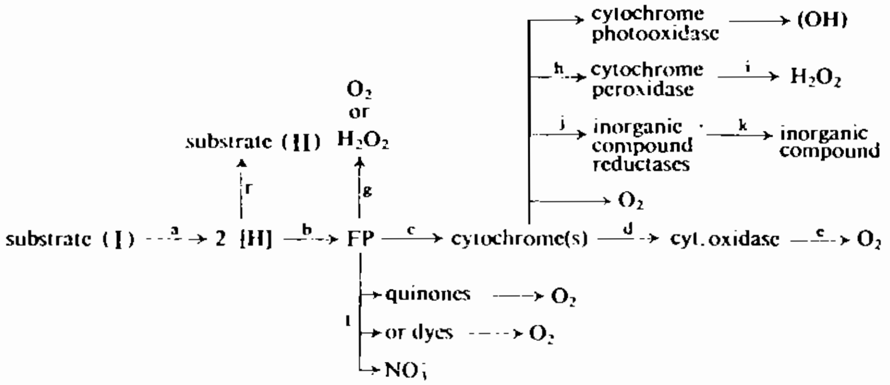
حيث تنتقل الطاقة الناتجة من التحليل المائى لمجموعة الفوسفات الكربوكسيلية انزيميا إلى ADP وتكون ATP .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وهناك العديد من البكتريا قادرة على تكوين بولى فوسفات أو ميتافوسفات ذات وزن جزئ مرتفع وهذه العملية تبدو كطريقة لتخزين الطاقة العالية فى صورة مركبات فوسفاتية .

وتلاحظ عملية الفسفرة عن مستوى مادة التفاعل **Substrate level phosphorylation** عادة فى البكتريا اللاهوائية أثناء العمليات التخمرية . ولكن عموما ليس هناك أى تحديد بأن نظام انتقال الالكترون فى البكتريا اللاهوائية يختلف عن الهوائية والدليل على ذلك أنه لا يوجد فرق فى نظام انتقال الالكترون المرتبط بالسيتوكروم فى البكتريا الاختيارية عند تنميتها سواء هوائيا أو لاهوائيا وانما يوجد نظام وسطى تستطيع البكتريا بواسطته أن تكون أقل اعتمادا على السيتوكروم مثلما الحال فى lactobacillaceae النامية هوائيا حيث لا تعتمد كلية على السيتوكروم وسنناقش ذلك فيما بعد (باب ٩) .

ومن خلال المعلومات المتاحة حاليا فإن تصور نظام انتقال الالكترونات فى معظم الكائنات الدقيقة كما وصفه Dolin, 1961 مازال يستخدم كدليل لدراسة التفاعلات الايضية فى البكتريا .



شكل (١-٦) : تصور عام لنظام انتقال الالكترونات

فى البكتريا الهوائية ، الاختيارية واللاهوائية

ومنه استنتج Dolin, 1961 بعض النتائج التالية كما هو مبين بشكل (١-٦) السابق :

(١) البكتريا الهوائية الحتمية لا تستطيع النمو فى غياب O_2 ولا يقوم بأى عمليات تخمرية وطريقة انتقال الالكترون هو (خطوات e , d , c , b , a) .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

(٢) اللاهوائية الاختيارية يمكن ان تنمو فى وجود أو غياب O_2 حيث تستخدم التفاعلات التخمرية فى غياب O_2 ويوجد منها مجموعتين :

(أ) لا تعتمد على السيتوكروم مثل بكتريا حمض اللاكتيك وطريقة انتقال الالكترونات اما هوائى (خطوات a , b , g) أو لاهوائى (a , f) .

(ب) تعتمد على السيتوكروم مثل الكوليفورم وطريقة انتقال الالكترونات اما هوائيا (خطوات a , b , c , d , e , g) لا هوائيا (خطوات a , f , a , b , c , j) أو اختزال النترات (a , b , l) .

(٣) اللاهوائية الحتمية وهو لا تنمو هوائيا مطلقا ومنها مجموعتين :

(أ) لاتعتمد على السيتوكروم مثل *Clostridium* وطريقة انتقال الالكترونات (خطوات a , f) .

(ب) تعتمد على السيتوكروم مثل *Desulfovibrio* وطريقة انتقال الالكترونات a , b , c , j (ماعدا اختزال ايون الكبريت بدون الخطوة c) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

اسئلة لمراجعة الباب الأول

١ - ما هى الطاقة ؟

٢ - ما هى قوانين الديناميكية الحرارية الثلاث ؟

٣ - عرف كل من entropy - enthalpy - Free enengy .

٤ - اشرح المعادلة $\Delta F = \Delta F^{o} \times RT \ln k$.

٥ - كيف يمكنك حساب الطاقة الحرة لعديد من التفاعلات المشتركة فى دوره ايضيه ؟

٦ - ماهو جهد الاكسدة والاختزال لنظام معين ؟

٧ - اشرح معادلة نرنست Nernst eq .

٨ - كيف تؤثر الحرارة ، pH على جهد الاكسدة والاختزال ؟

٩ - اشرح الأسس العامة لحفظ الطاقة فى الأنظمة البيولوجية .

١٠- لماذا يسمى مركب مثل ATP مركب غنى بالطاقة ؟

١١- اشرح الفرق بين فرضى Mitchell & Slater فى الفسفرة المؤكسدة .

١٢- اشرح الفرق بين الفسفرة المؤكسدة والفسفرة عند مستوى مادة التفاعل .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مراجع الباب الأول

1- Dolin, M. I. (1961). Survey of microbiol electron transport mechanisms. In : The bacteria. (Gunsalus and stanier, eds), Vol 2, Academic Press, New York.

2- Glasstone S. (1954). Introduction to electrochemistry. 6th Ed. Van Nostrand, Reinhold, princeton. New Jersey.

3- Klots I. M. (1967). Enengy Changes in biochemical reactions. Academic press, New York .

4- Karlson, P. (1970) . Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 7th Ed. Thieme - Stuttgart .

5- Lehninger, A. L. (1965). Bioenergetics. Benjamin, New York.

6- Schlegel, H. G (1969). "Allgemeine Mikrobiologie" Thieme, stuttgart.

7- Smith, L. (1961). Cytochrome System in aerobic electron transport. In: The bacteria. (Gunsalus and stanier eds), Vol 2, Academic Press, New York.

8- Tortora, G. J., Funke, B.R. and Case, C.L. (1986). Microbiology: an introduction. 2nd Ed. Benjamin/ Cummings Publ. Co., California.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الباب الثانى

الانزيمات - المرافقات الانزيمية - الطاقة الحركية للنمو البكتيرى

Enzymes, Coenzymes and bacterial growth kinetics

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثانى

الانزيمات - المرافقات الانزيمية - الطاقة الحركية للنمو البكتيرى

Enzymes, Coenzymes and bacterial growth kinetics

يمكن للتفاعلات المنتجة لطاقة عالية (ΔF^{O} عالية وسالبة القيمة) أن تتم فى اتجاه ثابت وتكون المحصلة مواد ناتجة products اكبر من المواد الداخلة reactants عند التعادل . اما التفاعلات ذات ΔF المنخفضة أو الغير سالبة فتحتاج إلى عامل لمسى Catalyst . ومن الوجهة الثرموديناميكية فإن العامل اللمسى هو الذى يخفض lowers طاقة التنشيط الحرة .

أما من الناحية الفيزيقية فإن مادة التفاعل تتحد مؤقتا مع العامل اللمسى وبالتالى فإن طاقة مادة التفاعل يعاد توزيعها لجعل روابط معينة أكثر مرونة للتحلل .

١٠٢ تعريف وخواص الانزيمات :

الانزيمات هى عوامل لمسية حقيقية لانها لا تؤثر على نقطة التعادل للتفاعل الذى تلامسه ولا تُستهلك أثناء التفاعل ولها القدرة على خفض طاقة التنشيط activation energy للتفاعل الذى تلامسه للوصول لحاله التعادل . وكل تفاعل انزيمى يظل فى حالة شغل حتى يصل لحالة التعادل ويعتبر هذا احد القواعد الاساسية فى علم الانزيمات . والامكانية الوحيدة للتفاعل لكى يستمر بعد حالة التعادل تظهر فى التفاعلات المتلازمة أو المتقابلة Coupled reactions حيث الناتج من التفاعل الأول يلامس مباشرة بواسطة انزيم ثان للحصول على ناتج آخر وهكذا .

ولهذا فلا يمكن لاى كائن أن ينغلق على نفسه فى مرحلة التوازن أو التعادل الكيمياوى لأن أى نظام فى حالة التعادل لايستطيع عمل أى شغل . وهذه الاستمرارية تجاه حالة التعادل تشبه حالة الثبات steady state حيث لابد من تغذية مستمرة بمادة التفاعل ويخرج

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

من الناحية الاخرى نواتج التفاعل . وحيث ان الكائنات تمثل نظاما مفتوحا فإن حالة الثبات تؤدى لتكوين تركيزات ثابتة .stationary conc والتى تختلف عن القواعـد الثرموديناميكية للتعادل الكـيمياوى وهذا هو السبب الرئيـسى ان التفاعلات الحيوية تظل فـى حالة شغل فى اتجاه حالة التعادل وعادة يحصل الكائن على طاقته من هذه التفاعلات .

وكل الانزيمات التـى تُوّصل إلى تركيبها الكـيمياوى حتى الآن هى بروتـينات والطرق المستعملة لفصل وتنقية الانزيمات هى نفسها المستعملة لفصل وتنقية البروتين .

جزئيات الانزيمات لها عمر محدد داخل الخـلية كما أنها سريعة الدنتره Denaturation وتفقد خواصها الـلمسية عند حرارة ٥٠ ْم أو أعلى أو بواسطة أيونات المعادن الـثقيلة وتتأثر كثيرا بدرجة الحموضة (pH) .

تختلف الانزيمات عن العوامل اللمسية الغير عـضوية مثل البلاتنيوم فى صفات منها انها أكثر تخصصا وأقل ثباتا .

تتـكـون اغلـب الانزيمـات مـن جزء بـروتيـنى Apoenzyme ومرافـق انزيمـى Prosthetic group or coenzyme والجزء البروتيـنى يختص بتحديد مادة التـفاعل التى يلامسـها واتجاه التفاعـل ولهذا يمكن للمرافق الانزيمى ان يلامس تفاعلات مـختلفة حسب ما يسمح به apoenzyme .

وعندما يلامس انزيم تفاعـل معين فإنه يتحد مؤقتا مع مادة التفاعـل مكونا معقد انزيمى مع مادة التفاعل enzyme substrate complex ويكون الاتحاد عند المـركز النشط active site وتتحول مادة التفاعـل إلى نواتج معينة بينما يعود الانزيم إلى حـالته الاولى ويتحد مع جزئ آخر ويكرر ذلك .

يمكن تثبيط معظم الانزيمات بواسطة المواد السامة المتخصصة وهى تشبه لحد ما فى بنائها مادة تفاعـله . وهذه المثبطات هامـة فى تحليل ومعرفة الـتفاعلات التى يلامسـها الانزيم فى الخلية .

عندما تتـفاعل مجموعة من الانـزيمات فى سلسلة متـعاقبه بحيث أن النـاتج من تفاعل انزيمى معين يصبح مادة تفاعل لانـزيم آخر وهكذا فإن هذا النظام يعرف multi - enzyme system وتعرف سلسلة التفاعلات بالدورة الايضية metabolic pathway .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

درجة تخصص بعض الانزيمات عالية جدا فمثلا انزيم جليسرلدهيد ٣ فوسفات ديهيدروجنيز تتفاعل فقط مع D-isomer من المركب ولا يتفاعل مع L-isomer .

يرجع الاختلاف بين الانزيمات وبعضها إلى عدة اسباب منها نوع ونسب الاحماض الامينية الداخلة فيها ، كيفية تتابع الاحماض الامينية داخل السلسلة الببتيدية ، نوعية الروابط الثانوية ، طبيعة المراكز النشطة الخاصة بكل انزيم .

٢٠٢ سرعة التفاعلات الانزيمية : Velocity of enzymatic reactions

تعتبر مادة التفاعل من أهم العوامل التى تحدد سرعة التفاعل الانزيمى . فالانزيم يُكَوِّن اولا معقدا مع مادة تفاعله ثم ينكسر هذا المعقد معطيا الانزيم الحر وناتج التفاعل كالتالى :

$$\text{Enzyme + Substrate} \rightleftharpoons \text{Enzyme - Substrate complex}$$

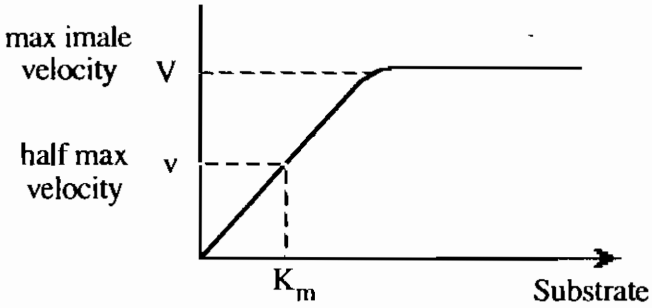
$$E + S \rightleftharpoons ES$$

$$ES \rightleftharpoons \underbrace{A + B}_{\text{products}} + E$$

ويمكن حساب ثابت التشبع (التوازن) لمادة التفاعل كالتالى :

$$K_{eq} = \frac{[E] \times [S]}{[ES]}$$

ويمكن تمثيل العلاقة بين سرعة velocity أى تفاعل انزيمى مع مادة التفاعل بالرسم التالى :



شكل (٢-١) : العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمى ومادة التفاعل

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وعند v يكون نصف الانزيم الداخل فى التفاعل فى صورة معقد (ES) واما النصف الآخر فيكون حرًا أو بمعنى آخر فإن تركيز مادة التفاعل عند v يصل لما يعادل dissociation Canstant لمعقد ES ويسمى هذا الثابت Michaelis - Menten Constant ويعرف بأن تركيز مادة التفاعل عند نصف السرعة القصوى للانزيم أو عند نصف تشبع الانزيم بمادة التفاعل .

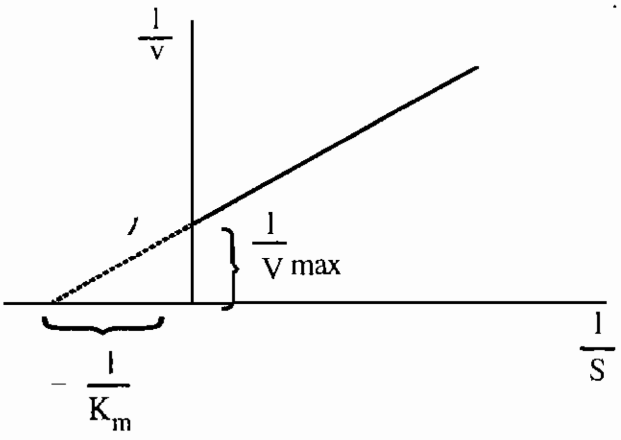
$$K_m = [S] \text{ at half maximal velocity}$$

وعندما تكون قيمة K_m عالية فإنه يعنى الاحتياج لتركيز عالى من مادة التفاعل أو أن الانزيم يملك حساسية قليلة لمادة التفاعل وهذا الثابت يتراوح عادة بين 10^{-2} - 10^{-5} mole/l.

ويمكن حساب K_m معمليا بسهولة . ففى الرسم السابق فإن السرعة القصوى Vmax يصل اليها عندما يشبع الانزيم بمادة التفاعل أى كل الانزيم يتحول إلى معقد ES وعندئذ تصبح المعادلة الرياضية .

$$v = V\left(\frac{S}{K_m + S}\right)$$

وإذا رسمت العلاقة بين المتغيرين $\frac{1}{v}$ ، $\frac{1}{S}$ فإنه يمكن بسهولة تقدير K_m ، Vmax كما بالرسم التالى :



شكل (٢-٢) : تقدير Vmax ، Km (السرعة القصوى ، ثابت ميخائيل) من Lineweaver - Burk plot

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

اما معدل التفاعل الانزيمى reaction rate فيستخدم لتقدير وحدة الانزيم enzyme unit (U) والتى تعرف بالكمية التى تلامس تحويل 1 µ mole من مادة التفاعل / دقيقة تحت ظروف ثابتة من حرارة (المثلى ٣٠ م) ، pH ، تركيز كاف من مادة التفاعل لتشبع الانزيم (zero erder kenetic) كما أوصى بذلك الاتحاد الدولى للكيمياء الحيوية (IUB) International Union of Biochemists .

ويقدر Molecular activity بالوحدة لكل ميكرومول من الانزيم عند تركيز مادة التفاعل الامثل أى عدد جزئيات مادة التفاعل المتحولة / دقيقة / جزئ الانزيم وعندما يحتوى الانزيم على مجموعة مرافقة prosthetic group فإن قوة التلامس catalytic power يمكن التعبير عنها بعدد الجزئيات المتحولة / دقيقة / عامل اللمس وتركيز الانزيم فى المحلول بقدر بالوحدات / مللى لتر (units / ml.) .

العوامل التى تؤثر على سرعة التفاعل الانزيمى :

١ - تركيز الانزيم عند ثبات تركيز مادة التفاعل فإن سرعة التفاعل تتناسب طرديا مع تركيز الانزيم .

٢ - تركيز مادة التفاعل كما ذكر سابقا تزداد سرعة التفاعل بزيادة تركيز المادة المتفاعلة حتى نقطة معينة بعدها لا تجدى أى زيادة فى التركيز على سرعة التفاعل حيث يتحول كل الانزيم من الصورة الحرة (E) إلى الصورة المرتبطة (ES) .

٣ - درجة الحرارة علاقة طردية حيث تزداد سرعة التفاعل بارتفاع درجة الحرارة حتى نقطة معينة (المثلى) بعدها تقل سرعة التفاعل ويفقد الانزيم نشاطه تدريجيا ويرجع السبب فى ذلك إلى تأثير الحرارة على طبيعة تركيب البروتين (كسر بعض الروابط الثانوية أو الضعيفة) .

٤ - الاس الايدروچينى pH حيث لكل انزيم درجة pH مثلى يبلغ عندها سرعة التفاعل اقصى ما يمكن ولو زادت أو قلت عن ذلك تقل نشاط الازيم والسبب فى ذلك يرجع لاحتواء مراكز النشاط بالانزيم على مجاميع متأينه وأى تغير فى pH يؤدى إلى تغيير طبيعة تأين هذه المجاميع .

٥ - المنشطات الايونية مثل Ca^{++} , Mg^{++} , Cl^{-} , K^{+} , Fe^{3+} والتى تعمل كهمزة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وصل chelate بين الانزيم ومادة التفاعل أو كناقلة لـلالكترونات فى تفاعلات الاكسدة والاختزال مثل Fe^{3+} فى السـيتوكروم وقد يـكون تأثيرهـا ضار (مثبط) فـى بعض الانزيمات الاخـرى مثل Cl^{-} منشط لانزيـات التحلل المائى للبروتينات ومثبط لانزيم zymase الخاص بتحويل الجلوكوز إلى ايثانول وخليك . كما أن التركيزات العالية من هذه المنشطات الايونية لها فعل عكسى (مثبط) لعمل الانزيم .

٦ - المثبطات وهى مواد عضوية أو أيونية تقلل سـرعة التفاعل الانزيمى أو توقفه مثل ايونات الفضة Ag^{++} ، الرصاص Pb^{2+} ، الزئبقوز Hg^{+1} ومركبات السلف حيث يعمل على تغير التركـيب الطبيعى لبروتين الانـزيم وترسيبه أو تتلف مراكز الـنشاط على الانزيم بالاتحاد معها .

٣٠٢ تقسيم الانزيمات : Enzyme Classification

بناء على القواعد الموضوعة من قِبَل IUB فإن الانزيمات المعروفة مـن زمن طويل تأخذ اسماءها الأولـى مثل trypsin , pepsin اما الاسمـاء الاحدث فتأخذ المـقطع "ase" وهذا المقطع يلحق باسماء التفاعلات الانزيمية - فمثلا Transferases , dehydrogenases . . . الخ - حيث تقسـم الانزيمات إلى مجاميع على اسـاس نوع التفاعل الذى يلامسه وذلـك مسبوقا باسم مادة التفاعل .

وفى حالة استخدام مرافق انزيمى لتلامس انتقال الالكترون من المعطى إلى المـستقبل مثل البيوتين أو البيريدوكسين فإن اسم prosthetic group لا يدخل فى اسم الانزيم .

وكجزء مـن هذا التقسـيم يعطى كـل انزيم رقم حيث يـحتوى رقم كل انـزيم على ٤ عناصر مفصولة بنـقط ويدل العنصر الاول على القسم الذى يتبعـه الانزيم حيث يوجد ستة اقسام رئيسية للانزيمات هى :

١ - انزيمات الاكسده والاختزال . oxidoreductases
٢ - انزيمات نـقل المجاميـــــع . traneferases
٣ - انزيمات التحلل المائـــــــى . Hydrolases
٤ - انزيمات النزع أو الاضافـــة . lyases
٥ - انزيمات التشابة . Isomerases

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦ - انزيمات التخليق Ligases (Synthetases) .

والعنصر الثانى يدل على subclass رقم وصفات المجموعة الداخلة فى التفاعل .

والعنصر الثالث يدل على subsubclass مع تفصيل أكثر تخصصا لنوع المعطى أو المجموعة الداخلة فى التفاعل .

والعنصر الرابع يدل على الرقم المسلسل للانزيم فى subsubclass الخاص به .

وبهذا النظام يمكن ادخال اى انزيم جديد عند نهاية subsubclass الخاص به بدون الاخلال بأى أرقام اخرى وفى حالة الضرورة لانشاء أى subclass , Subsubclass يمكن اضافتها بدون تعديل المجاميع السابقة وهذا هو هدف IUB عند مراجعة الانزيمات الموجودة أو اضافة أى انزيم جديد فلا يحتاج الامر لاعادة ترقيمها . ويتم ذلك بواسطة هيئات معتمدة وليس بواسطة الافراد .

ولتفادى الصعوبات الناتجة عن طول الاسماء فإن IUB وضع نوعين من الأسماء :

١ - الاسم التخليقى للانزيم طبقا لما سبق ذكره من قواعد .

٢ - الاسم التجارى Commercial name وهو قصير وكافى للاستعمال العام ولكن ليس محددا أو منظما مثل السابق . والقواعد المنظمة لهذه التسمية التجارية موجودة فى كتاب Dixan and webb سنة ١٩٦٤ .

ولفهم نظام التسمية هذا نضرب المثال التالى بانزيم فركتوز ١,٦ داى فوسفور الدوليز فالتسمية التخليقية له

Fructese 1.6 - diphosphate D-glyceraldehyde -3- phosphalte lyase

ورقمه الكودى EC 4.1.2.13 وهذا يعنى

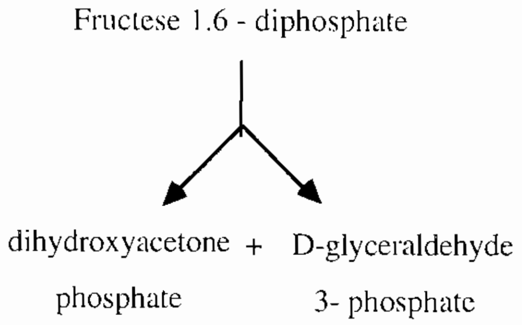
4 يتبع قسم انزيمات الازالة أو الاضافة lyase enzymes للمجاميع الاستبدالية من مادة تفاعلها (ليس بواسطة التحليل المائى) مكونا رابطة زوجية أو مضيفا لمجموعة للرابطة الزوجية .

4.1 الانزيم Carbon - Carbon lyae .

4.1.2 الانزيم aldehyde lyase مع رقم مسلسل 13 .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والتفاعل الخاص بهذا الانزيم هو :



اما الاسم التجارى فهو فركتوز داى فوسفات الدوليز .

٤٠٢ المرافقات الانزيمية : Coenzymes

لكى تؤدى الانزيمات وظيفتها فإن كثير منها يحتاج لمواد عضوية أو غير عضوية معينة كمرافقات انزيمية والتى تتفاعل كمستقبل أو معطى لمجاميع من الايونات التى تنفصل من أو تنضم إلى مادة التفاعل وقديما كان يطلق مصطلح Prosthetic group, Coenzyme كمرادفين لبعضهما ولكن اخيرا تعارف على تسمية المجاميع ذات الرابطة القوية مع مادة التفاعل (والصعب فصلها بـ dialysis مثلا) بـ Prosthetic group أما التى يسهل فصلها فتعرف Coenzyme . والمجموعة الثالثة من المرافقات هى المنشطات activitors وهى ذات طبيعة بسيطة مثل الايونات المعدنية .

وحيث انه لايوجد للأن تقسيم محدد للمرافقات الانزيمية فإنها تعامل بطريقة ابسط من المستعملة فى تقسيم الانزيمات طبقا للتفاعلات التى تلامسها ومعظم المرافقات أما نيوكليدات حقيقية أولها بعض الخواص البنائية المشابهة للنيوكليدات ومعظمها تحتوى قاعدة نيتروجينية فى أحد نهايتى الجزئ ومجموعة فوسفات فى النهاية الأخرى مع أو بدون تركيب كربوهيدراتى بينهما أو يرتبط تركيبين بنائيين معا لتكوين نيوكليدات ثنائية وعلاقتها الوطيدة مع الفيتامينات هامة جدا حيث الفيتامينات ضرورية لبعض الوظائف الحيوية ولا يمكن استبدالها بمواد اخرى كما أن عدد كبير من الفيتامينات ذو وظيفة لمسية حيوية biocatlytic functions وللمعرفة الجيدة بالمرافقات الانزيمية لابد أن تتضمن الدراسة معلومات مفصلة عن التفاعل الذى يلامسه .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Coenzymes[a]

Coenzymes	Usual abbreviation	Group transferred	Corresponding vitamins
1. Hydrogen-transferring coenzyme			
Nicotinamide–adenine dinucleotide	NAD^+	Hydrogen	Nicotinamide
Nicotinamide–adenine dinucleotide phosphate	$NADP^+$	Hydrogen	Nicotinamide
Nicotinamide mononucleotide	—	Hydrogen	Nicotinamide
Flavin mononucleotide (riboflavin phosphate)	FMN	Hydrogen	Riboflavin
Flavin–adenine dinucleotide	FAD	Hydrogen	Riboflavin
Lipoic acid	Lip (S_2)	Hydrogen and acyl	—
Glutathione	GSH	Hydrogen	—
Ascorbate	—	—	—
Coenzyme Q	Q	Hydrogen	—
Cytochromes	cyt.	Electrons	
2. Group-transferring enzymes			
Adenosine triphosphate	ATP	Phosphate	
Phosphoadenyl sulfate	PAPS	Sulfate	—
Uridine diphosphate	UDP	Sugar, uronic acid	—
Cytidine diphosphate	CDP	Phosphoryl choline	—
Pyridoxal phosphate	PALP	Amino	Pyridoxine
Adenosyl methionine	—	Methyl	(Methionine)
Tetrahydrofolic acid	THF	Formyl	Pantothenic acid
Biotin	—	Carboxyl (CO_2)	Biotin
Coenzyme A	CoA	Acetyl	Pantothenic acid
Thiamine pyrophosphate	TPP	C_2-Aldehyde	Thiamine
3. Coenzymes of isomerases and lyases			
Uridine diphosphate	UDP	Sugar isomerization	—
Pyridoxal phosphate	PALP	Decarboxylation	Pyridoxine
Thiamine pyrophosphate	TPP	Decarboxylation	Thiamine
B_{12} coenzyme	—	Carboxyl displacement	Cobalamin

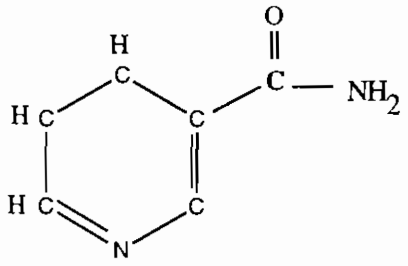
جدول (٢-١) : المرافقات الانزيمية والمجاميع التى تنقلها (عن karlson. 1970)

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

١٠٤٠٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للايدروجين : Hydrogen transferring Coenzymes

(أ) نيوكليوتيدات النيكوتين اميد : Nicotinamide nucleotide coenzymes

تستعمل الانزيمات الناقلة لـلايدروجين فى تفاعلات التخمر والتنفس وغيرها المرافق الانزيمى داى نيوكليوتيدات نيكوتين اميد وهو احد مشتقات البيريدين Pyridine .



التركيب البنائى للبيريدين .

وتسمية هذا المرافق ذات جدل كبير حيث يوجد شائعا فى المراجع اسم (DPN or TPN) di or triphospho pyridine nucleotide

والمراجع الاقدم بها اسماء أخرى مثل Coenzyme II (CoII), Coenzyme I (Co I) , Cozymase , وايضا Co dehydrogenase I & II

وللخروج من هذا الخلاف المصطلحى لنيوكليوتيدات البيريدين فإن IUB وضع التوصيات التالية :

١ - تسمى باسماءها الكيمياوية :

(NAD) nicotinamide - adinine dinucleotide

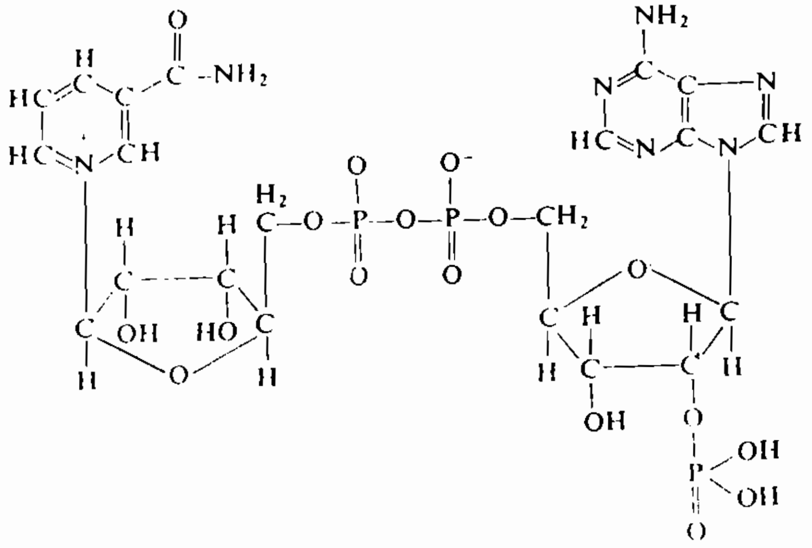
(NADP) nicotinamide - adinine dinucleotide phosphate

ولا تستعمل الاسماء الأخرى .

٢ - يسمح للصورة المختزلة من NAD (P) باستخدام احد البديلين reduced NAD (P) أو $NAD (P) H + H^+$ وعندئذ تسمى الصورة المؤكسدة $NAD (P)^+$ ولا يسمح بكتابة التفاعل على الصورة $NAD (p) \rightarrow NAD(p)H_2$.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

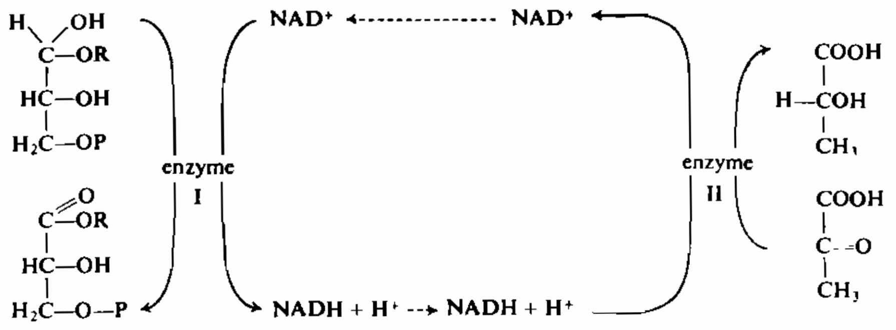
وحلقة البيريدين تتصل برابطة جليكوزيدية بالسكر الخماسى الريبوز بينما يربط حمض البيروفوسفوريك بين جزئى nicotinamide riboside , adenosine ويزيد فى المركب NADP مجموعة فوسفات فى الوضع "2" للسكر الخماسى « الريبوز » كما بالرسم .



شكل (٢-٣) التركيب البنائى لمركبى NAD^+ ، $NADP^+$

والمرافق الانزيمى NAD^+ يمكنه ان يكّون معقداً مع انزيم ما (E_I) وهذا المعقد يتفاعل مع مادة التفاعل ويؤكسدها بينما يختزل هو إلى $NADH. H^+$ وهذه الصورة المختزلة لا يمكنها تكوين معقد مع E_I وينفصل عنه وفى مرحلة تالية من دورة التفاعل يمكن $NADH. H^+$ تكوين معقد مع انزيم ثان (E_{II}) وبهذا المعقد يمكنه اختزال مادة اخرى بينما يتأكسد هو إلى NAD^+ وينفصل مرة أخرى وبهذا فإن NAD^+ يكون حلقة وصل بين الانزيمين كما فى الرسم التالى .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٢-٤) دور $NAD^+ / NADH. H^+$ فى التلامس الانزيمى

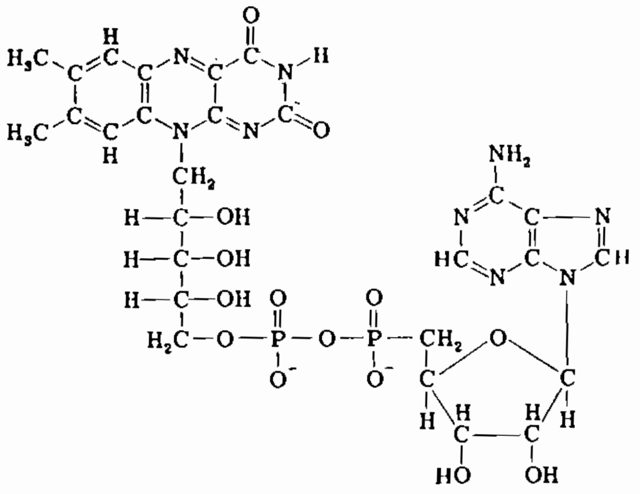
وتكوين $NADH. H^+$ المختزل اثناء التفاعل يمكن قياسه بواسطة جهاز الاسبكتروفوتومتر بظهور منحنى بارز عند 340 nm أما NAD^+ (المؤكسد) فيمكن تحديده ضوئيا عن طريق اختفاء منحنى قياسه عند 340 nm .

ويعمل هذا المرافق الانزيمى فى عمليات نزع الايدروجين dehydrogenation لمجاميع الكحولات الاولية والثانوية ويشارك اساسا فى معظم انزيمات dehydrogenases . ويلاحظ NAD (P) فى كل الخلايا والدورات مرتبطة دائما بـ ATP حيث ATP حامل للروابط الفوسفاتية الغنية بالطاقة بينما NAD حامل للالكترونات فى الخلايا .

(ب) نيوكليوتيدات الفلافين : Flavine nucleotides :

الفلافوبروتينات نوع من انزيمات الاكسدة المحتوية على مستقبل الالكترون يسمى FAD (Flavine - adinine dinucleotide) الذى ينقل الالكترون بطريقة مماثله للمركب NAD وهذا المركب يعتبر حجر البناء فى فيتامين الريبوفلافين (فيتامين B_2) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



riboflavin D-ribose adenosine

شكل (٢-٥) : التركيب البنائى للمركب Flavine - adenine dinuclotide

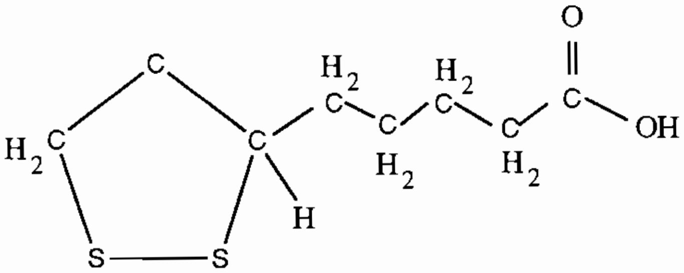
الفرق بين	NAD	FAD
	- احد مشتقات البريدين	- احد مشتقات isoalloxazine
	- السلسلة الجانبية سكر خماسى حلقى D-Ribose .	- السلسلة الجانبية سكر خماسى بولى هيدروكسى من مشتقات Ribitol .

والفلافينات لها القدرة على التفاعل مباشرة مع جزئ الاكسجين (عملية اعادة الاكسدة) حيث يختزل الاكسجين إلى $H_2 O_2$. مثال ذلك lactate oxidase (EC 1.1.3.2) ، pyruvate oxidase (EC1.2.3.3) وتشير الدلائل انه عند اختزال الريبوفلافينات تأخذ الكترون واحد فقط وليس زوج من الالكترونات مثل NAD .

(جـ) حمض الليبوئيك : Lipoic acial :

أول من اطلق هذه التسمية هو Read وآخرون سنة ١٩٥٧ على حمض عضوى معزول من مستخلص كبد البقر وهو نشط جدا فى احلال الاستات فى بكتريا حمض اللاكتيك acetate replacing factor وتركيبه الكيمياوى هو 1.2 - dithiolane 3- valeric acid

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



وتعتمد كفاءته البيولوجية على الرابطة ثنائية السلفيد disulfide الموجودة فى حلقة dithiolane ويمكن قياس حمض الليبوتيك ضوئيا بواسطة جهاز الاسبكتروفوتومتر عند 330 nm . وهو شائع الانتشار فى الكائنات الدقيقة والنباتات والحيوانات وهو يعمل كـ Prosthetic group فى المعقدات الانزيمية ذات الاغراض المتعددة (Ginsburg & statman, 1970) والتى تلامس عمليات الاكسدة المصحوبة بنزع ك أ٢ من البيروفات ، الفاكيتوجلوتارات إلى استيل كوانزيم A ، سكسينل كوازيم A على الترتيب .

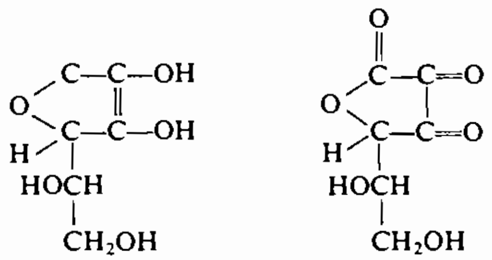
(د) الجلوتاثيون : Glutathione :

وهو ببتيد محتوى على الكبريت شائع الاستعمال والانتشار والمجموعة الفعالــه فيه هــى thiol وهى تؤكسد بجزئ الاكسجين عند الظروف المناسبة (فى وجود آثار من المواد المعدنية) وايضا بواسطة سيتوكروم C . ولاعادة اختزال صورت المؤكسدة إلى الثيول أما بعوامل مختزلة قوية او بواسطة انزيم (EC 1.6. 4.0) glutathione reductase فى وجود $NAD (P)^+$. وكا انزيم من انزيمات الاكسدة والاختزال فإنه يعمل كحامل بيولوجى للايدروجين وخاصة فى البكتريا الكيمواتوتروفيه .

(هـ) حمض الاسكوربيك : Ascorbic acid :

فيتامين C او حمض الاسكوربيك هو عامل مختزل قوى مفيد فى زراعة البكتريا اللاهــوائية . وبرغم انه يدخل فى تفاعلات الاكسدة والاختزال فإن اسم الاسكوربيك يطلق على الصورة المختزلة فقط اما الصورة المؤكسدة فتسمى حمض ديهيدرواسكوربيك وترجع أهميته إلى انه يلعب دورا فى حفظ نشاط الانزيمات المحتوية على SH - مثل الجلوتاثيون .

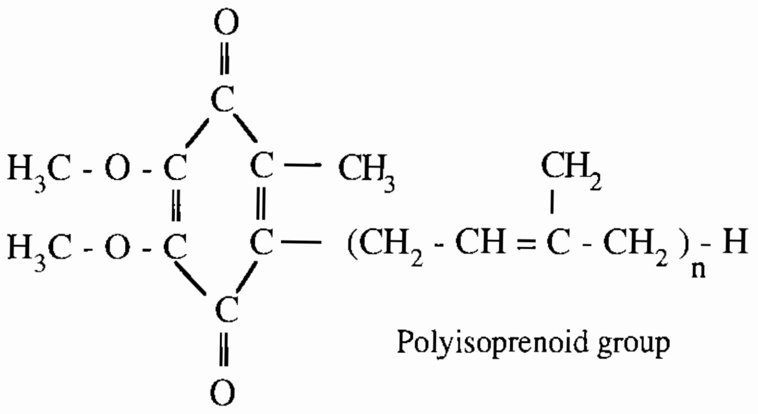
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



ascorbic acid　　　dehydroascorbic acid

(و) الكينونات : Quinones :

وهى شائعة الوجود فى الخلايا الحية وبعضها خاصة - methylaled quinones المرتبطة بسلسة جانبية من البولى ايزوبرينويد polyisopernoid - تلعب دورا هاما كحوامل وسطية للايدروجين فى السلسلة التنفسية .



Polyisoprenoid group

methylated quinone

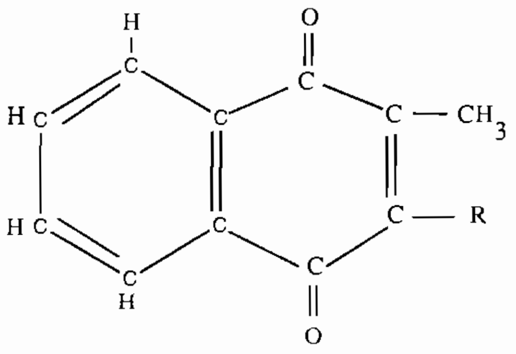
التركيب البنائى لـ ubiquinones

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويوجد قسمان هامان فى الكينونات :

الأول : مجموعة ubiquinones (كما بالرسم السابق) وهى الاسبق اكتشافا بواسطة Morton, 1953 وكانت تعرف بـ Co Q , Q_{275} , SA إلا أن IUB أوصت باستخدام ubiquinone . والصورة المختزلة منه (ubiquinol) تتأكسد من خلال نظام السيتوكروم (سيتوكروم C ، سيتوكروم اوكسيديز) .

الثانى : مجموعة فيتامين K والمحتوية على Vit. K_1 , Vit. K_2 , menadione وتدخل فى عمليات انتقال الالكترون فى الفسفرة الضوئية فى البكتريا ويمكن للفرودوكسين Ferredoxin ان يحل محله فى هذا الدور .



شكل (٢-٦) التركيب البنائى لفيتامين K

وهذا الفيتامين هو المسئول عن تجلط الدم وقد عزل K_1 من البرسم ، K_2 من السمك .

٢-٤-٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للالكترونات : Elactron transferring coenzymes

(I) السيتوكرومات : Cytochromes

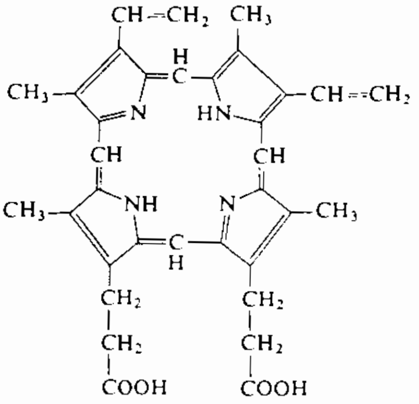
يطلق مصطلح السيتوكرومات على كل البروتينات المحتوية على حديد Hemeproteins داخل الخلايا (ما عدا الهيموجلوبين ، مايوجلوبين ، البيروكسيديز ، الكاتاليز) وهذه المجموعة تحتوى على مواد ذات وظائف مختلفة ولكن كلها تتفاعل من خلال اكسدة واختزال الحديد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وترجع صعوبة تسمية السيتوكرومات لعزلها من مصادر مختلفة ولكن لها نفس الخواص ولقد قسمت إلى اربع مجاميع رئيسية من السيتوكرومات هى :

١ - سيتوكروم a : يحتوى على heme a كـ prosthetic groups وهو ذو سلسلة جانبية ومرتبط مع apoprotein لا تكافؤيا (non covalently) ولهذا يمكن فصله عنه بالاستخلاص بواسطة الاستيون الحمضى والصورة المختزلة منه يمكن قياسها ضوئيا عند ٥٨٠ - ٥٩٠ nm .

٢ - سيتوكروم b : يحتوى على protoheme كـ prosthetic groups وهو ذو رابطة غير تكافؤية مع apoprotein ويمكن قياس صورته المختزله عند ٥٥٦ - ٥٥٨ nm .



شكل (٢-٧) : التركيب البنائى لسيتوكروم b

٣ - سيتوكروم C : وهى السيتوكرومات ذات heme prosthetic groups المرتبطة تكافؤيا Covalently مثل الثيواستر thioester والصورة المختزلة يمكن قياسها عند ٥٤٩ - ٥٥١ nm .

٤ - سيتوكروم d : تشبه سيتوكروم a ولكن تقاس صورته المختزله عند ٦٠٠ - ٦٢٠ nm ولذ يسمى سيتوكروم a_2 وهى تتأكسد تلقائيا autoxidizable وترتبط مع CN , CO .

وتوجد بعض الاختلافات البسيطة بين السيتوكروم العادى والسيتوكروم البكتيرى فى المجاميع الاستبداليه ومنحنيات القياس كالتالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

* السيتوكروم البكتيرى a : يمكن تقسيمه لتحت مجموعتين .

أ - سيتوكروم a : ويظهر α - bands عند ٦٠٠ - ٦٠٥ nm اما band - ɣ عند ٤٤٠ - ٤٤٥ nm ويطلق عليه سيتوكروم $a + a_3$ أو aa_3 حسب تأثيره بوجود CN , CO.

ب - سيتوكروم a_1 : ومنحنى امتصاصه α - band بين ٥٨٥ - ٥٩٥ nm بينما band - ɣ عند ٤٣٥ - ٤٤٥ nm .

* السيتوكروم البكتيرى b : ويتراوح منحنى امتصاصه α - band بين ٥٦٢ - ٥٦٥ nm (نوع b) ، بين ٥٥٧ - ٥٦٠ nm (نوع b_1) كما يوجد نوع (o) وله القدرة على الارتباط مع CO مثل سيتوكرومات a , a_3 , d وهو يظهر كمعقد O - CO وله ثلاث α, β, ɣ - Bands عند ٥٥٧ - ٥٦٧ ، ٥٣٢ - ٥٣٧ ، ٤١٥ - ٤٢٠ nm على الترتيب .

* السيتوكروم البكتيرى C : برغم انه لم يحصل عليه بصورة نقية بعد الا أن الدراسات المقارنة تدل على وجود ٦ أنواع منه وقد استخدم فى هذه الدراسات : منحنيات الامتصاص ، القدرة على تكوين معقدات مع بعض المواد مثل CO ، حجم الجزئ ، isoelectric pH ، جهد الاكسده والاختزال القياسى ، تسلسل الاحماض الأمنية فى السلامل البينيه والانواع الستة كمايلى :

أ - سيتوكروم C_2 : المعزول من *Rhodospirillum rubrum* وهو ذائب فى الماء وذو وزن جزئى ١٢,٠٠٠ - ١٤,٠٠٠ وجهد الاكسدة والاختزال اكبر من 0.28V + ، ويحتوى على هيم واحد ذو α - reduced band عند ٥٥٠ - ٥٥٢ nm .

ب - سيتوكروم C_3 : ولقد عزل اولا من البكتريا اللاهوائية الحتمية *Desulfouibrio desulfuricans* وهو ذو جهد اكسدة واختزال قوى جدا (- 0.25V) ولذا فهو ذاتى التأكسد autoxidizable ووزن الجزئ حوالى ١٣,٠٠٠ وهو يشارك فى عمليات اختزال السلفيت والسلفات وانطلاق غاز الايدروچين بواسطة hydroginase ويدخل فى phosphoroclastic reactions .

وسيتوكروم C - 552 المعزول من *E. coli.* يشبه سيتوكروم C_3 بسبب قوة جهد اكسدته (- 0.2V) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

جـ - سيتوكـــروم C_4 , C_5 : وقـد عـــزلا مـــن *Azotobacter vinelandii* وهما يظهر α - band مختـزل عـنـد ٥٥١ ، ٥٥٤ nm على الـترتيب وزنهـما الجزئ متـشابه ١٢,٠٠٠ وجـهد اكسـدة واختزال لكليـهما 0.3V + , 0.32V عـلـى الترتيب .

د - سيتوكروم C^- , CC^- ويحتوى مجموعة أو مجموعتين هيم (على الترتيب) مرتبطة تكافليا بالجزئ .

وجه المقارنة	mono heme cyt. C´	diheme cyt. CC´
الوزن الجزئ Eh ɣ - bands مكان وجودة	١٣,٠٠٠ - ٢٩,٠٠٠ 0 - 0.1 420 - 435 nm *Rhodospirillum palustris* *Rhodosp. molischianum*	٢٧,٠٠٠ - ٣٠,٠٠٠ 0 - 0.1 390 - 400 nm *Rhodospirillum rubrum* *Ps. denitirificans*

(II) الفيرودوكسين Ferredoxin

- تـــم اكتشاف حامـــل الكترونـات جديد خـــلال العقديـــــن الاخيـريـــن يعـــمل علـــــى hydrogen side لكل من NAD^+ , $NADP^+$ المؤكـد بعـكس السيتوكروم الـــذى يعـمل كمستقبل للالكترونــــات لـ $NADH . H^+$, $NADP H.H^+$ المختزل . وعند نقل الفيرودكســين للالكترون إلـــى $NAD (P)^+$ فإن جهد الاكـسدة والاختزال يصـل إلـــى 0.40V - (عنــد pH 7) والـــذى يقـــع بـين جزئ الايدروجين ونظام $NAD^+ / NADH.H^+$.

- ومعـطى الالكـترون اما غاز الايـدروجين أو تفـاعل قوى فـوتوكيمـياوى الذى يـحرر الالكترونات مع تكوين قوة اختزالية مساوية على الاقل لجزئ الايدروجين .

- ويوجد الفيرودوكسين أسـاسا فى البكتريا اللاهوائية والكلـوروبلاست وأول عزلـه كان من *Clostridium pasterianum* والاسم الحقيقى اطلق عليها تقريبا سنة ١٩٦٢ وهى بروتينات غير محتوية على الحديد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- تلعب دورا رئيسيا فى عملية التمثيل الضوئى والتخمر وتثبيت النتروچين هوائيا وهو يعمل اساسا كحامل للالكترون ولكن تركيبة الكيمياوي يختلف حسب التفاعل .
- وللآن هناك ٤ أنواع من الفيرودكسين هم :

١ - Ferredoxin a المعزول من الميكروب السابق ويلاحظ عموما فى كل البكتيريا اللاهوائية الخضراء المخمرة والتى لا تقوم بعملية التمثيل الضوئى ويشاهد منحنى قياسه عند ٣٨٥ - ٣٩٠ nm وايضا فى منطقة UV عند ٢٨٠ nm ووزن الجزئى ٦٠٠٠ وهو يحتوى اكثر من مجموعة حديد وكبريت .

٢ - $\text{Ferredoxin } a_I$ وهو معزول من *chromatium sp.* ويلاحظ فى كل بكتريا الكبريت الارجوانية الممثلة للضوء ووزن الجزئ ١٠,٠٠٠ وهو اكثر سالبيه للالكترون (0.49V -) عند pH المتعادل ومنحنى قياسه مثل السابق ولكن يحتوى على ٧ إلى ٨ مجاميع حديد وسلفيد للجزئ .

٣ - Ferredoxin b وقد اكتشف باسبانيا ووزنه الجزئ ١٢,٠٠٠ وشائع الوجود فى النباتات والطحالب ومنحنى امتصاصه عند ٤٦٥ ، ٤٢٥ ، ٣٢٥ ، ٢٨٥ nm ويحتوى على مجموعتين حديد ومجموعتين سلفيد حرتين.

٤ - Ferredoxin c ويلاحظ فى بكتريا تثبيت النتروچين هوائيا وعزل من *Azotobacter vinelandii* ووزن الجزئ ٢٠,٠٠٠ ولذا فهو اكثرهم وزنا حتى الآن . ويقاس عند ٤٠٠ n m ويحتوى ٦ مجاميع حديد وسلفيد.

ويرى كثير من الباحثين ان الفيرودكسين يتوسط فى نقل الكترون واحد فقط ولهذا يقوم الفيرودوكسين البكتيرى بعمليتين نقل للجزئ بينما فى النبات يقوم بعملية نقل واحدة .

Rubredoxin

بعكس الفيرودوكسين فإن روبردوكسين يحتوى فقط على ذره حديد واحدة للجزئ ولا يحتوى سلفيد غير عضوى ويعمل كحامل الكترون (وحيد) فى تفاعل الاكسدة والاختزال وله جهد اكسدة واختزال اقوى كثيرا من الفيرودوكسين البكتيرى (0.57V -) ويلاحظ منحنى قياسه عند ٤٩٠ ، ٣٨٠ ، ٢٨٠ n m ووزنه الجزئ ٦٠٠٠ ويدخل فى كثير من التفاعلات البيولوچية التى يشارك فيها الفيرودوكسين .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(III) الفلافودوكسين Flavodoxin

اذا نميت الميكروبات على بيئة محتوية على كمية غير كافية من الحديد لتشجيع تكوين ferredoxin فإن الفلافودوكسين يمكن ان يحل محله .

وهذا المرافق خالى من المعادن أو السلفيد وذو وزن جزئ مرتفع ١٥,٠٠٠ ويحتوى ما يوازى امول من FMN وفرق جهد الاكسدة والاختزال بين flavodoxin semiquinone , reduced flavodoxin حوالى 0.37V - وهو يقارب فرق جهد الفيرودوكسين ولذا يمكنه ان يحل محله . وقد عزل من *Azotobacter vinelandii* , *Disulfovibrio gigas* , وأيضا *Clostridium pasterianum* .

Diaphorases

وهى فلافويربروتينات قادرة على ملامسه اكسدة نيوكليدات البريدين المختزلة بواسطة مواد عضوية مثل ازرق الميثلين او الاندوفينول ومركبات غير عضوية مثل فيروسيانيد ولكن لا يستطيع التفاعل مباشرة مع جزئ الاكسجين ومعظم هذه الانزيمات يحتوى FMN , FAD , كـ prosthetic group ووزنها الجزئ ٥٠,٠٠٠ - ٧٠,٠٠٠ .

٣٠٤٠٢ المرافقات الانزيمية الناقلة للمجاميع : Group-transferring coenzymes

(I) الناقلة للفوسفات phosphate carrier :

- اهم نوعين من تفاعلات النقل هما نقل الالكترون ونقل الفوسفات والنوع الأول يتعلق بانتاج الطاقة بينما النوع الثانى يتعلق بنقلها من عملية لاخرى وتخزينها .
- والحامل البيولوجى للفوسفات هو ادينوسين ثلاثى وثنائى الفوسفات ADP , ATP الذى يتفاعل كعامل مساعد فى عمليات نقل الفوسفات Transphosphorylation والانزيمات التى تلامس تفاعلات الانتقال من أو إلى حوامل الفوسفات هى مجموعة الكينيز Kinases (EC 2.7.1 - 4) .
- وليس واضحا تماما إلى أى مدى نستطيع نيوكليوسيدات الفوسفات الاخرى مثل inosine diphosphate (IDP), guanosine diphosphate (GDP),

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

cytidine diphosphate (CDP), uridine diphosphate (UDP) التفاعل كحوامل فوسفاتية .

- وقد ذكرت سابقا ميكانيكية تكوين ATP كمركب غنى بالطاقة حيث يحتوى رابطتين غنيتين بالطاقة وله مقدرة عالية على نقل المجموعة الفوسفاتية .

ويمكن لمركب ATP القيام بالآتى :

- نقل مجموعة الفوسفات الطرفية وانطلاق ADP .
- نقل مجموعة البيروفوسفات وانطلاق AMP .
- نقل AMP وانطلاق البيروفوسفات .
- نقل الادنيوسيل وانطلاق الارثو فوسفات والبيروفوسفات .

- وقد سبق وصف انتقال مجموعة الفوسفات الطرفية إلى ATP وفى حالة انتقال البيروفوسفات بالرغم من ان هذا النوع من الانتقال لم يلاحظ بعد - الا ان الخلية تستخدمه لترسيب الفوسفات فى ADP اثناء الفسفرة المؤكسدة أو التخمر حيث لابد من تحليله مائيا اولا إلى الارثوفوسفات فى وجود انزيم pyrophosphatase (EC 3.6 .1.1) مع انتاج طاقة حرة ضخمة .

- ويعتقد أن ATP هو الاساس فى انتقال الطاقة المرتبطة بينما كل النيوكليوسيدات تراى فوسفات تعمل كقنوات لنقل طاقة ATP إلى مختلف الدورات الحيوية . ومثل هذه القنوات سهلة الحدوث لان مجموعة الفوسفات الطرفية لمركب ATP يمكن ان تنقل انزيميا إلى النيوكليوسيدات داى فوسفات الاخرى وذلك بواسطة انزيمات nucleoside diphosphate kinases (EC 2.7 4.6) كمايلى :

$$ATP + GDP \rightleftharpoons ADP + GTP$$

$$ATP + UDP \rightleftharpoons ADP + UTP$$

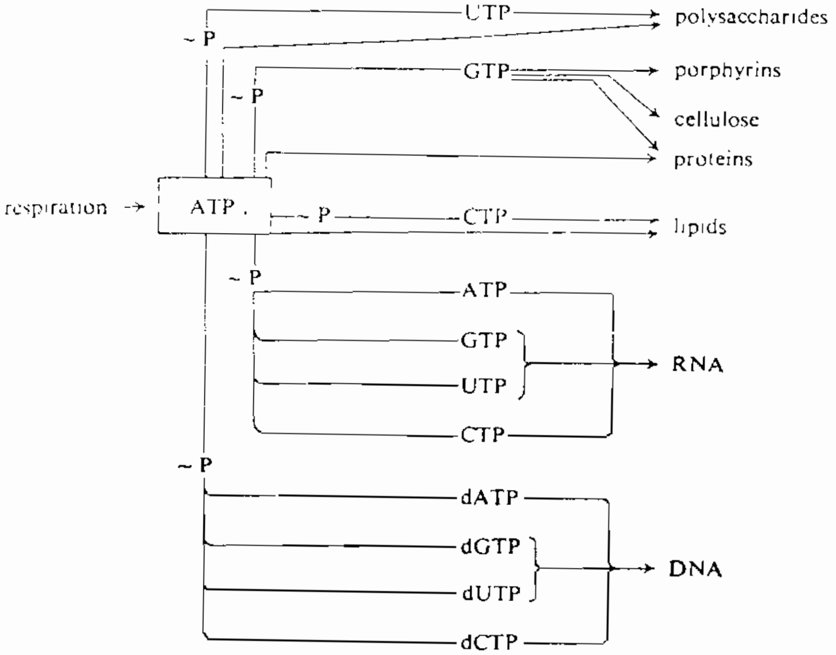
$$ATP + CDP \rightleftharpoons ADP + CTP$$

$$ATP + dADP \rightleftharpoons ADP + d\,ATP$$

حيث d ADP هو دى آوكسى ادينين داى فوسفات .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وتتميز كل نواقل الفوسفات بأن لها نفس الطاقة الحرة للتحلل المائى لمجموعة الفوسفات الطرفية مثل ATP علما بأن ADP فقط هو الذى يستقبل مجمـوعة الفوسفات اثناء الفسفرة المؤكسدة . لهذا فإن نظام ADP / ATP ضرورى لفسفرة UDP , GDP . . . الخ . ولملء القنوات بمجاميع الفوسفات الغنية بالطاقة كما فى الرسم التالى :



شكل (٢ - ٨) : تـوزيع الطاقة من ATP للتخليـق الحيوى لمكونات الخلية نقلا عن Lehninger, 1965

(II) الناقلة لمجموعة ذات ذرة كربون واحدة One carbon group carrier :

تماما مثلمـا تـستطيع ATP حمل ونقـل مجاميع الفوسفـات فإنه يوجد مرافقـات انزيمية تستطيع نقل مجموعة كربونية ذات ذرة كربون واحدة مثل :

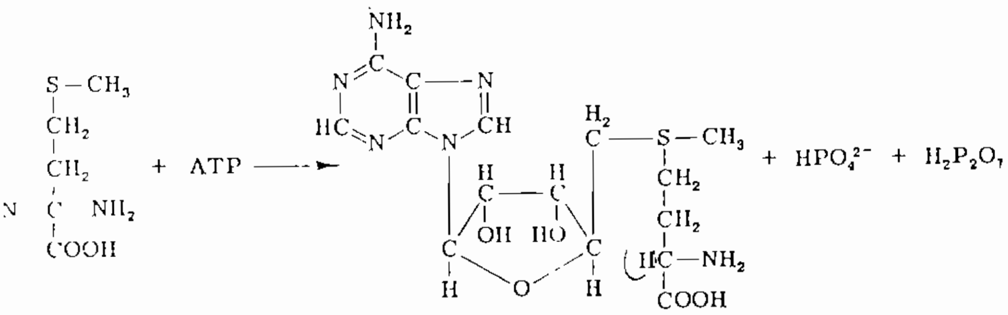
- مجموعة الميثايل (CH_3-) من الميثانول CH_3OH .
- مجموعة هيدروكسى ميثيل (CH_2 OH) من السيرين HOH_2C - NH_2 - COOH .
- مجموعة الفورميل (CHO) من حمض الفورميك (H. COOH) .
- مجموعة الكربوكسيل (COOH) من حمض الكربونيك (HO - COOH) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ومن أشهر هذه المرافقات الانزيمية الناقلة :

★ adenosyl methionine او الميثونين المنشط :

ويقوم بنقل مجموعة الميثيل وحيث ان رابطة الثيواستر thioester المرتبطة بمجموعة الميثيل ليس لها جهد عالى فإن ATP ضرورى لعملية التنشيط لتكوين Sulfonium فى شكل ادينوسيل ميثيونين كالتالى :



شكل (٢ - ٩) : ميكانيكية عمل المرافق الانزيمى الميثيونين

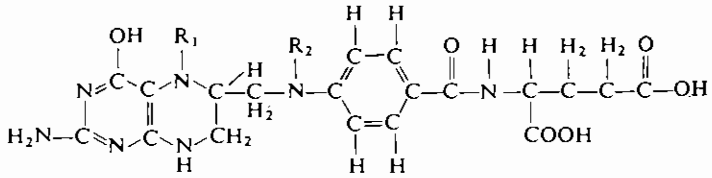
★ Tetrahydrofolic acid (THFA) :

فهو المرافق الانزيمى المسئول عن نقل مجاميع هيدروكسى الميثيل ، فورميل ، formimino . والناقل النشط ليس حمض الفوليك كما اعتُقد لبعض الوقت ولكن THFA . وفى تفاعلات البكتيريا فإن مشتق البولى جلوتامات polyglutamate لحمض الفوليك يشجع نمو بعض السلالات .

ومركب THFA سريع الاكسدة الذاتية autooxidizable وسريع التحول إلى dihydrofolate بواسطة الاكسجين كما يتأكسد انزيميا بواسطة $NADP^+$. ويختزل مركب folate إلى داى او تتراهيدروفولات بواسطة $NADPH.H^+$ وبمساعدة انزيم DHFA dehydrogenase (EC 1.5.1.4) .

ويختلف THFA عن النواقل الاخرى بأن المجموعة المنقولة يمكن أن تتغير أو تتحول بينما مازالت مرتبطة بالناقل أى أن المجموعة المعطاة للمستقبل ليس شرط ان تكون مطابقة للتى تنفصل عنه .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

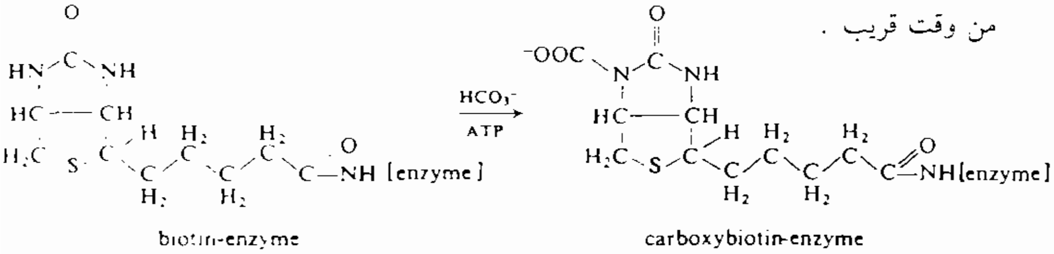


$R_1 = —C(=O)—H$	$R_2 = —H$	: 5-formyl-THFA
$R_1 = —H$	$R_2 = —H$	: THFA
$R_1 = —H$	$R_2 = —C(=O)—H$	: 10-formyl-THFA
$R_1 + R_2 =$	$>N = CH—N<$	: 5,10-methenyl-THFA
$R_1 + R_2 =$	$>N(R_1)—CH_2—N(R_2)<$	: 5,10-methylene-THFA
$R_1 = —CH_2OH$	$R_2 = —H$	: 5-hydroxymethyl-THFA
$R_1 = —CH = NH$	$R_2 = —H$	: 5-formimino-THFA

شكل (٢ - ١٠) : مركب حمض تتراهيدرفوليك ومشتقاته

★ البيوتين Biotin :

وهو فيتامين معروف وهو مشتق حـلقى من اليوريا مع حلقة thiophan مرتبطة به كما بالرسم ووظيفته كعامل مساعد للتفاعلات الانزيمية المتضمنة ادخال أو نقل Co_2 وقد اكتشف من وقت قريب .



شكل (٢ - ١١) : دور البيوتين فى تفاعلات تثبيت ك أ٢

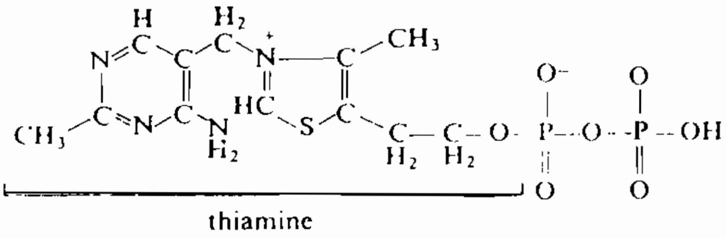
ويرتبـط البيوتين مـع بروتين الانزيم بواسـطة رابطة بـبتيديـه مع مجموعـة الامين فى Lysyl . وعمليـة تحميل البيـوتين بـ ك أ٢ تحتاج لـطاقة أى ATP ويرتبط ك أ٢ مع ذرة النتروجـين للبيوتين ويعـتبر عندئذ فـى صوره منشطة التـى تشارك فـى العـديـد مـن تفاعلات Carboxylation مثل تكوين malonyl - CoA من acetyl - CoA .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

(III) الناقلة لمجموعة ذات ذرتين كربون Two carbon group carrier :

★ بيروفوسفات الثيمين Thiamine Pyrophosphate (TPP):

وهـــو المرافق الانـــزيمى الذى ينقل الاسـيتالدهيد والجليكولدهـيد ويعـــرف ايضا vitamin B_1 , Co - carboxylase , diphosphothiamine (DPT) ويرجع الاسم إلى محتـواه من الكبريت حـيث يحتوى التـكوين البنـائى له على حلـقتين : واحدة بيريمـيدين والاخرى ثيازول thiazol ولذا يحمل شحنة موجبة دائما .

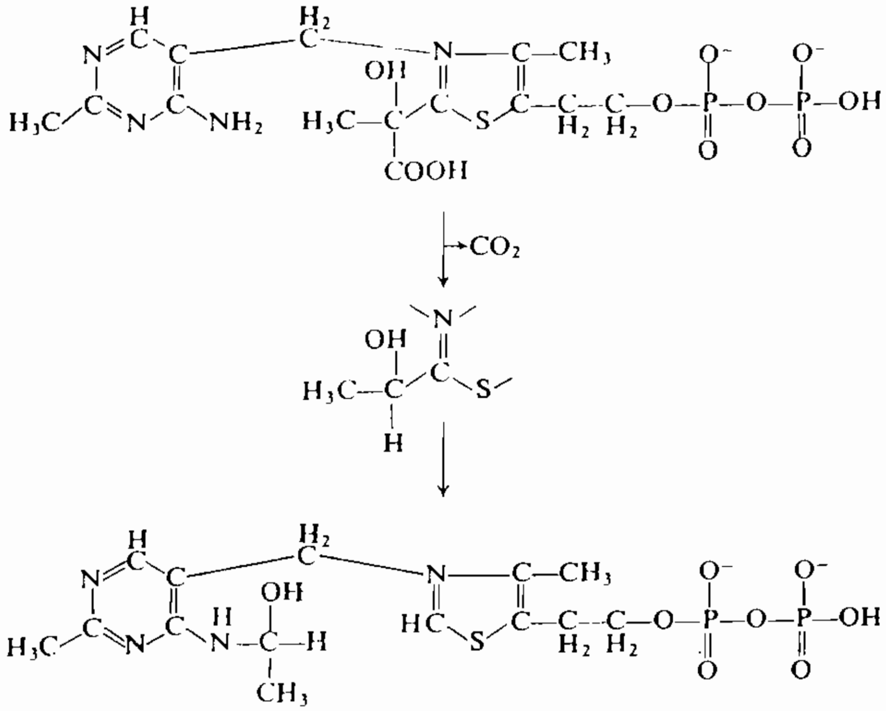


شكل (٢-١٢) : التركيب البنائى للبيروفوسفات ثيمين (TPP)

ويعمل كـ prosthetic group لانه يرتبط ببروتين الانزيم فـى كل التفاعلات المحتوية على احماض الفاكيتونية مثل البـيروفات حيث ترتبط ذرة الكربون الثانية C_2 لحلقة الثيازول مع مجموعـة الفاكيتو فى صورته الـقطبية polarized وبالتالـى يلامس نزاع ك أ٢ ويتكون الاستيالدهيد فى صورة منشطة على ذرة C_2 لحلقة الثيازول والذى ينتقل إلى مجموعة الامينو المجاورة ويصبح الآن حر الانطلاق أو ينتقل إلى مستقبل آخر كما فى شكل ١٣٠٢ .

والمركب الوسطى يسمى α - هيدروكسى ايثيل ثيمين فوسـفات ونواتجه النهائية تتوقف علـى أى انزيم سـيشارك فى التفاعل التالـى . ومن أهم التفاعلات التى يـشارك فيها TPP هـــى نزع ك أ٢ بالاكسدة oxidative decarboxylation للأحماض الالفاكيـتونية حيث ينقل الاسـيتالدهيد المتـبقى إلى حمض الليـبوئيك الذى يعمـل كعامل مؤكـد وفـى تفاعل transketolase يعمل TPP كمرافق انزيمى فى نقل الجليكولدهيد .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



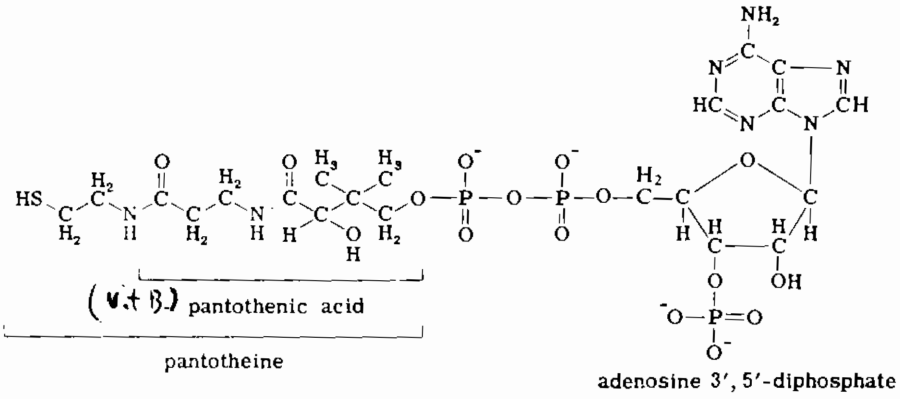
شكل (٢ - ١٣) : كيفية انطلاقه ك أ٢ وانتقال الاسيتالدهيد بملامسة TPP

: (Co A) Coenzyme A ★★

تعطـى الدراسات الحديثة فـى التفاعلات الايـضية للكربـوهيدرات انتبـاها لعمليـة نقل مجموعة الاسيل acyl group خاصة بواسـطة النواقل المحتويـة على مجاميـع الثيول thiol مكونة استـرات الثيول thioesters لان هذه المركـبات الغنـية بالطاقـة تشارك مع مـركبات الفوسفات الغنية بالطاقة فى وظيفة نقل الطاقة الحيوية الهامة .

وقد اكتشف CoA بواسطة lipman , 1947 والحرف "A" مشتـق من acylation ورابـطة الاحـماض مع المركب CoA لهـــا قـدرة عالية علـــى نـقل مجموعـة الاسيتيل المنشط ويعرف باسم Acetyl - CoA . وقد اكـتشف مـؤخرا ان acyl - CoA يمكن ان يتفـاعل اكثـر مـــن ٦٠ انزيم علـى مركباته . والتحلـل المائى لـ acyl - CoA ينتج طاقة حوالى 8000 cal / mole .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٢ - ١٤) : التركيب البنائى للمركب Coenzyme A

وهــو يعتبر أكثر تعقيدا من السيتوكروم أو NAD . ومركب pantotheine هو عامل نمو لـلعديــد من الكائنـات الدقيـقة ويتكـون من pantoic acid ، β - alanine ، mercaptoethylamine . والمركــب الناتــج مــن اتحاد pantoic acid , β - alanine يعرف pantothenic acid (المعروف بفتامين B) .

- وكمــا ذكرنــا فــإن acetyl - CoA أهم مركـبات CoA حيـث ترتبـط مجموعة الاستيل -CH_3 - CO مع مجموعة SH - الحرة مكونة ثيواسـتر ولرابط الاستيات أو أى حمض كربـوكسيلى آخر مع هـذا المركب فإن يحتاج لـطاقة وهى غالبا تـشتق من تفاعلات منتجة للطاقة مثل oxidative decerboxylation أو من انشقاق ATP .

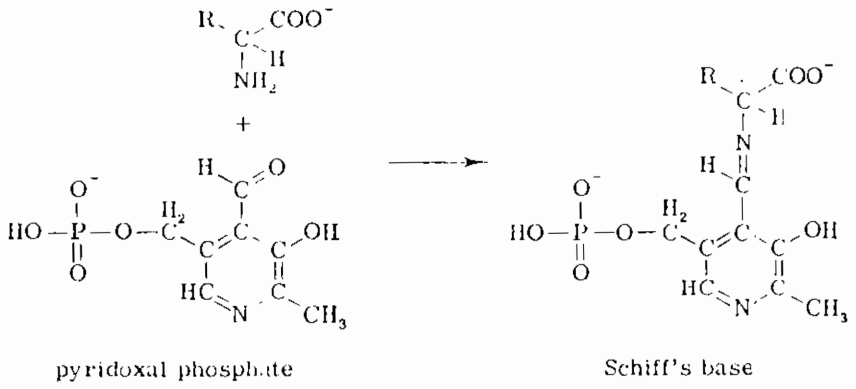
- مركــب CoA مادة غير ملونة يمـكن قراءتها عند 257 nm بواسطة الاسبكتروفوتومتر بسبب احتوائها على adenine . ويقع كل acid - thiol - ligases فى تحت المجموعة الانزيمية (ES 6.2.1) حيث تلامـس تكوين CoA thiolesters من الاحـمـاض الحرة مستخدما الطاقة من ATP ، GTP بينما كل acyl transferases (EC 2.3.1) تنقل مجموعة الاسـيل إلى أو من CoA . ويدخل ايضا اسـتيل كوانزيم A فى التفاعلات التى يلامسها انزيمات lyases . وتضاف مجموعة الاسيتـيل إلى أى جزئ مستقبل ذو رابطة زوجية سواء بواســطة أو بدون التحلل المائى لرابطة الشـيواستر وهو اساس البدء لدوره حمض الـستريك (TCA) ، هدم الاحـماض الدهنـية بالاكسـدة وللعديـد من العمليات التخليقية الاخرى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(IV) المرافقات الانزيمية الناقلة لمجاميع اخرى :

★ بيريدوكسال الفوسفات pyridoxal phosphate (PALP) :

وهو المرافق الانزيمى لتحولات الاحماض الامينية مثل نقل مجموعة الامينو transamination . وهذا المرافق يعتبر مثال ممتاز للمرافقات الانزيمية المفردة القادره على ملامسه التفاعلات المختلفة بالكامل فهو يدخل ايضا فى انزيمات نزع ك أ٢ decarboxylases ومختلف انزيمات الازالة والاضافة lyases والتخليق synthetases وميكانيكة عمله يعتقد انها تكوين azomethine باتحاد مجموعة الالدهيد مع مجموعة الامينو فى مادة التفاعل ويتوقف نواتج التفاعل على طبيعة البروتين الانزيمى Apoenzyme المرتبط به هذا المرافق (PALP) وعلى مجموعة R .



شكل (٢ - ١٥) : تكوين schiff's base من مادة التفاعل والمرافق بيريدوكسال فوسفات

★★ فيتامين B_{12} (Cobalamine):

وهو مرافق انزيمى فى مجال isomerization ويعمل كناقل لمجاميع الميثيل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢-٥ القوى المحركة للنمو البكتيرى : Bacterial Growth kinetics

٢-٥-١ المزارع ذات الدفعة الواحدة : Batch Cultures

عند تلقيح الخلايا الميكروبية فى مرق مغذى وتحضينها على درجة حرارة مناسبة فإنه تحدث سلسلة من التغيرات التى يمكن متابعتها بطرق مختلفة بعد فترة التأقلم lag period حيث تزداد الكائنات فى الكتلة وتنقسم مسببا زيادة فى كمية المادة الحية وهو ما تطلق عليه النمو . وعند توافر الظروف المناسبة للنمو والتضاعف فإن كمية المادة الحية تزداد - ليس فى تناسب مباشر مع الزمن - ولكن طبقا لمتوالية هندسة كالتالى :

$$2^0 \longrightarrow 2^1 \longrightarrow 2^2 \longrightarrow 2^3 \longrightarrow 2^4 \ldots\ldots 2^n$$

فإذا كان عدد الخلايا فى اللقاح هو N_o فإن عدد الخلايا N بعد عدد من الانقسامات هو :

$$N = N_0 \times 2^n \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \qquad (1)$$

$$\therefore \quad \log N = \log N_o + n \log 2 \ldots\ldots \qquad (2)$$

وبالتالى يمكن حساب عدد الاجيال أو انقسامات الخلية بين N , N_o

$$(\text{عدد الاجيال}) \quad n = \frac{\log N - \log N_o}{\log 2} \qquad (3)$$

$$\because \quad \log 2 = 0.301$$

$$\therefore \quad n = 3.32 \,(\log N - \log N_o) \qquad (4)$$

وإذا دخل تحت هذه الظروف المثالية - عامل الزمن - فإنه يمكن الوصول إلى معدل التضاعف (r) للمزرعة .

$$r = \frac{n}{t_1 - t_o} = \frac{3.32 \,(\log N - \log N_o)}{t_1 - t_o} \qquad (5)$$

ويتم هذا النمو فى مرحلة الطور اللوغاريتمى اما لو اخذنا فى الاعتبار التغيرات الحادثة فى بيئة النمو حيث يستهلك عناصر غذائية وتفرز نواتج جديدة مما يسبب تغير pH ويقلل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تركيز الاكسجين فى حالة الميكروبات الهوائية مثلا ولهذا فعملية النمو تؤدى إلى وسط نهائى قد لا يناسب مزيد من النمو وعندئـذ تدخل المزرعة فى مرحلة الثبات stationary state أى أن تعاقب التغيرات بسبب دورة النمو الميكروبى وما يحدث فيها من تداخلات وتفاعلات مع البيئة يؤدى لعدم وجود ظروف مثالية فى معظم الاحوال .

وحيث ان الـظروف المثاليـة ليست موجـودة عادة فى "batch culture" فإنه يستعمل اصطلاح g أى « زمن الجيل أو زمن التضاعف » بدلا من عدد الأجيال (n) .

$$g = \frac{t}{n} \tag{6}$$

ومن معادلة (5) .

$$g = \frac{1}{r} \tag{7}$$

$$n = \frac{t}{g} = t \times r \tag{8}$$

وليس سهلا قياس زمن التضاعف فى المزرعة الميكروبية نظرا لصعوبة تقدير عدد الخلايا عند N_0 , N ولذا تستخدم تعبير كتلة البكتريا النامية (x) بدلا من عدد الخلايا .

وبالرجوع إلى معادلة (1)

$$N = N_0 \times 2^n$$

وبالتعويض عن n من معادلة (8)

$$\therefore N = No \times 2^{t/g}$$

وبالتعويض عن عدد الخلايا بكتلة الميكروبات (X) فإن

$$X = X_0 \cdot 2^{t/g}$$

وبتحويلها إلى الصورة اللوغاريتمية

$$\ln x = \ln x_0 + \frac{t}{g} \ln 2 \tag{9}$$

وبالنظر إلى عنصر الزمن وعلى اعتبار أن $X_0 = 1$ فإن المعادلة تتحول ألى

$$\frac{d(\ln x)}{dt} = 0 + \frac{\ln 2}{g} \tag{10}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وبالرجوع إلى معادلة (9) فإن

$$\ln x - \ln x_0 = {}^{t}/_{g} \quad \ln 2$$

$$x = x_0 \, e^{\frac{\ln 2 \, t}{g}}$$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{\ln 2}{g} \, . \, x$$

$$\therefore \quad \frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \frac{\ln 2}{g} \qquad (11)$$

ومن معادلة (10) , (11) .

$$\frac{1}{x} \frac{dx}{dt} = \frac{\ln 2}{g} = \frac{d(\ln x)}{dt} = \mu \qquad (12)$$

حيث تمثل μ معدل النمو المتخصص specific growth rate .

ولشرح الفرق بين specific growth rate , growth rate .

يمكن تحديد الآتى :

١ - المعدل الحقيقى لزيادة تركيز الكائن $\frac{dx}{dt}$ يعرف growth rate .

٢ - معدل الزيادة بالنسبة لوحدة تركيز الكائن $\frac{1}{x}\frac{dx}{dt}$ يعرف specific growth. rate .

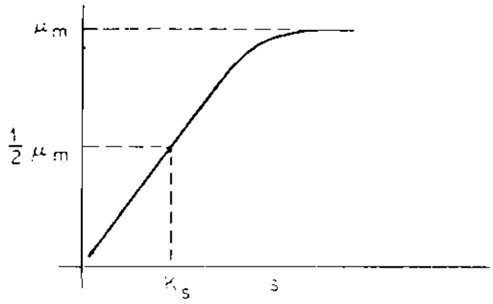
وباحلال $\frac{\ln 2}{g}$ فى معادلة (9) بقيمة μ تصبح

$$\ln x = \ln x_0 + \mu t \qquad (13)$$

وبرسم t على المحور الافقى ، lnx على المحور الرأسى فإننا نحصل على خط مستقيم ذو انحدار يعتمد على معدل النمو وتدرج هذا الخط هو μ الذى يقاس بالعلاقة

$$\mu = \tan \alpha = \frac{BB'}{AB} = \frac{CC'}{AC'}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٢ - ١٦) : تقدير specific growth rate (μ) من المنحنى القياسى

أو يمكن حساب μ مباشرة بالمعادلة (13) حيث

$$\mu = \frac{\ln x - \ln x_0}{t} \qquad (14)$$

وبالرجوع إلى معادلة (12) حيث $g = \frac{\ln 2}{\mu}$

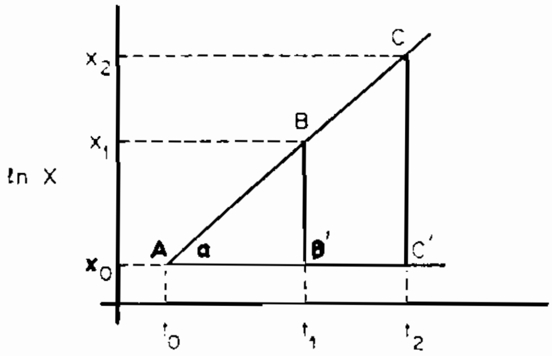
وبالتعويض من معادلة (14) السابقة يمكن حساب زمن الجيل

$$\therefore \quad g = \frac{t \ln 2}{\ln x - \ln x_0}$$

$$= \frac{0.69\, t}{\ln x - \ln x_0} \qquad (15)$$

وواضح من كل العلاقات الرياضية السابقة امكانية استنتاج ان batch cultures تتأثر بوضوح بالبيئة وخاصة تركيز المغذيات الاساسية (مادة التفاعل) . فإذا وضع μ على المحور الرأسى وتركيز مادة التفاعل (S) على المحور الافقى فإنه تنتج علامة تشبه قياس سرعة الانزيم أى يزداد معدل النمو المتخصص بزيادة تركيز مادة التفاعل حتى نقطة معينة (μ max) لا يجدى بعدها أى زيادة فى تركيز (S) ويثبت معدل النمو المتخصص كما بالرسم التالى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٢ - ١٧) : العلاقة بين معدل النمو المتخصص للبكتريا (μ) وتركيز مادة التفاعل (S) ومنه يمكن تحديد ثابت تشبع مادة التفاعل (K_s)

وقد وضع Monod, 1942 هذه العلاقة فى صورة رياضية

$$\mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) \qquad (16)$$

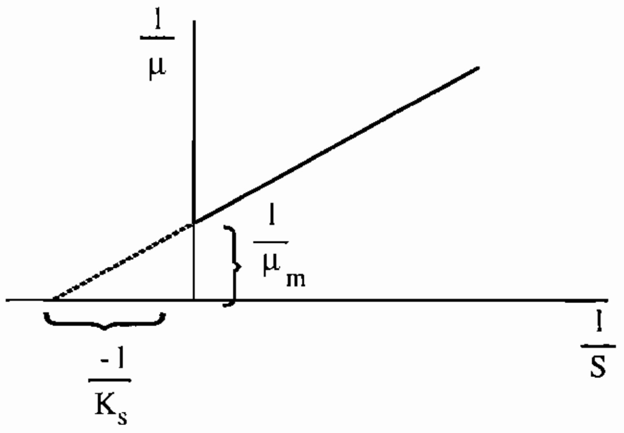
حيث μ_m = القيمة العظمى لمعدل النمو المتخصص (μ) (عندما لا تكون مادة التفاعل هى العامل المحدد)

K_s = ثابت التشبع لمادة التفاعل عند $\frac{1}{2}\ \mu_m$

وحيث انه فى batch cultuves كل المواد الغذائية موجودة ابتداءاً وفى تركيزات كافية حتى لا تكون عاملا محدداً لمعدل النمو المتخصص (μ) لذا فإن μ يكون مساويا μ_m اثناء مرحلة النمو اللوغاريتمى اما ثابت مادة التفاعل K_s فإنه عادة أكبر من zero ولذا فإن قيمة المعادلة عامة اصغر من ١ .

وتتشابه المعادلة (16) مع معادلة Michaelis - Menten مما يصف ضرورة اخذ القوى المحركة للنظام الانزيمى فى الاعتبار . وهذا التشابه يظهر ان كلا المعادلتين يتحكم فيهما قيمة التشبع لاحد مكونات النظام ولذا يمكن استخدام طريقة Lineweaver and Burk لتقدير قيمة K_s ، μ_m .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٢-١٨) : تقدير μ_m , K_s باستعمال lineweaver - Burk plots

ويمكن استعمال المعادلة التالية لتقديرها

$$\frac{1}{\mu} = \frac{K_s + S}{\mu_m S} = \frac{1}{S}\,\frac{K_s}{\mu_m} + \frac{1}{\mu_m} \qquad (17)$$

ويرسم $\frac{1}{\mu}$ على المحور الرأسى ، $\frac{1}{S}$ على المحور الافقى فتحصل على خط مستقيم

يحدد $\frac{1}{\mu_m}$ ، $\frac{1}{K_s}$. كما فى الرسم السابق .

ولقد وجد Monod, 1942 علاقة رياضية بين نمو المزرعة واستهلاك مادة التفاعل

$$\frac{dx}{dt} = -y\,\frac{ds}{dt}$$

حيث y هى yield factar ويحسب كالتالى

$$y = \frac{\text{وزن البكتريا المتكونة}}{\text{وزن مادة التفاعل المستهلكة}}$$

وهناك العديد من المراجع الممتازة لمزيد من التفاصيل مثل stouthamer, 1969 , Rose, 1965 .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢٠٥٠٢ المزارع المستمرة : Continuous Cultune :

تبدأ كل المزارع المستمرة مثل المزارع ذات الدفعة الواحدة حيث تحضن البيئة الموجودة فى روارق التنمية مع الكائن المطلوب تنميته فإذا اضيف مزيد من البيئة اثناء طور النمو اللوغاريتمى للمزرعة بمعدل كافى ليحتفظ بكثافة ميكروبات المزرعة ثابتة ، فإن النمو الميكروبى لا يهبط كما فى المزرعة المتقطعة ولكن يستمر كما هو .

ويزداد معدل اضافة البيئة وحجم المزرعة اسيا بزيادة الكتلة الحيوية ولذا يزود النظام بوسيلة للتخلص من الزائد من المزرعة بمعدل يساوى معدل الاضافة أى ثبات حجم النظام حيث المواد الداخلة input (inflow) بنفس معدل الخارج output (overflow) منه . والتغير فى الطاقة يكون ثابتا ($\Delta F = constant$) .

ومن الأجهزة المستخدمة فى المزارع المستمرة ما يعرف بـ "chemostat" حيث ينمو الكائن عند معدل نمو متخصص يشبه μ_m . ولهذا الغرض فإن المزرعة تكون ذات حجم ثابت (V) ويضاف إليها البيئة عند معدل ثابت (F) وهذه البيئة تحتوى على كل المواد التى يحتاجها الكائن للنمو ماعدا (واحد) يوجد فى المزرعة بتركيز يتعدى احتياجات النمو . وهذا الواحد يسمى المحدد للنمو . وعند فصل هذه المادة المحددة للنمو من بقية مكونات البيئة واضافتها منفصلة لدورق النمو فإننا نحصل على نمو أفضل وهذا النوع من النظام المفتوح ذو الخطوة الواحدة single step open system يتحدد معالمه بواسطة البيئة الجديدة الداخلة in-flow لدورق المزرعة والخارج overflow منه عند نفس المعدل ولكنه بما يحتويه من نواتج نشاط الكائن الايضى .

وتعرف نسبة الكمية المضافة من البيئة فى الساعة إلى حجم المزرعة بمعدل التخفيف (D) .

$$D = \frac{F}{V}$$

وفى هذا النظام التجريبى فإن معدل نمو الكائن لن يعتمد على معدل اضافة البيئة inflow ولكن على معدل التخفيف . فإذا احتفظ بمعدل التخفيف ثابتا فإن تركيز ما يسمى المحددة للنمو growth limiting substrate يعطى قيمة مساوية لمعدل النمو المتخصص μ ولهذا

$$\mu = D$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ونصل لمرحلة الثبات steady state للمزرعة والتى يمكن الاحتفاظ بها لمدة طويلة بدون تغيير معدل الاضافة او تركيز مادة التفاعل .

وتركيز مادة التفاعل المؤثر يمكن التعبير عنه .

$$S_x = S_0 - S_1$$

حيث S_0 = تركيز المادة الاساسى فى البيئة الداخلة

S_1 = تركيز المادة الاساسى فى دورق التفاعل

وعندما تكون $S_x = o$ فإن مادة التفاعل لا تستخدم ولا يحدث نمو للكائن اما إذا زادت الكتلة الحيوية biomass فلابد ان تـكون S_x موجبه أى $S_0 > S_1$. وفـى حـالة زيادة تركيز S_x فإن معدل الـنمو μ سيتغير قيـمته القصوى μ_m أى أن μ ستكون function لتركيز مادة التفاعل .

ولتحديد القوى المحركة للنمو الـبكتيرى فى المزارع المستمرة فى chemostat فلابد من فهم العلاقة بين معدل التخفيف ، معدل النمو ، تركيز مادة التفاعل ولو أمكن التحكم جيدا فى ظروف التجربة مثل تجانس المزرعة وثبات خواص المزرعة عند التركيز العالى لمادة التفاعل المحددة للنمو ووجود بقية المـغذيات الاخرى بوفرة فإن معدل μ يمكن أن يفترض انه اقترب من حدة الاقصى μ_m .

ومن معادلة (14) فإن

$$x = x_o e^{ut} \qquad (18)$$

وبأخذ الزمن فى الاعتبار

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \qquad (19)$$

(التغير فى الكتلة مع الزمن)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وإذا عوض عن μx بواسطة انسياب الكتلة الحيوية مع البيئة $D x$ فإن التغير الحقيقى فى تركيز الكتلة الحيوية مع الوقت يمكن تقديره بالعلاقة

increase = growth - outflow

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - D x$$

$$\frac{dx}{dt} = x(\mu - D) \qquad (20)$$

أى عندما يكون $\mu > D$ فإن $\frac{dx}{dt}$ يكون موجبا وتركيز الكائن فى المزرعة سيزداد مع الوقت اما إذا كان العكس $\mu < D$ فإن $\frac{dx}{dt}$ ستكون سالبة القيمة وسيقل تركيز الخلايا مع الوقت ولن تستهلك مادة التفاعل .

اما إذا كان $\mu = D$ فإن $\frac{dx}{dt}$ = صفر وسيظل تركيز الخلايا فى المزرعة ثابتا مع الوقت

وهذه مرحلة المزرعة المنتظمة الثبات steady state culture ومن معادلتى (12) , (16) فإن

$$D = \mu = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right) = \frac{\ln 2}{g} \qquad (21)$$

وليس صعبا الوصول إلى هذه المرحلة لان معدل النمو للكائن فى المزرعة - المحدد بواسطة معدل اضافة مادة التفاعل المحددة للنمو - يجب ان يناسب معدل التخفيف . فإذا كان معدل التخفيف سيظل ثابتا فإن النظام سيتوازن ذاتيا .

وحيث ان معدل النمو المتخصص μ لا يمكن ان يتجاوز μ_m ولهذا لا يمكن ان نصل لحالة ثبات المزرعة عند معدل تخفيف أعلى من الحد الحرج Critical value (Dc) والتى تساوى تقريبا μ_m . اما إذا زاد معدل التخفيف عن D_c فإن المزرعة ستغسل (تنتهى) من المخمر .

ولقد ذكر سابقا أن النمو البكتيرى يعتمد أيضا على تركيز مادة التفاعل ولهذا فإنه ضروريا أن نضع فى الاعتبار ليس فقط تأثير معدل التخفيف D على معدل النمو μ ولكن

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تأثير معدل التخفيف على تركيز مادة التفاعل المحددة للنمو (S) والكتلة الحيوية (x) فى المزرعة .

فالمادة الداخلة فى دورق النمو عند تركيز S_o تستهلك بالكائن وتخرج مع outflow عند تركيز S ولهذا فإن التغير الصافى فى تركيز مادة التفاعل .

Change of substrate = input - outflow - consumption.

$$\frac{dS}{dt} = DS_o - DS - (\mu x / y)$$

بإحلال μ من معادلة (16)

$$\frac{dS}{dt} = D(S_o - S) - \frac{\mu_m x}{y}\left(\frac{S}{K_s + S}\right) \quad (22)$$

وباحلال μ فى معادلة (20)

$$\frac{dx}{dt} = x\,\mu_m\left(\frac{S}{K_s + S}\right) - Dx \quad (23)$$

والمعادلات الثلاثة الأخيرة 21 , 22 , 23 .

١) تحدد كميا سلوك المزرعة فى Chemostat .

٢) تظهر ان المزرعة المستمرة (بصرف النظر عن مرحلة بدء نموها) لابد أن تكون منتظمه الثبات دائما .

٣) تعبر عن قدرة التنظيم الذاتية للنظام المستمر .

ونظرا لان المعادلتين 22 , 23 تكون قيمتها صفرا عند مرحلة الثبات $\left(\frac{dx}{dt} = 0\right)$

فإن قيم X , S يمكن حسابهما فى ظروف هذه المرحلة .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

* حساب الكتلة الحيوية (x) من معادلة 22

$$D(S_0 - S) = \frac{x}{y} \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

وفى حالة steady state فإن $D = \mu$ لذا يمكن اختصار المعادلة السابقة إلى

$$\therefore \quad x = y\,(S_0 - S) \qquad (24)$$

** حساب تركيز مادة التفاعل S من معادلة 23 .

$$D = \mu_m \left(\frac{S}{K_s + S} \right)$$

$$\therefore \quad S = K_s \left(\frac{D}{\mu_m + D} \right) \qquad (25)$$

وبإحلال S من معادلة (25) فى معادلة (24) .

$$X = y \left[S_0 - K_s \left(\frac{D}{\mu_m + D} \right) \right] \qquad (26)$$

وحيث ان القيم K_s , μ_m , y تم قياسها معمليا فى batch culture وهكذا اصبحت ثابتة فى المزارع المستمرة فإنه يمكن تصميم السعة التنظيمية الذاتية self - regulating capacity للمزرعة المستمرة . وبتغيير D , S_0 معمليا فإن عدد كبير من حالات الثبات يمكن الوصول إليها مرتبطة فقط بتركيز S الموجود عند مستوى معين هو العامل المحدد لنحو المزرعة البكتيرية .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

اسئلة لمراجعة الباب الثانى

١ - ما هو الانزيم وما هى وظيفته ؟

٢ - ما هو Michaelis - Menten Constant (K_m) وكيف يمكن حسابه ؟

٣ - ماهى أهمية lineweaver - Burk plot ؟

٤ - ما هو الفرق بين prosthetic group & Coenzyme ؟

٥ - اشرح الفرق بين NAD^+ , FAD^+ ، الكينونات .

٦ - ماهى مجاميع السيتوكروم الاربع وكيف يمكن التفريق بينهم ؟

٧ - ما هو الفرق بين السيتوكروم والفيرودوكسين والفلافودوكسين ؟

٨ - ناقش الدور الذى يلعبه كل من THFA , TPP .

٩ - يعتبر acetyl - CoA , ATP من أهم المركبات الغنية بالطاقة . ناقش ذلك .

١٠- اذكر المعادلة الرياضية لتقدير معدل النمو المتخصص ، زمن الجيل ، معدل التضاعف ، عدد الاجيال فى المزارع ذات الدفعة الواحدة .

١١- ناقش العلاقة بين kinetics للنظام الانزيمى والنمو البكتيرى .

١٢- ما المقصود بالسعة التنظيمية الذاتية فى المزارع المستمرة ؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1. Dixon, M. and Webb, F.C. (1964). Enzymes. 2nd Ed. Longmans, Green, New York.
2. Ginsburg, A. and Stadtman, E.R. (1970) Multienzyme systems. Annu. Rev. Biochem. 39; 429.
3. Karlson, P. (1970). Kurzes Lehrbuch der Biochemie. 7th Ed. Thieme–stuttgart.
4. Lehninger, A.L. (1965). Bioenergetics. Benjamin, New York.
5. International Union of Biochemistry Commission (1972). "Enzyme Nomenclature : Recommendations of the IUB on Nomenclature and Classification of Enzymes, together with their units and the symbols of enzyme kinetics" Elsevier, Amsterdam.
6. Málek, I. and Fenel, Z. (1966). Theoretical and methodological basis of continuous culture of microorganisms. Academic Press, New York.
7. Reed, L., de Busk, B., Gunsalus, I. and Hornberger, C. (1957). Crystalline α–lipoic acid. A catalytic agent associated with pyruvate dehydrogenase. Science, 114: 93.
8. Rose, A.H. (1969). Chemical Microbiology 3rd Ed., Butterworth, London.
9. Sokatch, J.R. (1969). Bacterial physiology and metabolism. Academic press, New York.
10. Stouthamer, A.H. (1969). Determination and significance of molar growth yields. In : Methods of Microbiology (J.R. Norris and D.W. Ribbons, eds) Vol. 1, p: 629. Academic Press, New York.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثالث

البكتيريا الممثلة للضوء

Photosynthetic bacteria

والتحولات الأيضية فى وجود الضوء

Photo metabolisms

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثالث

البكتيريا الممثلة للضوء photosynthetic bacteria

والتحولات الايضية فى وجود الضوء

photo metabolisms

١٠٣ نبذة تاريخية عن التحولات الفوتوتروفية :

تسمى عملية تحويل طاقة الضوء المستخدمة فى التمثيل الضوئى إلى طاقة بيوكيمياوية فى صورة ATP أو قوة اختزالية NAD (P) H_2 داخل الخلايا البكتيرية الممثلة للضوء بعملية الفسفرة الضوئية photosynthesis phosphorylation وهى تشبه لحد ما التصورات الموضوعية لهذه العملية فى النباتات الراقية مع بعض الاختلافات .

فبعد ان اكتشف winogradsky سنة ١٨٨٨ قدرة بعض البكتيريا على انتاج مواد عضوية من تمثيل ك أ٢ فى وجود الضوء . ووصف Engelman سنة ٨٣ - ١٨٨٨ بكتريا الكبريت الارجوانية وقسم Buder سنة ١٩١٩ البكتريا الارجوانية إلى كبريتية وغير كبريتية تمثل ك أ٢ فى وجود الضوء . وقد أوضح Blachman سنة ١٩٠٥ ان عملية التمثيل الضوئى تنقسم إلى خطوتين الأولى تفاعل ضوئى كيمياوى والثانية تفاعل ظلام ثم جاءت النقلة الكبرى بابحاث Hill سنة ١٩٣٠ الذى فسر كيفية تفاعل الضوء ومن بعده Van Niel سنة ١٩٤١ الذى وضع المعادلتين التاليتين .

- oxygenic photosynthesis in plants, cyanobacteria

$$CO_2 + 2\,H_2O \xrightarrow[\text{aerobic}]{h\nu} (CH_2O)_x + H_2O + O_2 \uparrow$$

- anoxygenic photosynthesis in purple and green bacteria

$$CO_2 + 2\,H_2X \xrightarrow[\text{anaerobic}]{h\nu} (CH_2O)_x + H_2O + 2X$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ثم جاءت ابحاث كالفن سنة ١٩٦٢ عن تفاعل الظلام ووضع تصور « دوره كالفن » عن ميكانيكية تثبيت ك أ٢ اوتوتروفيا واثبت أن تثبيت ك أ٢ ليس مرتبطا بتفاعل الضوء فقط والدليل على ذلك تفاعل الظلام حيث يثبت ك أ٢ اذا توافر ATP اللازم أى أن عمليتى تكوين الطاقة وتثبيت ك أ٢ منفصلتين عن بعضهما . واكمل ارنون ومساعدوه سنة ١٩٦٥ ابحاث كالفن عن الفسفرة الضوئية وميكانيكية انتقال الالكترون .

٢٠٣ تقسيم البكتيريا الممثلة للضوء :

توجد ٣ عائلات رئيسية من البكتيريا الممثلة للضوء تقسم على اساس طبيعة الصبغة وطبيعة مادة التفاعل المستخدمة .

١٠٢٠٣ بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae :

- وتتضمن اجناس *Pelodictyon, Chlorobium, Chlorochromatium, Prosthecochloris, Cylindrogloea* وأهم هذه الاجناس واكثرهم دراسة *Chlorobium sp.*
- تحتوى كل هذه البكتيريا على كلوروفيل بكتيرى ذو منحنى أد مصاص عند ٧٥٠ nm اما الكلوروفيل البكتيرى a (590 nm) يوجد بكميات قليلة .
- جنس Chlorobium يمكنه استعمال ٤ أنواع من معطيات الايدروجين غير العضوية حسب peck سنة ١٩٦٠ وهم :

أ) السلفيد sulfide حيث تتأكسد إلى سلفات

$$CO_2 + 2H_2S \xrightarrow{hv} (CH_2O) + 2S + H_2O$$

$$3CO_2 + 2S + 5H_2O \xrightarrow{hv} 3(CH_2O) + 2H_2SO_4$$

ووجد ان معدل تمثيل ك أ٢ يقل كثيرا عندما يتحول كل السلفيد (الكبريتيد) إلى كبريت وبدء تكوين الكبريتات التى تتراكم خارج الخلايا .

ب) الثيوسلفات thiosulfate حيث تتأكسد إلى سلفات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$2\,CO_2 + Na_2S_2O_3 + 3\,H_2O \xrightarrow{hv} 2\,(CH_2O) + Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

جـ) الايدروچين

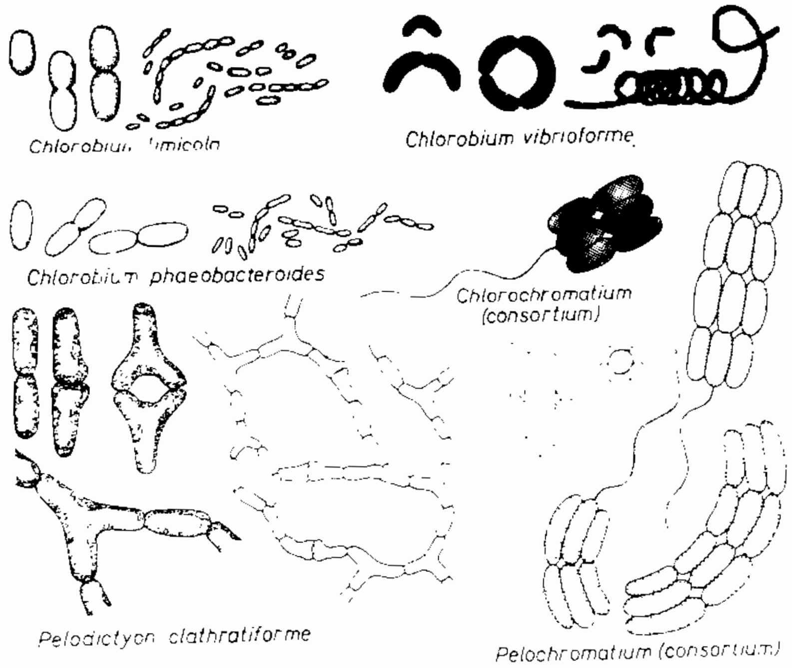
$$2\,H_2 + CO_2 \xrightarrow{hv} (CH_2O) + H_2O$$

د) المواد العضوية حيث يستطيع استخدامها تحت ظروف معينة كمعطى للايدروچين .

- الشكل المورفولـوچى : ذات اشكال مختلفة مثل الشـكل الشبكى (*Pelodictyon sp*) **والشـكل الـنجمى** (*Prosthecochloris* sp) والـشكـل الـعصـوى مـثـل *Pelochromatium* sp .

كمـــا انـها تحتـــــوى سلالات ذات صبـغات مـختـلفة مـنهـا الخضـــراء مثل *Chlorobium limicola , C. vibrioforme* والبنية مثل *C. phaerobaeteroides* .

كما ان منها البكتريا الزاحفة الخيطية مثل *Chloroflexus aurantiacus* وهو ميكروب واسع الانتشار ويمثل المكون الرئيسى لمعظم الكائنات الخضراء الموجودة فى قاع الترع والينابيع الساخنة . نسبة G + C فى حمض DNA تتراوح بين ٤٨,٥ - ٥٨,١٪ .



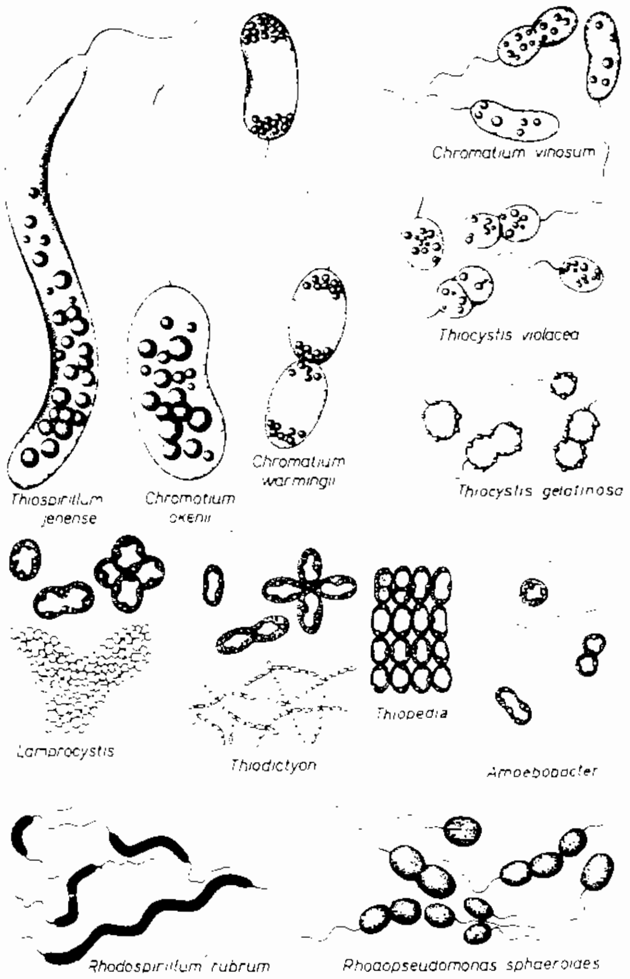
شكل (٣-١) : الشكل المورفولوچى لبكتريا الكبريت الخضراء نقلا عن شليجل (١٩٨٦)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣-٢-٢ بكتريا الكبريت الارجوانية : Thiorhodaceue :

- تستخدم المركبات الغير عضوية كمعطى للايدروچين مثل البكتيريا الخضراء .
- اهم اجناسها *Chromatium , Thiospirillum*, .
- نسبة G + C فى حمض DNA ٦١ - ٦٣٪ .
- تحتوى اساسا الكلورفيل البكتيرى b , a ومستوى ادمصاصهما عند ٨٠٠ - ٨٥٠ ، ٨٩٠ nm على الترتيب فى مجال infrared . وتحتوى كمية كبيرة من الكاروتينات ذات منحنى ادمصاص عند ٤٠٠ - ٦٠٠ nm .
- اغلبها اوتوتروفى وبعضها ينمو فى بيئة خالية من H_2S ولكن بها مصدر كربونى عضوى .
- الشكل المورفولوچى : يسهل التعرف عليها من خلال ترسيبات حبيبات الكبريت داخل خلاياها وهناك أنواع عصوية مثل *Chromatium okenii* (قطره 5 µm x طوله 20 µm) والنوع الخيطى مثل *Thiospirillum jenense* وبعضها كروية متحركة (*lamprocystis* sp) أو كروية غير متحركة (*Amoebobacter*) اما *Thiopedia* فهى مخروطية elliptical غير متحركة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-٢) : الشكل المورفولوچى لبكتريا الكبريت الارجوانية والارجوانية الغير كبريتية (شليجل ١٩٨٦)

٣٠٢٠٣ البكتريا الارجوانية الغير كبريتية : Athiorhodaceae :

- أهم اجناسها , *Rhodopseudomanas* , *Rhodomicrobium* , *Rhodospirillum* , *Vannielia*, .
- تحتوى كلوروفيل بكترى b , a .
- تنمو لا هوائيا فى وجود الضوء وايضا هوائيا فى الظلام .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- نسبة G + C فى DNA تتفاوت حسب الجنس والنوع فمثلا .

Rhodomicrobium sp.	٦٢ - ٦٤٪
Rhodopseudomanas sp.	٦٧ - ٧٠٪

- الشكل المورفولوجى : اشكالها مختلفة اما عصوية *Rhodopseudomonas* أو خيطة *Rhodospirillum* أو متبرعمة *Rhodomicrobium vannielii* ويظل البرعم متصلا بالخلية الام بواسطة سيقان تشبه الهيفات وعندما ينفصل عند الام يتحرك بفلاجيلات منتشرة على الخلية . وهناك الخلايا شبه المستديرة مثل *Rhodocyclus purophereus* .

- وتتميز بعدم ترسيب الكبريت داخل خلاياها حيث تؤكسد H_2S مباشرة إلى سلفات بدون S كمركب وسطى .

ويمكن تلخيص اهم الفروق بين العائلات الرئيسية الثلاث فى الجدول التالى :

وجه المقارنة	الخضراء Chlorobiaceae	الكبريتية الارجوانية Thiorhodaceae	الارجوانية الغير كبريتية Athiorhodaceae
- النمو اللاهوائى (فى الضوء)	+	+	+
- النمو الهوائى (فى الظلام)	–	–	(+)
-- اكسدة H_2S	+	+ (بلورات S واضحة)	(+) (مباشرة إلى SO_4)
- تخزين الكبريت	خارج الخلايا	داخل الخلايا	خارج الخلايا
- الصبغات	كلوروفيل بكتيرى a, c, d, c	B.chl. a, (b)	B.chl. a, (b)
- جهاز التمثيل	Chlorosames على الغشاء السيتوبلازمى	Thylakoids ذات فجوات تملأ الخلية	Thylakoids بجميع اشكالها من فجوات وأنابيب وطبقات
- تثبيت ك أ٢ بدوره كالفن	–	+	+

جدول (٣-١) : مقارنة بين العائلات الرئيسية الثلاث للبكتريا الفوتوتروفية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣٠٣ الصبغات البكتيرية :

تحتوى البكتيريا الممثلة للضوء على الصبغات البكتيرية ولذا تظهر بالوان مختلفة خضراء أو خضراء مزرقة أو ارجوانية أو حمراء أو بنية فى معلقاتها وهذا الإختلاف يرجع إلى طبيعة التركيب الكمى والنوعى لها ويمكن فصل مكونات الصبغات بواسطة absorption spectra حيث يفصل الكلوروفيل عند اللون الازرق (أقل من ٤٥٠ nm) ، الاحمر وتحت الاحمر (٦٥٠ – ١١٠٠ nm) بينما الكاروتينات عند (٤٠٠ – ٥٥٠ nm) .

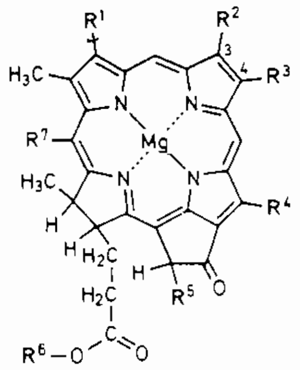
١٠٣٠٣ الكلوروفيل البكتيرى :

- يرجـــع الفرق بين انواع الكوروفـيل فى الكائنات المـمثلة للضوء اسـاسا إلى وجود أو غيـاب الرابطـــة المـزدوجة بين ذرات الـكربـون رقم ٣ ، ٤ وإلى اخـتلاف المجاميـع الاستبدالية على prophyrin كما يوضح ذلك الرسم التالى والجدول المرفق به (شكل ٣-٣) .

- وهـذه الفروق هى المسئولة عن اختلاف درجة الادمـصاص بواسطة الاسبكتروفوتومتر من كلوروفيل لآخر بل داخل الكلوروفيل الواحد . فمثلا كلوروفيل A فى الطحالب الخضراء والسيانوبكتريا يمكـن فصله عند ٦٨٠ – ٦٨٥ nm اما الكلوروفيل البكتيرى e, d, c, فى بكتـيريا الكبريـت الخضراء ، *Chloroflexus* يـفصـل عنـد ٧٠٠ – ٧١٠ nm والكلوروفيل البكتيرى A فى معظم البكتـيريا الارجوانية ما بين ٨٥٠ – ٨٩٠ nm اما الكلوروفيـل البكتيرى b الموجود فى *Rhodopseudomenas* فيدمص عند ١٠٢٠ – ١٠٣٥ nm .

اما داخل الكلوروفيل البكتيرى a (B. chl.a) فى البكتريا الارجوانية فيلاحظ منحنى امتصاصه عند ٤ مراحل (spectralforms) هى B 800 , B 820 , B 850 , B 870 - 890 . وترجع هذه الفروق فى الامتصاص بسبب نوع الرابطة ومكان جزئ الكلوروفيل البكتيرى فى معقد البروتين والصبغة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



Pigment	R^1	R^2	R^3	R^4	R^5	R^6	R^7
Chlorophyll a	$-CH=CH_2$	$-CH_3$	$-CH_2-CH_3$	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol	$-H$
Bacteriochlorophyll a	$O=C(CH_3)-$	$-CH_3$*	$-CH_2-CH_3$*	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol or Geranyl-geraniol	$-H$
Bacteriochlorophyll b	$O=C(CH_3)-$	$-CH_3$*	$=C(CH_3)H$*	$-CH_3$	$O=C(OCH_3)-$	Phytol	$-H$
Bacteriochlorophyll c	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	$-H$	Farnesol	$-CH_3$
Bacteriochlorophyll d	$-CH(OH)-CH_3$	$-CH_3$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$ $-CH_3$	$-H$	Farnesol	$-H$
Bacteriochlorophyll e	$-CH(OH)-CH_3$	$-CHO$	$-C_2H_5$ $-C_3H_7$ $-i-C_4H_9$	$-C_2H_5$	$-H$	Farnesol	$-CH_3$

* Saturated bond between C-3 and C-4

شكل (٣-٣) : الفرق بين الكلوروفيل a ، الكلوروفيل البكتيرى a, b, c, d, e
(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

٢٠٣٠٣ الكاروتينات :

- ويطلق عليها الصبغات المساعدة فى عملية التمثيل الضوئى وتدمص عند ٤٥٠ - ٥٥٠ nm وهى غالب مركبات ثيناتية (C_{40}) مع مجاميع هيدروكسى اوميثوكسى .
- واهمية الكاروتينات ترجع إلى :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

١ - تدخل فى Antenne Pigment وهى قنوات توصيل الطاقة إلى الكلوروفيل .

٢- تقوم بحماية الكلوروفيل من الاكسدة الضوئية ولذا الطفرات الخالية من الكاروتينات فى البكتريا الارجوانية تنمو فى الضوء الضعيف جدا بينما الاضاءة الكثيفة تقتلها حيث تقوم الكاروتينات بالتخلص من الطاقة الزائدة وتحولها إلى حرارة .

٣٠٣٠٣ اماكن وجود الصبغات :

توجد الصبغات فى البكتريا الارجوانية فى اوعية او حوامل مرتبطة على الغشاء السيتوبلازمى الداخلى (Thylakoids) وهى على شكل كريات صغيرة أو اشكال انبوبية ولذا يأخذ الغشاء اشكالا مختلفة مثل lamellar stacks , Tubules , Vesiceles ويطلق على هذه الاوعيه والتى يمكن الحصول عليها بتكسير الخلايا بواسطة الطرد المركزى اسم chro-matophors اما فى البكتيريا الخضراء فإن الصبغات توجد مرتبطة بنوعين منفصلين من انسجة الخلية .

١ - Antenne pegments على الكروموسومات .

٢ - Reaction center pegment على الغشاء السيتوبلازمى

اما فى النبات فيوجد الكلوروفيل فى البلاستيدات

٤٠٣٠٣ تنظيم وتخليق الصبغات وحواملها :

يتوقف ذلك على ظروف النمو المختلفة واهمها :

١ - قوة الاضاءة : يزداد محتوى الصبغات فى الخلية بتقليل شدة الاضاءة اثناء النمو .

٢ - وجود الاكسجين (للانواع الاختيارية) : حيث وجد ان الاضاءه القوية ووجود الاكسجين يقلل تخليق الكلوروفيل البكتيرى والكاروتينات ويؤثر ايضا على الانزيمات الداخلة فى عملية تخليقهم .

٣ - عدد Vesicelcs , Tubules ليس له تأثير على محتوى الصبغات سواء بالزيادة أو بالنقص لان تركيز الصبغة ثابت .

وانسب الظروف لعملية تخليق الصبغات أو حواملها هو الاضاءة الضعيفة مع ظروف لا هوائية .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٤٠٣ اسس عملية الفسفرة الضوئية :

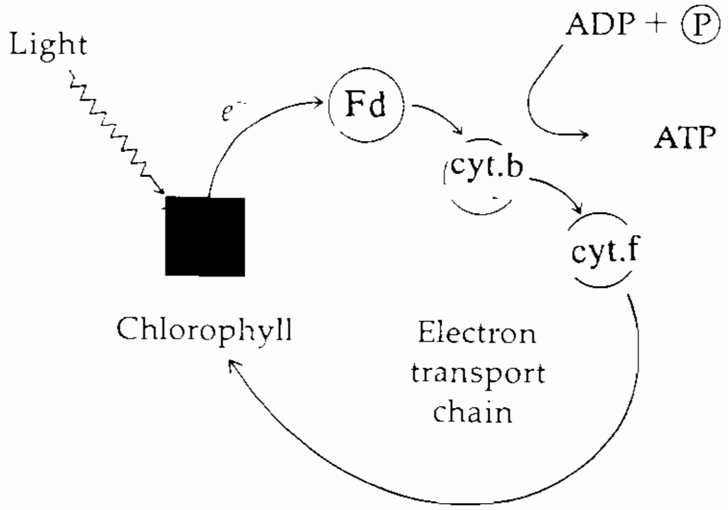
أولاً : انتاج الطاقة (تكوين ATP) بمساعدة الضوء light quanta وهو ما يعرف بعملية photo phosphorylation .

ثانياً : وجود العامل المختزل reductent القادر على اختزال المركبات الغنية بالطاقة إلى مكونات داخل الخلية .

ولقد توصلت ابحاث ارنون ومساعدة فى السبعينات إلى نوعين مختلفين من الفسفرة الضوئية هما الفسفرة الحلقية والفسفرة الغير حلقية .

١٠٤٠٣ الفسفرة الضوئية الحلقية : Cyclic photophosphorylation :

ويسود هذا النوع فى النباتات وقليل من البكتريا حيث يتم تخليق ATP ومصدر الالكترون هنا ذاتى ويتم على مرحلة واحدة هى etectron translocation . وتعرف ذلك cyclic chain , cyclic flow كما بالرسم .



شكل (٣-٤) : الانسياب الحلقى وعملية الفسفرة الحلقية فى النباتات

- والفرق الاساسى بين الفسفرة الحلقية والتنفس هو ان الالكترونات المتكونة فى الاول لا تطرد ولا تخرج من الدورة وانما تدخل فى الكلوروفيل فتحدث له عملية اثارة بواسطة كوانتم الضوء ثم ينتقل مرة اخرى إلى الفيرودكسين اما فى التنفس فتطرد وتستقبل فى

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

النهايـة بواسـطة مستقبل الالكترون (الاكسجـين أو بـدائله) والفيـرودكسين كما سبق وصـفه (راجع بـند ٢-٤-٢) بـروتين يحتوى على حـديد ذو جهد اكـسدة واختـزال غير عـادى (0.342V -) وهـو يماثـل جهد الكترود الايدروجين عنـد 7.0 pH (H_2 / H^+ - 0.42V) يرحـل عنه زوج من الالكترونـات ويـدخلا سلسلة تفاعلات الاكسـدة والاختزال (سيتوكروم f ، b) قبل ان يعود إلى الـكلوروفيل مرة اخرى فى النهاية .

- وقد امكن معمليا اثـبات تخليق ٢ جزئ من ATP خلال هذا التفـاعل وحيث ان دورة كالفـن تحتاج لـ $NADH.H^+$ لهذا فإن الاعـتماد الاكبر يكـون على الفسفـرة الغير حلقية .

٢-٤-٣ الفسفرة الضوئية الغير حلقيه : Non cyclic photophosphorylation :

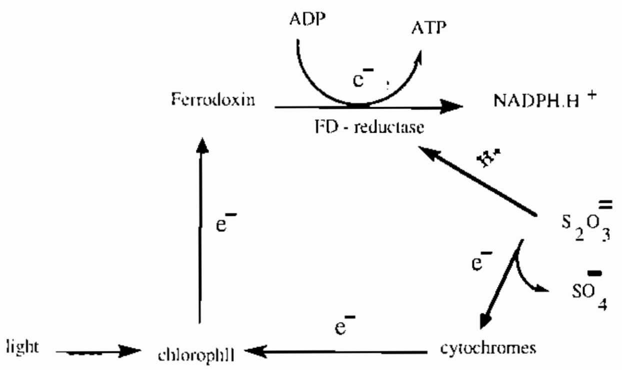
يعتقـد Van Niel سنة ١٩٣١ ان التحلـيل الضوئى photolysis للمـاء شائـع فـى كل الكائنـات الممثلة للضوء وعلـى رأسها النبات وأن $[OH]^-$ المنفرد يتحـول انزيميا إلى جـزئ اكـسجين فى النبـات أو يختزل إلى الماء فـى البكتيريـا بواسطة أى معطـى الكترون خـارجى .

العالـم Losada وآخرون سنة ١٩٦١ لاحـظ ان التحليل الضـوئـى للمـاء موجود فى النباتات ولا يلاحظ فى البكتريا وافترض ان الايدروجين الموجود يختزل المرافق NAD^+ .

اما العالم Ogata وآخرون سنة ١٩٥٩ فإقترح ان اختزال NAD^+ الغير مرتبط بوجود الضوء فى البكتيريا يتأثر بوجود معطى الكترون خارجى .

وطبقـا لهـذه الابحـاث فإن الالكترونات الناتجة من الكلوروفيل المنـشط بكوانتم الضوء فـى عـملية التمـثيل الضوئى فـى النبات يـحتاج اليه فـى أ) انتاج ATP ب) اختـزال NAD^+ والبـروتـون اللازم للاخيـر ينتـج من التحليل الضـوئى photolysis للماء امـا فـى البكتريـا فالالكترونـات المنبعثة مـن الكلـوروفيل تدخل ايـضا فـى تـكوين ATP واختـزال NAD^+ ولـكن البروتون اللازم للاخـير يأتـى مـن عامل مختزل خارجـى (H_2S مثلا) كما يلاحظ فى الشكل التالى .

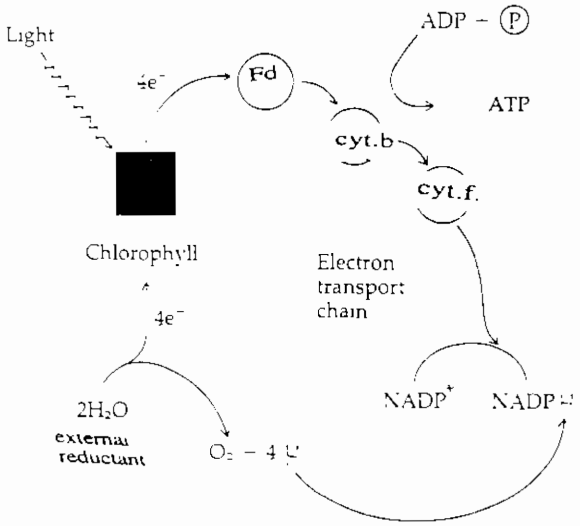
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-٥) : اختزال $NADP^+$ فى بكتريا الكبريت بواسطة معطى ايدروجين خارجى

ويلاحظ ان الانزيم الذى يلامس التفاعل هو ferredoxin - $NADP^+$ reductase (EC 1.6.99.4) ويحل محله فى بعض الميكروبات NADP- cyt. C_{552} reductase (EC 1.6. 2.4) or pyridine nucleotide transhydrogenase (EC 1.6.1.1)

كما يلاحظ ان الانسياب الحلقى للالكترونات لا يحدث اطلاقا تحت الظروف المختزلة القوية وفى وجود معطى الكترون خارجى بعكس الفسفرة الغير حلقية والتى يطلق عليها بـ open e - transport chain والهامة فى تكوين القوة المختزلة $NAD (P)H.H^+$ اللازمة لتثبيت ك أ٢ من خلال دورة كالفن .



شكل (٣-٦) : الفسفرة الغير حلقية وتكوين القوة المختزلة فى بكتريا الكبريت اللاهوائية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويوضح الرسم السابق الآتى

١) تكوين جزئ واحد ATP عند cyclic side .

٢) اعتماد تكويـن القوة المختزلة على الانسيـاب الغير حلقى (المفتوح) لـلالكترون حيث يعمل NAD (P) كمستقبل نهائى له والبروتون يأتى من المعطى الخارجى .

ولقد اظهـرت الدراسات الحاجة إلى وجود نـظامين مختلفـين للصبغات الماصـة للضوء (system I , system II) أحدهما ينشط الالـكترونات القادمة من التحلل الـضوئى للماء والآخر يمتص وينشط الالكترونات القادمة من العامل المختزل الخارجى .

Pigment system I	Pigment system II	وجه المقارنة
طويل أكبر من nm ٧٣٠	قصير أقل من nm ٧٠٠	طول الموجه
$Chla_I$ (P 700)	$Chla_{II}$ (P 680)	معطى الالكترون
X (Fe - S protein)	X 320	مستقبل الالكترون

٥٠٣عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية :

Oxygenic Photosynthesis

وتلاحظ فى النباتات وجميع الطحالب ماعدا الخضراء المزرقه وتتم فى حوامل الصبغات التى تـوجد فى الكلـوروبلاست فى النـباتات الراقـية والطحالـب الخضراء أو على الـغشاء السيتوبلازمى فى الـطحالب الخضراء المزرقة (Cyanobacteria) وحوامل الصبغات فجوات محكمة الـغلق رقيقة الجدار تحتـوى كلوروفيل a , b ، c ، d والكاروتينـات وكذا حوامل الالكترونـــات والانزيمــات واغلب جزئيات الكلوروفيـل (٩٩,٥ ٪) والصبغات المساعـدة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?
user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/
/Biothesis

https://www.researchgate.net/profile/
/Salam_Ewaid

07807137614

(الكاروتين ، phycobiliprotein) تستخدم لامتصاص الضوء وتوجيه الطاقة ولذا يعبر عنها او تعرف Antenne pigment system فقط جزء صغير جدا من كلوروفيل A تعمل كمركز تفاعل reaction center والذى يحتمل ان تحدث عليه تفاعل الاكسدة والاختزال الكيموضوئى photochemical redox reaction وهو يستقبل الطاقة الموجهة اليه من Antenne pigment . والكاروتينات لها وظيفة حماية الكلوروفيل .

وعملية التمثيل الضوئى تحت الظروف الهوائية تحتوى على نظامى الصبغات المذكورين آنفا وهذا يسبب تفاعلين ضوئيين احدهما حلقى والاخر مفتوح .

التفاعل الأول :

حيث تنشط $chl.a_I$ (P 700) بواسطة طاقة الضوء الممتصة مما يسبب اكسدته وتحوله إلى $chla_I^+$ وذلك على حساب اختزال المستقبل [X] وهو عادة بروتين يحتوى على الحديد والكبريت ذو جهد اختزالى ما بين 420 to - 530 mV - والذى ينقل البروتون بدوره إلى الفيرودكسين ومنه إلى $NADP^+$ أو أى مستقبلات اخرى اما الالكترون فينقل من [X] عبر البلاستوكينون ، السيتوكروم ، البلاستوسيانين إلى $chla_I^+$ فيما يعرف بالدورة الحلقية .

التفاعل الثاني :

فإن $chla_{II}$ (p 680) الخاص بـ pigment sys. II يثار بواسطة الطاقة الضوئية الممتصة . وهذا التنشيط او الاثارة يؤدى لفقد الكترونات تستقبل بواسطة (X320) والقوة الاختزالية المتكونة ضعيفة (E_0 ~OmV) لا تكفى لتكوين $NADPH_2$ ويتم تعويض الالكترونات التى تفقد من $chla_{II}$ بواسطة مصدر خارجى (الناتجة من انفصال جزئى الماء)

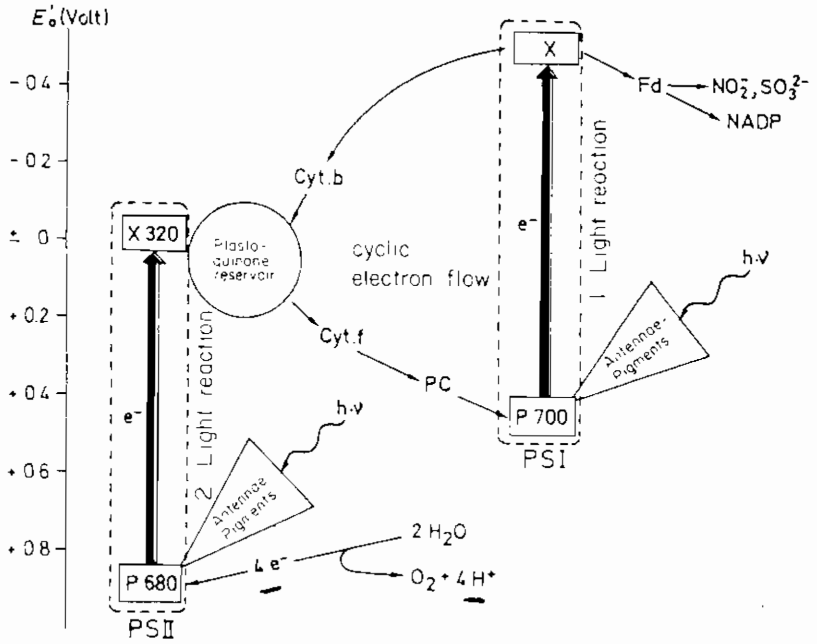
$$2\,H_2O \longrightarrow O_2 + 4\,H+ + 4\,e^-$$

ولهذا فانتقال الالكترون ذو نظام مفتوح .

ويتم ربط التفاعلين ببعضهما من خلال سلسلة انتقال الالكترونات فى وجود البلاستوكينون كمخرن للالكترونات التى يأخذها من X 320 من التفاعل الثانى ليختزل بها $chla_I$ من التفاعل الاول والرسم التالى والمعروف باسم Zizack Scheme يوضح كيفية حدوث التفاعل وانتقال الالكترون وهو محصلة تجارب واختبارات عديدة باستخدام light flash spectrophotometry وبواسطة معطيات ومستقبلات الكترونية صناعية ومثبطات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

متخصصة آخذا فى الاعتبار جهد الاكسدة والاختزال للصبغات منفردة وكذا حوامل نقل الالكترون والتتابع الزمنى لعمليات الاكسدة والاختزال بالرغم من انه لا يعطى معلومات عن اماكن وجود هذه المواد على الغشاء .



P 700, Chl a_I (electron donor of pigment system I (PSI));
P680, Chl a_{II} (electron donor of pigment system II (PSII));
X320, electron acceptor of PSII;
X, electron acceptor of PSI, an iron–sulphur protein;
Fd, ferredoxin;
PC, plastocyanine;
Cyt, cytochrome. The photochemical reaction centres are ringed by broken line. See text for explanations.

شكل (٣-٧) : عملية التمثيل الضوئى تحت ظروف هوائية (Z - Scheme)

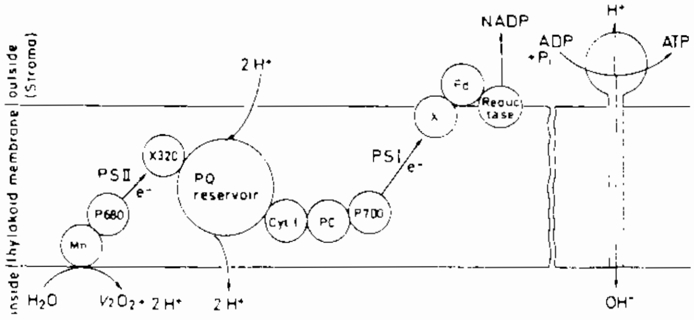
(نقلا عن schlegel سنة ١٩٨٦)

اماكن وجود حوامل الالكترونات على الغشاء وحدوث تدرج البروتون

امكن باستخدام المضادات الحيوية وانظمة الاكسدة والاختزال الصناعية تحديد بعضها مثل ferredoxin , FD - NADP reductase على غشاء thylakoids من الناحية الخارجية والرسم التالى يضع تصورا لعملية انتقال الالكترونات e - transport system فى آغشية التمثيل الضوئى وكيفية حدوث تدرج البروتون proton gradient وتكوين ATP والقوة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المختـزلة NADP ويجب ان نفرق بـينه وبـين الرسم الـسابق الخاص بـ redox potenial diagram .



The components are arranged in the membrane so as to produce a vectorial electron flow through the membrane.
Mn, manganese complex;
PC, plastocyanine;
PQ, plastoquinone;
Cyt. f, cytochrome f;
Fd, ferredoxin;
X, iron-sulphur protein.
See Fig. 12.14 for further explanations.

شكل (٣-٨) : نظام انتقال الالكترون عبر اغشية thylakoid فى البكتريا الفوتوتروفية

اثبات حدوث تدرج البرتون :

امكن بواسطة تعريض معلق من الكلوروبلاست او thylakoid المحطمة إلى شدة اضاءة معينة ملاحظة أن pH تزداد فى البيئة الخارجية يعقـبها عند ابعاد الاضاءة انخفاض pH أى أن الاضاءة تسبب انتـقال البروتون ألى Thylakoid وبمعنى آخر ان طاقة الـضوء تستخدم لخلق تدرج البروتون عبر غشاء thylakoid . وقد لوحظ قديما انه يمكن تخليق ATP فى معلـقات thylakoid فـى الـظلام إذا زاد pH البيـئة مـن ٤ إلى ٨ مما أكـد التصـور الـ Chemiosmotic لتحولات الطاقة .

وعلى ضوء ذلك - وكما يتضح من الرسم السابق - افترض ان انتـقال الكترون واحد فى تـفاعلـين ضوئـيين يؤدى لانـتقال ٢ بـروتون مـن الماء خلال غـشاء thylakoid إلى $NADP^+$ على الناحية الخارجية مما يؤدى لاختزال الاخـير وتكوين شحنة على الغشاء وهذا يسبب جهد تدرج البروتون الذى يسبب تخليق ATP فى وجود ATP synthase .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦٠٣ التمثيل الضوئى تحت ظروف لا هوائية :

Anoxygenic photosynthesis

يختلف فى بعض النقاط عما سبق مناقشته فى مثيله الهوائى فيمايلى :

١) يوجد تفاعل ضوئى واحد ينتج عنه انتقال الكترون حلقى cyclic e-transport .

٢) الالكترونات اللازمة لاختزال NAD^+ لا تأتى من انفصال جزئ المـاء وهذا يعتمد على وجود مواد خارجية فى البيئة (e - donar) .

٣) عدم انطلاق اكسچين .

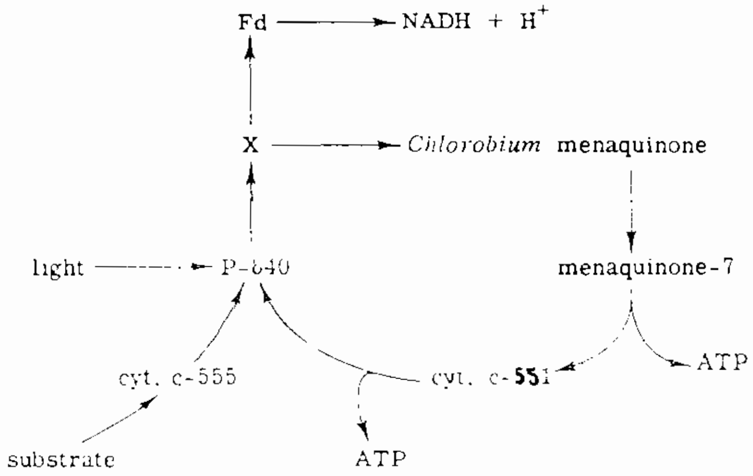
٤) لا يوجـد open chain فى انتقـال الالكترونات من المـعطى إلى NAD^+ فى بكتريا الكبريت الخضراء .

٥) $NADH.H^+$ تتكـون بوضوح فى تفـاعل الظلام فى خـطوة اشتقـاق الطاقة العـكسى لانتقال الالكترون .

١٠٦٠٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى بكتريا الكبريت الخضراء : Chlorobacteriaceae

- يحتوى على كلـوروفيل بكتيرى مميز لهذه العـائلة يسمى chlorobium chlorophyll وهو يعتبر معطى الالكترون لمركز التفاعل الفوتوكيمياوى (X = p 840) .
- يحتوى الفيرودكـسين ويشبه ـلـد كبير مثيلـه الموجود فى البكتريا اللاهوائيـة الغير ممثلة للضوء ودورة هو اختزال NAD^+ للحصول على القوة الاختـزالية اللازمة لتثبت CO_2 من خلال دوره كالفن .
- يحتوى quinone وقد عزل ٣ انواع منه mena quinonc7, polar menaquinone, chlorobium quinonc .
- يوجد ٣ أنواع من سيتوكروم C هم C_{551} ، C_{553} ، C_{555} ولا يوجد بروتوهيم فى الخلايا ولذا لا يوجـد cyt.b . يشبه cyt. C_{555} تماماً cyt.c فى الطحالب المعـروف بـــ (cyt.f) ولكن مميز عن cyt.c فى البكتريا الارجوانية غير الكبريتيه . أما cyt C_{553} يبـدو أنـــه يتفاعل كـ sulfide - cyt.c - reductase امـا بالـنسبة لـ cyt. C_{551} يتفـاعل كـ Thiosulfate - cyt.c reductase .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-٩) : ميكانيكية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى فى بكتريا الكبريت الخضراء ومنه يظهر الدور الذى تلعبه السيتوكرومات والكينونات فى التفاعل

- ولكن تظل مشكلة مستقبل الالكترونات غير واضحة المعالم حيث لم يعرف بعد إذا كان [x] هو الفيرودكسين أو أى مركب وسطى آخر غير معلوم .

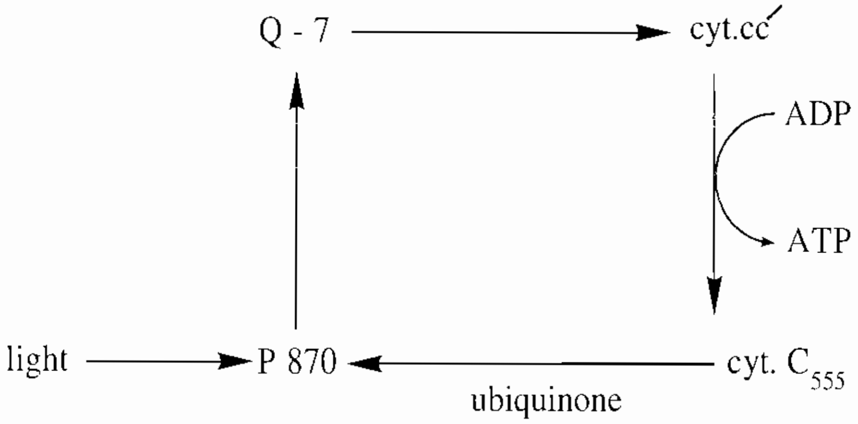
- كمية الطاقة الناتجة مساوية للمتحصل عليها من التفاعل الاول فى cyanobacteria السابق شرحه ولهذا تعتبر عملية التمثيل الضوئى فى البكتريا الخضراء حالة وسط بين النباتات الراقية والسيانوبكتريا من ناحية والبكتريا الارجوانية من ناحية اخرى .

٢٠٦٠٣ التمثيل الضوئى فى بكتريا الكبريت الارجوانية : Thiorhodaceae

- مركز التفاعل النشط للكلوروفيل البكتيرى عند P 870 ، أو P 890 في *(Chromatium)* .

- عُزل سيتوكروم C_{553} وهو يشبه في خواصه cyt.f المعزول من الطحالب وايضا C_{555} يشبه المعزول من البكتريا الخضراء *(Chlorobium sP)* ويرتبط مع P 890 الذى يتأكسد على حساب اختزال المرافق الانزيمى Q - 7 كما عزل ايضا سيتوكروم CC´ الذى يكّون معقد مع مركز التفاعل P870 ومسببا flow system التالى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



حيث تمثل الكينونات (Q - 7) المستقبل الاول للالكترون من مركز التفاعل الفوتوكيمياوى P 870 وهذه الخطوة هامة فى مقارنتها مع بكتريا الكبريت السابقة حيث مستقبل الالكترون الاول فيها menaquinone ووجود ubiquinone فى *Chromatium* يمثل ارتباط او تقارب مع Athiorhodaceae (الكبريتية غير الارجوانية) .

- اقترح Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨ وجود ٣ انظمة لانسياب الالكترونات حسب جهد الأكسده والاختزال redox potential :

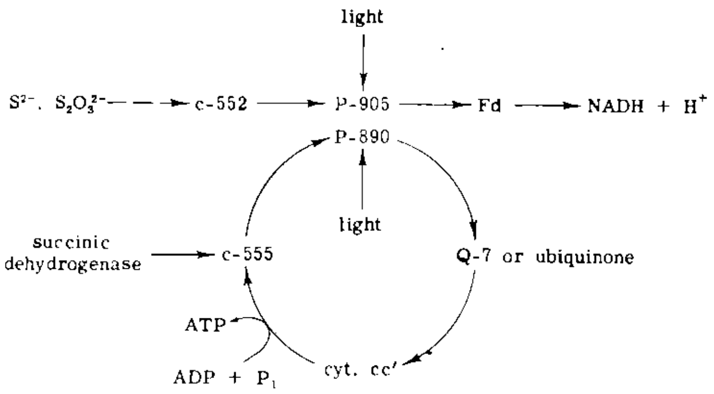
أ) النظام الحلقى وذلك فى الظروف المؤكسدة القوية مع كثافة ضوئية ضعيفة ويستخدم P 890 كمركز تفاعل فوتوكيمياوى .

ب) النظام المفتوح فى الظروف المختزلة القوية مع كثافة ضوئية عالية ويستخدم cyt. c_{552} مع P 905 كمركز تفاعل . ويلاحظ تحت الظروف اللاهوائية فقط . ويمكن استبدال نظام الفسفرة المفتوح أو الغير حلقى تدريجيا بالفسفرة المؤكسدة عندما تسود الظروف الهوائية وتصبح O_2 هو مستقبل الالكترون النهائى .

جـ) تتضمن كلا النظامين وذلك فى المرحلة الانتقالية transition region لجهد الاكسدة والاختزال (ما بين الظروف المؤكسدة والمختزلة) .

وافضل فسفرة ضوئية يمكن التحصل عليها عند 50 - 100 mV .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-١٠) : نظامى انتقال الالكترون فى Thiorhodaceae (الحلقى والمفتوح) طبقا لتصور Cusanovich & Komen سنة ١٩٦٨

- ايضا ظروف نمو الكائن تلعب دورا فى تحديد نظام الفسفرة : ففى حالة النمو اوتوتروفيا (مصدر الالكترون S_2O_3 , S , H_2S) فإن القوة المختزلة $NADH.H^+$ اللازمة لتثبيت CO_2 يتكون من دورة « P 905 المفتوح » اما عند تنمية الخلايا هتيرتروفيا (مع السكسينات) وعدم الاحتياج لقوة اختزالية كبيرة فالدورة الغالية هى « P 890 الحلقية » .

عموما فإن نظام انتقال الالكترون فى thiorhodaceue مازال به الكثير من النقد مثل وجود مركزى تفاعل وهل فعلا الفيرودكسين ، ubiquinone هما مستقبلا الالكترون الاولى فى النظامين الغير حلقى والحلقى على الترتيب .

٣-٦-٣ التمثيل الضوئى اللاهوائى فى البكتريا الارجوانية الغير كبريتية:

Athiorhodaceae

- بعكس العائلتين السابقتين فإن افرادها يمكنها النمو بوضوح لاهوائيا فى الضوء (photosynthesis) أو هوائيا فى الظلام (Oxidative respiration) ولهذا يستطيع الكائن التحول switch من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة المؤكسدة . ولهذا فمن المتوقع وجود كلا نظامى انتقال الالكترون (الحلقى والمفتوح) فى كائنات هذه العائلة .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

- مركـز التفاعـل الكيموضوئـــى هـــو P - 890 فى *Rhodospirillum rubrum* او P - 870 *Rhodopseudomonas spheroides* .
- يحتوى جميع افرادها على ubiquinone وليس menaquinone والسائد هو U Q - 10 أو ما يسمى rhodoquinone .
- يفترض وجود مستقبل الكترونات غير معلوم [X] الذى يختزل بواسطة P - 870 وهو غالبا بروتين يحتوى الحديد والكبريت .
- بالاضافة إلى U Q يوجد ferredoxin وعدد من السيتوكرومات من النوع C (C_{550} ، C_{553} ، C_{558}) وايضا النوع b . والنوع C_{553} يتأكسد اساسا عند اضاءة منخفضة بينما النوعين الآخرين يتأكسدان غالبا عند اضاءة عالية .
- فى حالة الفسفرة الضوئية الحلقية لوحظ اختزال NAD^+ فقط فى وجود السكسينات أو الفورمات كمصدر خارجى للالكترونات ولهذا يعتقد انهما تتدخلان فى نقل الالكترون من photoreducing site إلـــى photooxidizing site للكروماتوفـــور chromatophore .
- وجـود cyt. C_2 يعتبر كـنقطة تفرع له القدرة علـى التفاعل مع كل من نظام الـتمثيل الضوئى (لا هوائى – ضوء) ونظام التنفس (هوائى – ظلام) .

  وقد يطلق عليه NADPH - cyt.c reductase ويعتبر NADH oxidase جزء منه فى الخلايا النامية فى الضوء أو الظلام .
- دور الاكسچين : فى غياب معطى الكترون خارجى مثـل السكسينات فإن الفسفرة الحلقية تثبط بشدة بالاكسچين فإذا حدث التغير من الظروف الهوائية إلى اللاهوائية سريعـا فإن NAD^+ يختـزل امـا العكس مـن اللاهوائية إلــى الهوائيــة يتــأكسد $NADH.H^+$.

٧٠٣ التحولات الايضية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء : photometabolisms

- عملية التحول الايضى لـلمواد الغير عضوية أو العضوية بواسطة البكـتريا الممثلة للضوء مليئة بعلامات الاستفـهام فبعضها يثبت ك أ٢ عن طريق دوره كالفـن والبعض الآخر يمكن لاهوائيا وفى الـظلام بواسطة التخمر لبعض المـواد المخزنة كمصدر H_2 الحصول على الطاقة اللازمة لمعيشتها ولكنها غير كافية لحد ما .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- البكتريا الفوتوتروفيه تعتمد علــى معطى أيدروچين خارجى مثل جزئ الايدروچين نفسه أو كبريــتيد الايدروچين أو الــكبريت المعدنــى أو الثيوسلــفات أو الاحماض العــضوية والكحولات والسكريات واحيانا بعض المركبــات الحلقية وستعرض فى الجزء القادم من هذا الباب لدراسة التحولات المختلفة لهذه المواد بواسطة البكتريا الممثلة للضوء .

١٠٧٠٣ تحولات الايدروچين والكبريت الغير عضوى :

Hydrogen and Inorganic sulfer photometabolism

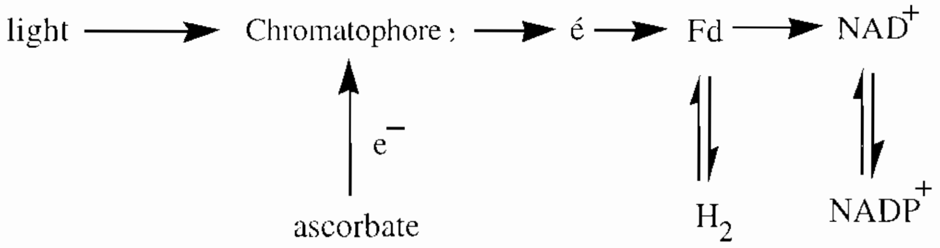
يوجد تفاعلان محددان فى البكتريا الممثلة للضوء .

١) اختزال H_2 ضوئيا . ٢) اختزال ك أ$_2$

وكلا التفاعلين يحدثان فى *Chlorobium* ، *Chromatium* ، *Rhodobacterium* .

اختزال H_2

فى حالة عــمل جزئ الايدروچين كمعطــى للالكترون فإنه يــستعمل كعامل مــختزل لـ NAD^+ . وتُظهر مستخلصات الميكروبات السابقة أن اختزال NAD^+ مرتبط بالفيرودكسين Fd والانزيم المسئول عن هذه الخطوة هو Fd - NAD reductase . ومعدل اختزال NAD^+ يعادل ٣ أو ٤ مرات اختزال $NADP^+$ مما يدل على أن NAD^+ هو الاساس - ولكن ليس الوحيد - كمستقبل للالكترون .

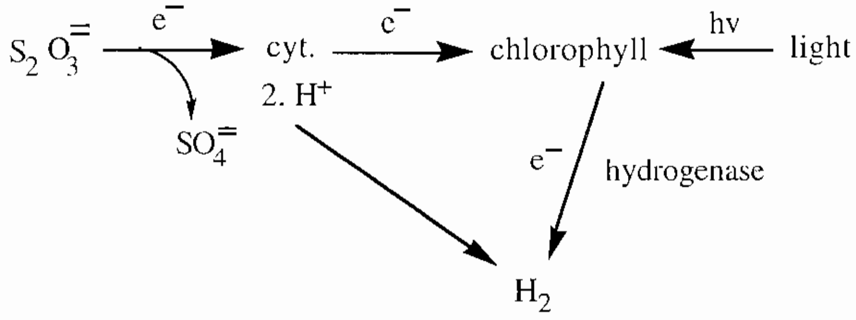


شكل (٣ - ١١) : نظام انسياب الالكترون المؤدى لاختزال نيوكليوتيد البيريدين فى البكتريا الممثلة للضوء (Hoare and Hoare, 1969)

ويحتاج اختزال H_2 ضوئيا لمعطى الكــترون غير عضوى مثل H_2S أو الثيوسلفات . وثبت ان السيــتوكروم فى *Chromatium* sp. يختزل بواســطة الثيوسلفات وبالتــالى يعمل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

كمنفذ دخول للالكترونات وبمساعدة الضوء وانزيم hydrogenase يختزل الايدروچين بالاضافة إلى اكسده الثيوسلفات إلى سلفات كما بالشكل التالى (٣ - ١٢) .



شكل (٣ - ١٢) : ميكانيكية انتقال الالكترون للاختزال الضوئى للايدروچين فى وجود الثيوسلفات

اختزال ك أ٢ :

- لا يعتمد اختزال ك أ٢ بجزئ الايدروچين (كمعطى للالكترون) على الضوء . فعند كثافة ضوئية منخفضة يكون معدل الاختزال فى وجود H_2 أو الثيوسلفات متعادلا وكلما زادت كثافة الضوء كلما قل تثبيت ك أ٢ بجزئ الايدروچين .
- ويثبط انطلاق الايدروچين بواسطة غاز النتروچين أو ايون الامونيا وايضا معطيات الالكترون العضوية بينما لايثبط تثبيت (اختزال) ك أ٢ بهم طالما ان الثيوسلفات هى معطى الالكترون مما يدل على ان انسباب الالكترون إلى H_2 هو الذى يثبط وليس انسياب الالكترون إلى اختزال ك أ٢ عبر NAD (P) ويمكن التعبير عن تسلسل التفاعل كالتالى :

$$S_2O_3^{2-} + 2\,OH^- \longrightarrow S + SO_4^{2-} + 2\,e^- + H_2O$$

$$S + 8\,OH^- \longrightarrow SO_4^{2-} + 6\,e^- + 4\,H_2O$$

$$10\,H_2O \longrightarrow 10\,H^+ + 10\,OH^-$$

$$S_2O_3^{2-} + 5\,H_2O \longrightarrow 2\,SO_4^{2-} + 8\,2^- + 10\,H^+$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

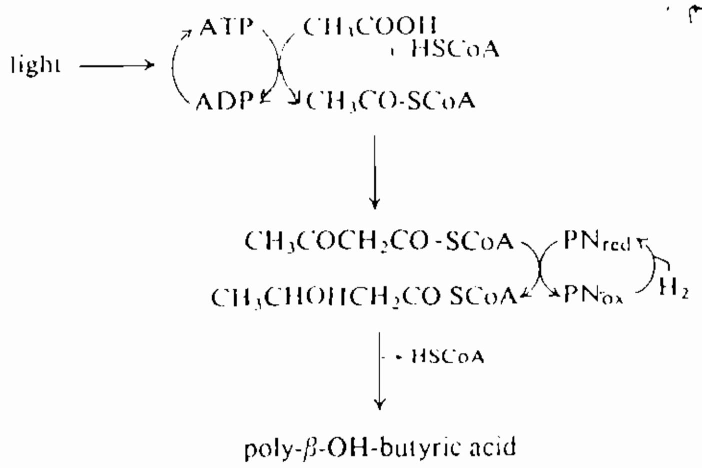
٢٠٧٠٣ تحولات الاسيتات : Acetate photometabolism

يستطيع ميكروب *Rhodospirillum rubrum* تمثيل الاسيتات مباشرة فى غياب ك أ٢ حيث تتحول الاسيتات إلى استيل كوانزيم A بواسطة انزيم منشط وفى وجود استيل ادينالات كمركب وسطى كما فى التفاعل التالى :

a cetyl + ATP ⇌ a cetyl adenylate + pyrophosph.

a cetyl adenylate + CoA ⇌ a cetyl ~ CoA + AMP

وباتحاد جزئين من الاستيل كوانزيم A يتكون اكسا لواسيتيل - كوانزيم A ومنه إلى المركب الرئيسى للتفاعل وهو بيتا هيدروكس بيوتيرات poly β - hydroxybutrate ولان هذا التفاعل اختزالى فإن بعض الاسيتات لابد أن تتأكسد لتكوين القوة الاختزالية المطلوبة . ولهذا فإن تحول الاسيتات إلى البولمر يتنافس مع تثبيت ك أ٢ على القوة المختزلة الميسرة المحدودة . وفى غياب ك أ٢ فإن البولى هيدروكس بيوترات تتكون كمركب احتياطى reserve product كما بالرسم .



شكل (٣ - ١٣) : ميكانيكية تحول الاسيتات إلى البولى هيدروكس بيوترات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

وأهمية تكوين البولمر ترجع لعدم قدره الخلية البكترية على تكوين الاحماض الدهنية بدون احداث بعض الاضرار damage لها وهذه الاحماض متعادلة وتقوم يعمل

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ضغط اسموزى داخلى وتساعد الخلية فى تكوين قوة اختزالية احتياطية تستخدم فى تثبيت ك أ٢ .

والانزيمان اللذان ثيسيان لتكوين وتحلل البولمر تم عزلهما وتعريفهما :

أ) ٣ - هيدروكسى بيوترات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.30) وهو يلامس التفاعل a :

$$\text{acetoacetate} + \text{NADH.H}^{+} \underset{b}{\overset{a}{\rightleftharpoons}} 3\text{ - hydroxybutrate} + \text{NAD}^{+}$$

ب) ٣- هيدروكسى اسيد ديهيدروجينيز الذى يلامس التفاعل العكسى (b) من البولمر إلى الاستيواستيات

تحت الظروف اللاهوائية وفى وجود الضوء يستطيع ميكروب *Rhodopseudomonas spheroides* تحويل الاسيتات عبر المالات الى بيروفات

A cetate → a cetyl ~ CoA → malate → pyruvate

والانزيم المستخدم فى تخليق المالات هو malate synthase (EC 4.1.3.2)

وهذه الميكانيكية تسمح للكائن ان يتجنب استعمال انزيم citrate synthase (EC 4.1.3.7) الذى يلعب دورا تنظيميا فى ميكروب *Rhodops. Capsulate*

- هناك طرق pathways اخرى لتحولات الاستيات بواسطة البكتريا الممثلة للضوء مثل *Chromatum* ، *Rhodosp. rubrum* مع تكوين Citramalate ، وربما الجلوتامات كناتج نهائى .

a cetate → a cetyl ~ CoA → Citramalate → itaconate → glutamate

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣٠٧٠٣ تحولات البيروفات : Pyruvate photometabolism

البيروفات يمكن ان تتحول ايضا بواسطة البكتريا الممثلة للضوء فى عدة محاور فمثلا :

- ميكروب *Rhodospirillum rubrum* بجانب تحويله للبيروفات فإنه يستخدمها لتخليق مكونات الخلية فقد وجود طاقة ضوء كافيـة ومادة التفاعل حيث يُكَّون مواد مخزنه مثل البولى هيدروكس بيوترات والبولى سكريدات . والمركب الأول يفضل ظروف لاهوائية ضوئية مع جزئ الايدروجين بينما الثانى يفضل الظروف اللاهوائية مع جزئ النتروجين لتكوينـه ويلعب انزيم pyruvate kinase (EC 2.7.1.40) دورا تنظـيما فى عمـلية التخليق .

- عـزل انـزيم pyruvate carboxylase المرتبـط بـ Co - A (EC 6.4.1.1) من ميكروب *Rhodopseudomonas spheroides* يشـير إلى إمـكانيـة نزع ك أ٢ من البيروفات لتكوين استييل كوانزيم A والاستيات .

- اثنـاء النمو اللاهـوائى وفـى الظـلام يسـتطيع *Rhodospirillum rubrum* تخليـق الهيدروكسـى بيروتـرات مـن تخمير البيروفـات بمساعدة انزيـم pyruvate ferredoxin - oxidoreductase (EC 1.2.7.1) أو انزيـم pyruvate formate lyase وهذه الانزيمات هى المسئولـة عن الناتج النهائى استيات ، H_2 , Co_2 او البولى هيدروكسـى بيوترات . ولهذا تكوين H_2 لا يعتمد على الضوء فى وجود الظلام والظروف اللاهوائية .

- كما وجد أن البيروفات يمكن ان تتحول فى وجود الضوء إلى البروبيونات والفورمات والايدروجين .

٤٠٧٠٣ تحولات الفورمات : Formate photometabolism

- يستطيع ميكروب Rhodopseudomonas *palustris* استخدام الفورمات كمصدر كربون عضوى واكثر من ٩٦ ٪ من كربون الفورمات يتخلق فى وجود الضوء photo assimilation من تثبيت ك أ٢ اوتوتروفيا .

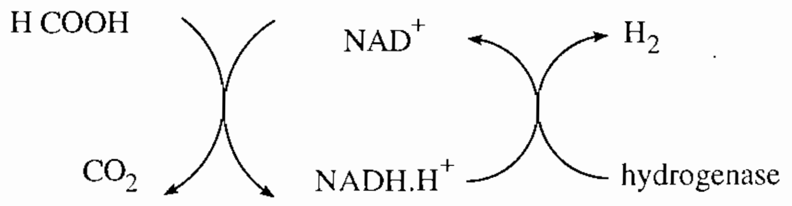
- يحتوى الكـائن على نظام انزيمى يطـلق عليه formic hydrogenlyase الذى يحتوى على انزيمين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

a - soluble formic hydrogenase

b - particulate hydrogenase

وحامـــل الالكترون بين الانزيمين هـــو NAD^+ وجهـد الاكســـــدة والاختـــزال بيـــن $HCOOH / CO_2$ حوالى 400 m V - ولهذا لا يحتاج هذا التفاعل لطاقة الضوء .

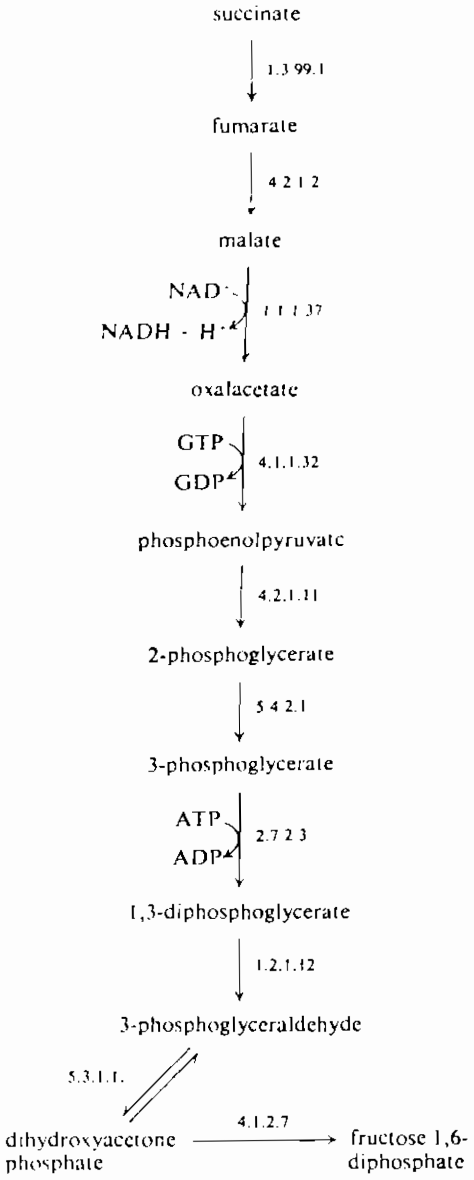


ولا يوجـــد Ferredoxin ولهـذا فإن تحولات الـفورمات تشـبه تمامـا ما يحـدث فى *Pseudomanos oxalaticus* .

٥٠٧٠٣ تحولات السكسينات : Succinate photometabolism

- التحولات الحيوية للسكسينات فى وجود الـضوء أكثر تعقيدا من الاستيات أو البيروفات أو البيوترات .
- السكسينات كمـعطى للايدروچين ينقل الالكترونات عنـد جهد اقل من جهد $NAD^+ / NADH.H^+$ ولهذا لا تستطيـع الالكترونات اختزال NAD^+ مباشرة ومن هنا جاءت أهمية الصـبغات البكتيرية القـادرة على اختزال NAD^+ فى وجود الضوء لـتغطى هذه المشكلة . وهذا الاختزال يقابـل باكسدة الـسكسينات أو (FMN) المختزل ليعطى ناتجا نهائيا هو الـبولى سكريدات عبر تكوين الـفيومارات والاوكسالواستيات ويـستمر عكس دورة EMP كما بالرسم التالى (شكل ٣ - ١٤) .

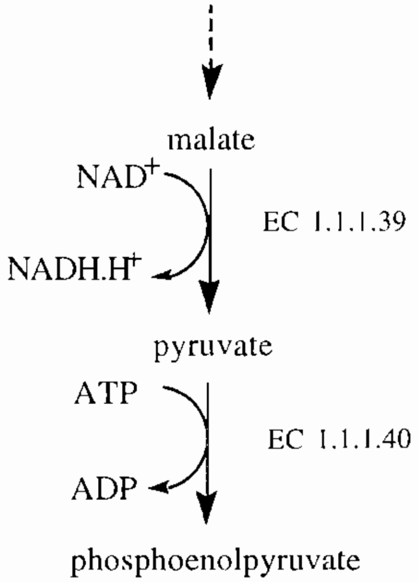
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-١٤) : التحولات الايضية للسكسينات بواسطة *Rhodospirillum rubrum*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وبمقارنة هذه الـدورة بتحولات الاستيات ودوره الكـربوهيدرات فى *Chromatium* sp نـرى تشابها بين التظامين. فالتجارب السابقة عـن تخمر البروبيونات فـى ميكروب *R. rubrum* تبين ان البيروفـات هو المركب الوسطى بدلا من الاكسالواسـتيات والفرق بين تحولات السكسينات والبـروبيونات هى خطوة اضافة ك أ٢ Carboxylation – الاضافـية – التى تحول البروبيونات إلى سكسينات حيـث propionyl ~ CoA هو المادة التى يضاف إليها ك أ٢ امـا methy malonyl - CoA هو ناتج التفاعل ويمكـن توضيح هذا التحور فى الرسم السابق كالتالى :



وحيث ان البيروفات هو المركب الوسطى – بدلا مـن الاكسالواستيات – فلابد للتفاعل ان يتغيـر فى جـزء مـنه حيـث تتـحول المـالات إلـى البيروفـات بملامسة انزيـم malate dehydrogenase كما ان الفوسفواينول تتكون بمساعدة pyruvate kinase .

- لذا يمكن افـتراض ان المواد المتحولـة إلى وحدات acetyl بدون تكوين البـيروفات مثل الاستيات والبيوترات تنتج غالبا البولى هيدروكسى بيوترات بينما المواد التى تتحول إلى بيروفات مصحـوبة بتخليق قوة اختزالية مـثل السكسينات والمالات والبروبـيونات تنتج غالبا بولى سكريدات بطريقة مشابهة لتثبيت ك أ٢ عبر دورة كالفن .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦٠٧٠٣ تحولات الاسيتون والكحولات :

Acetone and Alcohol photometabolism

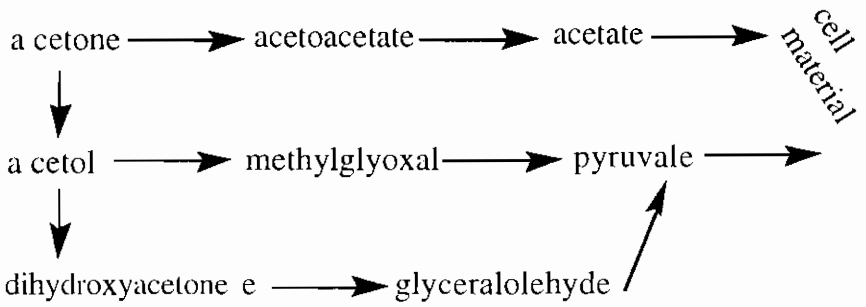
يستطيع عدد من البكتريا الارجوانية غير الكبريتية استعمال الكحولات المختلفة لاختزال (او تثبيت) ك أ٢ ضوئيا وبعض الانواع متخصص فى الكحولات الأولية والبعض الآخر فى الكحولات الثانوية . والتفاعل العام كمايلى :

$$CH_3 . CH_2OH + 3H_2O \longrightarrow 2CO_2 + 12H^+$$

$$3CO_2 + 12H^+ \longrightarrow 3(CH_2O) + 3H_2O$$

$$CH_3 . CH_2CH_2OH + 5H_2O \longrightarrow 3CO_2 + 18H^+$$

كما ان الاسيتون يتحول بواسطة *Rhodopseudomonas gelatinosa* لتكوين مركبات لا تدخل فى تكوين الخلية ولا تتراكم كمواد وسطية حيث يتكثف الاسيتون مع CO_2 لتكوين الاستيواسيتات أو يتحول الاسيتون إلى مشتقاته الكحولية أو الالدهيديه كما بالرسم .



ويبدو ان عملية الفسفرة الضوئية تثبط بقوة بواسطة هذة الكحولات الاليفاتية المنخفضة .

٧٠٧٠٣ تحولات الميثان : methane photometabolism

قدم Wertlieb & Vishniac, 1967 اول دليل على أن سلالة *Rhodopseudomonas gelatinosa* تستطيع استخدام الميثان كمصدر وحيد للالكترون ويمكنه ادخال كربون الميثان إلى مادة الخلية وكذا اكسدة الميثان إلى ك أ٢ وإن كانت المعلومات عن هذه الدورة غير كافية حتى الآن .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

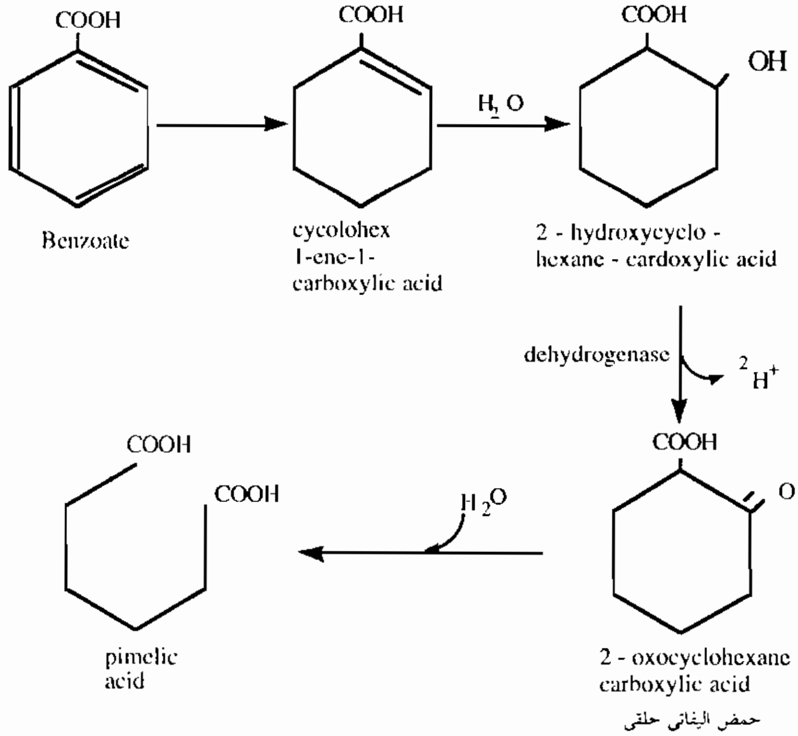
٣-٧-٨ تحولات المركبات الحلقيه :

Aromatic Compounds photometabolism

تشير ابحاث Duttan & Evans 1969 على ميكروب *Rhodopseudomanas palustris* انه يستطيع تمثيل المركبات الحلقية هوائيا ولا هوائيا . فمثلا البنزوات يمكن تحويلها تحت الظروف اللاهوائية مع الضوء ولكن ليس هوائيا فى الظلام بينما الهيدروكسى بنزوات يمكن تحويلها تحت كلا الظرفين .

ويسلك الميكروب السابق فى الظروف الهوائية والظلام نفس طريق pseuodmanads حيث يتحول الهيدروكسى بنزوات إلى بروتوكاتيكوات protocatechuate الذى يتحول فى النهاية إلى ४ - carboxy - α - hydroxy - muconic semialdehyde ووجود الاكسجين ضرورى لهذا التفاعل .

والفرق الرئيسى بين الطريق الهوائى واللاهوائى هو اختزال المركب الاروماتى إلى حمض اليناتى حلقى أولا قبل تكسير الحلقة تحت الظروف اللاهوائية كما بالرسم التالى .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٨٠٣ دوره حمض الستريك لا هوائيا وتثبيت ك أ٢ اختزاليا :

Anaerobic TCA cycle and reductive CO_2 fixition

إن التحـولات الايضـية بمصاحبة الضوء للمـواد العضوية المذكورة سابقـا تشير إلى أن دور ATP ذو اتجاهين :

- تنشيط مادة التفاعل substrate activation لتثبيت ك أ٢ خلال دوره كالفن .
- تكوين مصدر كربونى نشط مثل acetyl~ CoA للدخول فى الدورات المختلفة .

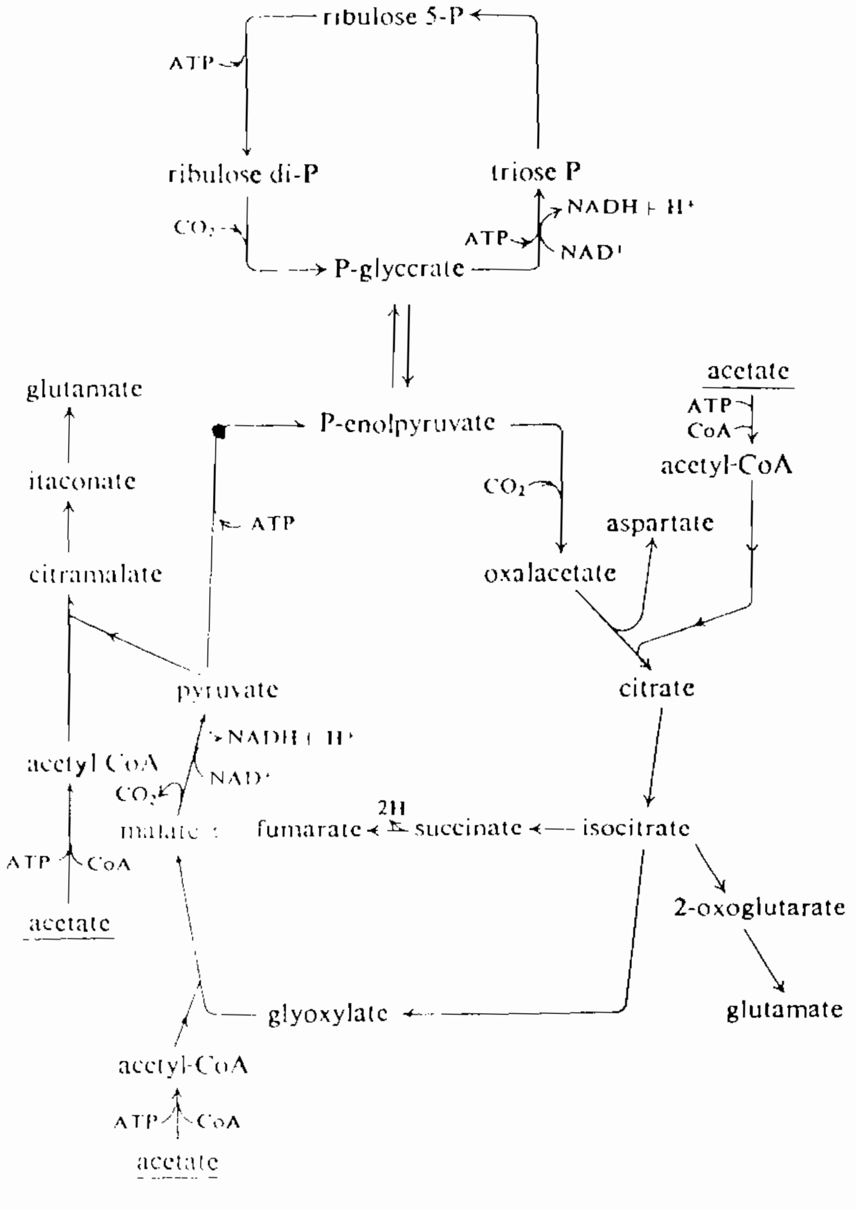
وكمـا ذكر سابقـا ان التحـولات الايضية لـلاحماض الربـاعية الـكربون مثـل المالات والسكسينات تكـون كمية كافية من ك أ٢ ، H_2 . وحيث ان معظم الانـزيمات المشاركة فى دورة TCA قد درست فى مـستخلصات الخلايـا واصبحت معروفه فإنـه يعتقد أن البكـتيريا الممثـلة للضوء تستعمل لعمليات البنـاء بها جزء من دورة TCA وهى glyoxylate cycle (كما يوضح ذلك شكل ٣ - ١٥ التالى) .

وفى ميكروب *Rhodospirillum palustris* تم تحديد احـد الدورات بدءا من الـفا - اكسوجلوتارات عبر الـسكسينـات ، الفورمـات ، المالات ، البيروفات ، وحتـى مـادة الخلية (الرسم التالى) وهذه التحولات تحدث لا هوائيـا فى الضوء أو هوائيا فى الظلام ولكن مع وجود فوارق كبيرة فى معـدل استهلاك الاكسجين ويمكن تلخيص كمية الاكـسجين المستهلك بالمولر لكل مول من مادة التفاعل فى الجدول التالى :

substrale	light	dark
2-oxoglutrate	1.13	1.51
succinate	0.73	1.42
malate	0.42	0.92

ومعدل الاستهلاك العالى للاكسجين فى تفـاعل الظلام يؤدى إلى معدل عالـى لتكوين ك أ٢ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-١٥) : التحولات الايضية فى وجود بكتريا : *Rhodospirillium rubrum, Chromatium sp.* , للاسيتات والاحماض ثنائية الكربوكسيل

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

واكسدة الستريك ، الايزوستريك ، اكسوجلوتارات . لاتشاهد فى الخلايا الحية ولكن فى الخلايا الجافة أو المستخلص الخالى من الخلايا . ويعتقد ان صعوبة النفاذيه هى السبب فى ذلك أكثر من فقد الانزيم .

- كما يبدو ان تحولات الاحماض العضوية تحت الظروف اللاهوائية خلال دوره حمض الستريك افضل فى الظلام اما الظروف (ضوء - لاهوائية) فيبدو انها تشوش نوعا ما على نشاط دورة TCA ولكن هذا التأثير (السلبى) قد يكون غير مباشر بواسطة تحفيز انشقاق السترات الذى يزيد مستوى ATP ، $NADH.H^+$ فى الخلية .

- وحديثا اكتشف انزيم يستطيع استخدام ferredoxin مباشرة كحامل مختزل فى تمثيل ك أ٢ وهو pyruvate Synthase (EC 1.2.7.1) حيث يلاسس التخليق المختزل للبيروفات من a cetyl - CoA ، CO_2 وبنفس الاسلوب يمكن تمثيل السكسينات ، ك أ٢

$$\text{Acetyl} \sim \text{CoA} + CO_2 + Fd_{red} \rightleftharpoons \text{pyruvate} + \text{CoA} + Fd_{ox}.$$

- البكتريا الارجوانية النامية فوتوهتيروتروفيا تحوى مستوى عالى من انزيم الريبولوز ١-٥ داى فوسفات كربوكسيليز ribulose 1.5 biphosphale corboxylase (EC 4.1.139) وهو يعتبر الانزيم الاهم (key) لتثبيت ك أ٢ فى دوره كالفن - كما سيرد ذلك بالتفصيل فى الباب السابع - وبالتالى يمكنها تثبيت ك أ٢ اوتوتروفيا .

* والخلاصة ان البكتريا الممثلة للضوء تعتمد على مادة التفاعل فى عملية تثبيت ك أ٢ فمثلا lithotrophic photobacteria يستطيع استخدام دوره البنتوز بينما organotrophic photobacteria تفضل دوره الاحماض الكربوكسيلية المختزلة .

٩٠٣ تثبيت N_2 ضوئيا : Photochemical N_2- fixation

تستطيع البكتريا الارجوانية والخضراء تثبيت النتروجين تحت ظروف لاهوائية فى وجود الضوء نتيجة حركة الالكترون بطريقة غير حلقيه non cyclic حيث يمر الالكترون من مادة التفاعل عبر السيتوكروم إلى الكلوروفيل (كما وصف فى انطلاق H_2 سابقا) . والدليل على ذلك امكن الحصول عليه بالخلايا المُعلّمه illuminated cells وباستخدام الثيوسلفات أو السكسينات كمادة تفاعل ومعطى للالكترون . ويزداد تمثيل النتروجين بقوة بإضافه ATP

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ووجـــود Fd المختزل ضـــروری کعامـــل مختزل وسطى ولكـــــن يمكن ابدالـــــه بمركـــب dithionate أو H_2 فى وجود عامل لمسى methyl - or benzylviologen .

ونظام النيتروچينيز لميكروب *Chromatium* يبدو مشابها فى جميع خواصه لمثيله فى *Azotobacter* مثلا حيث يـختزل النتروچين إلى امونـيا والاستيلين إلى ايثـيلين . كما أن الطاقة اللازمة لتثبيت النتروچين مشابهة نوعيا لمثيلتها اللازمة لتمثيل ك أ٢ مما يؤكد ان نشاط النيتروجنيز يتلازم (يتقابل) مع تخليق ATP فوتوكيمياويا .

وتشير القيـاسات الكمية للنتروچين المثبت فى ميكروب *Rhodospirillum rubrum* إلى أن حوالـى ٦ مول من المالات ، الفـورمات ، السكسيـنات أو ١٠ مول من البـيروفات تستهلك لتثبيت مول من جزى النتروچين ويثبط التفاعل بوجود الامونيا .

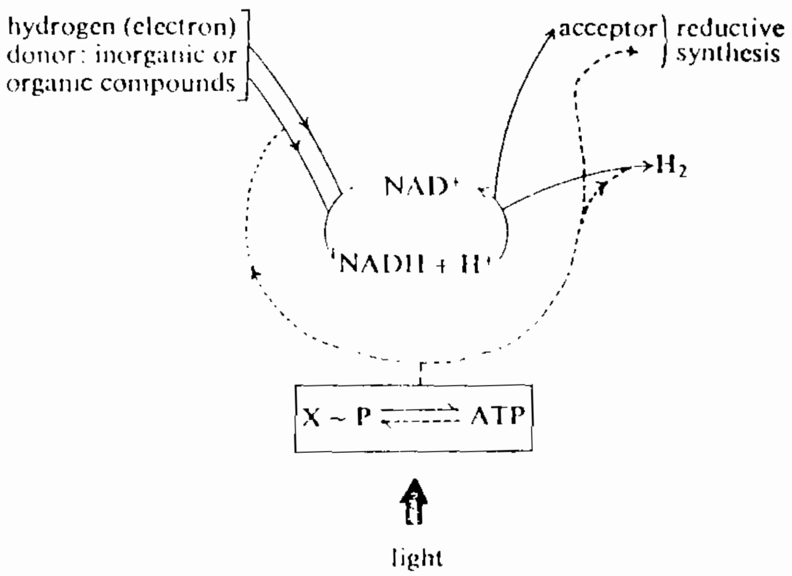
ويعتبر تثبيت النتروچين هو طريق آخر لاستـخدام الالكترونات المنبعثة من الكلوروفيل والمثارة بواسطة الضوء وهـذا التداخل بين الاختزال الضوئي للايدروچين وتثـبيت النتروچين ضوئيا لايبدو مقتصرا على البكتريا الفوتـوتروفية وعلى سبيل المثال الطحالب الخضراء المزرقة ذات القدرة على تثبيت النتروچين يمكن أقلمتها على تكوين الايدروچين .

٣-١٠ مستقبل الالكترون فى البكتريا الارجوانية :

Electron acceptor in purple bacteria

تـم التركيز عـلـى تكوين ATP ومعطيات الايدروچـين ولـم يذكـر الشـئ الكثير عـن مستقبلات الايـدروچين (او الالكترون) ولقد ذكـر سابقا وجـود دلائل على العلاقة بين تركـيز ك أ٢ وانطلاق H_2 وكذا عن الـتنافس بـين انطلاق H_2 وتثبيت N_2 ويمكن تصـور طريقة انسياب الايدروچـين (الالكترون) مـن المعطـى إلى المستقبل كمـا بالرسم التالى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣-١٦) : ميكانيكيــة انتقال الالكترونات مـــن المعطى إلــى المستقبـل وتكوين القوة المختزلة

وتستخدم القوة الاختزالية $NADH.H^+$ فى عدد كبير من عمليات التخليق المختزلة مثل تمثيل ك أ٢ إلى مكونـات الخلية أو نقل مـركبات C_3 , C_2 إلى مواد مخـزنة وايضا اختزال الامونيا لتكوين الاحماض الامينية وبالتالى إلى تخليق البروتين وفى حالة وجود فائض من ATP , $NADH_2$ عن حاجة العمليات الحيوية فإن $NADH_2$ يعاد اكسدته بانطــلاق جزئـــى الايــدروچــين وهــذه الـعملية نـــوع مــن التـوجيه التنظيـمــى ليحـــفظ ATP , $NADH_2$ عند مـستوى يتناسـب مـع الاحتيـاج الكلـى للـنشاط الحيوى .

وفى النباتات والبكتريا الخضراء وبعض البكتريا الارجوانية الكبريتية يذهب الجزء الاكبر من ATP إلى اخـتزال ك أ٢ لتخليق مادة الخـلية اما البكتريا الكبريتـية غير الارجوانية وبعض الارجوانية الكبريتية فإنها تكون مادة الخـلية من مواد عضوية خارجية هتيرتروفيا أى أن استعـمال ك أ٢ كمصدر وحيد للـكربون فى عملية التمثيل الـضوئى ليس صفة مميزة (أو منفردة) لها ولكن يقتصر على الكائنات المعروفة بـ autotrophs .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

اسئلة لمراجعة الباب الثالث

١ - اشرح معادلة فان نيل للتمثيل الضوئى .

٢ - اشرح الفروق الرئيسية بين الفسفرة الضوئية الحلقية والغير حلقية .

٣ - اذكر اسم ٣ عائلات رئيسية للبكتريا الممثلة للضوء مع ذكر الصفات المميزة لكل منها .

٤ - ناقش كيفية انتقال الالكترون فى عملية التمثيل الضوئى هوائيا مع ذكر الفروق الرئيسية عنها فى العائلات الثلاث للبكتريا الممثلة للضوء .

٥ - « افراد عائلة Athiorhedaceae يمكنها النمو اما لا هوائيا فى وجود الضوء (تمثيل ضوئى) أو هوائيا فى الظلام (التنفس) أى يستطيع الكائن التحول من الفسفرة الضوئية إلى الفسفرة الموكسدة » ناقش هذه العبارة موضحا

- تأثير الضوء على الفسفرة المؤكسدة .
- تأثير الاكسجين على الفسفرة الضوئية .

٦ - « تستطيع *Chromatium* انتاج الايدروجين او استعمال الايدروجين كمعطى للالكترون اثناء التحولات الايضية بمصاحبة الضوء » ناقش هذه العبارة .

٧ - وضح كيفية تكوين البولى هيدروكسى بيوترات اثناء تحولات الاستيات بواسطة *Rhodospirillum rubrum* .

٨ - اشرح اهمية دورة TCA لاهوائيا وتثبيت ك أ٢ اختزاليا بالنسبة للبكتريا photoorganotrophs .

٩ - حدد العلاقة بين تمثيل النتروجين وانطلاق الايدروجين فى البكتريا الممثلة للضوء .

١٠- اشرح كيفية تحول المركبات الاروماتية بواسطة البكتريا الممثلة للضوء .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1. Arnon, D.I. (1959). Conversion of light into chemical energy in photosynthesis. Nature (London), 184 : 10.

2. Arnon, D.I., Tsujinoto, H.Y. and McSwain, B.D. (1965), photsynthetic phosphorylation and electron transport. Nature (London) 207 : 1367.

3. Buchanon, B.B. (1969). Role of ferredoxin in the synthesis of α-ketobutyrate from propionyl Coenzyme A and Co_2 by enzyme from photosynthetic and nonphotosynthetic bacteria. J. Biol. Chem. 244 : 4218.

4. Calvin, M. and Androes, G.M. (1962). Primary quantum conversion in photosynthesis. Sci. 138 : 867.

5. Case, G.S. and Parson, W.W. (1971). Thermodynamics of the primary and secondary photochemical reactions in *Chromatum*. Biochem. Biophys. Acta. 253 : 187.

6. Cohen–Bazine, G., Pfennig, N and Kunisawa, R. (1964). The fine structure of green bacteria. J. Cell Biol. 22 : 207.

7. Cusanovich, M.A., and Komen, M.D. (1968). Light–induced electron transfer in *Chromatium* Strain D. III. Photophosphorylation by *Chromatium* chromatophores.. Biochem. Biophys. Acta 153 : 418.

8. Dutton, P.L. and Evans, W.C. (1969). The metabolism of aromatic compounds by *Rhodopseudomonas palustris*. A new reductive method of aromatic ring fission. Biochem. J. 113 : 525.

9. Fogg, G.E. (1968). "Photosynthesis" English Univ. Press, London.

10. Gest, H., Pietro, A.S. and Vernon, L.P. (1963). "Bacterial photosynthesis". Antioch Press, Yellow Springs, Ohio.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

11. Gibbs, M. (1970). The inhibition of photosynthesis by oxygen. Amer. Sci. 58 : 634.

12. Hoare, D.S. and Hoare, S.L. (1969). Hydrogen metabolism by *Rhodomicrobium vannielii*. J. Bacterial, 100 : 1124.

13. Lees, H. (1955). "The photosynthetic bacteria" in : "Biochemistry of autotrophic bacteria" (H. Lees, ed) p. 61. Butterworth, London).

14. Losada, M., Whatley, F.R. and Arnon, D.I. (1961). Separation of two light reactions in non cyclic photophosphorylation of green plants Nature (London), 190 : 606.

15. Sohôn, C. ang Biedermann, M. (1967). Growth and adaptive hydrogen production of *Rhodospirillum rubrum* (F1) in anaerobic dark cultures. Biochem. Biophys. Acta, 304 : 65.

16. Schlegel, H.G. (1986). General Microbiology. 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.

17. Uffen, R.L. (1973). Growth poroperties of *Rhodospirillum rubrum* mutants and fermentation of pyruvate in anaerobic, dark conditions. J. Bacteriol. 116 : 874.

18. Van Niel, C.B. (1941). The bacterial photosynthesis and their importance for the general problem of photosynthesis. Advan. Enzymol. 1 : 263.

19. Vernon, L.P. (1968). Photochemical and electron transport reactions of bacterial photosynthesis. Bacterial. Rev. 32 : 243.

20. Wertlieb, D. and Vishniac, W. (1967). Methane utilisation by *Rhodops. gltinesa*. J. Bacteriol. 93 : 1722.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الرابع
التنفس اللاهوائى

Anaerobic Respiration

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الرابع

التنفس اللاهوائى

Anaerobic Respiration

- كما ذكر فى الباب السابق فإن البكتريا الممثلة للضوء photosynthetic bacteria تحصل على طاقتها من الضوء وتنقلها عبر السيتوكروم وأخيراً تخزنها فى صورة ATP ويأتى أيدروجين القوة الاختزالية NAD $(P)H_2$ من مادة التفاعل وهو مصدر (معطى) خارجى.

«ولكن أغلب الميكروبات تحصل على طاقتها من التفاعلات الكيمياوية ولذا تعرف Chemosynthetic bacteria » .

- نظام الحصول على الطاقة فى كلا النوعين من البكتريا متشابه والفرق الأساسى أن الضوء كمصدر لإثارة الالكترونات يحل محله عدد كبير من المركبات الكيمياوية كمصدر للطاقة . وبناء عليه يمكن تقسيم الميكروبات الغير ضوئية إلى :

١ - Chemolithotrophs

وهو الميكروبات التى تحصل على طاقتها من أكسدة المواد الغير عضوية .

٢ - Chemoorganotrophs

وهى الميكروبات التى تحصل على طاقتها من أكسدة المواد العضوية .

- توجد ٣ عمليات أساسية فى الأكسدة البيولوچية عموماً :

- نزع الأيدروجين (أو الالكترون) من مادة التفاعل ويتبعه نقله إلى مستقبل مناسب.
- حفظ الطاقة الناتجة من التفاعل السابق .
- التحولات المختلفة لمادة التفاعل المؤكسدة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- المستقبل النهائى للالكترون إما يكون الاكسجين فى حالة التنفس الهوائى aerobic respiration أو مركب غير عضوى (خلاف الأكسجين) فى حالة التنفس اللاهوائى anaerobic respiration أو مركب عضوى فى حالة التخمر Fermentation .
- عملية انتقال الالكترون عبر سلسلة متدرجة الجهد من تفاعلات الأكسدة والاختزال تعرف بسلسلة انتقال الالكترون (راجع شكل ٢ فى الباب الأول) .
- التنفس اللاهوائى anaerobic or anoxybiontic هى عملية لاهوائية - تتم فى غياب الأكسجين - ولكن باستخدام بدائلة حيث أن الميكروبات التى تقوم به تمتلك نظام السيتوكروم وهى لاهوائية اختيارية أو حتمية أحياناً .
- توجد ٤ مجاميع رئيسية من البكتريا التي تستخدم المركبات الغير عضوية كمستقبل نهائى للالكترون هم :

أ) Sulfate reducing bacteria وتستخدم $SO_4^{=}$.

ب) Denitrifying bacteria وتستخدم NO_3 .

جـ) Methanobacterium وتستخدم CO_2 .

د) Fe^{3+} reducing bacteria وتستخدم Fe^{3+} .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١٠٤ البكتريا المختزلة للكبريتات أو Sulfate respiration

- عدد الميكروبات التى تستخدم الكبريتات كمستقبل نهائى للالكترون صغير ويطلق عليها Desulforicants ويمكن تقسيمها كالتالى :

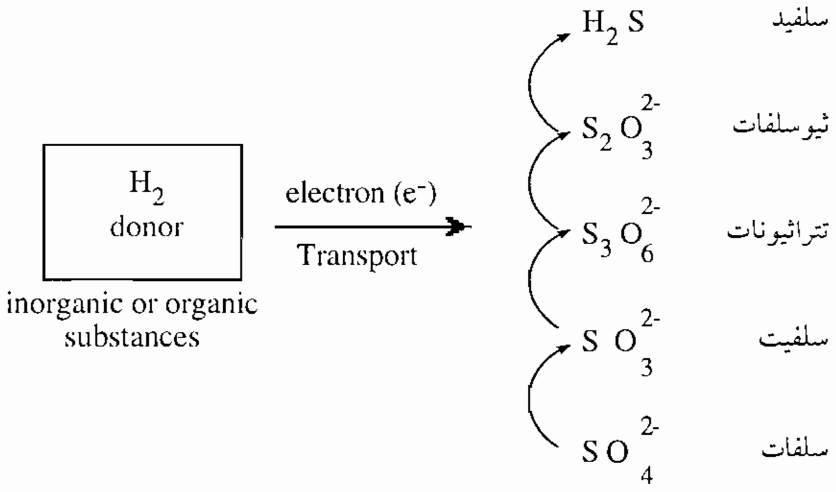
١ - لا تكون جراثيم وتشمل :

- *Desulfovibrio desulfuricans.*
- *Desulfovibrio gigas.*
- *Desulfovibrio vulgaris.*

٢ - تكون جراثيم وتشمل :

- *Desulfotomaculum nigrificans.*
- *Desulfotomaculum orienties.*
- *Desulfotomaculum ruminis.*

وهذه الميكروبات لاهوائية حتمية - تختزل الكبريتات فى وجود معطى للالكترون (أيدروجين - ثيوسلفات - بيوسلفات - مستخلص خميرة - أيدروجين عضوى - ك أ$_2$) .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

- إضافة مستخلص الخميرة يحفز النمو ويحتاج الاسيتات ، ك أ٢ لتخليق مادة الخلية ولهذا تصنف هذه البكتريا المختزلة للكبريتات كـ Facultative autotrophs or Chemolithotrophic heterotrophs .

- يمكن تقسيم *Desulfovibrio sp.* حسب G + C % لحمض DNA إلى ٣ مجاميع :

الأولى يحتوى على ٦٠ - ٦٢ ٪ (G + C)

الثانية تحتوى على ٥٤ - ٥٦ ٪

الثالثة تحتوى على ٤٦ - ٤٧ ٪

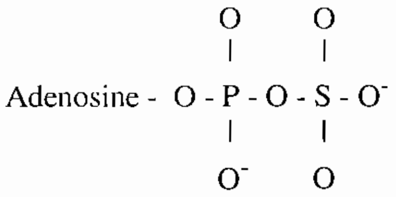
أما *Desulfotomaculum* يحتوى على ٤٢-٤٦ ٪ G + C

٤.١.١ اختزال الكبريتات باستخدام الايدروجين كمعطى للالكترون

تستطيع بكتريا *D. desulforicans* اختزال الكبريتات سريعاً فى وجود الأيدروجين والمعادلة العامة هى :

$$4\,H_2 + SO_4^{=} \longrightarrow S^{=} + 4\,H_2O$$

ودراسات الديناميكا الحرارية على الخلايا أو مستخلاصاتها تؤكد أن الاختزال يتم فى عدة خطوات مستخدماً الكبريت العضوى Adenosine 5-phosphosulfate (APS) كمركب وسطى ويظهر الرسم التالي التركيب البنائى له :



التركيب البنائى لمركب ادينوسين فوسفوسلفات (APS)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

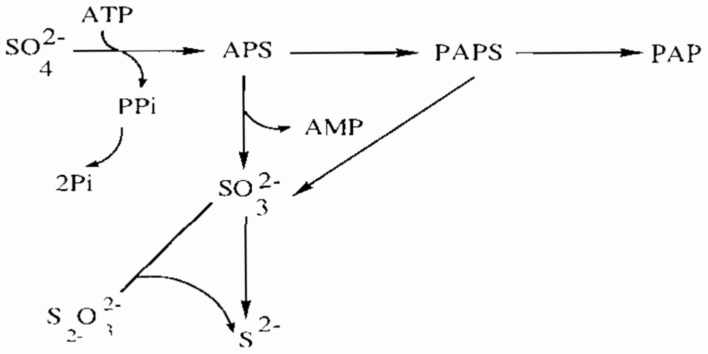
وتكون مثل هذه المركبات الغنية بالطاقة تعنى أن الكبريت يحتاج لنوع من طاقة التنشيط التى تستمد من ATP :

$$(1)\qquad ATP + SO_4^{2-} \rightleftharpoons APS + PPi \rightarrow 2\,Pi$$

وتعتبر هذه هى الخطوة الأولى فى اختزال الكبريتات والتى تؤدى إلى غرضين :

١ - تخليق مركب غنى بالطاقة (APS) .

٢ - انفصال PPi من ATP مما يؤدى لتحليل رابطتين فوسفاتيتين غنيتين بالطاقة حيث يتحول PPi سريعاً إلى فوسفات معدنى Pi والإنزيم الذى يلامس هذه الخطوة هو: sulfate adenylyl - transferase (EC 2. 7. 7. 4)



شكل (٤-١) : اختزال السلفات والثيوسلفات بواسطة *D. desulforicans*

- أما الخطوة الثانية فى اختزال الكبريتات فتتضمن أكسدة جزئ الأيدروجين بواسطة أنزيم hydrogenase قوى جداً يحتاج Fe فى أغلب السلالات مما أدى لاكتشاف سيتوكروم C_3 وهذا السيتوكروم ذائب ، ذاتى الأكسدة autooxidizable ، يقاس عند 419nm ، 523nm ، ذو جهد أكسدة واختزال منخفض - 250 mV ، ونقطة التعادل الكهربى (IEP) iso electric point عند pH أقل من ١٠ ، يحتوى على ٩ر ٪ حديد ويعمل كحامل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

للالكترون في التفاعــلات التى يكون الأكسچين فيها هو المستقبــل النهائى (يمكن اختزال أى آثار للأكسچين فى البيئة) .

$$Fe_2^{4+} + 2\ H^+ = Fe^{6+} + H_2 \qquad \Delta F = -\ 9500\ Cal\ /\ mole$$

وسيتــوكروم C_3 مسـئول عــن جهد الأكــسدة والاخــتزال المنـخفـض المطلــوب لنــمو Desulforcants حيث تحـتاج هذه الكـائنات إلى جـهد اختزال لا يـزيد عن 200 mV - وتوضح المعادلة التالية الخطوة الثانية والتى يعمل فيها Cyt. C_3 كحامل للالكترون .

$$(2)\quad APS + Cyt\ C_{3\ (red)} \longrightarrow SO_3^{2-} + AMP + Cyt.\ C_{3\ (oxid)}$$

والانزيم الذى يلامس الــتفاعل هو adenylylsulfate reductase (EC 1-2-99.2) وبقية الخطوة الثـانية هى اختزال Cyt. C_3 المؤكسد بمـلامسة أنزيم hydrogenase وأكسدة الأيدروچين .

$$(3)\quad H_2 + Cyt.\ C_{3(oxid)} \longrightarrow Cyt.C_{3(red)} + 2\ H^+$$

– والخطوة الأخيرة هى اختـزال السلفيت Sulfite إلى السلفيد Sulfide بملامسة أنزيم Sulfite reductase (EC1.8.99.1) كما يلى :

$$(4)\ SO_3^{2-} + 6H^+ \longrightarrow S^{2-} + 3H_2O$$

وتمثل المعادلات الأربع عمــلية اختزال الكبريتات إلى الكـبريتيد فى وجود H_2 كمعطى للأيدروچين والتى تحتاج مصدر طاقة ATP ($2P/SO_4^{2-}$) لتنشيط السلفات وهذا لا يتأتى مـن مادة التـفاعل أو السلفات أو الأيدروچين والمصـدر البديل الوحيد هو الفسـفرة المؤكسدة oxidative phosphorylation المقابلة Coupled لأكسدة الأيدروچين .

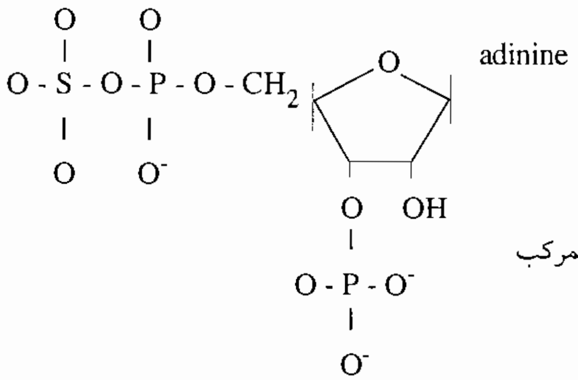
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويظهر ميكروب *Desulfovibrio gigas* مقدرة على فسفرة ADP المواكبة لأكسدة الأيدروچين بالسلفيت أو الفيومارات كمستقبل للالكترونين حيث يقوم menaquinone -6 بنقل الالكترون بين hydrogenase , Fumarate reductase .

ولقد توصلت الأبحاث الحديثة باستخدام داى نيتروفينول لتشجيع تكون ATPase فى الميكروب السابق لوجود هذه الفسفرة المؤكسدة فى عملية اختزال الكبريتات لاهوائياً ولا ضوئياً حيث يشارك ATPase فى عملية الفسفرة سواء مؤكسدة أو ضوئية فى المستخلصات البكتيرية .

ولهذا يبدو *Desulfovibrio* sp أنه يستطيع القيام بعملية الفسفرة المؤكسدة مثل البكتريا الهوائية ولكن فى وجود سيتوكروم C_3 فقط وهذا كائن فريد النظير فعلاً .

أما فى الخمائر التى تقوم بنفس عملية اختزال الكبريتات فإن الفرق يكون واضحاً لاعتمادها على تكوين المركب PAPS (3- phospho adenosine 5-phospho Sulfate)



التركيب البنائى للمركب

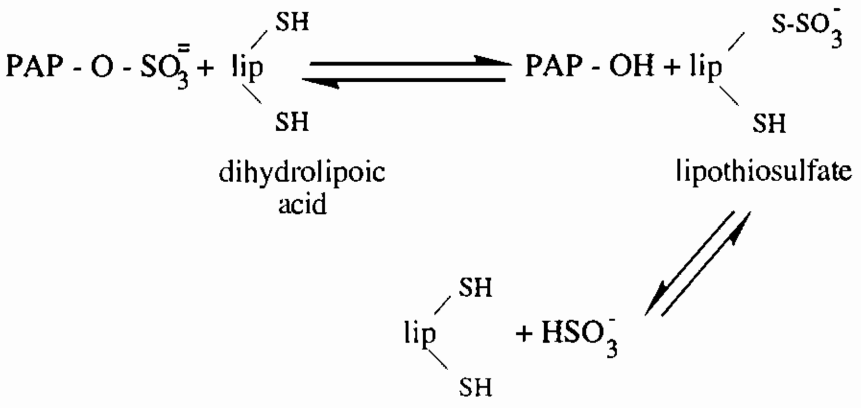
PAPS

ولذا فهى تحتاج - بالإضافة إلى ATP - إلى NADP المختزل أو حمض الليبوئيك المختزل كمعطى للأيدروچين والأنزيم المسئول هو adenylyl sulfate kinase (EC 2.7.1.25) الذى ينقل مجموعة فوسفات ثانية إلى APS لتكوين PAPS ثم يحدث الاختزال إلى السلفيت بواسطة $NADPH.H^+$ فى وجود أنزيم PAPS - reductase .

$$NAD\ PH.H^+ + PAPS \longrightarrow NADP^+ + PAP + HSO_3^-$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويعتـقد أن هذا الاختـزال لمركب PAPS يتضمن مـركب وسطى Lipothiosulfate الذى لم يعزل بعد وذلك من خلال التصور التالى :

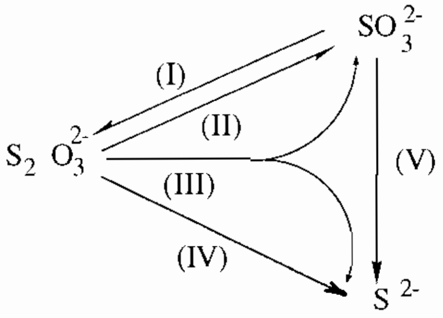


ووجود هاتين الطـريقتين (PAPS ، APS) لاختـزال السلفـات يفرّق بوضـوح بين الكائنات التى تستعمل اختزال الكبريتات dissimilatory (هدم) عن الكائنات التى تستعملها assimilatory (بناء) حيث الاختـزال الهدمى يتم بواسطـة الكائنات التى فى حـاجة كبيرة لاتمام تنفسها اللاهوائى باستخدام السـلفات كمستقبل للالكترون (Desulforicants) وكمية السلفيت النـاتجة توازى كمية H_2 ، المادة العـضوية المهـدومة . أما الخمـائر ، *E.coli* ، *Salmonella* فلها القدرة عـلى النمو مستخدمة السـلفات كمصدر وحيد للكبريـت وتستعمل السلفيت أو السلفيد الناتج فى عملية بناء الأحماض الأمينية بها (اختزال بنائى Assimilato-ry reduction) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢٠١٠٤ اختزال الثيوسلفات فى وجود الايدروجين

يمكن اختزالها بعدة طرق كما يلى :



شكل (٤-٢) : اختزال الثيوسلفات فى وجود الأيدروجين

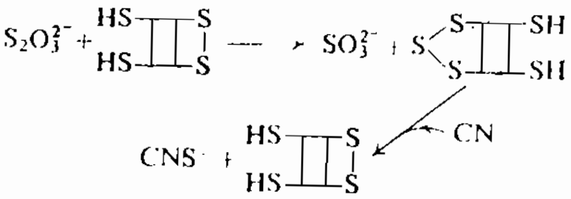
- يستطيع أنزيم (Thiosulfate reductase (EC. 2.8.1. 1 اتمام خطوة (III) كما بالرسم السابق بمصاحبة سيتوكروم C_3 لاختزال الثيوسلفات إلى السلفيد (H_2S) وتكوين السلفيت ($SO_3^=$) حيث ذرة الكبريت الخارجية للـثيوسلفات تختزل إلى H_2S وذرة الكبريت الداخليـة تتراكـــم كسلفيت والـذى يختزل بعد ذلـك إلـى H_2S فى وجـود أنزيم (Sulfite reductase (EC. 1.8.99.1 [خطوة (V)] أو يمكن إعادتـه مرة أخرى إلى الثيوسلفات بمساعدة انزيم bisulfite reductase [خطوة (I)] ووجود هذا النظام الانزيمى يسمح للثيوسلفات أن تكون مركب وسطى فى اختزال السلـفيت ويجعل الخلية قادرة على التحكم فى مستوى الـسلفيت الداخلى بها ، والسلفيت نفسه ذو تـأثير مثبط على انزيم thiosulfate reductase عند التركـيزات المنخفضة نسـبياً ويثبط Sulfite reductase عند التركيزات العالية .

- لوحظ أيضـاً اختزال مباشر لـلثيوسلفـات خطوة (IV) بواسطة جـزئ الأيدروجين فى مستخلص الخـلايا لميكروب *Desulfovibrio gigas* وهذا الـنظام مـثل thiosulfate reductase السابق ذكره - يحتاج Ferrodoxin ، Flavodoxin كحـامل للالكـترون - ولكن لـم يعرف بعد إذا كـان الانزيمان Thiosulfate or bisulfate reductases متشابهان أم لا .

- ميكـــروب *Thiobacillus denitrificans* اللاهوائـــى يظـهر سلوكاً آخـــراً فـــى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

اختزال الثيوسلفات حيث عزل منه انزيم يشبه rhodanese أو thisoulfate sulfertransferase (EC. 2.8 1.1) الذى يحوّل الثيوسلفات إلى السلفيت فى وجود حمض الليبوئيك أو ليباميد (تفاعل II) فى الرسم السابق والذى يمكن توضيحه تفصيلا فى الرسم اللاحق .

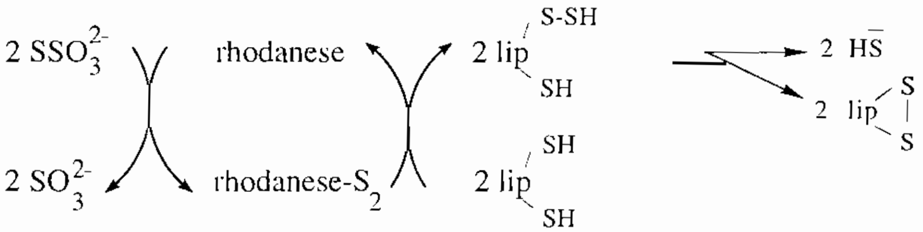


شكل (٤-٣) : يحوّل الثيوسلفات لا هوائياً بواسطة

Thiobacillus denitrificans فى وجود lipoamide

وانزيم rhodanese البكتيرى ينظر إليه كانزيم قائم بذاته نظراً لخواصه المتفردة ولهذا تحتل موقعاً مؤقتاً فى تحويلات الكبريت .

ويمكن تلخص ميكانيكية تفاعله كما بالرسم .



شكل رقم (٤-٤) : كيفية اختزال الثيوسلفات لاهوائياً بمصاحبة انزيم rhodanese

ومنه يتضح انتقال ذرة الكبرت الخارجية فى الثيوسلفات إلى dihydrolipoate عبر انزيم rhodanese مكوناً lipoate persulfide وهو مركب عالى النشاط وينشق مباشرة إلى $lipoate\text{-}S_2$ و HS^- .

ويشير اكتشاف هذا الانزيم فى *Desulfotomaculum nigrificans* كبروتين منفصل

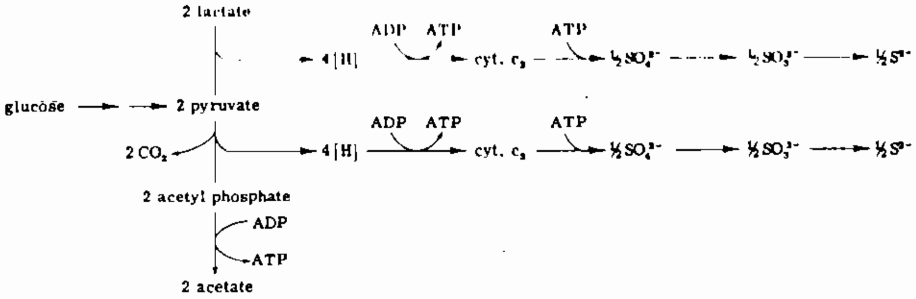
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

عن Thiosulfate reductase إلى أن التفاعل المسئول عنه الانزيم موجود بجانب تفاعلات الاختزال الأخرى والأيدروچين هو معطى الالكترون وسلسلة انتقال الالكترونات متماثلة فى تفاعلات اختزال السلفات والثيوسلفات .

٣٠١٠٤ اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للالكترونات

يمكن استبدال الأيدروچين بالعديد من المركبات العضوية كمعطى للالكترون مثل الجلوكوز واللاكتات والبيروفات والناتج النهائى هو الاستيات ، CO_2 ، H_2S .

ويستطيع ميكروب *Desulfotomaculum nigrificans* المحب للحرارة العالية التكيف على استخدام الجلوكوز كمصدر للطاقة من خلال دورة EMP ويعتبر واحد من الميكروبات القليلة التي تستخدم دورة Enter-Doudoroff . وعملية هدم المركبات العضوية تنتج الالكترونات اللازمة لاختزال السلفات ، والطاقة اللازمة للنمو . وعملية أكسدة البيروفات تقابلها اختزال الكبريتات كما يظهر من الرسم التالى :



شكل (٤-٥) : اختزال الكبريتات باستخدام المواد العضوية كمعطى للالكترون
(تحولات اللاكتات والبيروفات بواسطة البكتريا المختزلة للكبريتات)

- فى معظم الميكروبات Desulforicants يتم نزع ك أ٢ من البيروفات وتتحول إلى اسيتيل الفوسفات ، CO_2 ، H_2 ويحتاج هذا التفاعل إلى الفوسفات المعدنى، Co A وهو يشبه ما يحدث فى تفاعل الفسفرة فى Clostridia كما سيأتى ذكره فى الباب التاسع ويعتقد أيضاً أن Thiamine diphosphate مطلوب أيضاً .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

- أما ATP المطلوب لتنشيط السلفات أثناء اختزالها فيأتى من تحول اسيتيل الفوسفات إلى الاسيتات ، ATP . وانزيم acetokinase المشارك فى هذا التفاعل متخصص للاسيتات وغير نشط مع الفورمات أو البروبيونات أو البيوترات أو السكسينات ويمكن شرح التفاعل بالتفصيل كالتالى والذى يعرف بعملية نزع ك أ٢ المفسفرة phosphoroclastic decarboxylation .

$$2\,CH_3\ CHOH\text{-}COOH \longrightarrow 2\,CH_3\,.\,CO\,.\,COOH + 4\,H^+$$

$$2\,CH_3\,CO\,COOH + 2\,HOPO_3^{2-} \longrightarrow 2\,CH_3\,COOPO_3 + 2\,CO_2 + 4\,H^+$$

$$2\,CH_3\,COOPO_3 + AMP + 2H^+ \longrightarrow 2\,CH_3\,COOH + ATP$$

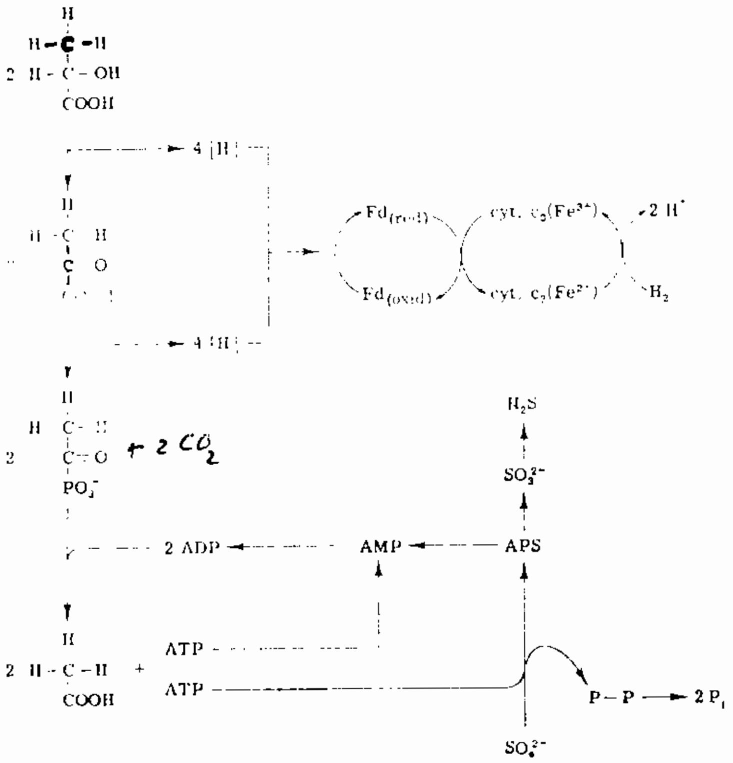
$$SO_4^{2-} + ATP + 8H^+ \longrightarrow S^{2-} + 2\,H_2S + AMP + 2HOPO_3^{2-} + 2H^+$$

$$2\,CH_3.CHOH.COOH + SO_4^{2-} \longrightarrow 2\,CH_3\,.\,COOH + 2\,CO_2 + S^{2-} + 2H_2S$$

- الفيرودكسن ضرورى لعملية نزع ك أ٢ المصحوبة بعملية فسفرة وأيضاً ضرورى لتنشيط اختزال الكبريتات .

- يمكن تصور تحول اللاكتات عبر البيروفات كما فى الرسم التالى (شكل ٤-٦) ومنه يظهر أن الأيدروچين الناتج يستعمل فى اختزال السلفات كمعطى للأيدروچين بنفس الميكانيكية السابقة الموضحة بالمعادلات السابقة.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٤-٦) : تحولات اللاكتات واختزال السلفات بواسطة بكتريا اختزال الكبريتات

- أما سبب التأثير المشجع لـ ATP على تكسير البيروفات فيرجع لتكوين ADP (كما بالرسم) الذى يعجّل بالتخلص من اسيتيل الفوسفات وإكمال بقية خطوات التفاعل .

- المحصلة النهائية لـ ATP المتكون مشابهة لما يحدث فى اختزال الكبريتات بواسطة H_2 كمعطى للأيدروچين . حيث ان ٤ أزواج الالكترونات الناتجة من أكسدة ٢ جزئ اسيتيل فوسفات تستخدم فى تحويل جزئ سلفات إلى سلفيد . وحيث لا يوجد إنتاج حقيقى لـ ATP من فسفرة مادة التفاعل فإن الكائن يحصل على طاقته للنمو من استرة الفوسفات أى الفسفرة المؤكسدة المصاحبة لانتقال الالكترون من اللاكتات أو البيروفات إلى السلفات .

- والسؤال الهام هو كيف يستطيع ميكروب *Desulfovibrio* استبدال اختزاله للسلفات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

باستخدام تفـاعل الفـسفرة phosphoroclastic reaction التقليـدى كما فى *E. coli* (راجع الباب التاسع) ؟

هذه الميكانيكية التقليدية تنتج فورمات بالإضافة إلى اسيتيل فوسفات ولكن الفورمات لم تعزل بعد كـمركب وسطى فى تحولات البيـروفات بواسطة هذا الميكـروب ويحتمل أن تحول الفورمات يـتم - عبر $Cyt.C_3$ - إلى H_2 ، CO_2 الذى يتبادل بـعد ذلك مع البيـروفات . وقد عزز اكتـشاف انزيم الفـورمات ديهيدروجـيتنز المرتـبط على الـغشاء الستيوبلازمى فى ميكروب *D. vulgaris* الدليل على وجود تفاعـل فسفرة تقليدى مع Formate hydrogenlyase System . وبرغم أن معظم الفورمـات ديهيدروجينيز مرتبـطة بـ NAD^+ ، $NADP^+$ ، Ubiquinone , Ferredoxin إلا أنه ميـكروب *D. Vulgaris* يرتبـط مع $Cyt.\ C_{553}$. ومن المعروف أن تحول الاسيـتيل فوسفات إلى الاسيتات هى خطوة إنتاج الطـاقة الوحيدة المتاحة . فإذا كان *D. desulforicans* تستعمل البيروفات بدون اختزال السلفات فلابد أن هذا الكائن يستعمل ميكانيكية فسفرة مؤكـسدة إضافـية للـحصول عـلى الطاقة اللازمة لـنموه والـتى تحدث عـند مسـتوى Fumarase . وقـــد ثـبت مثلاً أن مـيكروب *D. gigas* يملك بالفــعل انزيـمات Fumarase ، التى تـلامس هدرجه الـفيومارات إلـى المالات ونزع ك أ، المؤكسدة من المالات إلـى البيروفـات ، ويشيـر وجود malatc dismutation وتحول المـالات إلى السكسينات والفيومارات والاسيتات وكذلك وجود Succinate Dehydrogenase إلى أن عدد من *Desulfoviderio* قادر على استخدام جزء من دورة TCA اللاهوائية .

= الخلاصة =

تدل المعلومات المتوافرة عن تفاعلات بكتريـا اختزال الكبريت على أنها متعددة القدرات حيث يمكن استبدال اختزال الكبريتات بالأيـدروجين بالعديد من المركبات العضوية والأخيرة تنتج ATP كافى لتحفيز اختزال الكبريتات أو تعمل كمعطى للأيدروجين فى عملية الاختزال وتستطـيع هذه الكائنـات النمو على الـبيروفات بدون الكـبريتات وعندئـذ تستبدل الفـــفرة المؤكسدة لمركب APS جزئياً بدورة TCA اللاهوائية .

كما أن قـدرة الميكروبـات المختزلة لـلكبريـتات على أكـسدة البيـروقات واتمام تفـاعل phosphoroclastic reaetion من النوع Clostridial Type يعتبر فريـداً من نوعه اما فى غياب الكبريتات فإن Coli-Type من التفاعل السابق هو السائد .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٢٠٤ البكتريا المختزلة للنترات أو Nitrate respiration

- يستطيع عدد كبير من البكتريا اختزال النترات (كمستقبل للالكترون) مستعملاً الايدروچين (كمعطى للالكترون) . والمعادلة العامة كما يلى :

$$5\,H_2 + 2\,NO_3^- \longrightarrow N_2 + 4\,H_2O + 2OH^-$$

والناتج النهائى لاختزال النترات هو النتروچين ولكن هناك نواتج وسطية ذات أثر كبير فى تلوث البيئة مثل أكسيد النيتروز (N_2O) ، أكسيد النيتريك (NO) من ناحية التأثير على طبقة الأزون أو ظاهرة البيوتات الزجاجية (ارتفاع درجة حرارة الكون) .

- أغلب البكتريا المختزلة للنترات Chemoorganotrophs .
- يوجد نوعين من الانزيمات الميكروبية التى تختزل النترات إلى نيتريت .

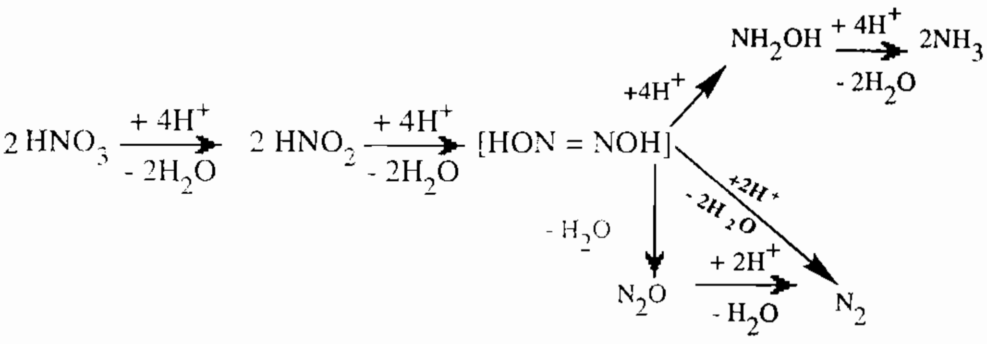
(١) assimilatory enzymes التى تحتوى الفلافين والموليبدنم ويستخدم عادة $NAD\ (P)\ H.H^+$ كمعطى للأيدروچين والناتج هو الأمونيا أو مشتقاتها حيث تدخل فى تكوين مواد الخلية النتروچينية مثل الأحماض الأمنية والبروتين .

(٢) dissimilatory enzyenes التى تحتوى على حديد إضافى وتستخدم النترات كبديل للأكسچين والناتج هو النتروچين أو اكاسيد النتروچين التى تتطلب للجو وهو ما يعرف بالتنفس النتراتى اللاهوائى وهو ما سنتناوله بالتفصيل .

ويعرف التنفس اللاهوائى الذى ينتج عنه تحول النترات إلى النتروچين أو أكاسيد النتروچين أو خليط منهم بعملية الدنترة Denitrification والميكروبات التى يقوم بها Denitrifying bacteria وهى ميكروبات هوائية أو لاهوائية اختيارية تمتلك سلسلة السيتوكروم وتستخدم النترات كبديل للأكسچين .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

● شرح المعادلة العامة لاختزال النترات .



● اختزال النترات إلى أمونيا يحدث به تغير الكترونى من الحالة المؤكسدة للنترات (5^+) إلى الحالة المختزلة للامونيا (3^-) أى زحزحة عدد ٨ الكترونات ولكن لا تنتج عنه أى طاقة أو طاقة ضعيفة والانزيمات المسئولة عن استقبال هذه الالكترونات هى كما بالرسم .

$$NO_3^- \xrightarrow{2e^-} NO_2^- \xrightarrow{2e^-} HNO \xrightarrow{2e^-} NH_2OH \xrightarrow{2e} NH_3$$

nitrate reductase EC 1.6.6.1	nitrite reductase	hyponitrite reductase	hydroxyl amine reductase

وأكثرهم أهمية وشيوعاً ass. nitrate reductase وهو موجود على السيتوبلازم ويحتوى على المولبيدنم أما انزيم nitrite reductase فيحتوى على Fe-S center ، iron haem (Sirohaem) .

● اما نظام انتقال الالكترونات فى بكتريا الدنترة denitrifiers فأكثر تعقيداً . والخطوة الأولى فى عملية الدنترة هى إضافة عدد ٢ الكترون للنترات لاختزالها إلى النيتريت .

$$NO_3^- + 2H^+ \xrightarrow{\text{diss. } NO_3^- \text{ - reductase}} NO_2^- + H_2O$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ثم الخطوة الثانية بإضافة ٢ الكترون آخرين لكل ذرة نيتروجين لتكوين أكسيد النيتروز (N_2O) .

$$2\,NO_2^- + 4\,H^+ \xrightarrow{\text{diss. } NO_2^- \text{ - reductase}} N_2O + H_2O + 2OH^-$$

والذى تختزل بواسطة بكتريا الدنترة إلى جزئ النتروجين فى وجود ٢ الكترون اضافيين

$$N_2O + 2\,H^+ \xrightarrow{\text{diss. } N_2O \text{ - reductase}} N_2 + H_2O$$

أى أن بكتريا الدنترة يمكنها تكوين N_2O ، N_2 مباشرة من النيتريت لهذا يمكن تصور وجود مركب وسطى هو $N_2\,O_2\,H_2$:

$$N_2\,O_2\,H_2 \longrightarrow N_2O + H_2O \quad (\text{or}) \quad N_2\,O_2\,H_2 + 2H^+ \longrightarrow N_2 + H_2O$$

وهذا المركب يتكون من النيتريت بسهولة كالتالى :

$$NO_2^- + 2\,H^+ \longrightarrow NOH + H_2O$$

$$2\,NOH \longrightarrow N_2\,O_2\,H_2$$

٤-٢-١٠ اختزال النترات تحت الظروف الاتوتروفيه

Chemelithotorphic reduction of nitrate

ويقوم بها ميكروب *Thiobacillus denitrificans* حيث يتحول الكبريت المعدنى أو الثيوسلفات إلى الكبريتات بينما تختزل النترات وتتكون الطاقة ولهذا فهو ميكروب Sulfer-oxdizing autotroph والمعادلة التالية توضح هذا التفاعل .

$$5\,S + 6\,NO_3^- + 2\,H_2O \longrightarrow 5\,SO_4^{=} + 3\,N_2 + 4\,H^+ + E$$

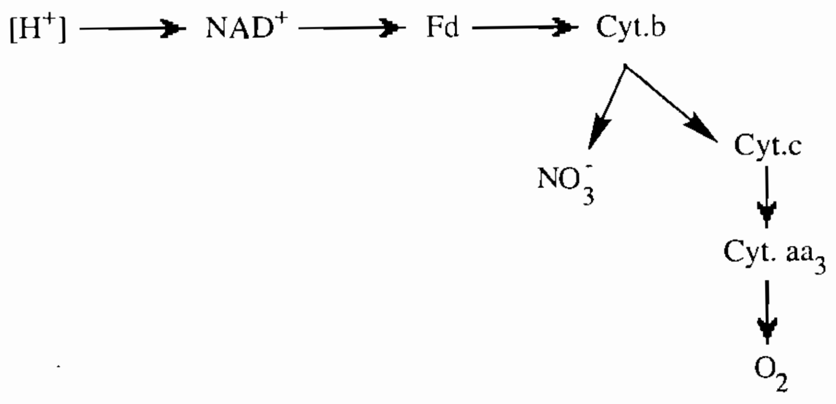
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٢٠٢٠٤ اختزال النترات تحت الظروف الهيتروتروفية

Chemoorganotrophic reduction of nitrate

تنمو ميكروبات الدنترة هوائياً أو لا هوائياً اختياراً مستخدمة المواد العضوية أو الأيدروجين كمعطى للالكترون وتستخدم الأكسجين أو النترات (سواء في غيابه أو وجوده كما ثبت حديثاً) كمستقبل للالكترون وهي تملك نظام سلسلة انتقال الالكترونات وتقوم بعملية الفسفرة المؤكسدة لتكوين الطاقة اللازمة لنمو الميكروب فى صورة ATP ولكن مازال طول سلسلة انتقال الالكترونات وأماكن الفسفرة المؤكسدة محل خلاف ، فقد وجد فى بعض denetrifiers أنها تمتلك $Cyt.a+a_3$ ، Cyt.O ، Cyt.C والمعروف أنه تحت الظروف اللاهوائية الكاملة لا توجد فسفرة فى Cyt.C بإتجاه O_2 وتحدث الفسفرة لمادة التفاعل المنشطة بـ $NADH.H^+$ في وجود النترات أو النيتريت .

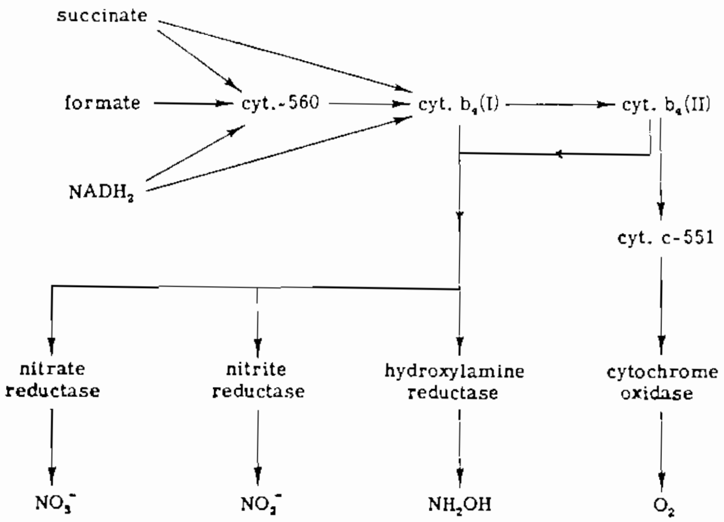
وقد وجد Hohn & Whatly سنة ١٩٧٠ فى مستخلص الخلايا أن نسبة $P : NO_3^- = 1$ فى وجود $NADH.H^+$ (كمعطى للأيدروجين) أما فى وجود السكسينات فقلت إلى $P : NO_3^- = 0.4$ وقد أثبتا أيضاً أن انزيم nitrate reductase يتفاعل مع السلسلة التنفسية فى منطقة Cyt.b وأن Cyt.C لا يشارك فى اختزال النترات أى أن طول سلسلة انتقال الالكترون للخلايا النامية هوائياً مع الاكسجين تختلف عن النامية مع النترات كمستقبل للاكترون وتظهر كما يلى :



ولكن الأبحاث بعد ذلك أشارت إلى أن دخول الالكترونات يمكن أن يتم عند مستوى كل من Cyt. b ، Cyt. c ،وقد عزل حتى الآن خمس كروموبروتينات هى (I) $Cyt.\ b_4$،

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وقد وجد أن الثلاثة brawn protein ، Cyt. C_{551} ، (HR) Cyt. c ، Cyt. b_4 (II) الأوائل تعمل فى الخلايا النامية هوائياً ولا هوائياً بينما يعمل Cyt. C_{551} دوراً مماثلاً لـ Cyt. C فى الثدييات أما البروتين البنى فيعمل كمعطى الكترون مباشر لانزيم nitrate reductase وهناك دلائل تشير إلى أنه فى الحقيقة صبغة سيتوكرومية تحتوى على hemc c ، like heme (a_2) ويعمل كانزيم NO_3 - reductase كما بالرسم التالى :



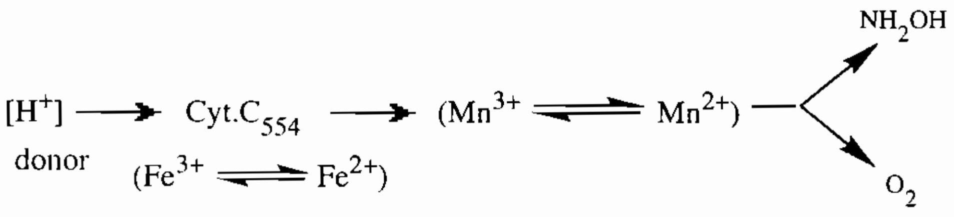
شكل (٤-٧) : سلسلة انتقال الالكترونات فى التنفس الهوائى واللاهوائى (النترانى) بواسطة ميكروبى *Micrococcus denitrificans* , *Pseudomonas aeruginosa* نقلاً عن Hori (1961)

وتشير الأبحاث الحديثة إلى تفضيل Cyt. C_{560} بدلاً من Cyt.b_4 كمنفذ لدخول الالكترونات حيث وجد أن nitrite neductase يتكون من اثنين من الهيموسيتوكروم يحتويان على C-type ، a_2 (d) - like heme وهذان السيتوكرومان يظهران فقط فى الخلايا النامية لاهوائياً مع النترات والنتيريت كمستقبل للالكترون . وقد وجد عند تنقية انزيم NO_2^- - reductase أنه يحتوى نشاط Cyt.c oxidase ولهذا استنتج أن Cyt.c and a_2 يشاركان فى عملية الاختزال كما أن انزيمى NO_3^-- reductase ، NO_2^-- reductase يتفاعلان منفصلين وغير مرتبطين ببعضهما .

● أما الانزيم الثالث فى تفاعل الدنترة Denitrification فهو hydroxylamine

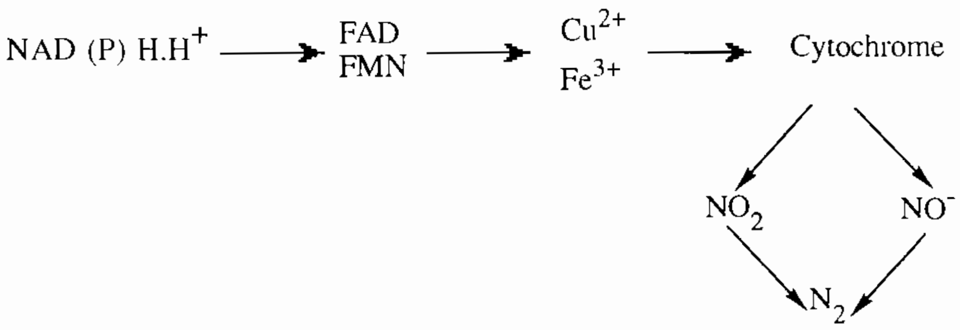
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

reductase وله القدرة على التفاعل مع الأكسجين ويمكن تصور دورة فى انتقال الالكترون كما يلى :



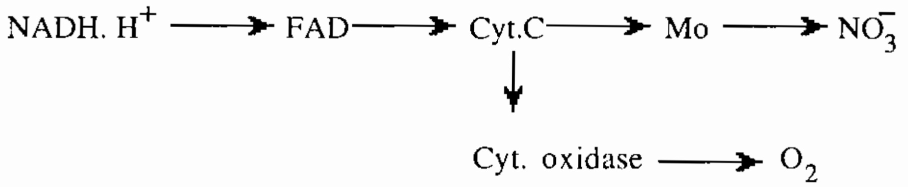
- والملاحظة الجديرة بالذكر أن نقطة التفرع فى nitrate reductase هو Cyt.b بينما فى كل من nitrite & hydroxylamine reductases تحتاج إلى Cyt.c والتنافس بين النترات والاكسجين يبدو أن سببه سحب الالكترونات عند مستوى Cyt.b لاختزال النترات .
- كما يبدو أن هناك اختلافاً جذرياً فى نظام اختزال النترات والنيتريت بين أفراد بكتريا الدنترة فمثلاً *Pseudomonas denitrificans* يختلف عن *Micrococcus denitrificans* حيث لم تشاهد عملية الفسفرة مع النيتريت كمستقبل نهائى للالكترون مع الميكروب الأول بينما تشاهد فى الثانى .

أما ميكروب *Pseudomonas Stutzeri* فيستخدم NAD (P) المختزل كمعطى للأيدروجين فى وجود FAD ، FMN اللذان ينشطان التفاعل ويمكن تصور سلسلة انتقال الالكترون بهذا الميكروب كالتالى :

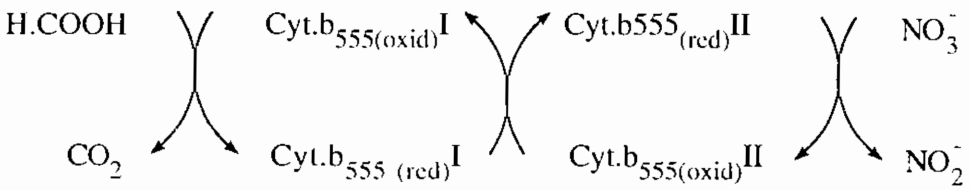


salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

بينما يختلف نظام انتقال الالكترون في جنس *Achromobacter* وكذا في *Ps. aeruginosa* في حامل الالكترون قبل الانزيم وفى الاحتياج إلى عنصر المولبيدنم كالتالى .



أما عائلة Enterobacteriaceae فالمعروف أنها ميكروبات لاهوائية اختيارية تستطيع القيام بالتنفس اللاهوائى والتخمر وأيضا بالتنفس الهوائى عند توفر الظروف المناسبة وحسب مستقبل الالكترون المتوافر حيث يمكنها تكوين nitrate-reductases وايضا Chlorate-reductases ، Thiosulfate- ، Tetrathiosulfate- وبالنسبة لاختزالها النترات فإن أنسب معطيات الالكترون هي الفورمات ، اللاكتات ، البيروفات ، NAD(P) المختزل كالتالى :



والخلاصة ان ميكروبات الدنترة Denitrifying bacteria تختلف فيما بينها فى طول سلسلة انتقال الالكترونات وحوامل الالكترونات ومنافذ دخول الالكترونات مما يعطى خصوصية Kind of Specifity لهذه الميكروبات مما ينعكس على التركيب النوعى للغازات الناتجة عن العملية فبعضها يكون نيتروجين فقط والبعض آكاسيد نيتروجين والبعض خليط منهم جميعاً .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

● تأثير الأكسجين :

أُعتقد لفترة أن الأكسجين يثبط تكوين انزيمات الاختزال من منابعها البروتينية وظلت مشكلة هل انزيمات الاختزال Constitutive or adaptive ؟ مثار للخلاف حيث تختلف باختلاف الميكروبات إلا أن الأبحاث أشارت إلى أن تأثير الأكسجين لا ينصب على انزيمات redustases ولكن على تكوين السيتوكومات التى تحمل الالكترونات للانزيم المختزل . وأظهر مستخلص خلايا *Micrococcus denitrificans* محتوى سيتوكرومى عالى لنوعى b ، C إذا نمى الميكروب لا هوائياً على النترات عن الخلايا النامية هوائياً . وعلى العكس بعض *Staphylococcus* تنتج النتريت عند تنميتها هوائياً بينما تفشل فى ذلك أثناء التنمية اللاهوائية مع أن nitrate reductase موجود ولكن يظل بدون عمل أى أن دور الأكسجين فى الأنظمة التنفسية لهذه الميكروبات الاختيارية غير محدد . وربما يلعب وجود heme من عدمه دوراً فى تحويل التفاعل لاتجاه السيتوكروم الخاص باختزال النترات . وعموماً يمكن القول أن كل البكتريا التى تختزل النترات تحت الظروف الهوائية assimilatory تفرز NO_3^--reductase وتحتاج الاكسجين ليس كمستقبل نهائى للالكترون ولكن للتخليق الحيوى للسيتوكروم المحتوى على heme والذى يتوسط فى نظام نقل الالكترون فى عملية الاختزال .

ويعتبر Protoprophyrin IX هو المركب الأساسي (Key) فى عملية تخليق heme حيوياً حيث يتفرع لفرعين احدهما بدخول الحديد Fe^{2+} لتكوين الهيم والآخر بدخول الماغنسيوم Mg^{2+} لتكوين الكلورفيل . ويلعب الهيم دور المجموعة المرافقة Prosthetic group للهيموجلوبين كتاليز ، البيروكسيديز ، وبعض السيتوكرومات والانزيم الذى يحتاج لتدخل (لمشاركة) الأكسجين يطلق عليه Oxygenase . ودور الهيم يتلخص هنا فى اتحاده مع مكونات البروتين لسيتوكروم b لتكون $Cyt.b_1$ الذى يشارك فى نقل الالكترون للنترات بواسطة nitrate reductase .

وبعض البكتريا الهيتيروتروفيه مثل *E. Coli* يمكنها تخليق السيتوكروم عند تنميتها هوائياً أو لا هوائياً مما يبين أنه ليس كل البكتريا تحتاج الأكسجين لتخليق الهيم . وفى هذه الحالة يبدو أنه يوجد مستقبل الكترون بديل (لم يعرف بعد) يمكن أن يحل محل الأكسجين لتحويل Co-protoprophyrin إلى protoprophyrin IX ولكن يظل السؤال كيف يتم التحويل فى غياب الأكسجين .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- أهمية عملية الدنترة Denitrification فى الطبيعة :

مميزاتها

- تلعب دوراً هاماً فى تحولات التربة والمياه حيث تحول النتروجين النتراتى ومشتقاته إلى جزئ نيتروجين ينطلق فى الجو ويكمل دوره النتروجين فى الطبيعة .
- تتخلص من النترات ومشتقاتها بيولوجيا فى مياه الصرف والمجارى المعالجة .

عيوبها :

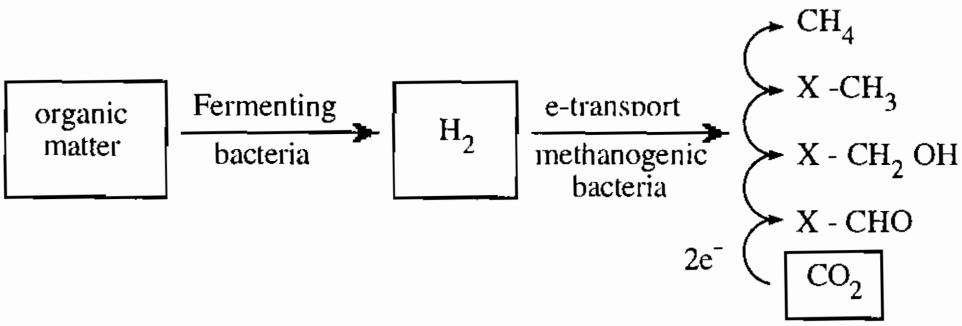
- فقد الأسمدة النتراتية المضافة للتربة (خسارة اقتصادية) .
- تكوين النيتريت فى معدة الإنسان حيث تتحد مع هيموجلوبين الدم مكونة methaemoglobin الذى يعيق أكسدة حديد الدم وبالتالى حدوث ظاهرة الأطفال الرضع الزرق (خسارة صحية) .
- تكوين مادة النيتروزامين المسببة للسرطان .
- تكوين أكاسيد النتروچين التى يحتمل أنها تتحد مع طبقة الأزون فى طبقات الجو العليا مسببة نفاذ الأشعة فوق البنفسجية بمعدلات أكبر من المطلوب مما يؤدى لسرطانات الجلد .
- تكوين أكاسيد النتروچين وتراكمها فى طبقات الجو مسببة ظاهرة البيوتات الزجاجية التى تؤدى لرفع درجة حرارة الكون عالمياً وما يتبعه من ذوبان الجليد القطبى وارتفاع منسوب البحار وغرق دلتا الأنهار أو تغير خريطة توزيع الأمطار فى العالم.

٤٠٣ ك أ٢ كمستقبل للالكترونات Carbonate respiration

٤٠٣٠١ تكوين المثيان

- يستخدم ك أ٢ بواسطة مجموعة صغيرة من البكتريا كمستقبل نهائى للالكترون والناتج المختزل هو الميثان وتعرف ببكتريا إنتاج الميثان methanogenic bacteria or methane producing bacteria .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



وهى تختلف عن بكتريـا أكسـدة الميثان الهوائية methane oxidizing bacteria التى تؤكسـد الميثان إلى ك أ٢ ، يد٢أ والتى سيلى ذكرها فيما بعد .

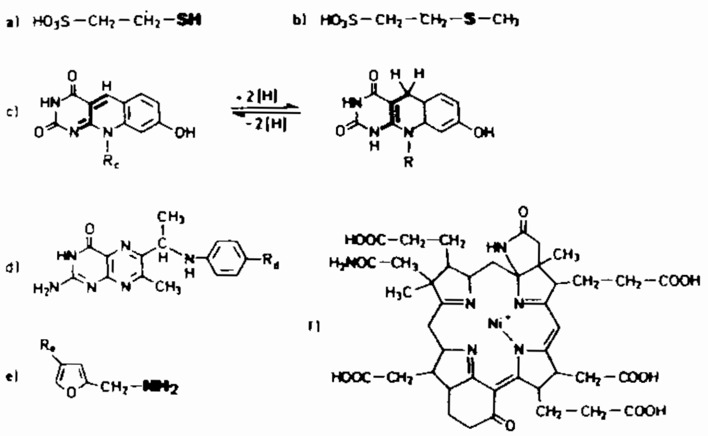
- وبـكـتـريـا المـيـثـان ذات شـكـل عـصـوى *(Methanobacterum)* أو كـــروى *(Methanococcus)* أو مـــكـــعـــبـــى *(Methanosarcina)* أو خـيـطـيـى *Methanospirillum or Methanothrix* وهى تتبع Archaebacteria التى تختلف عن باقـى البكتريـا فى عدم احتـواء جدرها الخلويـة على peptidoglycan ولا تثـبط بواسطة البنسلين وتوجد دائماً منتشرة فى مخمرات محطات معالجـة مـياه المجارى وهـى لا هوائية حتمية بالضرورة ولا تحتوى الكاتاليز .

وعادة تعيـش بالاشتراك Close association مع البكـتريا المنتجة للأيـدروچين حيث تستهلك الايدروچين الذى تنتجه مباشرة والذى يـسبب ارتفاع تركيزة سمية للميكروبات المنتجة له أى تبادل منفعة بالاشتراك ولذا تعرف بـكتريا إنتاج الميثان بالبكتريا المؤكسدة للأيدروچين H_2-oxidizing bacteria .

- **كيفية تكوين الميثان والحصول على الطاقة :**

يتضمن التحول البيوكيمياوى لـ H_2 ، CO_2 إلى الميثان أو للاستيات إلى الميثان ، ك أ٢ العديد من المرافقات الانزيمية و Prosthetic groups والتى لاتوجد إلا فى بـكتريا انتاج الميثان مثل methanopterin ، methanofuran ، deazariboflavin (F420) ، Co- enzyme M (mercaptoethane sulphonate) ، nickel-tetrapyrid (F430) كما فى شكل (٤ - ٨) التالى :

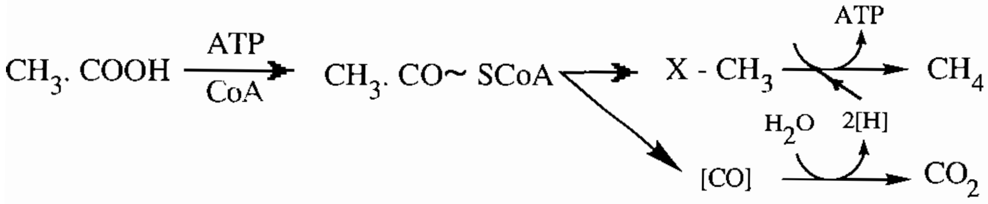
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



(a) Coenzyme M; (b) methyl-coenzyme M; (c) F_{420} (deazariboflavine derivative); (d) methanopterin; (e) methanofuran; (f) factor F_{430} (after dissociation of methyl-coenzyme M methylreductase). The reactive groups of the compounds (d) and (f) are not indicated. R_{a-e}, various side chains consisting of several components.

شكل (٤-٨) : المرافقات الانزيمية ، Prosthetic groups فى بكتريا الميثان

ويتكون الميثان من الإستيات كالتالى :



كما يتكون الميثان من ك أ٢ ، يدم مباشرة كما بالمعادلة .

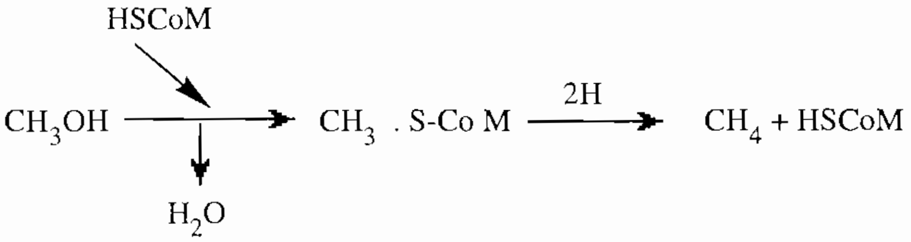
$$CO_2 \xrightarrow{2H} X\text{-}CHO \xrightarrow{2H} X\text{-}CH_2OH \xrightarrow{2H} X\text{-}CH_3 \xrightarrow[ATP]{2H} CH_4$$

ومازالت ميكانيكية تكون ATP غير ثابتة ماعدا الخطوة الأخيرة حيث ثبت أن لها جهد ثرمو ديناميكي يكفى لتخليق ATP . وأغلب الظن أن التفاعل يـصاحبه خروج بروتون من الخلية مما يـخلق جهد بروتونى بين جـانبى الغشاء ويكفـى لحدوث عملية الفسفـرة المصاحبة

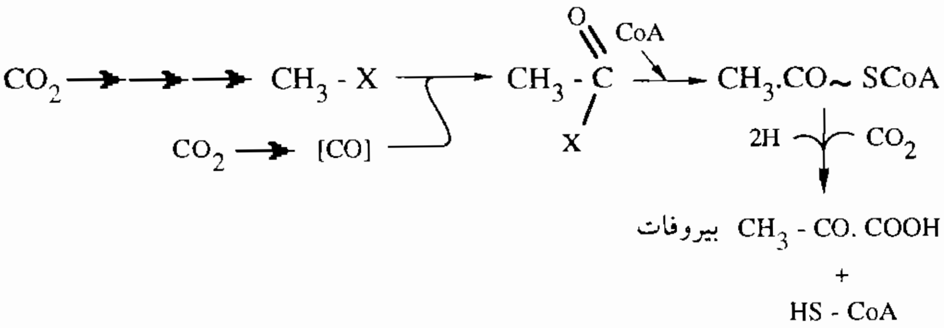
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

لانتقال الالكترون . e-transport phosph وتكوين ATP - وليس الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل Substrate level phosphorylation - تحت الظروف اللاهوائية وهى صفة مميزة لبكتريا المثيان والدنترة .

وأيضاً يمكن تكوين الميثان من الميثانول والأيدروجين فى وجود انزيم methyl transferase الذى يحول الميثانول إلى ميثيل كوانزيم M والذى يختزل فى وجود انزيم -me thyl-Co M reductase ويتكون الميثان :



أما تمثيل ك أ٢ اوتوتروفيا بواسطة بكتريا الميثان لا يتم بواسطة دورة الريبولوز بيوفوسفات ولكن يتم عبر استيل كوانزيم A والبيروفات .



وتفسير ذلك أن ك أ٢ يختزل إلى مستوى الميثانول (CH_3-X) بينما جزئ آخر من ك أ٢ يختزل إلى ك أ بواسطة الديهيدورجنيز وتحدث عملية Carboxylation لمركب methyl-x الذى يتحول إلى aetyl-x ثم إلى استيل كوانزيم A ويعقب ذلك عملية reductive Carboxylation تؤدى لتكوين البيروفات ومنه يمكن تكوين مركبات الخلية بالدخول فى الدورات الأخرى المعروفة وكذا تكوين ATP اللازم .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢٠٣٠٤ تكوين الاسيتات

وذلك بواسطة مجموعة ميكروبية أو توتروفية تعرف باسم acetogenic bacteria وتوجد فى مخمرات هضم المخلفات وبالذات تحت الظروف الحامضية وذلك باختزال ك أ٢ وأكسدة الايدروچين كما يلى :

$$4\ H_2 + 2\ CO_2 \longrightarrow CH_3.COOH + 2\ H_2O$$

$$(\Delta Go = -26.6\ kcal/mole)$$

وهذه الميكروبات عضويات سالبة لجرام مثل :

Clostridium aceticum ، *Cl. thermoacticum*، *Acetobocterium woodii.*

وهى لاهوائية مؤكسدة للأيدروچين Chemolithotrophs ، وتعرف العملية باسم assimilatory acetate synthesis .

وهى تمثل ك أ٢ أوتوتروفيا وتخلق مادة خلاياها من خلال استيل كوانزيم A والبيروفات - مثل بكتريا الميثان - حيث يتم اختزال ك أ٢ إلى $methyl\text{-}FH_2$ عبر الفورمات مع استخدام tetrahydrofolate كمرافق انزيمى . ثم تحدث عملية اضافة ك أ٢ مختزلة لاسيتيل كوازيم A - كما فى الشكل السابق - ينتج عنه البيروفات الذى يدخل فى الدورات المعتادة .

٣٠٣٠٤ تكوين السكسينات من الفيومارات

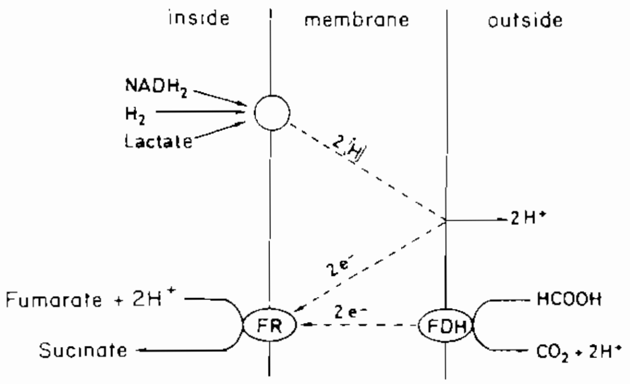
تتكون السكسينات عادة بواسطة عمليات التخمر ومع ذلك يمكن تكوينها لاهوائيا بمصاحبة e-transport phosphorylation وهى ناتج اختزال الفيومارات كما بالمعادلة :

$$2\ [H] + \text{Fumarate} \longrightarrow \text{Succinate}$$

وفرق جهد الأكسدة والاختزال (E_0) بين فيومارات / سكسينات عالى نسبياً (حوالى -30 mV) ولهذا تستقبل الالكترونات المحمولة على المرافقات الانزيمية الناقلة للأيدروچين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(NAD H/H⁺) واختزال الفيومارات يسمح بحدوث الفسفرة المصاحبة لانتقال الالكترون . ويعرف هذا التنفس اللاهوائى - باعتبار الفيومارات المستقبل النهائى للالكترون - بتنفس الفيومارات Fumarte respiration وميكانيكيته كما بالرسم .



شكل (٤-٩) : تكوين السكسينات من الفيومارات من بواسطة انزيم Fumarte reductase المرتبط بالغشاء نقلاً عن Shlegel, 1986

وواضح من الرسم حدوث جهد بروتونى على جانبى الغشاء السيتوبلازمى وبالتالى إمكانية حدوث عملية الفسفرة وتكوين الطاقة (ATP) .

وينتشر التنفس الفيوماراتى فى كثير من البكتريا اللاهوائية الهيتروتروفيه مثال ذلك أجناس *Proteus* , *Salmonella* , *Klebsiella* , *Escherichia* وأيضاً *Propionibacterium* , *Vibrio Succinogenes* حيث لوحظ أن إضافة الفيومارات للبيئة يسبب نمو أسرع وكميه خلايا أعلى والفيورمارات يمكن إضافتها خارجياً للبيئة أو أنها تتكون داخلياً من الكربوهيدرات عبر الاكسالواستيات والمالات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٤٠٤ اختزال الحديديك Fe^{3+} إلى حديدوز Fe^{2+}

يمكن لبعض المزارع المخـتلطة من ميكروبات التربة اختـزال الحديديك وذلك فى وجود النترات التى تـختزل أيضا لنيترتيت ونيـتروچين . ويبدو أن انزيم nitrate reductase A يقوم بـنقل الالكـترون إلى الحديـديك ويختزلـه إلى الحديدوز وحـيث أن اختزال الـنترات يصاحــبه c-transport phosphorylation فإنه يمكن حدوث ذلـك عند اختزال Fe^{3+} . وجهد الأكســدة والاختزال Fe^{3+}/Fe^{2+} حوالـى $E_o = + 770$ mV يجعل الـتفاعل ذو ديناميكية حرارية .

وبما أن الحديديـك غير ذائب جزئيـاً ويجب أن تتحول إلى صـورة ذائبة وقابلة لـلنفاذ خلال الخلايا فإن النمو تحت هذه الظروف يكون بطيئاً وضئيل جداً .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أسئلة للمراجعة

١ - ما هو التنفس اللاهوائى ؟

٢ - آذكر أربعة من المجاميع البكتيرية الرئيسية التى تستخدم المركبات الغير عضوية كمستقبل نهائى للالكترون .

٣ - اشرح الديناميكية الحرارية لاختزال الكبريتات فى وجود الأيدروچين .

٤ - ما هو الفرق بين اختزال الكبريتات فى Desulforicants والخمائر ؟

٥ - لماذا يعتبر Desulfovibrio ميكروب أوتوتروفى ؟

٦ - ما هو الفرق بين اختزال الثيوسلفات فى ميكروبى *Desulfovibrio desulforicans & Thiobacillus denitrificans* ؟

٧ - ناقش الدور الذى يقوم به كل من Ferredoxin , $Cyt.C_3$, APS فى اختزال الكبريتات بواسطة *Desulfovibrio*.

٨ - اشرح كيفية حدوث الفسفرة المؤكسدة تحت الظروف اللاهوائية .

٩ - ماذا تعنى عملية الدنترة Denitrification وما الفرق بين اختزال النترات *assimilatory & dissimilatory* ؟

١٠- ناقش الديناميكية الحرارية لاختزال النترات .

١١- اشرح أهمية الهيم فى اختزال النترات .

١٢- اذكر أربع أسماء لاجناس البكتريا المنتجة للميثان ولماذا يمكن تسميتها « بكتريا اختزال ك أ٢ أو بكتريا أكسدة الأيدروچين» ؟

١٣- اشرح كيفية حدوث اختزال ك أ٢ وتكوين الميثان والحصول على الطاقة .

١٤- اشرح كيفية حدوث التنفس الفيوماراتى وأهم الميكروبات التى تقوم به .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1. Asano, I., Imai, K., and Sato, R. (1967). Oxidative phosphorylation in *Micrococcus denitrificans*. III. ATP supported reduction of NAD^+ by succinate. J. Biochem. (Tokyo) 62 : 210.
2. Barton, L.L., Le Gall, J. and Peck, Jr. H.D. (1972). Oxidative phosphorylation in the obligate anaerobe, *Desulfovibrio gigas*. In : Horizons of Bioenergetics (A. San Pietro and H. Gest, eds), p. 33–51. Academics Press Inc., New York.
3. Blaylock, B.A. and Stadtman, T.C. (1966). Methane biosynthesis by *Methanosarcina barkeri*. Arch. Biochem. Biophys. 116 : 138.
4. Burton, C.P. and Akagi, J.M. (1971). Observations on the rhodanese activity of *Desulfotomaculum nigrificans*. J. Bacteriol. 107 : 375.
5. Findley, J.E. and Akagi, J.M. (1970). Role of thiosulfate in bisulfite reduction as catalyzed by *Desulfovibrio vulgaris*. J. Bacteriol. 103 : 741.
6. Gray, C.T. and Gest, H. (1965). Biological function of molecular hydrogen. Science 148 : 186.
7. Hadjipetron, L.P. and Stouthamer, A.H. (1965). Energy production during nitrate respiration by *Aerobacter aerogenes*. J. Gen. Microbiol. 38 : 29.
8. Hori, K. (1961). Properties of cyt. C_{553} and brown protein. J. Biochem. (Tokyo) 50 : 481.
9. Iwasaki, H. and Shidava, S. (1969). Crystallization of cyt. C_{553} in anaerobically grown *Ps. denitrificans*. J. Biochem. (Tokyo), 66 : 775.
10. John, P. and Whatley, F.R. (1970). Oxidative phosphorylation coupled to oxygen uptake and nitrate reduction in *M. denitrificans*. Biochem. Biophys. Acta. 216 : 342.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

11. Lee, J.P., LeGa, J. and Feck, Jr. H.D. (1973). Isolation of assimilatory and dissimilatory sulfite reductases from *D. vulgaris*. J. Bacteriol. 115 : 529.

12. Le Gall, J. and Postgate, J.R. (1973). The physiology of sulphate – reducing bacteria. Adv. Microbial Physiol. 10 : 82.

13. Miller, J.D.A., Neumann, P.M., Elford, L. and Wakerley, D.S. (1970). Malate dismutation by *Desulfovibrio*. Arch. Microbiol. 71 : 214.

14. Newton, J.W. and Komen, M.D. (1961). Cytochromes systems in anaerobic electron transport. In : The bacteria. (I.C. Gunsalus and R.Y. Stanier, eds). Vol. 2, p. 397. Academic press. New York.

15. Payne, W.J. (1981). Denitrification. John Wiley & Sons, New York.

16. Peck, M.D., Jr. (1968). Energy–coupling mechanisms in chemolithotrophic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 22 : 489.

17. Sorokin, Y.I. (1966). Role of CO_2 and acetate in biosynthesis by sulfate reducing bacteria. Nature (London), 210 : 551.

18. Schlegel, H.G. (1982). General microbiology 6th Ed. Cambridge Univ. press, London .

19. Trudinger, P.A. (1969). Assimilatory and dissimilatory metabolism of inorganic sulfer compounds by microorganisms. Advan. Microbial. Physiol. 3 : 111.

20. Wolfe, R.S. (1971). Microbial formation of methane. Advan. Microbial. Physiol. 6 : 107.

21. Yates, M.G. (1967). Stimulation of phosphoroclastic system of *Desulfovibrio* by nucleotide triphosphate. Biochem. J. 103 : 321.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الباب الخامس
تمثيل الكربوهيدرات

Carbohydrate metabolism

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الخامس

تمثيل الكربوهيدرات

Carbohydrate metabolism

ثبت أن حمض البيروفيك هو المركب الوسطى فى التحولات الايضية للكربوهيدرات فى البكتيريا ، حيث تتحول تقريباً كل المركبات الكربونية ذات الست أو الخمس أو الأربع ذرات كربون ابتداءاً إلى البيروفات .

١٠٥ تحول الجلوكوز Glucose metabolism

يعتبر الجلوكوز المركب الكربوهيدراتي الرئيسى الذى يعمل كمصدر للكربون لخلايا البكتريا وهو يتحول إلى البيروفات بواسطة أربع طرق رئيسية والتى سميت حسب أسماء الباحثين الذين اكتشفوها أو المركبات الرئيسة بها . وهذه الطرق هى :

1 - Embden-Meyerhof - Paranas (EMP) pathway.

2 - Warburg - Dickens - Horecker or hexose monophosphate (HMP) pathway.

3 - Entner - Doudoroff (ED) pathway.

4 - Phosphoketolase (PK) pathway.

١٠١٠٥ دورة التحلل الجليكولى EMP - Pathway

ويطلق عليها أيضاً دورة الفركتوز ١ر٦ بيوفوسفات (FBP) ، glycolytic breakdown ، glycolysis .

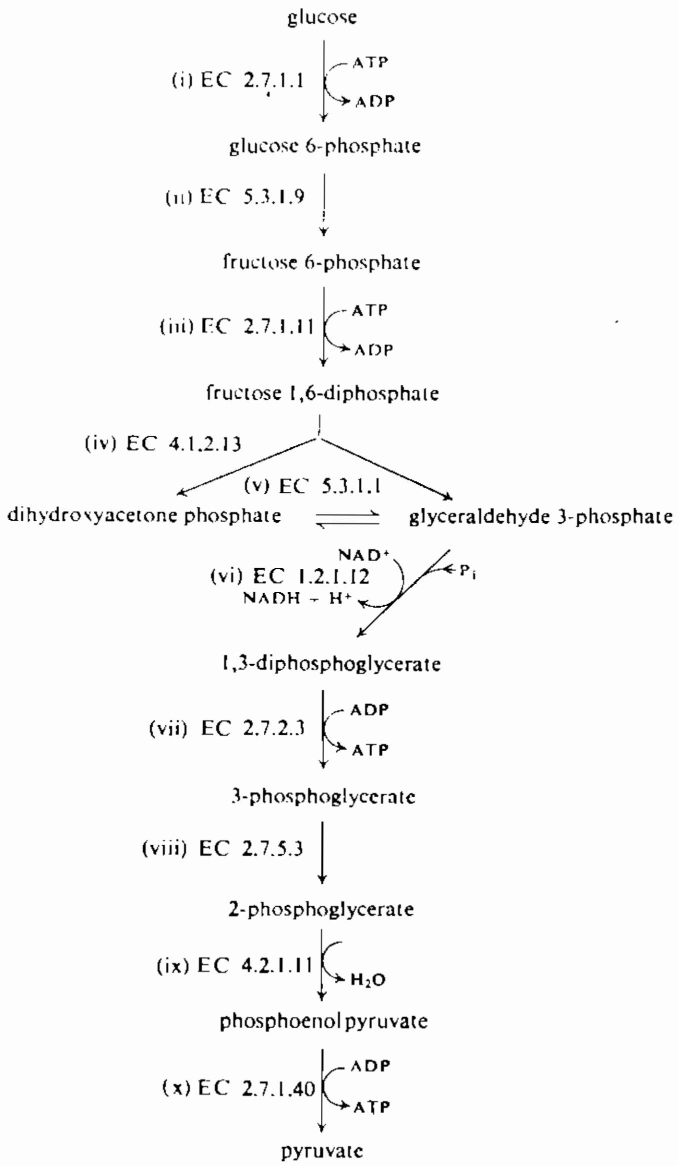
وينتشر حدوثها فى معظم البكتريا ، (Enterobacteriaceae , Saccharolytic Clostridia , Lactobacillaceae) .

والمعادلة العامة لها :

$$\text{glucose} + 2\ \text{ATP} + 2\ \text{NAD}^+ \rightleftharpoons 2\ \text{pyruvate} + 4\ \text{ATP} + 2\ \text{NADH}_2$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والتصور العام لها

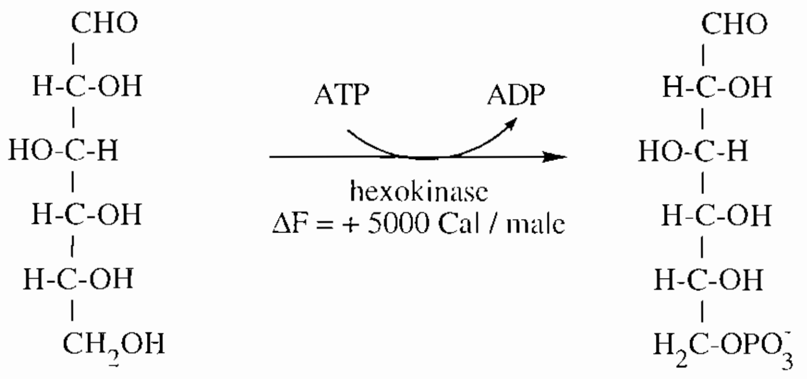


شكل (٥-١) : دورة التحول الجليكولى أو EMP - Pathway

نقلاً عن Doelle سنة ١٩٧٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- والخطوة الأولى (I) فى هدم الجلوكوز هى خطوة فسفرة حيث تحتاج امول من ATP فى وجود انزيم hexokinase (EC 2.7.1.1) واصطلاح Kinase يطلق عـلى الانزيمات التى تلامس انتقال مجموعـة الفوسفات الطرفية من ATP إلى أى مجموعة ايدروكسيل للسكريات السداسية والخماسية .

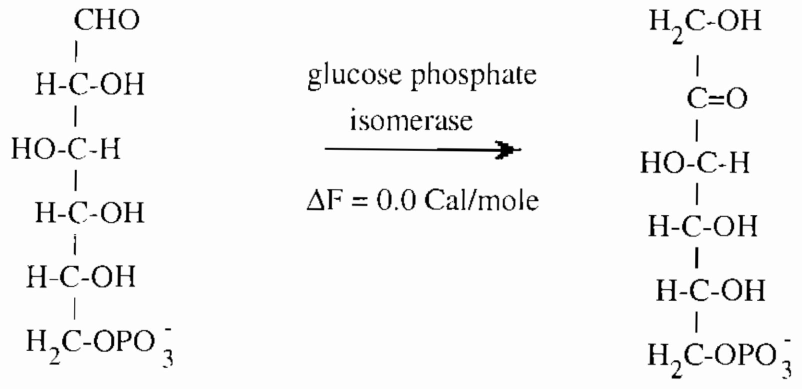


جلوكوز   جلوكوز ٦- فوسفات

وتبدو انزيمات kinase ذات الأصل البكترى أنها أكثر تخصصاً لمادة التفاعل عن مثيلتها فى الثدييات أو الخمائر ولذا فإن فسفرة السكريات السداسية والخماسية فى البكتريا تتم بواسطة انزيم متخصص لكل سكـر مثلاً الجلوكوز بواسطة glucokinase (EC 2.7.1.2) ، الفركتـوز بواسطة ketohexokinase (EC 2.7.1.3) وهكـذا . ومعدل استـهلاك الجلوكـوز فـى الخلايـا يعتمـد علـى خـطوة hsxokinase التـى تـثبط بقوة بتـراكـم الجـلوكوز ٦ - فوسفات وهذا التـثبيط يتنـافس مع ATP فى وجـود Mg^{++} إضافى حيث يعوض الفوسفات المعدنى هذا التأثير المثبط .

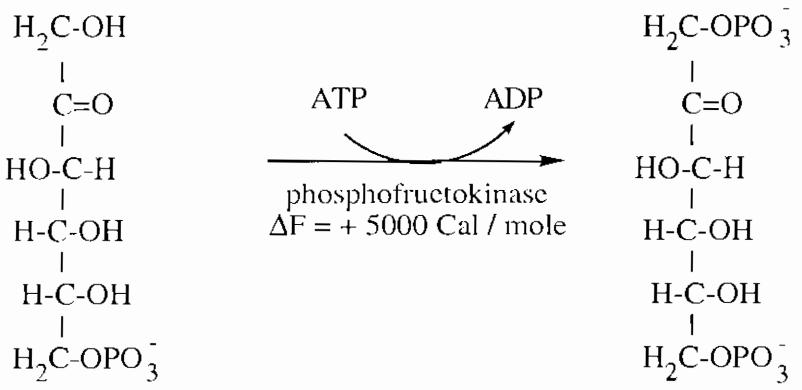
- أما الخطوة الثانية (II) فهى عملية isomerization لتـحويل الجلوكوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات بواسطة انزيم جلوكوز فوسفات ايسوميريز (EC. 5.3.1.9) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



جلوكوز ٦ - فوسفات   فركتوز ٦- فوسفات

- الخطوة الثالثة (III) هى عملية فسفرة ثانية تحتاج لمول آخر من ATP وتلامس بواسطة انزيم هام فى الدورة هو فوسفور فركتوكينيز (EC 2.7.1.11) .



فركتوز ٦- فوسفات   فركتوز ١ر٦- داي فوسفات

وهذا الانزيم ذو تركيب طبيعى ونظام حركى معقد جداً حيث يثبط بواسطة ATP والسترات وبدرجة أقل بواسطة Mg^{++} والعكس ينشَط بواسطة NH_4^+ ، K^+ ، الفوسفات المعدنى (Pi) ، ADP ، AMP وأيضاً بالفركتوز ٦- فوسفات . وهناك دلائل قوية على أن كل من هذه المنشطات يتفاعل على مكان مختلف عن الآخر على جزئ الانزيم مع الأخذ فى الاعتبار أن كل من ATP ، السترات فى حالة تعاون Synergism حيث يقلل كل واحد منهما التأثير المثبط للآخر .

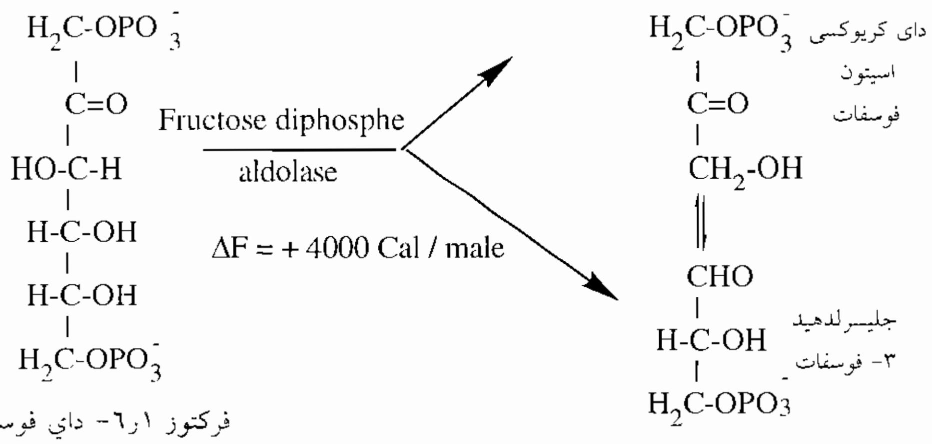
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويلعب الانزيم دوراً هاماً فى دورة EMP حيث يمثل العامل المحدد لمعدلها. وهو يمتلك العديد من الخواص التى تعطى له القـدرة على التكيف تنظيمياً regulatory adaption داخل الخلية ومن هذه الخواص .

- التنقل العكسى من الحالة النشطة (∝) إلى الحالة الغير نشطة (B) .
- خواصه الكيموحركية (allostery) .
- التجمع فى صورة monomer polymer فى حالة التعادل .

- الخطوة الرابعة (IV) وهى انقسام الـفركتوز ١ر٦ داى فـوسفات إلى ٢ مول من triose phosphate (مركب فـوسفاتى ثلاثى الـكربون) والانزيم الداخـل فى العمليـة هـو Fructose-diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) وهو انـزيم هام (Key) فى الـدورة وأكثـر انتشاراً فـى أجـناس البكتريا مـن الفوسفو فركتـوكينيز السـابق . وقـد اكتشفه Meyerhof & Lohmann سنة ١٩٣٤ .

واقترحا المعادلة التالية :



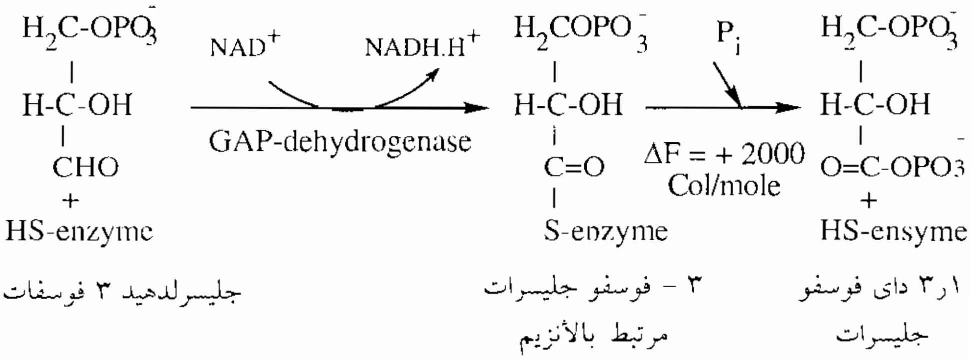
وأول من عزل انزيم aldolase بصورة نقيه هما Warburg & Christian سنة ١٩٤٣ من عـضلات rats وأثبـتوا وجود فـروق واضحـة بين aldolases فى الثدييـات وفى الخمائر وثبت أن الالدولـيز البكترى يثبط بالمركبـات المخلبية (مثلاً EDTA) ويمكن تجنب هذا التثبيط بواسـطة الأيونات المعدنية مثل Fe^{2+} ، Ca^{2+} ، Mn^{2+} ، Zn^{2+} بعكس الالدوليز فى الثدييات فلا يثبط بالعـوامل المخلبية وليس للأيونات المعدنية تأثير

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

على الانزيم ion independent والوزن الجزيئ له ضعف مثيله في الخمائر والبكتريا . وايضا وجد اختلاف بين الألدوليز المتحصل عليه من الجراثيم والخلايا الخضرية لميكروب *Bacillus cereus* . كما تختلف بعض خواص الأنزيم المعزول من *E.Coli* عن *lactobacillus Casei* فالأول غير ثابت بالمرة في محلول منظم يحتوى mercaptoethanol بينما الثاني يعتمد على هذا المركب السلفوهيدريل في نشاطه .

وانقسام مركب الفوكتوز ١و٦ داى فوسفات إلى مركبين Triose phosphate يؤدى إلى تراكم أحدهما وذلك في وجود انزيم triose phosphate isomerase (EC 5.3.1.1) حيث يميل التوازن ناحية الجليسرلديهيد ٣- فوسفات طالما تسير دورة EMP في طريقها السليم .

- الخطوة الخامسة (VI) هي خطوة أكسدة وفسفرة مركبة وذلك في وجود انزيم glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (EC 1.2.1.12) .



والانزيم المستخدم السابق ذكره هو انزيم متميز حيث ينقل ايضا مجاميع الاسيل (acyl-) ويتكون من ٤ تحت وحدات متشابهة كيمياويا . كل واحدة لها القدرة على ربط امول من NAD^+ وتحتوى أيضاً ٤ مجاميع ثيول (SH) واحدة منها تدخل في التفاعل الانزيمي . وترجع أهمية المرافق الانزيمي NAD^+ إلى تنشيط مجموعة الثيول . ويثبط الانزيم بقوة بواسطة ATP وبعض المواد المتفاعلة مثل L-serine ويتحمل الانزيم الحرارة كما في ميكروب *B. stearothermophilus* .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- الخطـــوة السـادسة (VII) يفقد المركــــب الغنى بـالطاقة ١ر٣ داى فوسفوجــليسرات مجـموعـة فــوسـفاتـية واحـدة لتـكويـن امول مـن ATP فى وجـــود انزيـــم Phosphoglycerate Kinase (EC 2.7.2.3) .

$$\begin{array}{c} H_2C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OH \\ | \\ O{=}C\text{-}OPO_3^- \end{array} \xrightarrow[\Delta F = 27.000\ \text{Cal/male}]{ADP \quad\quad ATP} \begin{array}{c} H_2C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OH \\ | \\ COO^- \end{array}$$

١ر٣ داى فوسفوجليسرات ـــــ ٣ - فوسفوجليسرات

وحيث أن ATP الغنى بالطاقة يـتكون عند مستوى مادة التفاعل لذا يعـتبر الفسفرة من النوع Substrate level phosphorylation .

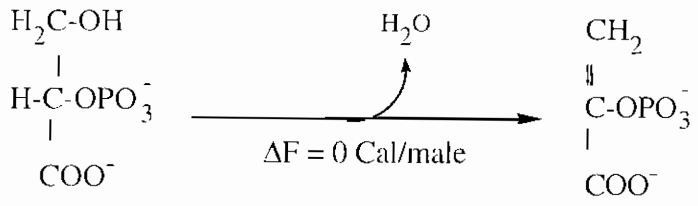
- الخـطـــــوة السـابعـة (VIII) تتـحول فـيها مـجمـوعة الـفوسفـات فى المـركب ٣- فوسفوجليسرات مـــن الوضع ٣ إلـــــى الوضـــع ٢ فـــــى وجــــود انزيـــــم phosphoglycero mutase (EC 2.7.2.3) وأيضـاً فى وجود مـركب ٢ر٣ داى فوسفوجليسرات الذى يخلق أثناء التفاعل كمركب وسطى كما يلى :

$$\begin{array}{c} H_2C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OH \\ | \\ COO^- \end{array} + \begin{array}{c} H_2C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ COO^- \end{array} \xrightarrow[\text{glyceromutase}]{\text{phospho -}} \begin{array}{c} H_2C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ COO^- \end{array} + \begin{array}{c} H_2C\text{-}OH \\ | \\ H\text{-}C\text{-}OPO_3^- \\ | \\ COO^- \end{array}$$

٣ - فوسفوجليسرات ـــــ ٢ - فوسفور جليسرات

- الخطوة قبـل الأخيرة (IX) هى تكوين فوسفـواينول بيروفات (PEP) بتأثير أنزيـــم (EC 4.2.1.11) enolase .

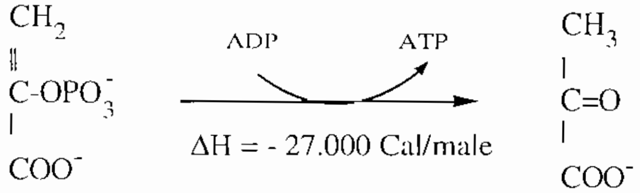
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



٢ - فوسفو جليسرات　　　　　　فوسفواينول بيروفات

وهذا التفاعل الاختزالى يسبب تجمع الكترونى حول ذرة الكربون رقم ٢ فى فوسفواينول بيـروفات . وهذا التـجمع مـع تكوين الـرابطة الـثنائـية يؤدى إلى تـقارب (Closer Contact) بين مجموعة الفوسفات والكربوكسيل الـسالبتى الشحنة وبالتالى زيادة جهد الطاقة الداخلى للجزئ . وهذا هو السبب أن البيروفات فوسفواينول بيروفات أكثر طاقة من ٣- فوسفوجليسرات .

- الخطوة الأخـيرة (X) تنتقل مجـموعة الفوسفات فى فوسفو ايـنول بيروفات إلى ADP بمساعدة انزيم Pyruvate Kinase (EC 2.7.1.40) ويتكون البيروفات وجزئ ATP آخر .



فوسفواينول بيروفات　　　　　　البيروفات

ونظراً للموقع المحورى لـمـركب فوسفواينول بيروفات فإن انزيم البيروفـات كينيز يخضع لبعض المحددات . ويـحتاج الانزيم إلى Mg^{2+} ، ADP ويثبط بواسطة ATP وهو الانـــزيم الثانى فـى الدورة ذو خاصـية allosteric ولا يلـعب أى دور فى تـخلـيق الجلوكـوز (gluconeogenesis) مثل التفاعل العكسى من البيروفات إلى فوسفو اينول بيروفات .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وهكذا فإن دورة EMP تنتج ٢ مول ATP ، ٢ مـــول $NADH.H^+$ التى تستخـــدم فـى التخـلـيق الحـيوى وكمعـطـيات للأيدروچـــين علـى الترتيب فى خطوات الهـــدم التالية للبيروفات . وتتكون الـ ٢ مول $NADH.H^+$ مـن إنتاج ٢ مول بيروفات من امول جلوكوز عند مستوى 1,3 diphosphoglycerate وتتم هذه الدورة فى أغلب الميكروبات اللاهوائية مثل بكتريا التخمر حيث لا ضرورة لوجود الأكسجين .

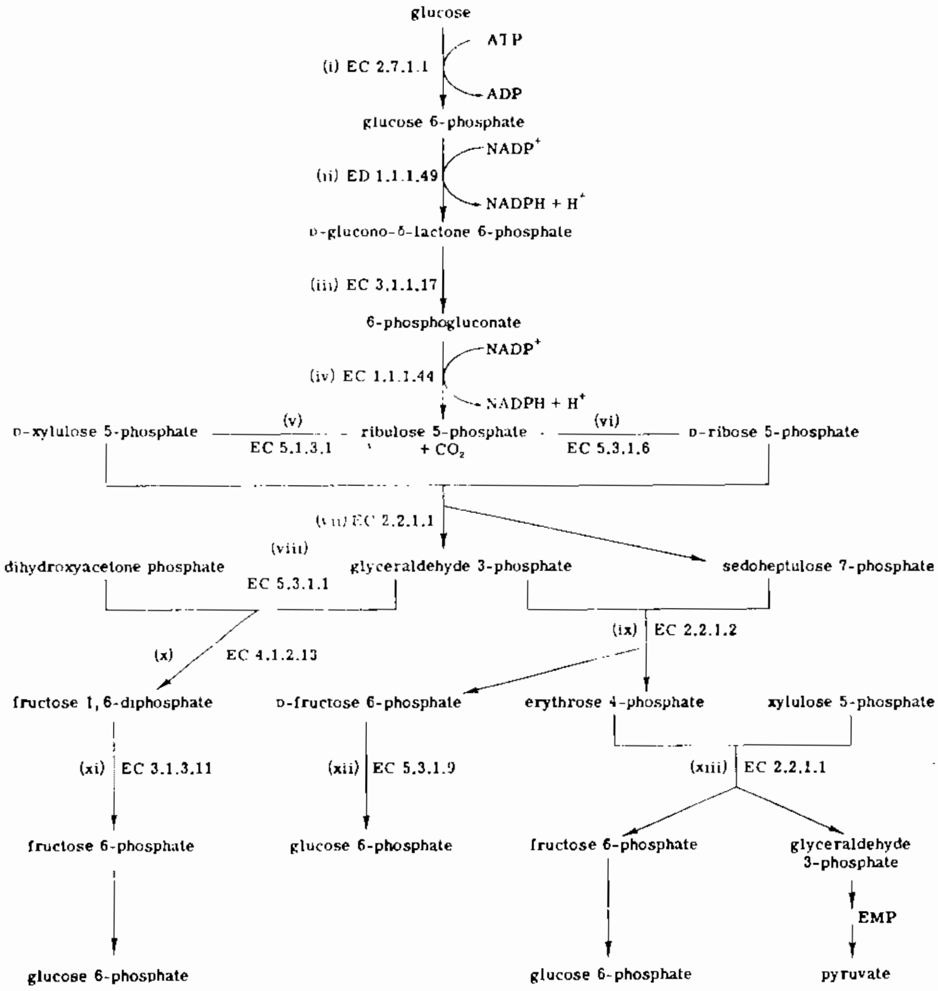
٢٠١٠٥ دورة Hexose monophosphate (HMP)

وهى تحمل عدد من الأسماء الأخرى مثل Pentose Shunt ، Warbury - Dickens- ، Horecker Pathway ، Oxidative pentose phosphate cycle .

عبارة عن سلـسلة من التفاعلات الانـزيمية لتحويل الجلـوكوز وتتم بواسطة الكـثير من الميكروبات التى تسـتطيع القيام بدورات EMP ، ED مثل *E. coli* الذى يـستخدم دورة EMP (التحلل الجليكولى) غالباً أثناء تحـولات الجوكوز اللاهوائية ولكنه يستخدم (pontose Shunt) HMP فى تحويل ٢٠ - ٣٠ ٪ من الجلوكوز .

وأيضاً ميكروب *Agrobacterim* الذى يـستخدم كلا الـدورتين HMP ، ED بنسبة 55:44 .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



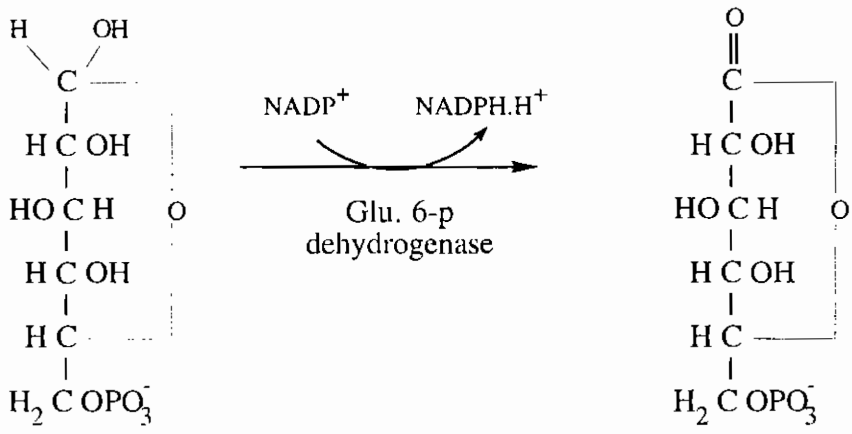
شكل (٥-٢) : دورة Hexose monophosphate (HMP) لتحولات الجلوكوز

نقلاً عن Doelle سنة ١٩٧٥

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- والخطوة الأولى هى تحول الجلوكوز إلى جلوكوز ٦- فوسفات تشبه تماماً مثيلتها فى دورة EMP وتستهلك ATP ويمكن بعد ذلك تنفصل الدورتين تماماً .

- الخطوة الثانية أكسدة جلوكوز ٦- فوسفات فى وجود انزيم glucose 6- phosphate dehydregenase (EC. 1.1.1.49) المرتبط بالمرافق الانزيمى $NADP^+$ مكوناً glucono-lactone 6-phosphate .

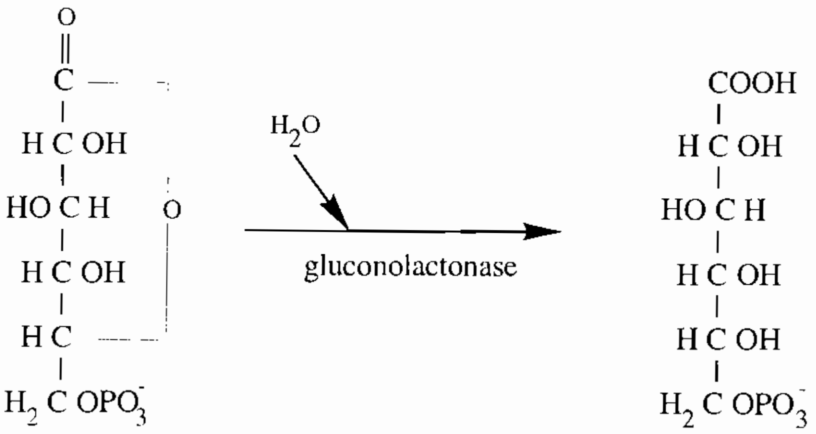


جلوكونو لاكتون ٦- فوسفات   جلوكوز ٦ - فوسفات

وانزيم الديهيدروجينير المذكور ذو دور تنظيمى هام وهو يُثبّط بواسطة $NADH.H^+$ فى حالة *E. coli* ، وبواسطة ATP فى حالة pseudomonads . وهو ينظم عملية تثبيت ك أ٢ أوتوتروفيا أو هيتروتروفيا بواسطة البكتريا mixotrophic . ويمكنه أحياناً استخدام NAD^+ كمرافق بينما فى الغالب يستخدم $NADP^+$. وينتشر فى عدد كبير من الميكروبات مثل *E. coli* ، *Bacillus sp.* ، *Pseudomonas* ، *Zymomonus* ، *Louconostic* والطحالب الخضراءوالخضراء المزرقة والحمراء والنباتات الراقية . وهو يوجد عادة فى السائل الخلوى .

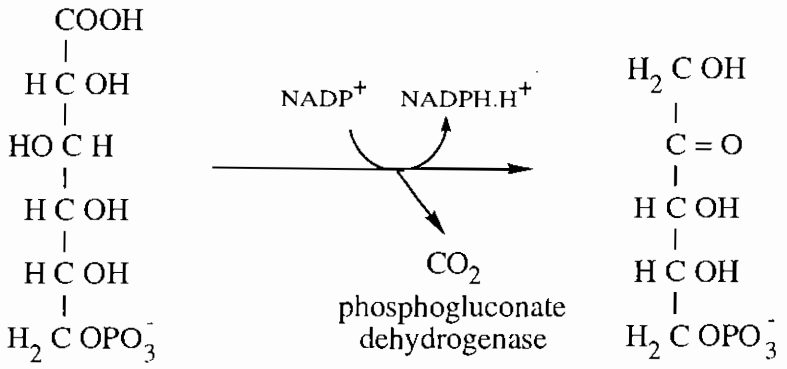
- الخطوة الثالثة : يحدث تحلل مائى Hydrolysis للمركب جلوكونولاكتون ٦ - فوسفات إلى ٦- فوسفو جلوكونات بواسطة انزيم gluconolactonase (EC 3.1.1.17) والمعروف عن هذا الانزيم من معلومات قليل بسبب تأثيره اللمسى السريع .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



٦ فوسفوجلوكونات   جلوكونو لاكتون ٦ فوسفات

- الخطوة الـرابعة : يحدث أكسـدة ثانية مع نـزع مجموعة الـكربوكسيل فـي وجود الانزيم phosphogluconate dehydrogenase (EC 1.1.1.44) وينتج مركب الريبولوز - ٥ فوسفات .



ريبولوز ٥ - فوسفات   ٦ فوسفوجلوكونات

ورغـم أن أكسـدة ٦ - فوسـفوجـلوكـونات تحـفز نـزع ك أ٢ بالأكسـدة oxidative decarboxylation ، فإن التفاعل عكسى كما ثبت بالتثبيت الانزيمى للمركب $^{14}CO_2$ على ذرة الكربون رقم ١ أو بواسطة إضافة ك أ٢ بالاختزال reductive carboxylation لمركب الريبولوز ٥ - فوسفات فى وجود $NADPH.H^+$ ، ك أ٢ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

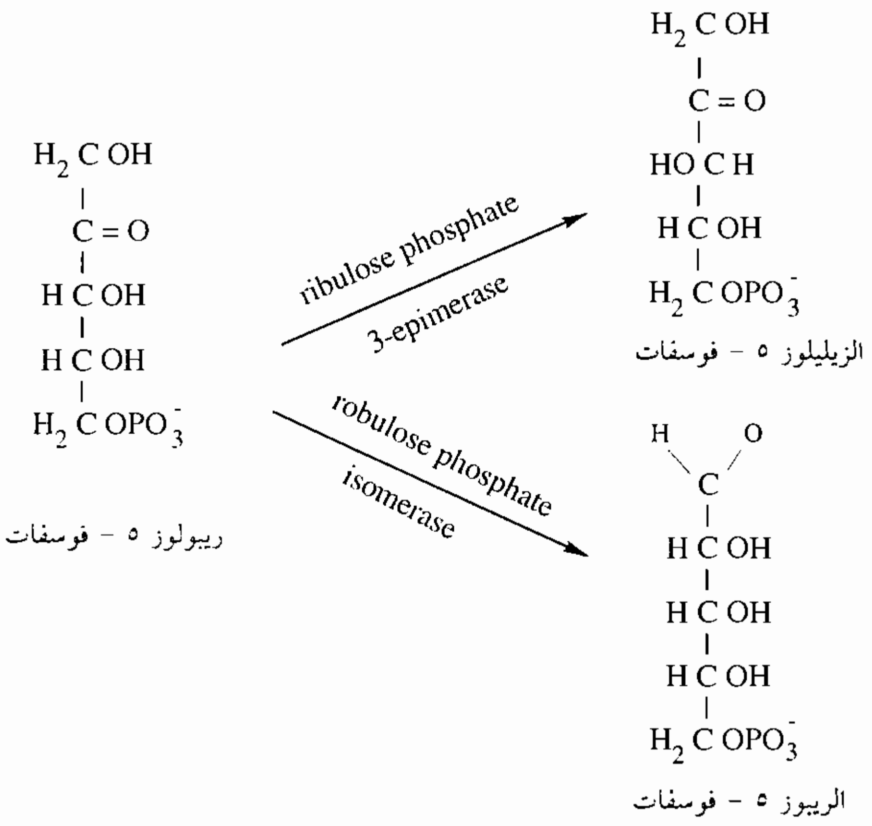
ويتركز انزيم 6-phosphogluconate DH في السـائل الخلوى ولـكن هناك بـعض الدلائل على وجوده في المكـونات الفعلـية في الخلية كما في ميكروب *Pseudomonas fluorescens* .

وينتشر الانزيم في كثير من أجناس البكتريا والطحالب والخمائر ويتخصص الانزيم في الثدبيات والخمـائر مع المرافق $NADP^+$ ولكـن في *Leconostoc mesenteroides* يفضل استخدام NAD^+ ، وفي بـعض أنـواع *Apergillus* يمكـن استخدام كـل من NAD^+ ، $NADP^+$. والانزيم يلعب دوراً تنظيمياً هاماً حيث يُثبّط بواسطة الفركتوز ٦،١ داى فوسفات ، ATP ، $NADPH.H^+$ حسب نوع الكائن ولذا يلعب دوراً هاماً في تأثير باستير Pasteur effect كما سيرد ذكره فيما بعد .

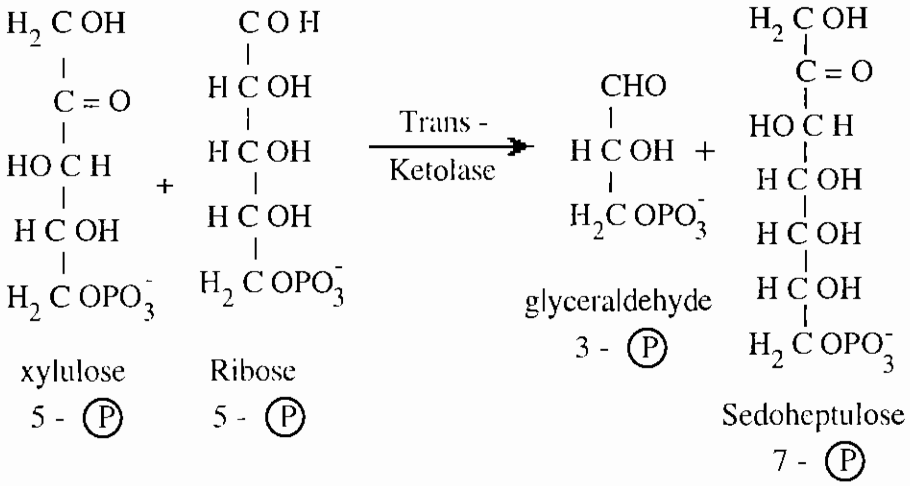
والخـطوة التالية (الخامسة) خطوة مركبه حيث يـرتبط الريبولـوز ٥ - فوسفـات جزئيا بإنزيمـين مختلفين أحدهما ribulose phosphate 3- epimerase (EC 5. 1. 3.1) محولة إياه إلى Xylulose-5-P (تفاعل V بالدورة) .

والانزيم الآخر هو ribulose phosphate isomerase (EC 2.3.1.6) وهو مسئول عن تكون ribose 5-phosphate (تفـاعل VI) الذى يدخـل في تكويـن الأحماض النووية DNA ، RNA .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

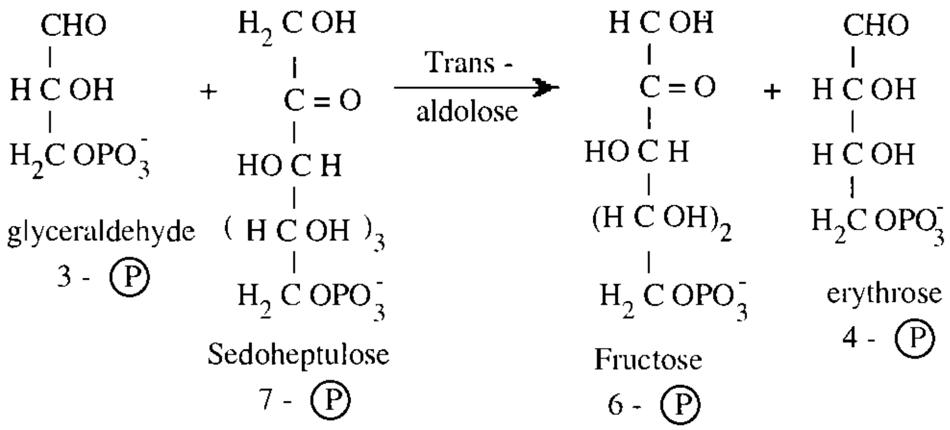


وكل من المركبين الناتجين الزيليلوز والريبوز يدخلان في تفاعل انشقاقي Cleavage reaction لتكوين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات & Sedoheptulose 7-P, بمساعدة انزيم transketolase (EC 2.2.1.1) كما في تفاعل VII بالدورة .

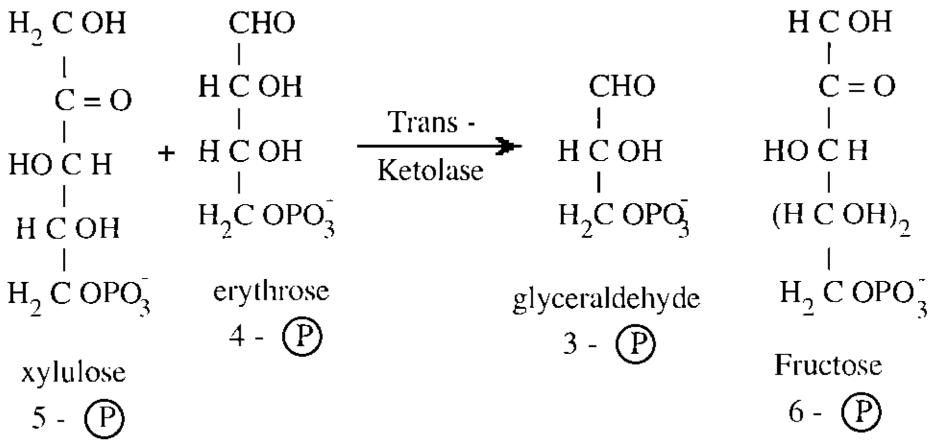


مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والمركبان الناتجان من التفاعل السابق (الثلاثي والسباعي الكربون) يتحدان ثم ينشقا لتكوين الفركتوز ٦- فوسفات & erythrose 4-phosphate في وجود انزيم Transaldolase (EC 2.2.1.2) كما في تفاعل (IX) بالدورة .



والتفاعل الانشقاقي الثالث (XIII) ينتج عن اتحاد المركبين erythrose 4-P ، xylulose S-P وانشقاقهما إلى المركبين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات وفركتوز ٦ - فوسفات .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ومركب الجليسرلدهيد ٣- فوسفات يدخل في دورة EMP وينتهي بالبيروفات أما مركب الفركتوز ٦- فوسفات تتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات بعملية isomerisation الذى يدخل في دورة EMP أو يدخل مره أخرى في دورة HMP .

أى آنه بهذه التفاعلات الانشقاقية والمركبات الناتجة منها يمكن ربط دورة HMP بدورة EMP كما في [illegible] ٥-٢) .

والمعادلة العامة للدورة الكاملة يمكن إجمالها كالتالى :

$$\text{gluscose} + 12\ NADP^+ + 7\ H_2O + ATP \rightleftharpoons$$

$$6\ CO_2 + 12\ NADPH.H^+ + H_3\ PO_3 + ADP$$

والميكروبات المؤكسدة يمكنها تكوين البيروفات من الجلسرلدهيد ٣- فوسفات مستخدماً نفس انزيمات EMP . فإذا حسبنا المعادلة العامة للدورة غير الكاملة (بفرض توقفها عن الجليسرلدهيد ٣ فوسفات) فإنها تكون كالتالى :

$$2\ \text{gluscose} + 6\ NADP^+ + ATP \rightleftharpoons 2\ \text{Fructose 6-P}$$

$$+\ \text{glyceraldehyde 3-P}$$

$$+\ 3\ CO_2$$

$$+\ 6\ NADPH.H^+$$

$$+\ ADP$$

$$+\ H_3\ PO_3$$

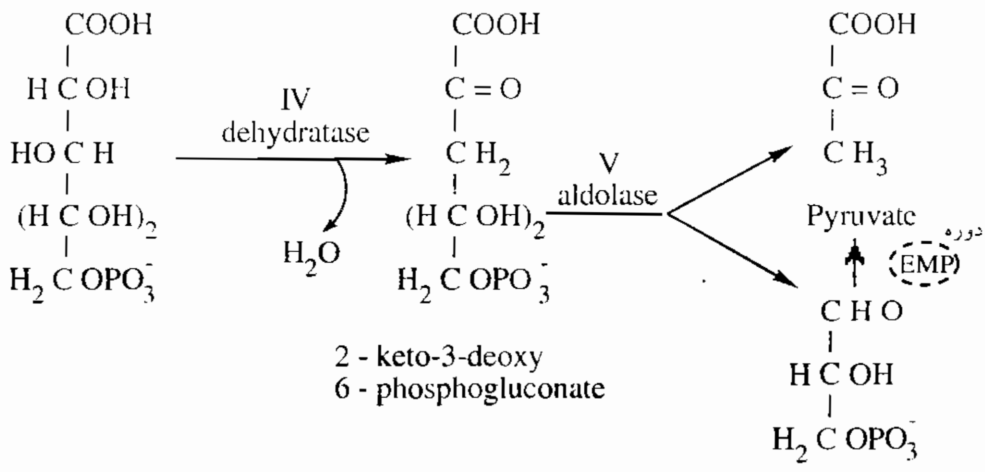
ودورة HMP هامة جداً للميكروبات الاتوتروفيه (الضوئية والكيمياوية) لأن كل الكربون الداخل في بناء الخلايا مشتق من تثبيت ك أ٢ مع الريبولوز ١ر٥ داى فوسفات المشتق من الريبولوز ٥ - فوسفات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣٠١٠٥ دورة Entner-Douderoff (ED) Pathway

اكتشفت بواسطة العالمين Entner & Douderoff, 1952 أثناء دراسة التحولات الايضية في *Pseudomonas saccharophila* ثم اكتشفت بعد ذلك في العديد من الميكروبات وتعرف أيضاً باسم KDPG-pathway نسبة للمركب الوسطى فيها 2Keto-3deoxy phosphogluconate .

والتفاعل الأول والثانى والثالث يشبه أقرانهم فى دورة HMP بالرغم من أنه لم يثبت بعد إذا كانت الانزيمات لها نفس الخواص الحركية Kinetic . والفرق الواضح المميز لهذه الدورة هو نزع جزئ ماء dehydration من المركب ٦- فوسفورجلوكونات (تفاعل IV) لتكون المركب ٢-كيتو-٣- دى اوكسى -٦- فوسفو جلوكونات (KDPG) فى وجود انزيم Phosphogluconate dehydratase (EC 4.2.1.12) .

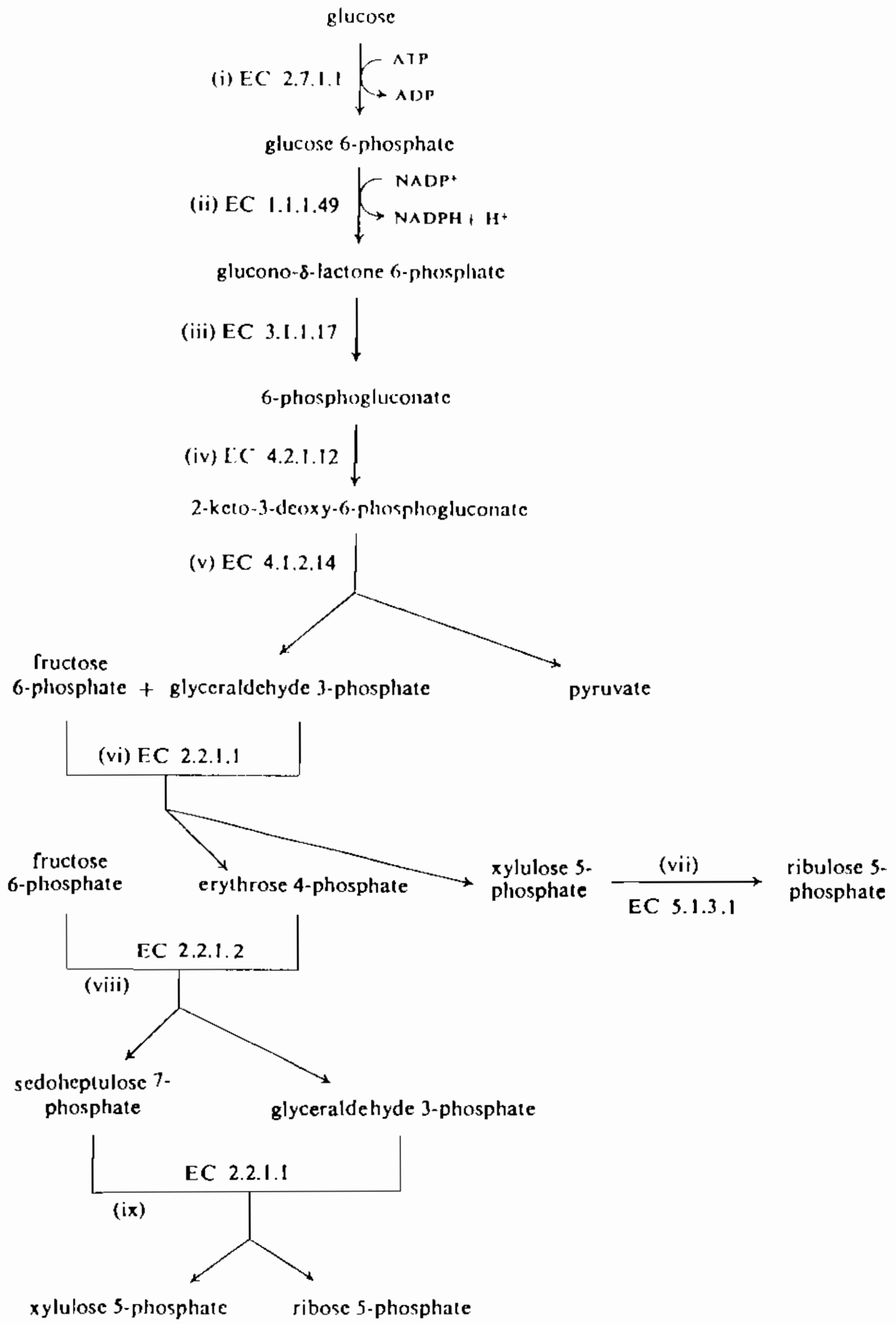


٦ - فوسفو جلوكونات

جليسرلدهيد ٣- فوسفات

ثم يحدث تفاعل انشقاقى (V) فى وجود انزيم KDPG-aldolase (EC 4.1.2.14) ينتج عنه البيروفات ، الجليسرلدهيد ٣-فوسفات وهو يشبه تفاعل فركتوز ١، ٦ داى فوسفات الدوليز فى دورة EMP كما أن انزيم KDPG - aldolase يلامس عملية enolization للبيروفات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٥-٣) : دورة Entner & Doudoroff لتحولات الجلوكوز

نقلاً عنهما (١٩٥٢)

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويمكن حساب ناتج الطاقة لهذه الدورة كالتالى :

- استهلاك امول ATP إلى ADP فى الخطوة الأولى .

(جلوكوز ⟵ جلوكوز ٦ - فوسفات)

- انتاج امول $NADPH_2$ فى الخطوة الثانية .

(جلوكوز ٦ فوسفات ⟵ جلوكوز لاكتون ٦ - فوسفات)

- انتاج ٢ مول ATP ، امول $NADH_2$ فى خطوات تحول الجليسرلدهيد ٣- فوسفات إلى بيروفات كما فى دورة EMP .

فيكون الناتج النهائى للدورة هو :

امول جلوكوز ⟵ ٢ مول بيروفات + امول $NADPH_2$

+ امول $NADH_2$ + ١ مول ATP

والصفة الأهم لهذه الدورة هو تمكينها الميكروب من إنتاج السكر الخماسى اللازم لتخليق الأحماض النووية والامينية الحلقية كما فى التفاعلات من VI حتى IX بالدورة .

- حيث يلامس Transketolase (EC 2.2.1.1) تفاعل VI لتكوين erythrose - 4-P ، Xylulose - 5-P من الفركتوز ٦- فوسفات مع الجليسرلدهيد ٣- فوسفات .
- ويلامس انزيم Ribulose phosphate 3-epimerase (EC 5.1.3.1) تحول Xylulose 5-P إلى Ribulose 5-P (تفاعل VII) .
- أما انزيم Transaldolase (EC 2.2.1.3) فيشارك فى تكوين الجليسرلدهيد ٣ - فوسفات ، Sedoheptulose 7-P من erythrose 4-P ، الفركتوز ٦ - فوسفات (تفاعل VIII) .
- وأخيراً يتكون الريبوز ٥ - فوسفات ، Xylulose 5-P من تفاعل Transkctolase الثانى (تفاعل IX) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويلاحظ أن الدورات الـثلاث الرئيسيـة السابقة كل منـها يخدم بعض أغـراض التحول الايضى . فدورة EMP تمد الخلية بالكمية الاكبر من ATP ولكن لا تنتج السكريات الهامة (الـريبـوز ٥ - فـوسفـات ، Erythrose 4-P) اللازمـة للاتحاد مع الـقواعد الـبيورينية والبيريميـدنية لتكوين الأحماض الـنووية . وعموماً فإن الميـكروبات التى تنمو علـى البيئات المعقدة فقـــط مثل البيئـات المحتويه على مستخـلص اللحم ومستخـلص الخـميرة يمكـنهـا استخـدام هـذه الدورة (EMP) .

أما دورة HMP - فعلى الـعكس - حيث تنتج الـسكريات الهامة ولكـن لا تنتج إلا نصف كمية ATP . وأيضاً لا تنتج الـبيروفات مباشرة ولذا فالكائن لابـد أن يمتلك - على الأقل - جزء من EMP ابتداء من الجليسرلدهيد ٣- فوسفات حتى البيروفات .

ولذا لا غرابة فى احتمال وجود الدورتين فى الكائنات التى تقوم بدوره HMP . ونسبة استخدام الدورتين EMP ، HMP تعتمد على الظروف البيئية المحيطة .

أما دورة ED فعلى الجـانب الآخر من HMP حيث تكوين البيروفـات المباشر يجعلها غير معـتمدة على الدورتين الاخـرتين . وإنتاج ATP وكل السكريات الخمـاسية الضرورية يجعلها أشبه بدورة HMP وخاصة لتماثل عدد من الانزيمات فيهما . ويمكن لبعض المجاميع البكتيرية وبـالذات السالبة لجرام ذات % G+C فى DNA بـين ٥٢-٧٠ ٪ استخدام هذه الدورة فقط .

ويشير الجدول التالى إلى نسب توزيع هذه الدورات الثلاث فى بعض الميكروبات . أما أسباب اختيار الدورات المفردة فلم تعرف بعد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Microorganisms	EMP	HMP	ED
Saccharomyces cerevisiae	88	12	--
Candida utilis	66 - 81	19 -34	--
Streptomyces griseus	97	3	
Penicillium chrysogenum	77	23	
Escherichia coli	72	28	
Sarcina lutea	70	30	
Bacillus subtilis	74	26	
Pseudomonas aeroginosa	--	29	71
Acelomonas oxydans	--	100	--
Zymomanas mobilis	--	--	100

جدول (٥-١) : تقدير نسب الدورات الرئيسية لهدم الجلوكوز فى بعض الميكروبات

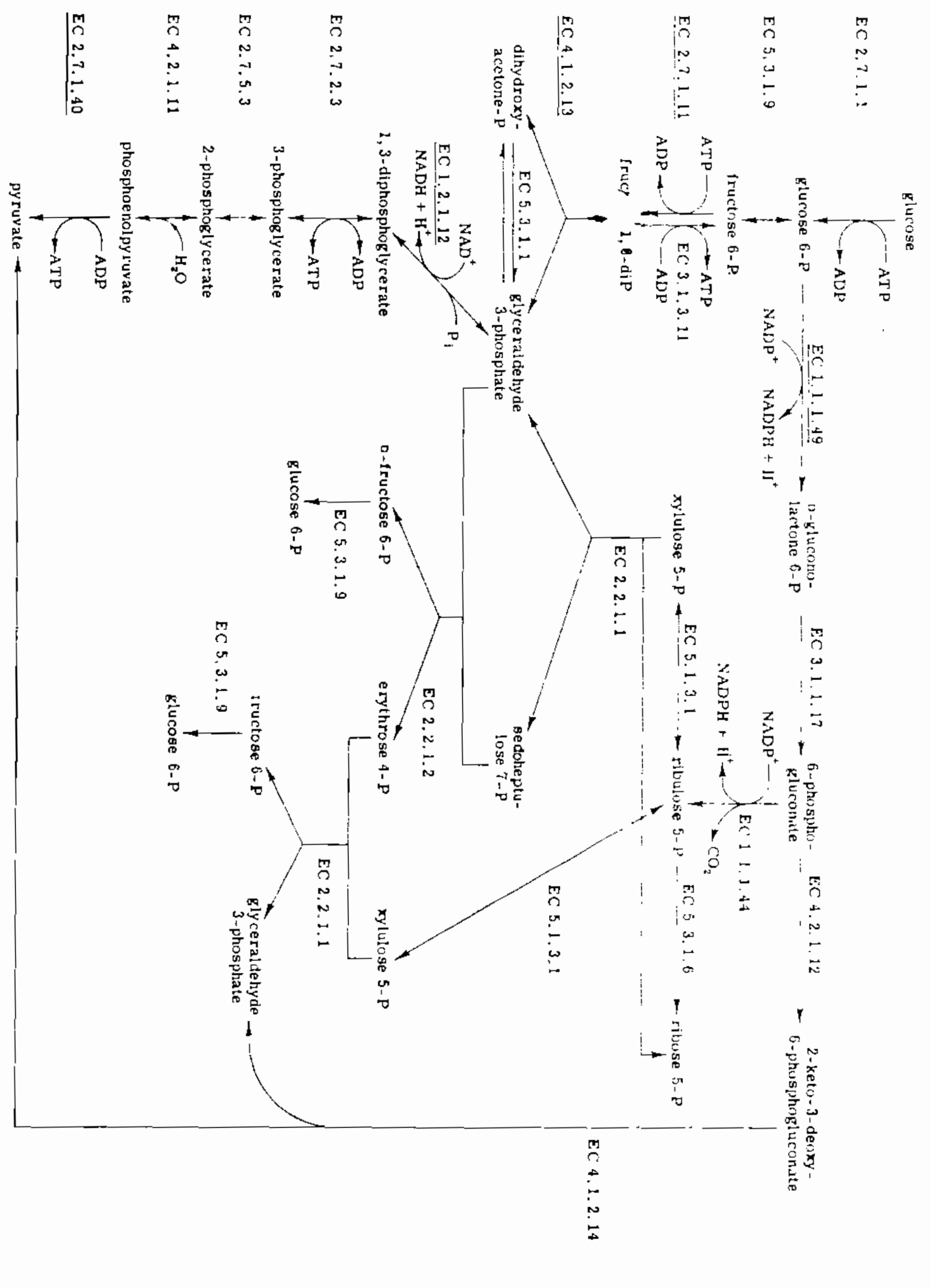
نقلاً عن Gheldelin, 1961

ويعتقد أن الأكسجين يلعب دوراً فى اختيار الدورة المستخدمة حيث أن أغلب البكتريا اللاهوائية تحتوى EMP مثل Clostridia ، Enterobacteria ، Spirochetes .

أما البكتريا الاختيارية تحتوى على خليط من EMP ، HMP مثل *E. coli* أما الهوائية الحتمية فغالباً يوجد بها دورة ED مثل *Rhizobium* ، *Pseudomonas* إلا أن قدرة بعض الميكروبات اللاهوائية مثل *Zymomonas* على استخدام ED وكذا *Lactobacillus* على استخدام EMP يجعل تأثير الاكسجين هذا محل شك .

ويعكس تعقد عملية التحول الايضى للجلوكوز من خلال الدورات الثلاث EMP ، HMP ، ED مدى تداخل الدورات الثلاث معاً كما بالرسم التالى :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٥-٤) : التداخل بين الدورات الرئيسية الثلاث ED ، HMP ، EMP

نقلا عن Doelle سنة ١٩٧٥

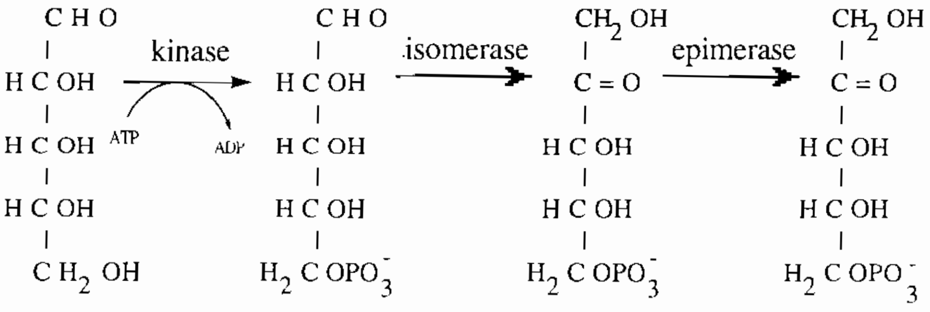
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥٠١٠٤ دورة Phosphoketolase (PK)

وهى توجد فى عدد قليل من البكتريا وبالذات بكتريا حمض اللاكتيك hetero-Fermentative lactobacilli وينظر إليها كفرع من دورة Pentose Shunt (HMP) لأن جزء من كل منهما متطابقان وهى تقسم حسب السكر الداخل فيها إلى :

a) Pentose phosphoketolase (PPK) pathway

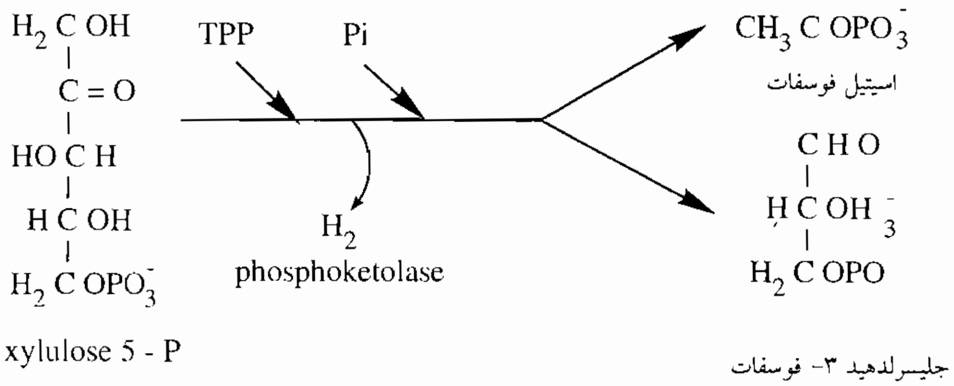
حيث تعمل السكريات الخماسية (الريبوز - ٥ فوسفات ، الزيليلوز ٥ - فوسفات) المتكونة فى دورة HMP كمصدر للكربون . والبكتريا التى تستعمل هذه الدورة تفتقد تكوين انزيم Transketolase (EC 2.2.1.1) فإذا زودت بسكر الريبوز فإن انزيم ribokinase (EC 2.7.1.15) يحول مجموعة فوسفات من ATP إلى الريبوز مكونة الريبوز ٥ - فوسفات . والذى يحدث له عملية isomerization إلى الريبولوز ٥ - فوسفات بواسطة ribose - phosph. isomerase (EC 5.3.1.6) ثم يقوم انزيم Ribulose phosph. 3-epimerase (EC 5.1.3.1) بتحويل السكر الأخير إلى الزيليلوز ٥ - فوسفات .



ريبوز — ريبوز ٥- فوسفات — ريبولوز ٥- فوسفات — زيليلوز ٥- فوسفات

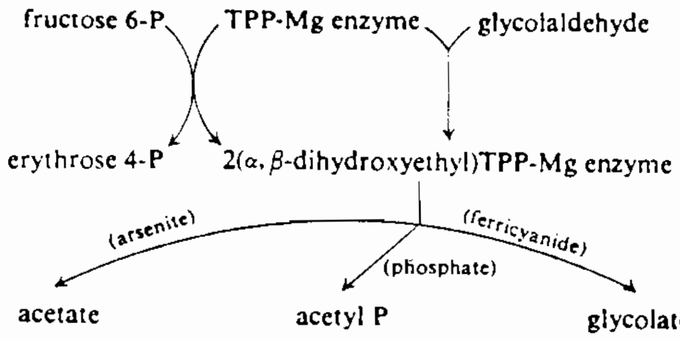
وهذا المركب (زيليلوز ٥ - فوسفات) يلعب الدور الوسطى (Key) فى هذه الدورة - حيث يتحول إليه السكريات الخماسية الأخرى مثل الارابينوز ، الزيلوز - لأن الانزيم الرئيسى فى هذه الدورة phosphoketolase (EC 4.1.2.9) يتفاعل فقط مع هذا المركب ويشطره إلى اسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات فى وجود ثيامين بيروفوسفات وكذا Pi المعدنى كمايلى :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



- وقد وجد أن التفاعل الملاحظ في *lactobacillus plantarum* مطابق للموجود في *Leuconostoc mesenteroides* حيث يغيب في هذه الميكروبات الدورات المعتادة EMP ، HMP ، ED ويتكون انزيم Phosphoketolase بواسطة الميكروب الأول إذا نمى على الريلوز (inducable enzyme) أما في الميكروب الثاني فهو (Constitutive enzyme) والتفاعل لا يخرج عن كونه عملية فسفرة عند مستوى مادة التفاعل Substrate phosphorylation حيث أحد ذرات الكربون لمادة التفاعل تصبح «أكثر أكسدة» بينما بقية ذرات الكربون تصبح «أكثر اختزالاً» وتحول الطاقة يحدث عند ذرة الكربون الأكثر أكسدة .

هناك تفاعل آخر يدخل Phosphoketolase في ملامسته كما في الرسم التالي :



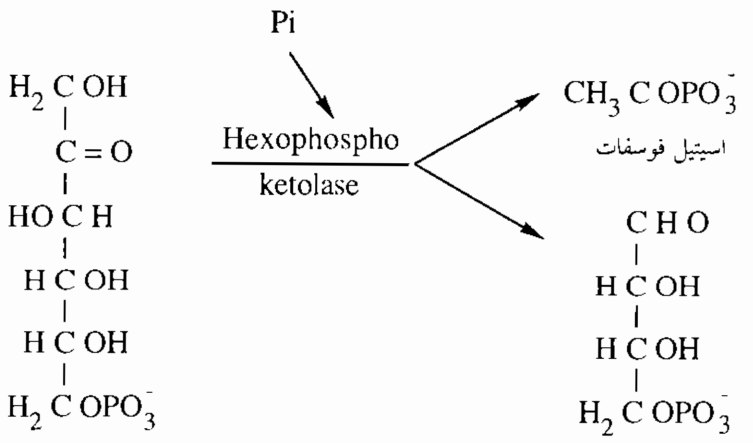
شكل (٥-٥) : دورة Phosphokitolase (PK)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والخطوة الأولى هــو تكوين المركب الوسطــى المسمى 2 - (∝, β dihydroxyethyl) TPP-Mg^{++} - enzyme ويتبــع ذلك تفاعــل نشط ينــتج عنه الاســيتات مع الارســينات arsenite أو اسيتيل الفوسفات فى وجود Pi المعدنى أو الجليكولات فى وجود الفروسيانيد .

b) Hexose Phosphoketolase Pathway

يفتقــد ميكروب *Lactobacillus bifidus* القــدرة على تــكوين انــزيم الفركــتوز داى فوسفات الدوليز وكذا انزيم الجلوكوز ٦- فوسفات ديهيدروجينيز . ولذا تخمر الجلوكوز عبر دورة تختلف عن الموجودة فى hemo-and Hetero-Fermentative Lactic acid bacteria وذلك يعنى عــدم حدوث أى من الدورات EMP ، HMP ، ED ، PPK . والتفاعل الرئيسى (Key) لتخمر الجلوكوز بواسطة هذه المجموعة من البكتريا يبدو فى انقسام الفركتوز ٦- فــوســفات إلــى اســيــتيــل فــوســفات ، اريــثــروز - ٤ فوســفــات بمــلامســة انــزيم Hexophosphoketolase .



فركتوز ٦- فوسفات

اريثروز ٤ - فوسفات

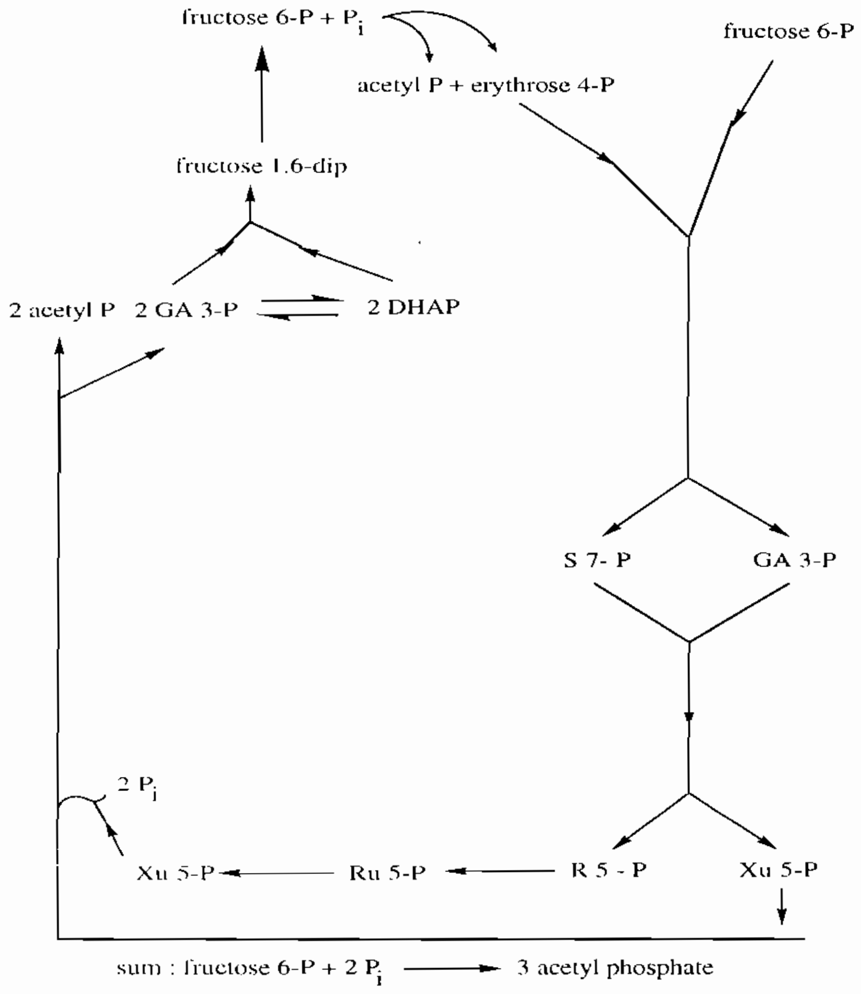
وتتكون السكريات الخماسية بتفاعل عكس دورة HMP بتأثير :

(EC 2.2.1.2) Transaldolase , (EC 2.2.1.1) Transketolase

والناتج هو الزيليلوز ٥ - فوسفات الــذى ينقسم إلى اسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات كــما سبق ذكره . ويمكــن إجمالى تفاعلات هــذه الدورة كما فى الرســم التالى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وحيث أن التـفاعلات حلقيـة (بمعنى أن المركبات الـناتجة تدخل مرة أخـرى فى الدورة) لذا يطلق عليها PK-Shunt .



شكل (٥-٦) : Phosphoketolase Shunt in *Acetobacter xylinum*

والمعلـومات المتاحة حالـياً لاستخدام الدورات المخـتلفة لا تقـطع بتحديد أحـدهم تحت الظروف الهوائية أو الـلاهوائية إلا أن المؤكد أن أحدهم تسود تحت ظروف بيئـية معينة ولذا لاستخدام الجلوكوز بأكبـر كفاءة ممكنة يجب توفير هذه الظروف مع دراسة ميـكانيكية انتقال الجلوكوز من البيئة المحيطة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥٠١٠٥ ميكانيكية انتقال الجلوكوز Glucose Transport mechanism

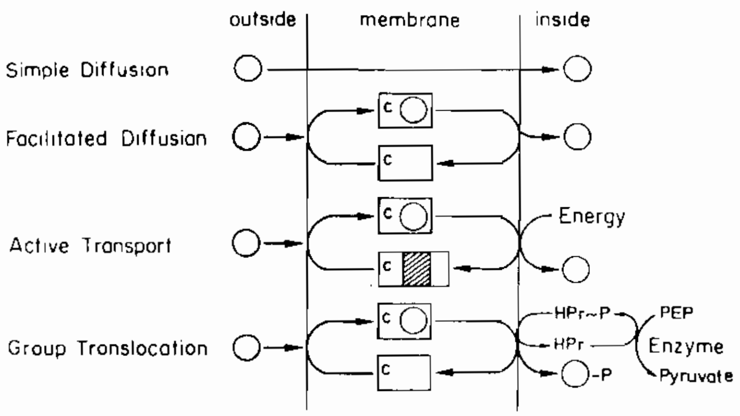
يجب أن يمر الجلوكوز المضاف للبيئة أولاً خلال غشاء الخلية ليحدث له التحولات الايضية المذكورة سابقاً . والغشاء الخلوى نفسه ذو نفاذية اختيارية للمركبات العضوية والغير عضوية . وتوجد ٤ عمليات أساسية - معروفة للآن - مسئولة عن انتقال الجزيئات عبر الغشاء الخلوى .

(١) الانتشار البسيط Simple diffusion : يمر المحلول عبر غشاء الخلية بدون أى مساعدة من الغشاء أو أحد مكوناته . والطاقة اللازمة لهذا الانتشار تشتق من Catalysis الاهتزاز الحرارى للجزئ thermal agitation وتعتمد العملية أساساً على وجود تدرج كهروكيمياوى عبر الغشاء . وعدد المحاليل التى تستخدم فى هذه الطريقة قليل جداً مثل الماء ، الجليسرول ، اليوريا .

(٢) الانتشار الميسر Facilitated diffusion وتتشابه هذه الطريقة فى عدد من الخواص مع سابقتها فهى انتقال سالب Passive transport والطاقة اللازمة تأتى من الاهتزاز الحرارى للجزئيات وتحتاج أيضاً التدرج الكهروكيمياوى عبر الغشاء والاختلاف يرجع إلى تفاعل أحد مكونات الغشاء الخلوى (C) كعامل لمى Catalyst كما يظهر فى الرسم التالى (شكل ٥ - ٨) والذى يؤدى إلى انتقال أسرع عبر الغشاء . وهذا المكون (C) متخصص حتى مستوى Stereo-and optical isomers للمحلول . ومعدل الانتقال يتبع معادلة Mitchell - Menten للطاقة الحركية .

(٣) الانتقال النشط active transport وهو يشبه الانتشار الميسر فى وجوب تواجد حامل أو عامل لمى Carrier ولكن مع الاحتياج لطاقة إضافية ويستطيع الجزئيات فى هذه العملية الحركة عبر الغشاء ضد تدرج التركيز . ولقد درس هذا الانتقال النشط بعناية كبيرة وبالذات مع انزيمات Permeases المتصلة بانزيم galoctosidase . وقد عزل هذا الانزيم ودرست خواصه ووجد أنه يرتبط مع الريبوسوم فى *E. coli* . وحيث أن ATP أو المركبات الغنية بالطاقة يمكنها أن تتفاعل كعامل لمى لانزيم B-galacto sidase فإنه يعتقد أن Permease يمكن أن تُكَوِّن galactoside ATPase مرتبط بالغشاء وترجع أهمية هذا النوع من الانتقال إلى ارتباطه بنقل الكاتيونات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٥-٧) : ميكانيكيات انتقال الجلوكوز الأربع خلال الغشاء

O مادة التفاعل المنقولة　　　C (مظلل) حامل منشط بالطاقة

permease Carrier C　　　HPr بروتين ثابت للحرارة

(٤) group translocation وهو الميكانكية المفضلة لنقل السكريات عبر الغشاء البكتيرى . وأساس هذه العملية هو تفاعل كيماوى عبر الغشاء يؤدى لتكوين مشتقات مثل (الجلوكوز ← جلوكوز ٦ - فوسفات) وقد وضع هذا التصور بواسطة Mitchell, 1959 ولكنه لم يشرح الحركة داخل الغشاء . وكانت أول دراسة مكثفة على ميكانيكية انتقال السكر في ميكروب *Staphylococcus aureus* بواسطة العالم Hengstenberg سنة ١٩٦٨ حيث اكتشف ضرورة وجود انزيم Phosphoenolpyruvate (PEP) dependent phosphotransferase لفسفرة الجلوكوز وبالتالى دخول جلوكوز ٦ - فوسفات إلى الخلية . ويتكون هذا النظام من ٤ مكونات بروتينية هى :

أ - بروتين منخفض الوزن الجزئ يحتوى على الهستيدين وثابت للحرارة (HPr) .

ب - انزيم بروتينى ذائب (E_I) .

جـ - انزيم بروتينى مرتبط بالغشاء (E_{II}) وهو متخصص للسكر .

د - مكون بروتينى إضافى يسمى $Factor_{III}$ متخصص لفسفرة السكر .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وافترضت الميكانيكية كالتالى :

$$PEP + HPr \xrightleftharpoons{E_I} HPr - \text{Ⓟ} + Pyrurate$$

$$Sugar + HPr - \text{Ⓟ} \xrightleftharpoons{E_{II} + F_{III}} Suger - \text{Ⓟ} + HPr$$

ويوجد انزيم PEP-transferase ليس فقط فـي البكتريا الموجبة جـرام وإنما أيضاً فى السالبة لجرام مثل *E. coli* والفرق بينهما أن الســالبة تبدو أنها لا تحتوى Factor III وان نظامها يحتوى HPr ، E_I ، E_{II} فقط .

وقد أجريت دراسة على طفرة من *Salmonella typhimurium* لا يحتوى على (E_I) فثبت عدم قدرتها على نقل أى كربوهيدرات مما يدل على أن انزيم E_I هو المسئول عن انتقال السكر عموماً .

ولكن هناك تساؤل لماذا بعـض البكتريا مثل *E. coli* تملك كلا الـنظامين Permease and PEP Phosphotransferase? والإجــــابة تمت بعمل حصـر لتوزيــــع وانتشار PEP - Transferase والذى أظهر أنه يوجـد أساساً فى البكتريا الاختيـارية اللاهوائية ولا يلعب أى دور فى انـتقال السكر فى البـكتريا الهوائية الحتـمية حيث أن الاختياريـة تستخدم كمية سكـر أكبر تحت الظروف اللاهوائـية لتحصل على الـطاقة اللازمة للتخليق الحيوى منها تحت الظروف الهوائية (تأثير باستـير) وهذا الانتقال الأسرع يتم بمساعدة PEP - Transfe-rase وعموماً فإن وصول المواد لداخل الخلية يتضمن عـمليات معقدة جداً ومازالت معلوماتنا محدودة بهذا الشأن.

٢٠٥ تحولات الفركتوز Fructose metabolism

يمثل الفركـتوز بواسطة بعــــض الأجناس مثل : *Acetobacter* ، *Aerobacter* ، *Alcaligenes* ووجد أيضاً فى *E. coli* ، *Zymomons mobilis* ، *Clostridium acet-icaum* ، *Cl. thermoscellum* ، وتعتمد دورة الـتحول على ما إذا كان الســكر السداسى

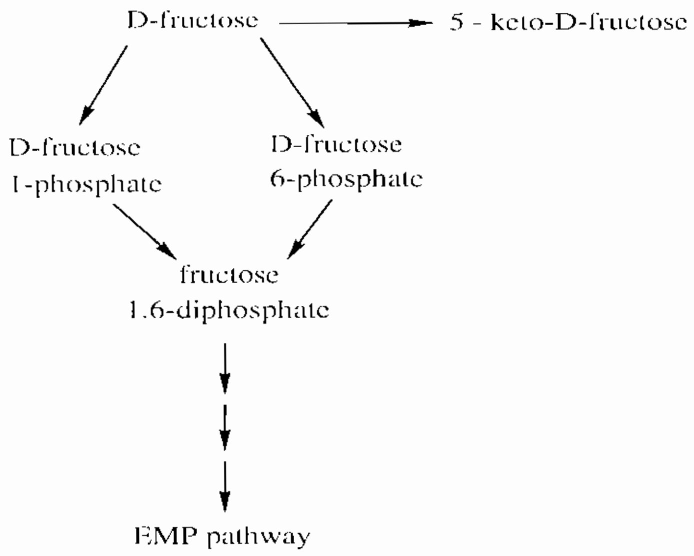
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

سيضاف للبيئة خارجياً وكيفية مروره خلال الغشاء الخلوى أو موجود داخلياً بالفعل كناتج وسطى لتحول الكربوهيدررات .

- والفركتوز المضاف خارجياً يعبر الغشاء بواسطة انزيم phosphoenolpyruvate: Fructose phosphotransferase (EC 2.7.1.3) والذى يدخل الخلية كفركتوز ١ - فوسفات ثم يحدث له فسفرة ثانيه بواسطة Fructose 1-P Kinase إلى فركتوز ١ر٦ داى فوسفات وهذا الانزيم nonallosteric وينشط بواسطة K^+ ، NH_4^+ .

- أما السكر الموجود داخلياً فسرعان ما يتحول إلى الفركتوز ٦- فوسفات بملامسة انزيم phosphofructokinase (EC 2.3.1.4) ثم تحدث له عملية فسفرة ثانية إلى فركتوز ١ر٦ داى فوسفات الذى يدخل دورة EMP .

- وهناك إمكانية (طريق) ثالث يتم بواسطة ميكروب *Acetobacter Cerinus* وهو ميكروب هوائى حتمى حيث يتأكسد الفركتوز إلى ٥ - كيتوفركتوز ويلامس هذا التفاعل بواسطة dicarbonyl hexose reductase المرتبط بالمرافق $NADPH_2$ (EC 1.1.1.124) وهو متخصص جداً لمادة التفاعل ويفضل اختزال ٥-كيتوفركتوز عند التوازن .



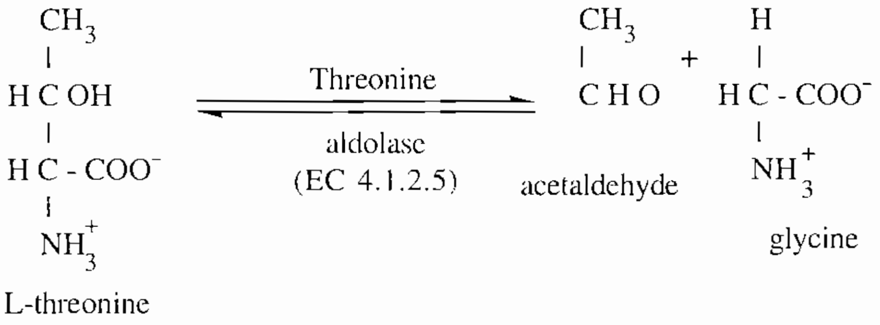
شكل (٥-٨) : الطرق المختلفة لتحولات الفركتوز الايضية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

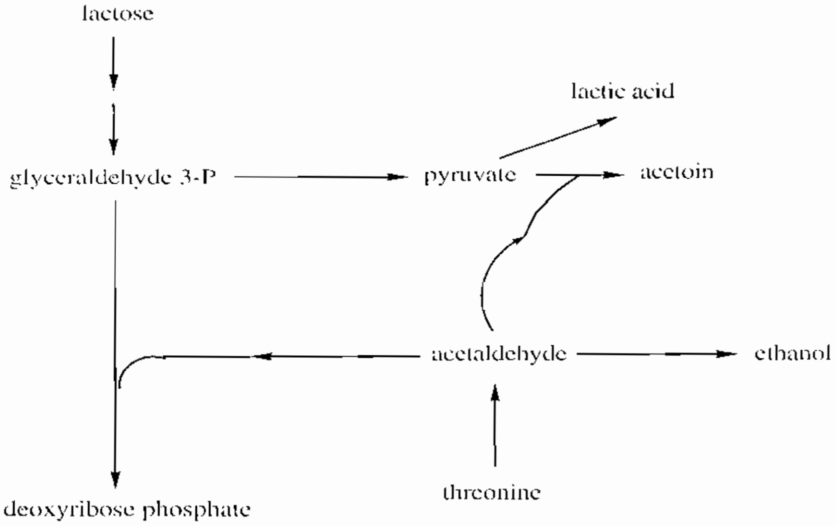
٣٠٥ تحولات اللاكتوز Lactose metabolism

يتحول اللاكـتوز بواسطة Enterobacteriacasc ، Streptococci إلى الجلاكـتوز ، الجلوكوز ويعتبر أحد الصفات التقسيمية الهامة لهم ثم يكمل الجلوكوز تحوله من خلال دورة EMP .

ويختلف استخدام اللاكتوز بواسطة Streptococci عنه مع Enterobocteria من حيث قدرتهـا على النـمو على اللاكـتوز والكازين المتميئ وتسـتخدم threoninc أيضاً لتـكوين الاستيالدهيد والجليسين .



ويمكن إجمالى ميكانيكات تحول اللاكتوز كما بالرسم التالى :

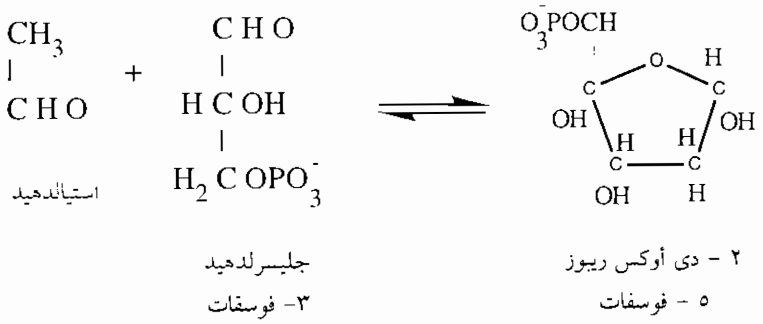


شكل (٥-٩) : تحولات اللاكتوز فى Streptococci

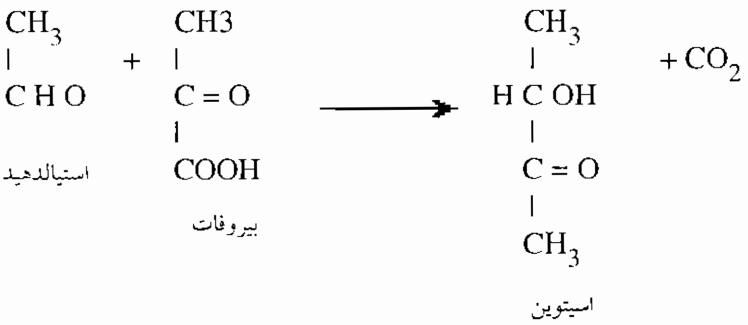
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والاستيالدهيد المتكون يمكن أن يتحول عبر ٣ طرق مختلفة تبعاً لتيسر وجود أحد ثلاث أنزيمات :

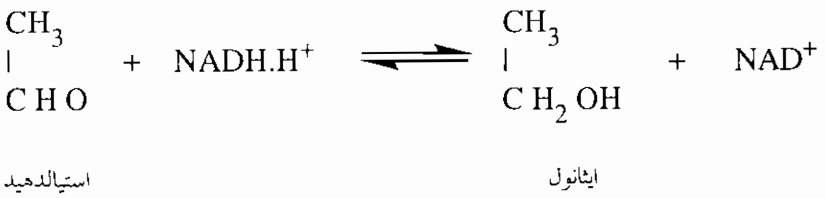
(١) انزيم deoxyribose aldolase (EC 4.1.2.4) :



(٢) انزيم acetoin Synthetase الذى يلامس انـشقاق البيروفـات مع الاستيالدهـيد إلى الاسيتوين ، ك أ٢ .



(٣) انـزيم alcohol dehydreganase (EC 1.1.1.1) الذى يحـول الاستيالدهـيد إلى ايثانول :

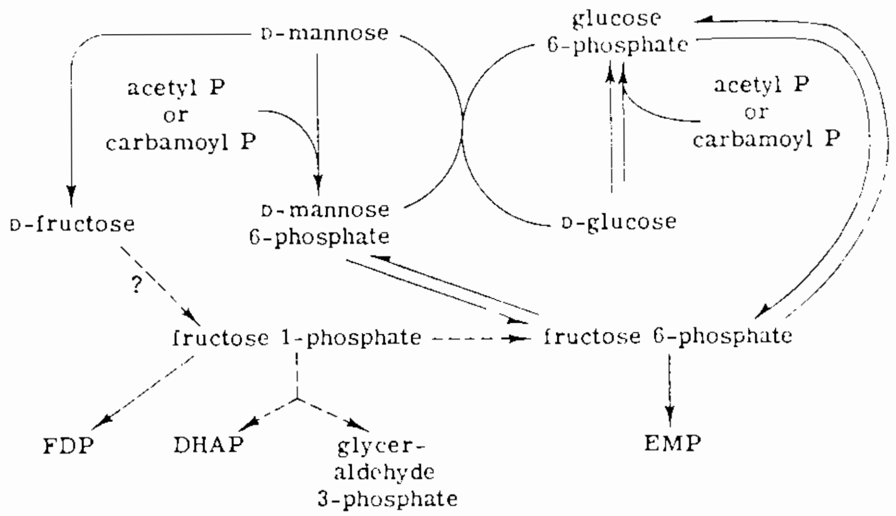


وبالطبع فإن هناك بعض Streptococci التى لاتتبع هذا التحول مثل *Streptococcus cremoris* الذى يحتاج الجليسين ولا يستطيع تكوين Threonine aldolase .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٤٠٥ تحول المانوز Mannose metabolism

يتبع هدم المانوز طريقتين مختلفتين : (١) الميكانيكية الحلقية . (٢) الميكانيكية الغير حلقية .



شكل (٥-١٠) : تحولات المانوز فى *Aerobacter aerogenes*

يستطيع ميكروب *Aerobacter aerogenes* فسفرة المانوز بواسطة الجلوكوز ٦- فوسفات وفى وجود انزيم phosphotransferase إلى المانوز ٦ - فوسفات ونفس الانزيم يمكنه نقل مجموعة الفوسفات من Carbamyl-P أو acetyl-P إلى المانوز أو الجلوكوز ولا يوجد D-mannokinase به .

وبواسطة انزيم mannophosphate isomerase (EC 5.3.1.8) يمكن تحويل المانوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات الذى اما يتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات من جديد بواسطة Glucose-6P isomerase (EC 5.3.1.9) أو يكمل تحوله عبر دورة EMP .

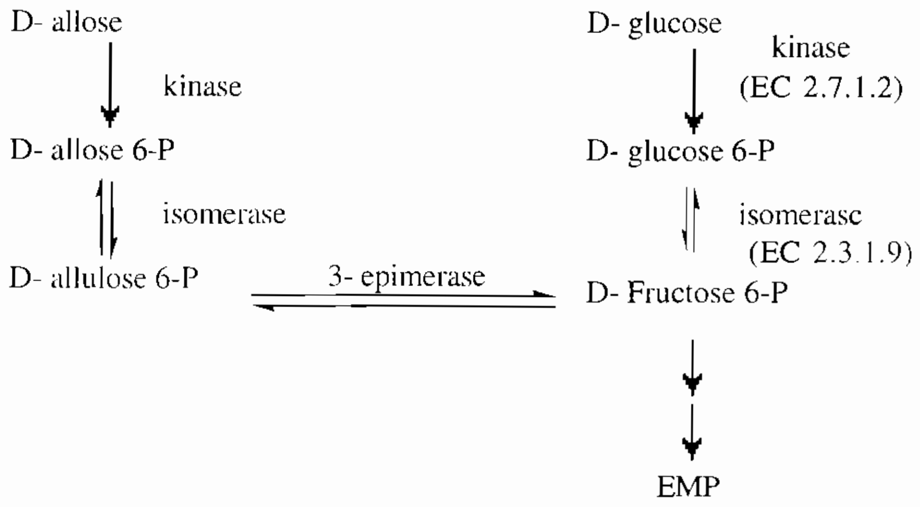
وعملية epimerization للمانوز إلى جلوكوز تلاحظ عبر دورة حلقية متضمنة انزيمات المانوز ٦- فوسفات ايسوميريز ، جلوكوز ٦ - فوسفات ايسوميريز ، فوسفور -١ ترانسفيريز (كما بالرسم).

أما الدورة الغير حلقية فهى تحول المانوز إلى الفركتوز بواسطة isomerase منشط بالكوبلت ثم تحدث فسفراً عند C_1 بواسطة ATP فى وجود kinase لتكوين الفركتوز ١- فوسفات والذى ينشق إلى دى هيدروكسى اسيتون فوسفات والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات أو يتحول إلى فركتوز ٦- فوسفات ويكمل دورته عبر EMP-pathway .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٥٠٥ تحولات الالوز Allose metabolism

يتبع هدم الجلوكوز والألوز طرق منفصلة متوازية حتى يتحدا ويتصلا بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦- فوسفات .



تحولات الالوز

ويقوم ميكروب *Aerobacter aerogenes* بتحويل الألوز تحت الظروف الهوائية واللاهوائية . حيث يفسفر الالوز أولاً بواسطة allosekinase إلى الألوز ٦-فوسفات الذى يتحول فى وجود allose 6-P Ketol - iso merase إلى allulose - 6 - P والذى يحدث له عملية cpimerization ويتحول إلى فركتوز ٦ - فوسفات والذى يكمل تحوله عبر دورة EMP .

وميكروب *A. aerogenes* يستطيع تحويل الجلوكوز ايضا لانه يمتلك انزيمى glucokinase (EC 7.7.1.2) ، glucose phosphatc isomerasc (EC 2.3.1.9) كما بالرسم السابق .

٦٠٥ تحولات الجلوكونات Gluconate metabolism

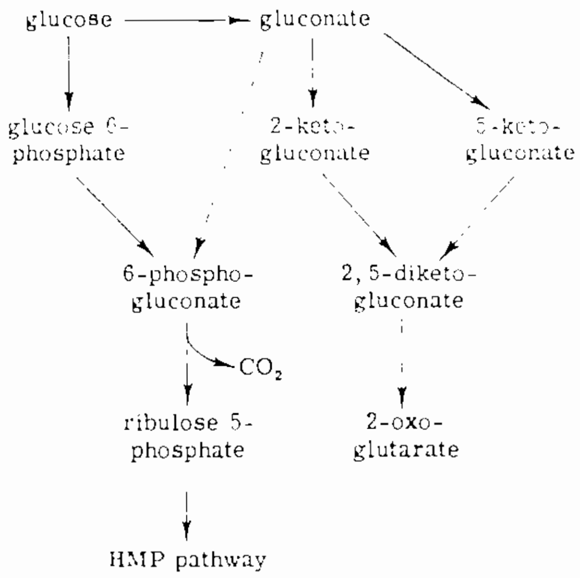
لا يستطيع عدد من الميكروبات فسفرة الجلوكوز حيث تفتقد نظام hcxokinasc أو نظام PEP-transferase وقد وجد فى مستخلص الخلايا لميكروب

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Acetomonas Suboxydans أنه يمتلك نوعين من الجلـوكوز ديهيدروجينير **الأول** مرتبط بالداى كلوروانذوفينول (DPI) وهو مطابـق لانزيم الجلوكوز أو كسـيديز (EC 1.1.3.4) **والثانى** مرتبط بـالمرافق $NADP^+$. ووجود انـزيم gluconokinase (EC 2.7.1.12) مـع انزيم 6- phosphogluconate DH (EC 1.1.1.44) يربط تحول الجلوكونات بدورة HMP فى بكتـريا حمض الخليك . كمـا يمتلك *Acetomonas Suboxydans* ميكانيكية ثانية لـتحويل الجلوكـونات فى وجوده 5-ketogluconate reduetase (EC 1.11. gr) وينتج ٥ - كـيتوجلوكونات ودرجـة الحموضة pH الأمثل هذا الـتفاعل 7.5 بينما الـقلوية الزائدة pH 9.5 يشجع التفاعل العكسى .

أما *Acetobacter melangogenum* برغم أنه لا يمتلك انزيم glucono kinase ولا يسـتطيع تـكوين ٦- فـوسفو جلوكـونات فإنه يـؤكسد ٢ - كيـتوجلوكـونات إلى ٢ر٥ داى كيتوجلوكونات بواسطةKetogluconate dehydregenase (EC 1.1.99.4) وهذا المركب غير ثابت وبالذات عند pH أعلى من 4.5 ويتأكسد سريعاً عبر سلسلة من المركبات الوسطية الغير معروفة إلى ٢ - أوكسوجلوتارات .

والتصور العام لتحول الجلوكونات بواسطة بكتريا حمض الخليك يشاهد كما بالرسم .



شكل (٥-١١) : تحولات الجلوكوز والجلوكونات فى بكتريا حمض الخليك

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أما فى بكتريا حمض اللاكتيك فإن تخمر الجلوكونات تشبه تخمر الجلوكوز .

glucose →
gluconate → Lactate + ethaol + acetate + CO_2
2- keto gluconate →

وقد لوحظ أن خلايا *Streptococcus faecalis* النامية على الجلوكونات يمكنها تخمير الثلاث مركبات (الجلوكوز ، جلوكونات ، ٢ - كيتوجلوكونات) ولكن الخلايا النامية على الجلوكوز لا تستطيع مهاجمة الجلوكونات ولهذا افترض وجود دورة multiple لتخمر الجلوكونات فبعد فسفرة الجلوكونات إلى ٦ - فوسفو جلوكونات يوجد طريقين متكافئين للهدم .

(١) أكسدة ٦ - فوسفوجلوكونات عبر HMP ، EMP .

3 6-Phosphogluconate → 3 pentosc 5-P + 3 CO_2 + $6H^+$ (HMP)

↓

2 Fructose 6 - P + glyceraldelyde 3 - P (HMP)

↓

5 Lactate (EMP)

(٢) أكسدة ٦ - فوسفو جلوكونات عبر ED ، EMP .

3 6-phosphogluconate → 3 pyruvate + 3 glyceralyehpde 3-P

3 pyruvate ↓ 3 lactate (EMP)

3 glyceralyehpde 3-P ↓ (ED) 3 lactate (EMP)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والمحصلة النهائية لكلا التفاعلين عند جمعها :

$$6 \quad \text{6-phosphogluconate} \longrightarrow 11 \text{ lactate} + 3 CO_2$$

$$\therefore \quad 1 \text{ mole 6-PG} \longrightarrow 1.83 \text{ lactate} + 0.5CO_2$$

وهذه العملية مقصورة على *St. faecalis* والذى يعتبر ميكروب Homo fermintative أما ميكروبى *Enterobacter Cloacae* ، *Pseudomonas fluorescens* فتحدث فسفرة أولاً للمركب ٢ - كيتو جلوكونات يتبعها اختزال للمركب ٦ - فوسفو جلوكونات الذى يكمل تحولاته كما سبق أو بطريقة Heterofermintative .

وعموماً فإن التحول من استخدام الجلوكوز إلى الجلوكونات يحدث بسبب نقص glucokinase الذى يفسفر الجلوكوز أو phosphogluco isomerase الذى يحول جلوكوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦ - فوسفات وبكتريا حمض الخليك وبكتريا اللاكتيك تستخدم الجلوكونات فقط عبر دورة HMP بينما Psendomenads تفضل استخدام دورة ED .

٧٠٥ تحولات المانيتول Mannitol metabolism

تقسم بعض أنواع البكتريا إلى مجموعتين حسب قدرتها على هدم المانيتول هما :

(أ) مجموعة تبدأ عملية التحول بالفسفرة .

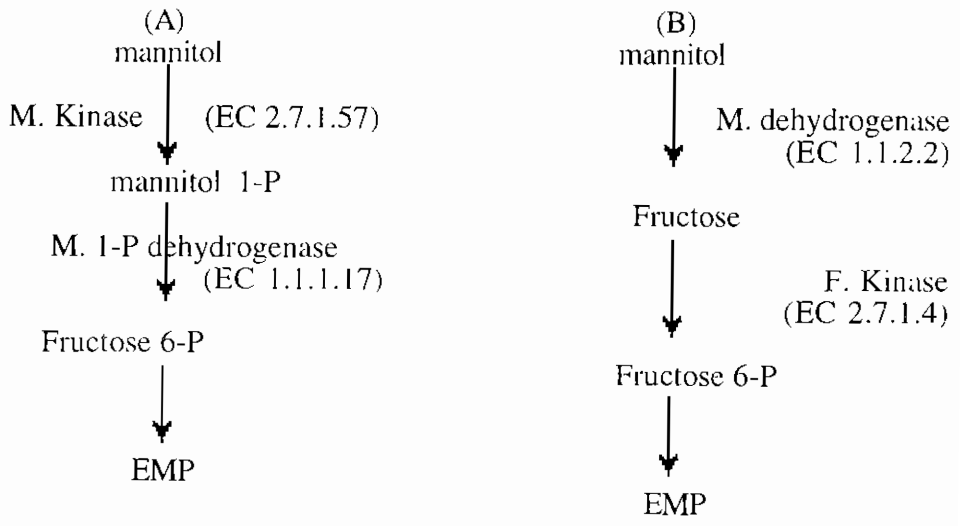
(ب) مجموعة تبدأ عملية التحول بالأكسدة dehydrogenation .

وفى كلا الحالتين يتصل هدم المانيتول بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦ - فوسفات.

وتم التقسيم لهاتين المجموعتين على أساس قدرة الميكروبات على تكوين mannitol 1-P dehydrogenase (EC 1.1.1.17) المرتبط بالمرافق NAD^+ .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

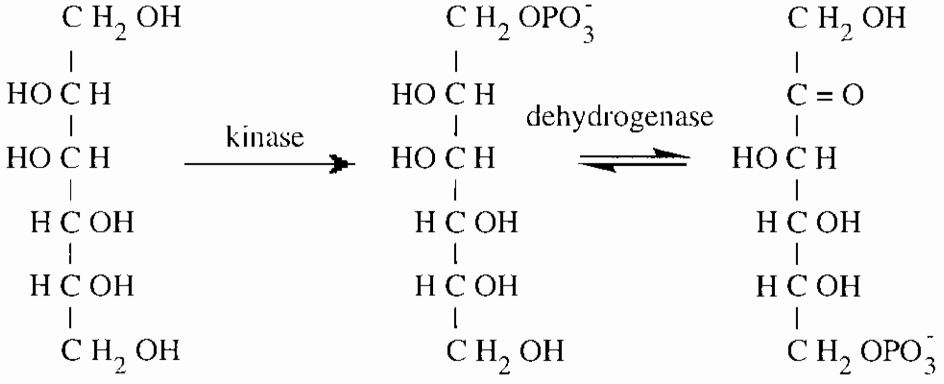
- كيفية حدوث التحول فى المجموعتين يبدو كالتالى :



وتتبع ميكروبات *Aerobocter aerogenes* ، *Bacillus subtilis* ، *Salmonella typhimurum* ، *Staph. aureus* ، *E. coli*، *Lactob. plantarum* المجموعة الأولى (A) بينما تتبع ميكروبات *Acetobacter suboxydans* ، *Azobtobacter agilis* ، *Pseudomonas fluorscens* . المجموعة الثانية (B) .

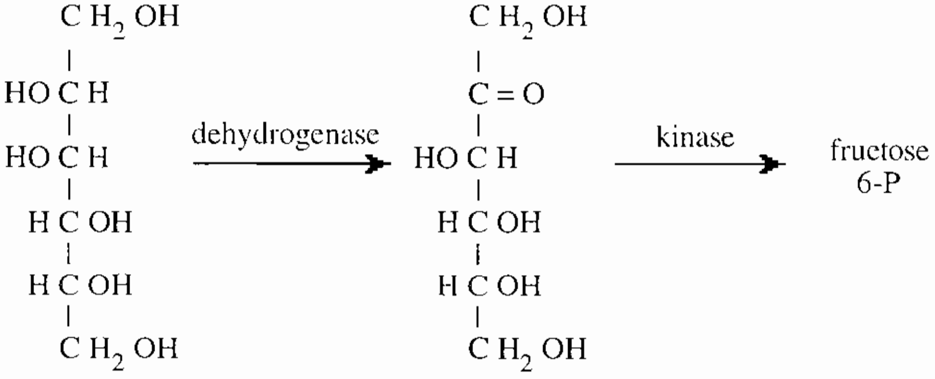
والخطوة الأولى فى تفاعلات المجموعة (A) هى فسفرة المانيتول بواسطة Mannitol Kinase الذى يعتمد على فوسفواينول بيروفات (PEP) ثم يتحول إلى الفركتوز ٦ - فوسفات (المركب المفتاحى لدورة EMP) وذلك فى وجود انزيم المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجنيز المرتبط بالمرافق الانزيمى NAD^+ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



مانيتول   مانيتول ١ - فوسفات   فركتوز ٦ - فوسفات

أما ميكروبات المجموعة (B) فتقوم بعملية أكسدة اولا في وجود انزيم مانيتول ديهيدروجينيز المرتبط بـ NAD^+ ثم عملية فسفرة في وجود kinase .



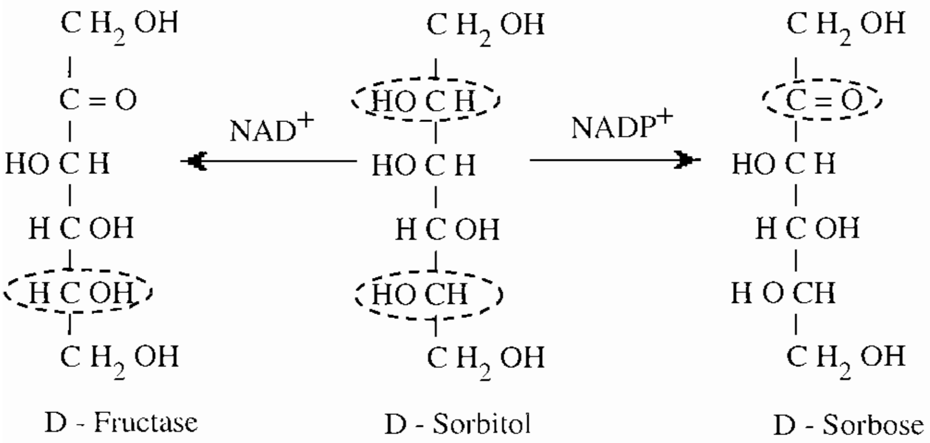
مانيتول   فركتوز

٨٠٥ تحولات السوربيتول Sorbitol metabolism

تتطابق تحولات السوربيتول تقريباً مع المانيتول والفرق الوحيد بينهما يلاحظ في عملية فسفرة السوربيتول بواسطة الكينيز إلى سوربيتول ٦- فوسفات والذى يتحول في وجود Sorbitol 6-P dehydrogenase (EC 1.1.1.140) المرتبط بـ NAD^+ إلى فركتوز ٦ - فوسفات .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

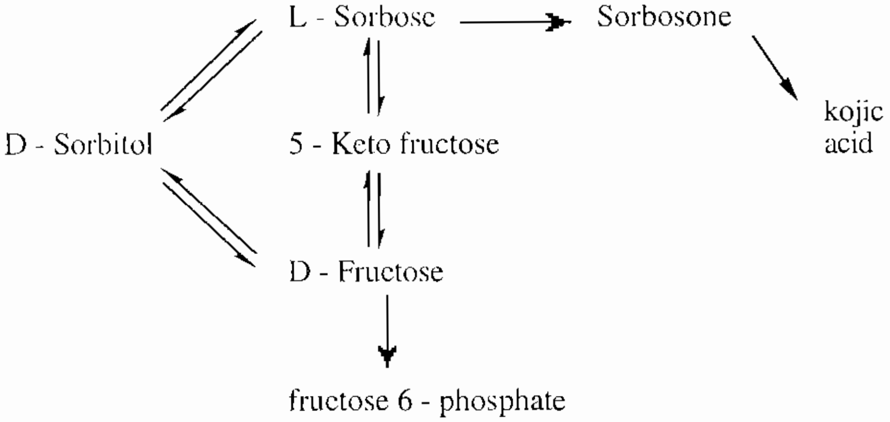
وقد وجد أن انزيم Mannitol 1-P DH (EC 1.1.1.17) يختلف كلية عن انزيم Sorbitol 6-P DH (EC 1.1.1.140) حيث يبدى الاخير تخصصاً كبيراً لكل من NAD^+ ، $HADH.H^+$ ، سوربيتول ٦ - فوسفات ، فركتوز ٦ - فوسفات كما شوهد فى ميكروب *Clostirdium pasterianum* والسوربيتول ذو تأثير مشجع لتكوين المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجنيز فى *B. subtilis* بالرغم من أن سوربيتول ٦ - فوسفات نفسه له تأثير مثبط على نفس الانزيم . أما بكتريا حمض الخليك acetogenic bacteria فتؤكسد السوربيتول إلى الفركتوز فى وجود NAD^+ وأيضاً تنتج السوربيوز فى وجود $NADP^+$.



وحيث أن سوربيتول ويهيدروچينيز المرتبط بـ $NADP^+$ غير ثابت فيظهر تكوين الفركتوز أكثر حدوثاً ثم يحدث فسفرة للفركتوز إلى فركتوز ٦ - فوسفات ويكمل تحوله عبر دورة HMP .

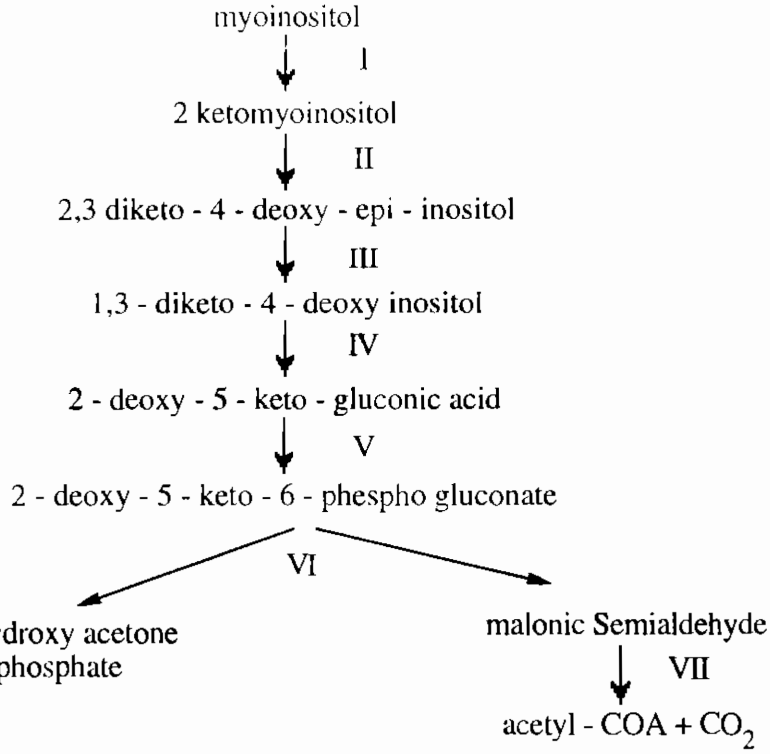
وتستطيع بعض بكتريا الخليك أكسدة سوربيوز Sorbose سريعاً منتجاً ٥ - كيتوفركتوز الذى يعتبر مركباً وسطى فى تكوين Kojic acid .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



٩٠٥ تحولات الاينوسيتول Inositol metabolism

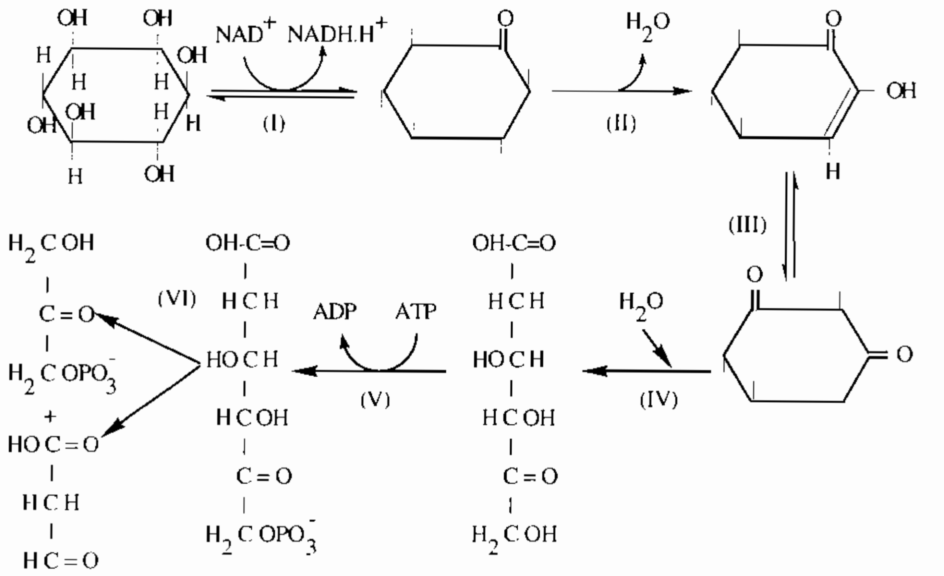
يمكن توضيح طريقة هدم myoinocitol في ميكروب *Aerobceter aerogenes* كما بالرسم كما وصفها (Anderson & Magasanik, 1971) .



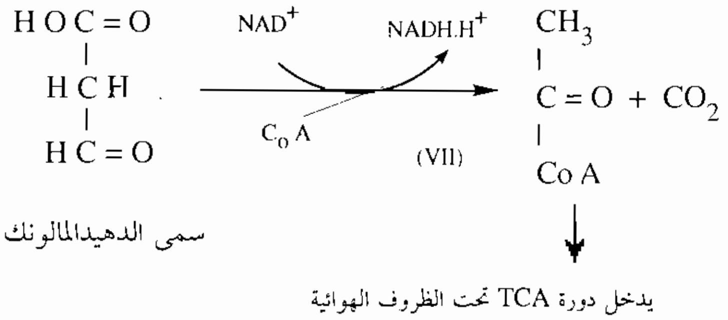
شكل (٥-١٢) : تحولات myoinositol

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حيث يؤكسد الميكروب ميوانيوسيتول بواسطة ديهيدروجينيز مرتبط بـ NAD^+ وتتم الأكسدة على ذرة الكربون رقم ٢ ويتكون كيتوميوانيوسيتول . والخطوة الثانية عملية نزع جزئ ماء dehydration بواسطة انزيم كيتو اينوستيول ديهيدريز ويتبعها فى خطوة ثالثة epimerization ينتج عنها ١ر٣ داى كيتو - ٤ - دى أوكسى اينوسيتول وهو مركب لم يعزل بعد . ثم خطوة رابعة hydrolytic cleavage لكسر الحلقة ويتكون ٢ - دى أوكسى - ٥ كيتو جلوكونات الذى تحدث له عملية فسفرة يتبعها عملية انشقاق الدولزية ينتج عنها مركبين هما دى هيدروكسى اسيتون فوسفات وسمى الدهيدالمالونيك كما هو موضح بالرسم التالى :



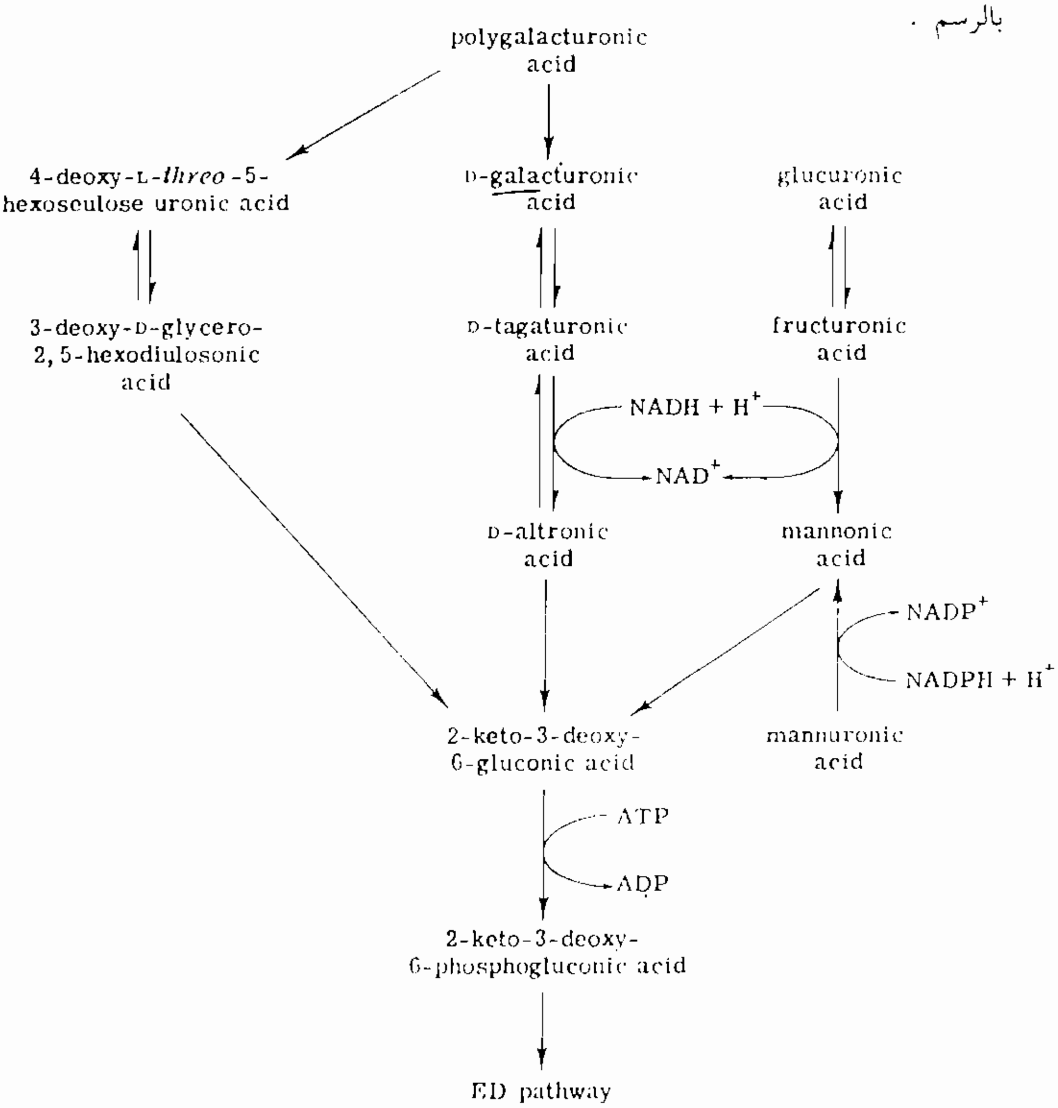
والمركب الأخير يحدث له عملية نزع ك أ٢ بالأكسدة oxidative decarboxylation فى وجود Coenzyme A ويتكون اسيتيل كو انزيم A .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٥-١٠ تحولات الأحماض الهكسويورينه Hexuronic metabatism

تتحول الأحماض الهكسويورينه مثل الجلوكويورنيك ، الجلاكتويورنيك ، المانويورنيك، البولي جلاكتورونيك بواسطة بعض الميكروبات من اجناس *Pseudomonas* ، *Aeromonas* ، *Agrobacterium* . وذلك عبر دورة ED كما بالرسم .



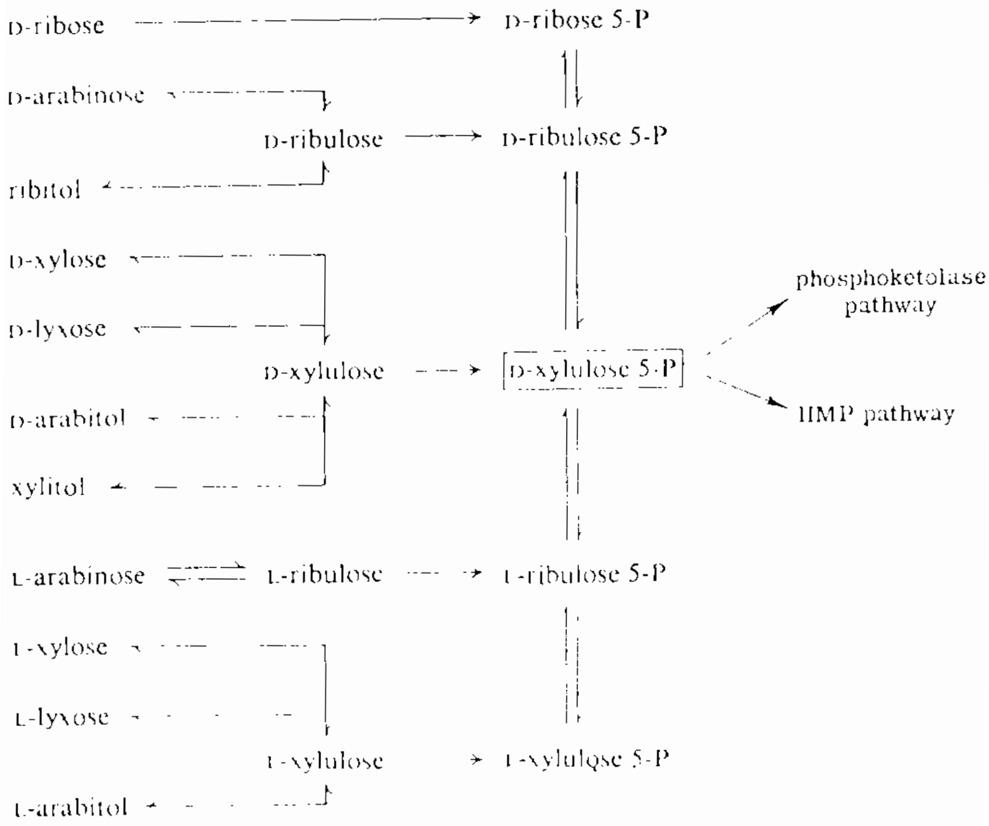
شكل (٥-١٣) : تحولات الأحماض الهكسويورنية

نقلا عن Chang & Feingold , 1969

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١١٠٥ تحولات البنتوز والبنتيتول Pentose & pentitol metabolism

درست تحولات هذه المركبات الخماسية بعناية فى عائلات Enterobacteriaceae & Lactobacillaceae والمركب الوسطى فيها هو Xylulose 5-phosphate والذى يتحول عبر دورة PK أو دورة HMP . والتصور النهائى لعملية الهدم يمكن تلخيصه كما يلى :

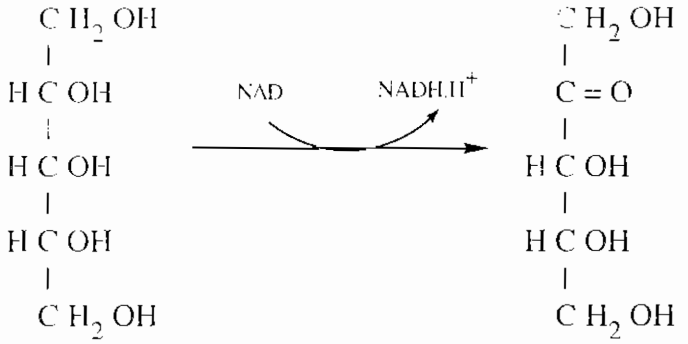


شكل (٥-١٤) : تصور عام لتحولات البنتوز والبنتيتول

ولقد سبق وصف كيفية تحولات الريبوز والريبولوز والزيلوز والزيليلوز والارابينوز والانزيمات المشاركة فيها فى دورة phosphoketolase (راجع رسم رقم ٥ - ٧) .

أما مركبات البنتيتول Pentitol مثل الريبتول Ribitol فتحتاج إلى انزيم متخصص ribitol dehydrogenase (EC 1.1.1.56) الذى يحوله إلى الريبولوز D-ribulose فى حين يتحول الارابيتول D-arabitol إلى D-xylulose .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



ribitol D- ribulose

وانزيمي الريبتول ديهيدروجينيز والريبولوز كينيز يحفزان إنتاج بعضهما في *Aerobacter aerogenes* ولكن ذلك لا يحدث في حالة الارابيتول ديهيدروجينيز والزيليلوز كينيز .

أما تحولات Xylitol فإن D-Xylulose وليس L-Xylulose يمكن تحديده كناتج التفاعل لانزيم NAD$^+$-dehydrogenase . والمركب الوسطي لتحولات البنتيتولات (الكحولات العضوية الخماسية) هو D-Xylulose الذي يكمل تحوله عبر دورة HMP لانتاج الفركتوز ٦ – فوسفات .

١٢٠٥ تحولات الجليسرول Glycerol metabolism

لوحظ حدوثها في عائلات بكتيرية عديدة مثل Enterobacteriaceae ، lactobacillaceae ، acetic acid bacteria وكذا *Clostridium butyricum* .

وبكتريا Enterobacteriacese يمكنها تحويل الجليسرول اما إلى Trimethylene glycol أو إلى الجليسرلدهيد ٣ – فوسفات وبالتالي يكمل تحولاته عبر دورة EMP . وحيث أن هذه التحولات تخمرية فإنها ستناقش في باب التخمرات (التاسع) .

أما ميكروب *Acetomonas suboxydans* الذي لا يستطيع استخدام دورة TCA يمكنه أن ينمو مستخدماً الجليسرول وذلك عبر طريقين :

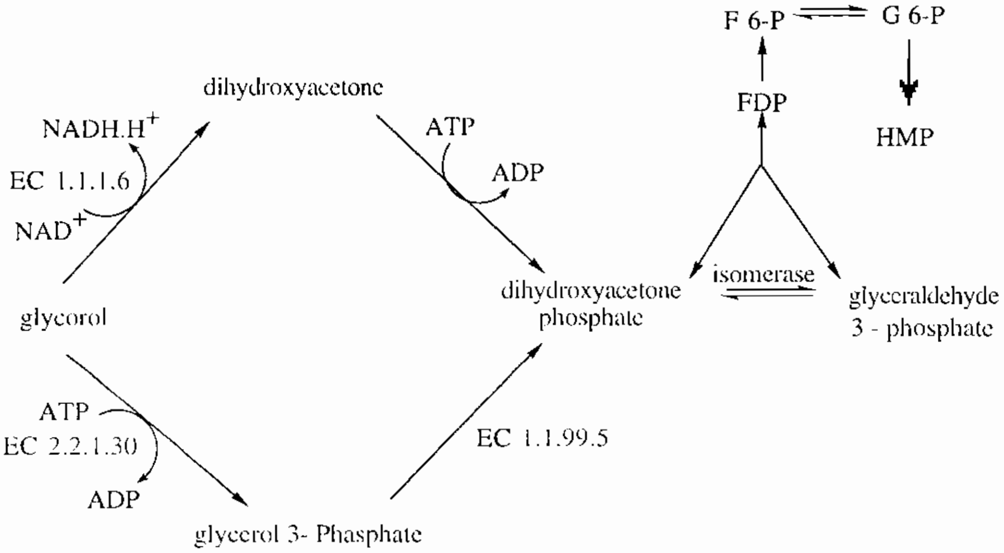
(١) أكسدة الجليسرول إلى دي هيدروكسي اسيتون بدون الاعتماد على ATP . ويلامس هذا التفاعل بواسطة انزيم glycerol dehydrogenase (EC 1.1.1.6) . ثم تحدث فسفرة بواسطة الكينيز للمركب الأخير وهذا التفاعل يحتاج ATP وكذلك Mg^{++} .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

Glycerol $\xrightarrow{DH}$ dihydroxyacetone $\xrightarrow{Kinase}$ dihydroxyacetonephosphate

(٢) فسفرة الجليسرول أولاً بواسطة glycerol kinase (EC 2.7.1.30) إلى جليسرول ٣ - فوسفات والذى يتحول فى النهاية إلى دى هيدروكسى اسيتون فوسفات فى وجود glycerol phosphate DH (EC 1.1.99.5) .

والتصور العام لتحول الجليسرول فى بكتريا حمض الخليك كما يلى :



ومركب دى هيدروكسى اسيتون فوسفات (Key) يتحول فى وجود isomerase (EC 5.3.1.1) إلى الجليسرلدهيد ٣ - فوسفات وهذان المركبان يوجدان فى حالة توازن مع الفركتوز ١ر٦ داى فوسفات (FDP) فى وجود انزيم الالدوليز (EC 4.1.2.13). وبمساعدة انزيمى hexodiphosphatase (EC 3.1.3.11) ، Glucose 6-P isomerase (EC 5.3.1.9) يتكون الجلوكوز ٦ - فوسفات (G-6P) كما بالشكل . وبأكسدته إلى ٦ - فوسفو جلوكونات ثم إلى الريبوز ٦ - فوسفات يكتمل تحول الجليسرول فى بكتريا حمض الخليك عبر دورة HMP .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أما بكتريا حمض اللاكتيك (Homofermantative) فتحول الجليسرول عبر المانوز فرسفات إلى حمض البيروفيك فى حين أن بكتريا *E. coli* اللاهوائية الاختيارية فتقوم بتحويل الجليسرول عبر الميكانيكية رقم (٢) المشروحة سابقاً حيث تمتلك نفس الانزيمات اللازمة لها .

وهناك طريق آخر لتحولات الجليسرول عن طريق انزيم ذائب هو ∝. glycerophosphate DH المرتبط بـ FAD وذلك تحت الظروف اللاهوائية وهو يشبه الموجود فى *Aerobacter aerogenes* ويتبع الميكانيكية رقم (١) السابقة .

١٣٠٥ تحولات الجليكول Glycol metabolism

يعمل الجليكول كمحفز inducer لتكوين glycol dehydrogenases فى الخلايا النامية أصلاً على الجلوكوز أو اللاكتات برغم احتياج الميكروبات لمصدر نيتروجين ، مصدر طاقة أيضاً فى البيئة .

وأكسدة الجليكول بواسطة اجناس *Acetobacter* ، *Acetomonas* يتضمن ٣ انزيمات أساسية :

(١) Primary alcohol dehydogenase مرتبط بـ NAD^+- ولا يتفاعل مع $NADP^+$- ولكنه يحتاج لمجموعة $>CH-CH_2OH$ والناتج هو الالدهيد المقابل للكحول .

(٢) Secondary alcohol dehydrogenase مرتبط بـ NAD^+ ويقوم بمهاجمة الجليكول عند مجموعة (OH -) الثانوية وهو أقل تخصصاً والناتج النهائى يبدو أنه الكينون المقابل للكحول (أو الالدهيد) . ووجود مجموعة OH - ثالثة أو مجموعة C = O ، COOH - يقلل النشاط الانزيمى له .

(٣) نظام أكسدة خاص لأكسدة الجليكول بواسطة الاكسجين وهو يشبه نظام الانتقال الالكترونى عبر السيتوكروم . وهذا النظام لا يؤكسد فقط كل الكحولات الأولية والثانوية بل ويؤكسد كثير من المركبات الأخرى مثل السكريات السداسية والخماسية والالدهيدات. ويعتمد نظام الأكسدة على المسافة (البعد) بين مجموعتى CH_2OH الطرفيتين . فى السلاسل القصيرة مثل 1,2 ethanediol فقط يمكن أكسدة واحدة منهما ومجموعة الكربوكسيل الناتجة توقف أى تفاعل انزيمى آخر . أما مع السلاسل الطويلة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups//Biothesis

https://www.researchgate.net/profile//Salam_Ewaid

07807137614

(الجزئيات الكبيرة) فإن التأثير السلبى لمجموعة الكربوكسيل يقل . ويبدو أن سيتوكروم C_{553} مرتبط بـقوة بالانزيم ولا يوجد دليـل على وجود المرافقـات الانزيمية NAD ، NADP ، FAD ، UQ ، المعادن الثقيلة فى هذا النظام .

١٠١٣٠٥ اكسدة الكحولات الأولية

يستطيع *Acetobacter sp.* ، وبعـض *Acetomonas sp.* أكسدة جليكـول الايثيلين إلى حمض جليكوليك .

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CH_2OH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2OH \end{array}$$

ethylene glycol   glycolic acid

ومازالت ميكانيكية تحول هذه المادة ثنائية الكربون إلى مادة الخلية غير مفهومة .

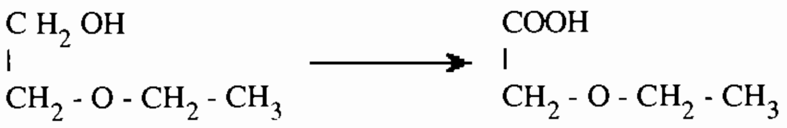
- مركب مـونو ميثيـل ايثر جليـكول الايثيـلين يتأكسـد سريعاً بـواسطة *Acetomonas suboxydans* مع استـهلاك امول أكســجين لكل مول مــن مادة التفـاعل مع إمكـانية تكوين حمض ميثوكسى اسيتيك .

$$\begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CH_2-O-CH_3 \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} COOH \\ | \\ CH_2-O-CH_3 \end{array}$$

ethylene glycol monomethyl ether (methyl Cellosolye)   ∝ - methoxy acetic acid

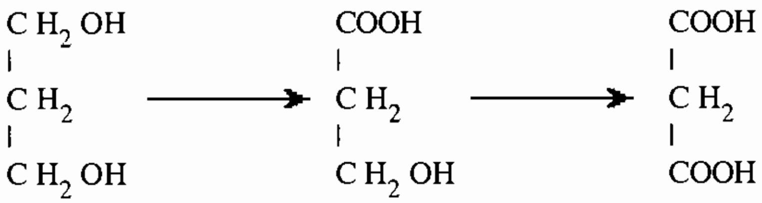
أما مركب مونوايثيل ايثر جليكول الايثيلين (Cellosolve) فيتأكسد ببطء شديد ولهذا لا تكتمل الأكسـدة اطلاقاً فى وجود المزرعة الميكروبيـة السابقة كما يتضـح من المعادلة التالية :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



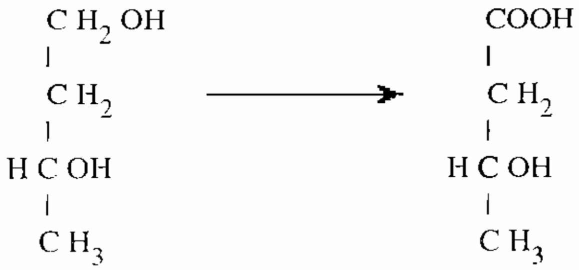
cellosolve — ∝ - ethoxy acetic acid

● ميكروب *Acetomonas melanogenum* ينمو سريعاً على الميثيل الثلاثى للجليكول (1,3 propanediol) ويؤكسده إلى المالونيك .



1,3 propanediol — β - hydroxy propinic acid — malonie acid

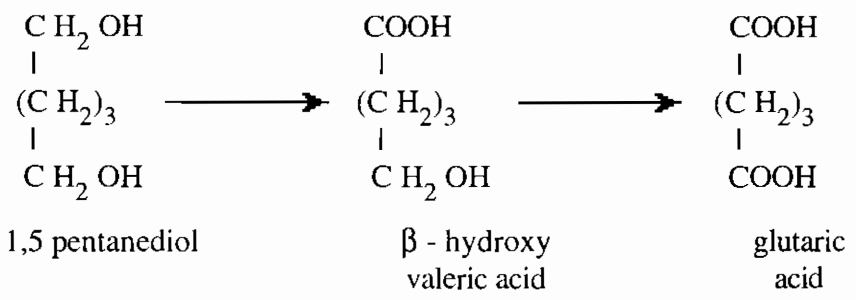
اما 1.3-Butanediol فيبدو كمادة جيدة لكل بكتريا حمض الخليك لقدرة كل سلالاتها على أكسدته إلى هيدروكسى حمض البيوتيريك .



1,3 butanediol — β - hydroxy butyric acid

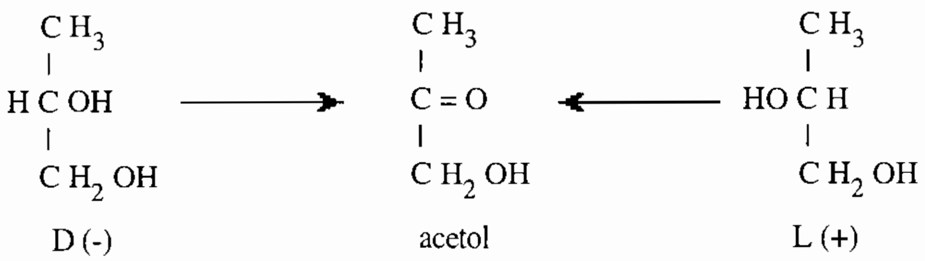
أما 1,5 pentanediol فيتأكسد فى خطوتين مكوناً الجلوناريك بواسطة *Acetomanas suboxydans* كما يتضح من المعادلة التالية :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

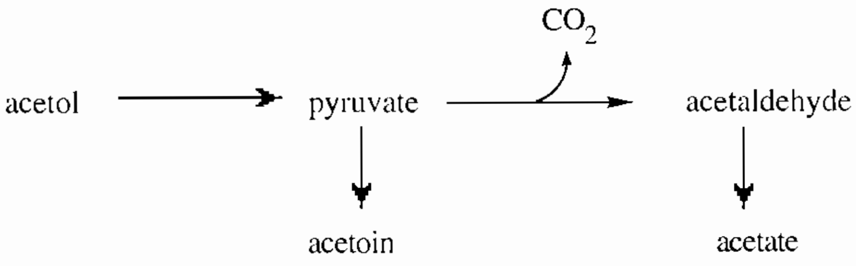


٢٠١٣٠٥ اكسدة الكحولات الثانوية

أكدت التجارب أن نوع التأثير على مجاميع الكحولات الثانوية يعتمد على المسافة بين المجاميع الأولية والثانوية فى الجزئ . فعندما تكون متقاربة مثل 1,2 propanediol فإن المجاميع الثانوية هى التى تتأكسد .



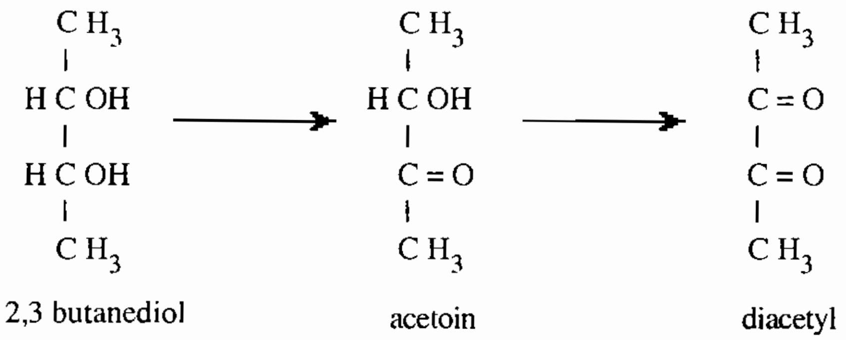
وعند تنفصل المجاميع بواسطة CH_2 - كما فى 1,3 butanediol فإن العكس يحدث أى تتأكسد المجاميع الأولية ومثال ذلك قدره *Acetobacter rauces* على مهاجمة وأكسدة acetol إلى الاسيتوين والاسيتات .



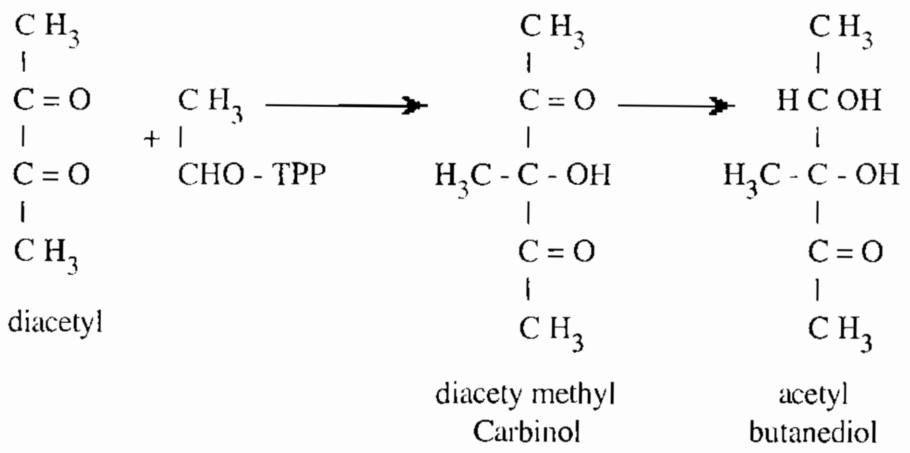
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١٤٠٥ تحولات 2.3 Butanediol

يعتبر ٢ر٣ بيوتاندول الناتج النهائى الشائع فى تخمر الكربوهيدرات فى اجناس *Acetobacter* ، *Bacillus* ويمكن تكسيرة هوائياً بواسطة Pseudomonads ولكن تقريباً كل عمليات أكسدة البيوتانديول تجرى لاهوائياً . ويلامس انزيم 2,3 butanediol dehydrogenase (EC 1.1.1.4) أكسدة البيوتاندول إلى اسيتوين ويتبع ذلك أكسدة ثانية فى وجود (EC 1.1.1.5) acetoin dehydrogenase .

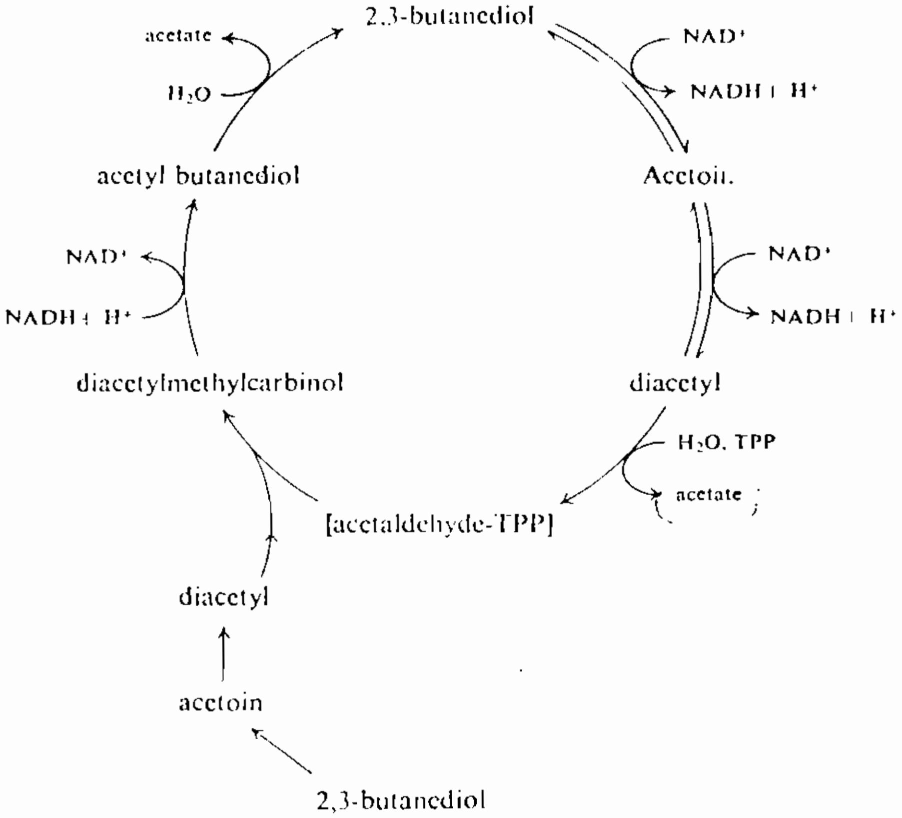


ويتحد مركب diacetyl مع الاستيالدهيد المرتبط على الثيمين بيروفوسفات (TPP) مكوناً داى اسيتيل ميثيل كربينول والذى يختزل فى وجود انزيم diacetyl methyl Carbinol reductase وهو يشبه (EC 1.1.1.4) السابق . والمركب الناتج هو اسيتيل بيوتانديول والذى يحدث له عملية تحلل مائى ويتكون الاسيتات والبيوتانديول .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ومن هذه الـدورة الحلقيـة فإن ٢ جزئ اسيتـات يتكونـان من ٢ جـزئ بيوتانـديول . والاسيتـات النـاتج يدخل فـى تخلـيق مادة الخلـية فى عـملية تتضـمن دورات TCA ، glyoxylate كما يتضح من الرسم التالى :



شكل (٥-١٥) : تحولات ٢ر٣ بيوتانديول بواسطة *Aerobacter* sp.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أسئلة للمراجعة

١ - أذكـــر المحصلة النهائيـــة لـلطاقة الناتجة من دورات تحول الجلوكوز الرئيسية (EMP ، HMP ، ED ، PK) .

٢ - لماذا تستخدم بعـض الميكروبات أكثر من دورة فى تحولات الجلوكــوز فى نفس الوقت ؟ وما دور الظروف البيئية فى ذلك ؟

٣ - ما هى الانزيمات التى تلعب دوراً رئيسياً فى الدورات السابقة ؟

٤ - ناقش العمليات الأساسية الأربع انتقال الجلوكوز عبر الغشاء .

٥ - ما هو الفرق بين PEP - phosphotransferase ، Permease فى عملية الإنتقال ؟

٦ - اشرح الميكانيـكية الحـلقيـة والغير حـلقيـة لتحـولات المانوز بواسـطة *Aerobacter aerogenes* .

٧ - ما هو الفرق فى تحولات الجلوكونات بين بكتريا حمض الخليك ، Pseudomonads؟

٨ - لماذا تقسم بعض أجناس البكتريا إلى مجموعتين حسب طريقة هدم المانيتول ؟

٩ - ما هى أهم الفروق بين Enterobacteriaceae & lactobacillaceae بالنسبة لتحولات البنتوز والبنتيتول ؟

١٠- ما أهمية تحولات ٢ر٣ بيوتاندول ؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1. Aiba, S., Humphrey, A.G. and Millis N.F. (1973). Biochemical engineering. 2nd Ed. Academic Press, Inc., New York.

2. Anderson, R.L. and Wood, W.A. (1969). Carbohydrate metabolism in microorganisms. Annu. Rev. microbiol. 23 : 539.

3. Anderson, W.A. and Megasanik, B. (1971). The pathway of myoinositol degradation in *Aerobacter aerogenes*. Identification of the intermediate 2-deoxy–5-ketogluconic acid. J. Biol. Chem. 246 : 5653.

4. Brown, A.T. and Wittenberger, C.L. (1971). Mechanism for regulating the distribution of glucose carbon between the Embden–Meyerhof and hexose menophosphate pathways in *Streptococcus faecalis*. J. Bacteriol. 106 : 456.

5. Chang, Y.F. and Feingold, D.S. (1969). Hexuronic acid dehydrogenase of *Agrobacterium tumefaciens*. J. Bacteriol. 99 : 667.

6. Cohen, G.N. and Menod, J. (1957). Bacterial permeases. Bacteriol. Rev. 21 : 169.

7. Dixon, M. and Webb, E.C. (1964). "Enzymes" 2nd Ed. Longmans, Green, New York.

8. Entner, N. and Dondoroff, M. (1952). Glucose and gluconic acid oxidation by *Ps. saccharophila*. J. Biol. Chem. 196 : 853.

8a. Goebler, O.H. (1956). Enzymes : Units of biological structure and function. Academic press, New York.

9. Goldman, M. and Blumenthal, H.T. (1964). Pathways of glucose metabolism in *Bacillus cereus*. J. Bacteriol. 87 : 377.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

10. Hengstenberg, W. (1968). Carbohydrate transport in *Staphylococcus aureus*. J. Biol. Chem. 243 : 1881.

11. Kornberg, H.L. and Smith, J. (1970). Role of phosphofructokinase in the utilization of glucose by *E. coli*. Nature (London), 227 : 44.

12. Meyerhof, O. (1951). Aldolase and isomerase. In : The enzymes. Chemistry and Mechanism of action. (J.B. Summer and K. Myrback, Eds), Vol. 2, Part I, p. 162. Academic Press, New York.

13. Mitchell, P.D. (1967). Translocation through natural membranes. Annu. Rev. Microbiol. 13 : 407.

14. Rose, A.H. (1967). "Chemical Microbiology", 2nd Ed., Butterworth, London.

15. Schindler, J. and Schlegel, H.G. (1969). Regulation der Glucose 6–phosphate DH aus verschiedenen Bakterienarten durch ATP. Arch. Microbiol. 66 : 69.

16. Thomas, A.B., Doelle, H.W., Westwood, A.W. and Gordon, G.L. (1972). The effect of O_2 on a number of enzymes involved in the aerobic and anaerobic utilization of glucose in *E. coli*. J. Bacteriol. 112 : 1099.

17. Warburg, O. and Christian, W. (1943). Isolierung und kristallisierung des Gärungs fermentes zymohexase. Biochem. Z. 314 : 144.

18. Wolff, J.B. and Kaplan, N.O. (1956). D-Mannitol-1-phosphate dehydrogenase from *E. coli*. J. Biol. Chem. 218 : 849.

19. Wood, W.A. (1966). "Methods in Enzymology". Vol. 9. Academic Press. New York.

20. Zagallo, A.C. and Wang, C.H. (1962). Comparative carbohydrate catabolism in *Arthrobacter*. J. Gen. Microbiol. 29 : 389.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الباب السادس
التنفس الهوائى

Chemolithotrophic bacteria

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب السادس
التنفس الهوائى
Chemolithotrophic bacteria

يحتوى التنفس الهوائى على عدد أكبر من العمليات الايضية عن التخمر أو التنفس اللاهوائى .

ولقد اهتمت أغلب الكتب والمراجع الخاصة بهذا الموضوع بدورة حمض الستريك (TCA) كنموذج للتنفس الهوائى . ولكن فى عالم الميكروبيولوچى توجد مجموعة من الميكروبات الغير قادرة على استعمال TCA وتعرف هذه الميكروبات "Chemolithotrohps" وهى أساساً أوتوترفيه وتشتق طاقتها من أكسدة المواد الكيمياوية المعدنية فى وجود جزئ الاكسچين كمستقبل نهائى للالكترون . وتستطيع تمثيل ك أ٢ إلى مادة الخلية من خلال دورة كالفن .

أما الأغلبية الباقية من الميكروبات الهوائية التى تعرف "Chemoorganotrophs" فهى تشتق طاقتها من أكسدة المواد العضوية «كمعطى للايدروچين» فى وجود الاكسچين «مستقبل الالكترون» .

وسنتكلم فى هذا الباب بالتفصيل عن Chemolithotrophs وهى عبارة عن عدد قليل من المجاميع البكتيرية القادرة على أكسدة المواد الغير عضوية لتكوين الطاقة وهذه المجاميع هى:

(١)	Nitroso - group	التى تؤكسد الامونيا
(٢)	Nitro - group	التى تؤكسد النيتريت
(٣)	Hydrogen bacteria	التى تؤكسد الايدروچين
(٤)	Fe^{2+} - oxidizing b.	التى تؤكسد الحديدوز
(٥)	S- oxidizing bact .	التى تؤكسد الكبريت

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

١٠٦ بكتريا النآزت Nitrifying bacteria "Nitroso - group"

وهى تتبع عائلة Nitrobacteriaceae وتقع فى أجناس *Nitrosomonas* ، *Nitrosococcus* ، *Nitrosocystis* ، *Nitrosoglea* ، *Nitrosospira* ، *Nitrosolobus* ، ويمكن تنميتها فى بيئات معدنية نقية .

- هذه الميكروبات تؤكسد الأمونيا إلى النيتريت تبعاً للمعادلة :

$$NH_4^+ + \frac{3}{2} O_2 + H_2O \longrightarrow NO_2^- + 2 H_3O^+$$

وهذا التفاعل يتضمن انتقال ٦ الكترونات مسبباً تغير حالة ذرة النيتروجين من -3 إلى +3 وحيث أن الانتقال الالكترونى العادى يتكون من ٢ الكترون فإنه تحدث سلسلة من ٣ خطوات تتكون خلالها الطاقة والقوة الاختزالية اللازمة للخلية .

- عند تعرض الخلية إلى hydrazine فإن الامونيا لا تتأكسد إلى النيتريت ولكن يتراكم هيدروكسيل امين كمركب وسطى :

$$NH_4^+ + \frac{1}{2} O_2 \longrightarrow NH_2OH + H^+$$

وهذه الخطوة تحتاج لطاقة endergonic وتلامس بواسطة انزيم monooxygenase . وذرة الاكسجين فى NH_2OH تأتى من جزئ الاكسجين .

والتغير فى الطاقة الحرة (ΔF) عند pH 7.0 تقدر كالتالى :

$$NH_4^+ \ (-19.0) + \frac{1}{2} O_2 \ (0.0) = NH_2OH \ (-5.6) + H^+ \ (0.0)$$

$$\Delta F = + 13.4 \text{ kcal/mole } H^+$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- وخطوة أكسدة الـهيدروكسيل امين إلـــى النيتريـــت تتـــم فـى وجـــود Hydroxylamine oxidoreductase (EC 1.7.3.4) وهى تنتج طاقة exergenic كما يلى :

$$NH_2OH\ (-5.6) + O_2\ (0.0) = NO_2^-\ \ (-8.25) +$$

$$H_2O\ (-56.7) + H^+\ (0.0)$$

$$\Delta F = -\ 59.4\ kcal/mole$$

وتحتاج إلى ٤ إلـكترونات ولذا لابد مـن وجود مركب وسطى ذو حـالة أكسدة (+1) ولذا اقترح Lee سنة ١٩٥٧ المركب nitroxy (NOH) المشتق من الهيدروكسيل امين بعملية dehydrogenation (نزع الايدروچين) وبرغم أنه غير ثـابت ولم يحصل عليه بعد ولكن يمكـن أن يستخدم كنقطة تفرع لـتكوين النيتريت تحت الـظروف الهوائية أو N_2O ، N_2 تحت الظروف اللاهوائية .

ومن ذلك نتبين أن التحول الهوائى للهيدروكسيل امين إلى النيتريت يتم فى خطوتين .

١ - نزع الأيدروچين من الهيدروكسيل وتكوين Nitroxyl .

٢ - تحول Nitroxyl إلى النيتريـت فى وجود انزيم يحتاج الاكسچين كمـا يتضح ذلك من المعادلات التالية :

$$NH_2OH + 2\ Cyt.\ C\ Fe^{3+} \longrightarrow (NOH) + 2\ Cyt.\ CFe^{3+} + 2H^+$$

$$(NOH) + HNO_2 \longrightarrow NO_2\ .\ NHOH$$

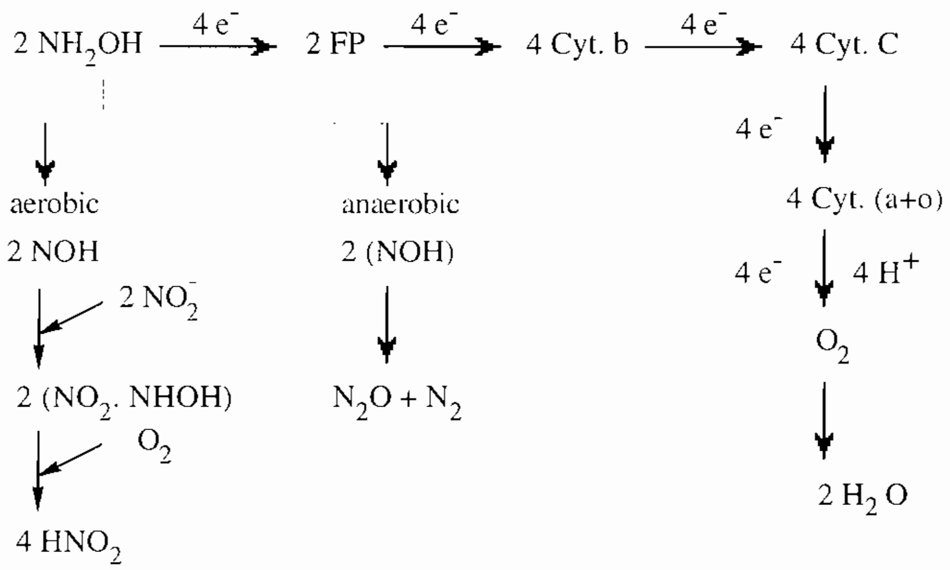
$$NO_2\ .\ NHOH + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow (2)\ HNO_2$$

$$2H^+ + 2\ Cyt.\ CFe^{2+} + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow 2\ Cyt.\ CFe^{3+} + H_2O$$

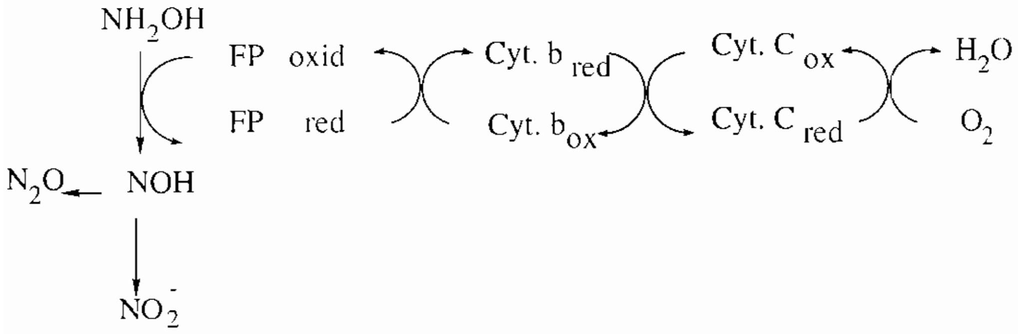
$$NH_2OH + O_2 \longrightarrow HNO_2 + H_2O$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وفى ضوء المعلومات السابقة فإن التفاعل المتضمن أكسدة الهيدروكسيل امين يبدو كما بالرسم التالى :



- وجدير بالذكر أن جهد الاكسدة والاختزال لنظام NH_2OH / NO_2^- حوالى + 0.066V أى (+ 66 mV) وهو لا يكفى لتوصيل انزيم Hydroxylamine dehydrogenase إلى مستوى $NAD^+/NADH.H^+$ فى النظام التنفسى (حوالى - 320 mV) ولذا فالدخول يتم عند مستوى الفلافوبروتين ويتضمن خطوتين لخفظ الطاقة على الأقل كما بالرسم .

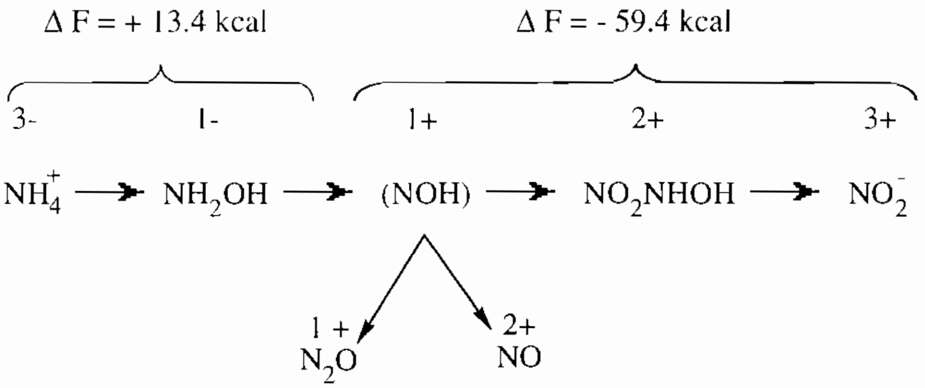


مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والمركبات الوسطية بين NOH ، NO_2^- فليس هناك تعريف محدد لها بعد مثل $NO_2.NHOH$ المذكور سابقاً والذى يحتاج NO_2^- لتكوينه . اما إمكانية اعتبار N_2O كمركب وسطى فقد صرف النظر عنها لحتمية أن المركب الناتج لأن أن يكون عند مستوى أكسدة (+2) وهناك زعم آخر بتكوين المركب (NO) كوسط بينهما .

«وعموماً فإن التصورين المقترحين للمركبات الوسطية فى أكسدة الامونيا إلى النيتريت يمكن تحديدهما كالتالى» .

الاقتراح الأول



الاقتراح الثانى

$$\overset{3-}{NH_4^+} \longrightarrow \overset{1-}{NH_2OH} \longrightarrow \overset{1+}{(NOH)} \longrightarrow \overset{2+}{NO} \longrightarrow \overset{3+}{NO_2^-}$$

شكل (٦-١) : العلاقة بين المركبات الوسطية فى أكسدة الامونيا بواسطة *Nitrosomonas*

- وتستطيع هذه الميكروبات استخدام ك أ٢ كمصدر كربونى وحيد للنمو وتمثيله إلى مادة الخلية عبر دورة كالفن وهذه الميكانيكية عكس التنفس . وبما أن ك أ٢ ذو حالة مؤكسدة أعلى بكثير جداً من بقية المواد العضوية فإنه يحتاج إلى قوة اختزالية فى صورة $NADH.H^+$ لاختزاله وتثبيته . وحيث أن جهد الأكسدة والاختزال لنظام NH_2OH / NH_4^+ عالى جداً (-320 mV) مقارنة بنظام $NAD^+ / NADH.H^+$ (حوالى +394 mV) أو بنظام NO_2^- / NH_2OH (حوالى +66 mV) . فإنه فى

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الحالتين الاخيرتين لا تستطيع الالكترونات الانتقال من أكسدة الامونيا أو الهيدروكسيل امين إلى $NAD(P)^+$. وهذه المشكلة تعتبر صفة مميزة لكل الميكروبات Chemolithotrophs .

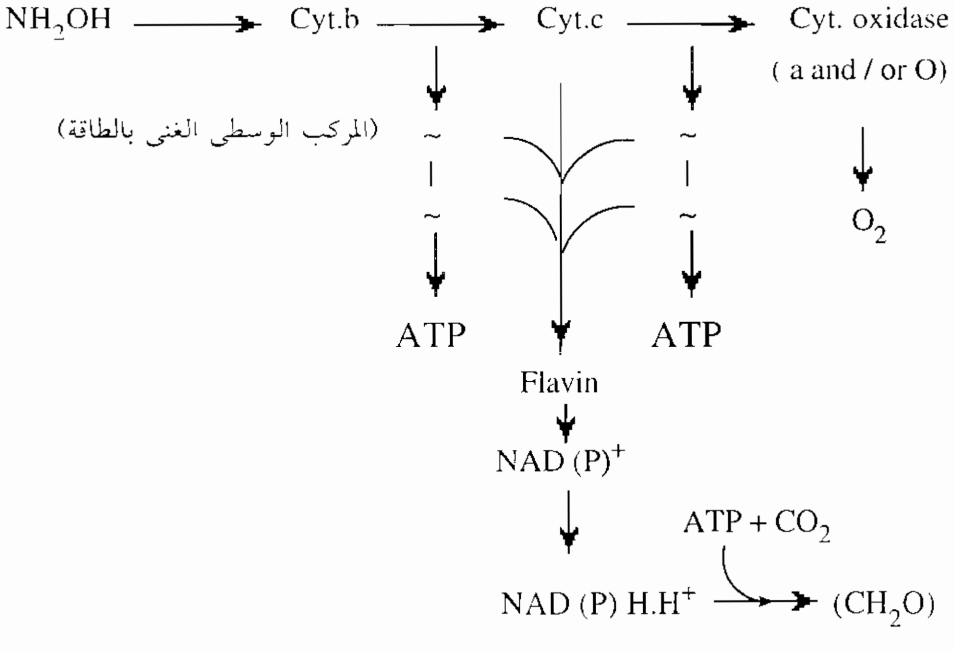
ولهذا يعتقد أن هناك انسياب الكتروني عكسي من $Cyt.\ C\ Fe^{2+}$ إلى NAD^+ أو $NADP^+$ في وجود الفلافوبروتين . وهذا النظام يحتاج لطاقة والتي تأتي اما بأكسدة الهيدروكسيل امين أو بواسطة ATP خارجي كما بالمعادلة .

$$ATP + (x) \longrightarrow (\sim x) + ADP + Pi$$

$$AH_2 + (\sim x) + NAD\,(P)^+ \longrightarrow A + NAD(P)\,H.H^+ + (x)$$

حيث أن AH_2 يمكن أن يكون هيدروكسيل امين أو سكسينات أو حتى Cyt.C مختزل. وقد لوحظ أن أكسدة ٢ مول من Cyt.C المختزل ضرورية لاختزال امول من NAD^+ باستخدام طاقة ٥ مول من ATP وتشير إلى ٤٠ ٪ من كفاءة التفاعل المرتبط بالطاقة .

ويمكن تصور سلسلة انتقال الالكترون وتكوين المواد الغنية بالطاقة والتي تستخدم في تثبيت ك أ٢ في Nitroso - group كما يلي :



شكل (٦-٢) : انتقال الالكترون العكسي في *Nitrosomonas sp.*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ومن الرســم يتضح أن تخـليق ATP يتـبع e-transport phosphorylation وأنه يحدث انسياب عكســى للالكترون إلى NAD^+ (وليس للأكسچين) وأن ATP الناتج يستخدم فى اختزال CO_2 وتكوين مادة الخلية .

- أهمية عملية التأزت Nitrification :

١ - تحويل الامونيا الناتجة من معدنه المواد العضوية النيتروچينية إلى نيتريت ونترات . وهذا التحول مـن الصورة الكاتيونية إلــى الصورة الانيونية يؤدى لـزيادة حموضة التربة وبالتالى زيادة تيسير وذوبان المعادن (K ، Ca ، Mg ، P) أى تلعب دوراً هاماً فى خصوبة التربة .

٢ - الامونيا أكثر أو إدمصاصا على حبيبات التربـة والدبال بينما النترات سهل غسيلها وفقدها بالرشح لذا تستعمل مثبطات لنمو بكتريا التأزت مثل N-Serve .

٣ - تشارك بكتريا التأزت بطريق غير مبـاشر فى الامطار الحمضية وفى تحطيم الحجارة الجيرية والأسمنت فـى الطرق والمبانى بسبب أكسدة الأمونـيا فى الجو إلى حمض النيتريك المذيب القوى.

٢٠٦ بكتريا التأزت "Nitro"- group

وتتضمـــن جمــيع أنـواع البكتريا الــتى تستطيع أكســدة النتيريت إلى النـترات مثل اجناس *Nitrobacter* ، *Nitrococcus* ، *Nitrospira* ، *Nitrocystis* .

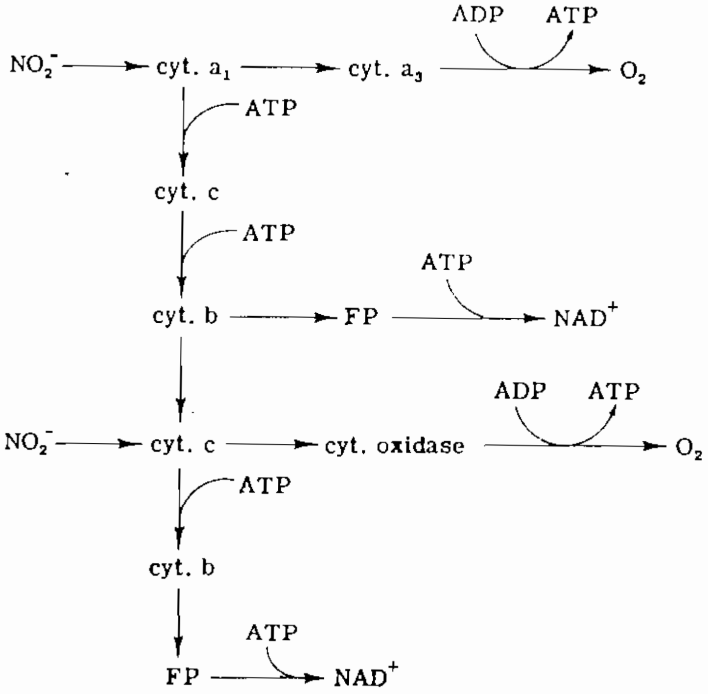
- خطوة أكسدة النيتريت إلى النترات لا تتضــمن مركبات وسطية - مثلما الحال فى أكسدة الامونيا إلى النيــتريت - وفيها يتحول النيتــروچين من تكافؤ +3 إلى +5 فى وجود الاكسـچين كمستقبل نهائى للالكترون .

$$NO_2^- \longrightarrow \text{Cyt. C} \longrightarrow \text{Cyt. oxidase} \longrightarrow O_2$$

وحيث أن Cyt. C لميكروب *Nitrobacter* ذو جهد أكسدة وإخــتزال حوالـــــــــى + 265 mV مقارنة بـ + 420 mV لنظام NO_2^- / NO_3^- ولذا لابد من طاقة تنشيط حوالى 15 Kcal لدخـول الالكترونـات عند مسـتوى Cyt. C . أى أن دخـــول

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الالكترونات الناتجة من أكسدة النيتريت عند مستوى Cyt. C مشكوك فيه وإنما يتصور دخول الالكترونات عند مستوى $Cyt.\ a_1$ وعندئذ يحدث انتقال الكترونى عكسى منشط بالطاقة من $Cyt.\ a_1$ لاختزال Cyt. C ويظهر الرسم التالى كلا الاحتمالين .



شكل (٦-٣) : نظام انتقال الالكترونات العكسى فى *Nitrobacter sp.*

- وقد أمكن إثبات أن الماء - وليس جزئ الاكسجين - يدخل فى أكسدة NO_2^- إلى NO_3^- وأن معطى الأيدروجين لاختزال NAD^+ هو الماء أيضاً وذلك باستخدام $^{18}O_2$ والماء الثقيل H_2O^{18} . فالنيتريت يعطى الالكترونات أولاً إلى السيتوكروم (سلسلة انتقال الالكترون) كما فى تفاعل (١) والتى تستقبل فى النهاية بواسطة جزئ الاكسجين (تفاعل ٣) ويقابل ذلك تكوين ATP كما تظهر ذلك المعادلات التالية :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

$$(1)\ NO_2^- + n\ ADP + n\ Pi + H_2O \longrightarrow NO_3^- + n\ ATP + 2H^+$$

$$(2)\quad NAD^+ + 2H^+ + 2e^- \xrightarrow{E} NADH.H^+$$

$$(3)\ NADH.H^+ + ADP + Pi + \frac{1}{2}\ O_2 \longrightarrow NAD^+ + ATP + H_2O$$

جزء من الطاقـة المتكونة (E) يحتاج فـى تفاعل "2" حيث يـختزل NAD^+ ومصدر الالكترونات فى تفاعل "2" هو المادة المختزلة مثل السيتوكروم بينما مصدر البروتون هو الماء . ويبـدو من نظام انـتقال الالكـترون فى *Nitrobacter* أن مشكلة تـكوين القوة المختزلة ($NADH_2$) يشابه ما كان فى *Nitrosomonas* . بمعنى أن اختزال NAD^+ بواسطة النـيتريت يمكن أن يحدث اما على حساب ATP المضاف خارجيـاً أو بواسطة الطاقة المتولدة من أكسدة عدة مولات من النيتريت . ويحتاج اختزال امول من NAD^+ بواسطة النيتريت إلى استخدام ٤-٥ مول ATP .

وتتركز معظـم التساؤلات حول كيفية التغـلب على الفجوة الثروموديـناميكية thermo dynomic gap بين NO_3^- / NO_2^- والسيتوكروم C . والاجابة تكمـن ربما فى تكون معقد من مادة التفاعل مع Cyt. C reductase النشط جداً مسببا جهداً سالباً أعلى من مادة التـفاعل ، وجزء من هـذا المكون المعقـد هو هدرجه النـيتريت أو اشتـراك مكون فوسفاتى غنى بالطاقة بما يتجاوز هذا الـ gap .

وبغض النظر عن تصورات دخول الالكترونات إلى سلـسلة الانتقال فإن *Nitrobacter* يمتلك موقعاً واحداً فقط للفسفرة المؤكسدة عند مستوى Cyt. oxidase أو Cyt. a_3 . ويستخدم جـزء من الطاقة المنطلـقة فى اختزال ك أ$_2$ وتمثيله والجزء الآخـر فى تكوين NAD (P) المختزل . وثبت أن أكسـدة امول من النيتريت يعطـى تقريباً 17.5 Kcal طاقة ميسرة يدخل جزء منها فى تكوين ATP .

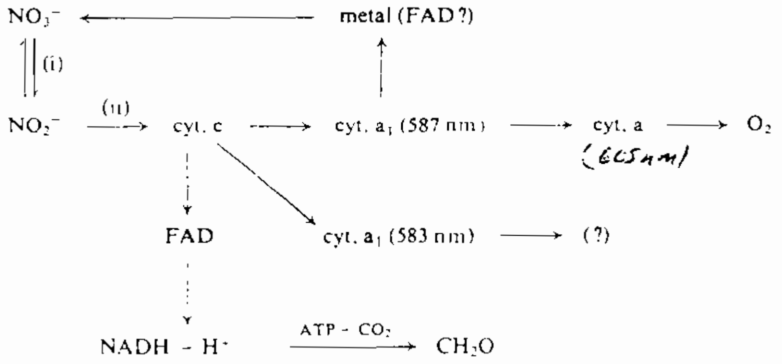
وقد اكتشف Schön سنة ١٩٦٥ أن تثبيط أكسدة النيتريت عند تركيز الاكسجين العادى ليس بسبب تراكم NO_2^- وليس من تأثير الاكسجين على عملية الأكسدة ولكن من تأثير الاكسجين علـى تمثيل ك أ$_2$ حيث وجود ٩٥ ٪ أكسجين (حجمياً) يثـبط عملية تمثيل ك أ$_2$ تماماً فى ميكروب *Nitrobacter winogradsky* . وفى نفس التجربة وجد أن

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

انقاص الاكسچين الذائب إلى $2\ mg\ O_2 / L$ (حوالى ٢٧ ٪ من التشبع) كان كافياً لنمو *Nitrobacter* بينما التركيز الادنى لميكروب *Nitrosomonas* كان $0.9\ mg\ O_2/l$. وعموماً فمن قياسات الاكسچين الذائب والتغير فى النتروچين المعدنى يمكن استنتاج أن النسبة المثلى للنمو كانت 1 : 3.22 فى حالة أكسدة الامونيا إلى النيتريت بينما كانت 1 : 1.11 فى حالة أكسدة النيتريت إلى النترات .

وهذا الفصل بين تحولات الطاقة وبين تمثيل ك أ٢ يؤيد أن *Nitrobacter* يمتلك سلسلة تنفسية (Cyt. c, b, a and a_1) التى تعمل غير مرتبطة بتكوين القوة الاختزالية وبالتالى تمثيل ك أ٢ .

وتشير سلسلة انتقال الالكترونات فى الرسم التالى إلى أن الالكترونات تنتقل من السيتوكروم البكتيرى C إلى مكونى Cyt. a_1 (درجة امتصاصهما عند 583 nm ، 587) ومن Cyt. a_1 (587 nm) تنتقل الالكترونات اما مباشرة إلى النترات فى وجود FAD أو خلال Cyt. a (605 nm) إلى الاكسچين فى وجود الموليبيد نم .



شكل (٦-٤) : سلسلة انتقال الالكترونات فى *Nitrobacter Winogradaskyi*

وميكروب *Nitrobacter agilis* لا يؤكسد النيتريت فقط ولكن يملك انزيمات NO_3^-، NO_2^- ، NH_2OH- reductases تحت الظروف اللاهوائية حيث يختزل النترات إلى الامونيا وهذا لا يجعل الميكروب denitrifier حيث لا يكون جزئ N_2 ، N_2O وإنما يعتبر اختزال نترات بنائى assimilatory حيث تدخل الامونيا فى تكوين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأحمــاض الامينيــة ومادة الخلـية وهذا يـختلف الـطبع عـن اختزال الـنترات الهـدمى dissimilatory فى عملية الدنتره Denitrification .

كمـا أن ميــكروبـات التـأزت *Nitrobacter* ، *Nitrosomonas* تسـتطيع اخــتزال الكبريتات assimilatory حيث تـختزل الكـبريتات عــبر APS ، PAPS ويمتلك انـزيمـات Sulfate adenyltransferase ، adenylsulfate kinase ، PAPS-reductase مثلما الحال فى *E. coli* ، Yeasts .

أيضاً يستطيع *Nitrobacter* تمثيل عدد كبـير من المركبات العضوية وعلـى سبيل المثال الاسيتات الذى ينفذ خلال الغشاء الخلوى ويعمل كمصدر للكربون بـــدلاً من ك أ٢ . حيث تمثل الاســيتات إلى poly-β-hydroxy butyrate وزيادة النيتريــت تزيد تمثيل الاسـيتات بوضوح اما فـــى غياب النيتريت فـالميكروب يحول الاسيتات ببـــطء إلـــى ك أ٢ ، يد٢أ . وكل انـزيمات TCA موجودة بالكـائن وأضافة النيتريت يـزيد تمثيل الاسيتات assimilation إلى مادة الخليـة . ووجود الاسيتات والكازين المتـمئ لا يفقد الميكروب إطلاقاً قدرته على النمو الاوتوثروفى على النيتريت ، ك أ٢ . ويظل متوسط محتواه من C+G فى DNA حوالى 61.2 ± 1% سواء نمى الميكـروب اوتوتروفيا أو هترتروفيا .

أيضاً ثبت أن ميكروب *Nitrobacter agilis* يحتوى على Formate oxidase الذى يؤكسد الفورمات إلى ك أ٢ ، يد٢ أ . أما النمو على الفورمات كمصدر وحيد للكربون لم يثبت معملياً جدواه .

٣٠٦ بكتريا اكسدة الايدروجين

Hydrogen bacteria (Knallgas bacteria)

وهى البكتـريا التى لها القدرة على أكـسدة الايدروچين فى وجود الاكسچين كمـستقبل للالكترونات مع تثبيت ك أ٢ عن طريق دورة الريبولوز بيوفـوسفات (دورة كالفن) والمعادلة العاملة لذلك .

$$CO_2 + 6\,H_2 + 2\,O_2 \longrightarrow (CH_2O) + 5\,H_2O$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وهى بكتريا عصويه أو كرويه موجبة أو سالبة لجرام تقع فى أجناس مختلفة تقسيمياً مثل *Pseudomonas* ، *Paracoccus* ، *Aquaspirillum* ، *Alcaligenes* ، *Xanthobacter* (السالبة الجرام) ، *Nacordia* ، *Bacillus* ، *Mycobacterium* (الموجبة لجرام) وهذه البكتريا mixotroph أى لها القدرة على النمو اتوتروفيا او هيتروتروفيا ولكنها هوائية حتمية وبعضها يستخدم بدائل الاكسجين كمستقبل للالكترونات مثل النترات والكبريتات والكربونات (تنفس تحت ظروف لاهوائية) ومن أمثلة ذلك.

Paracoccus denitrificans

$$2\,NO_3^- + 5\,H_2 + 2\,H^+ \longrightarrow N_2 + 6\,H_2O$$

Desulfovibrio vulgaris

$$SO_4^{=} + 4\,H_2 \longrightarrow S^{2-} + 4\,H_2O$$

Methanobacterium sp

$$CO_2 + 4\,H_2 \longrightarrow CH_4 + 2\,H_2O$$

وليس هنا مجال الحديث عن التنفس اللاهوائى حيث سبق شرحه فى الباب الرابع .

ولـذا فالحديث مقصور على التنفس الهوائى باستخدام الاكسجين كمستقبل للالكترونات.

- أثناء تنمية بكتريا الهيدروجين فإنها تستهلك $H_2/O_2/CO_2$ بنسبة ٦ : ٢ : ١ - لتثبيت ك أ٢ كما بالمعادلة العامة المذكورة سابقاً وذلك فى وجود Hydrogenase لتنشيط جزئ الايدروجين . والقوة المختزلة $NADH_2$ وكذا ATP اللازمين لعملية تثبيت ك أ٢ يتحصل عليهما من الفسفرة المؤكسدة e-transport phosphorylation .
- اثبتت الدراسات على مستخلص *Hydrogenomonas* H16 ان نشاط انزيم hydrogenase يمكن فصله إلى جزء ذائب وآخر مرتبط والجزء الذائب يلامس اختزال NAD^+ بواسطة جزئ الايدروجين ولا يحتاج إلى Co-factors وهذا الجزء يتأثر تأثراً

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

طفيفاً بتراكم ATP ، $NADH.H^+$ ولا يتفاعل مع O_2 ، $NADP^+$ ، FMN ، FAD أو أزرق الميثيلين . والانزيم الذائب يكفى لتزويد الخلية بالقوة المختزلة $NADH_2$ وأيضاً ATP اللازمين لاختزال ك أ٢ .

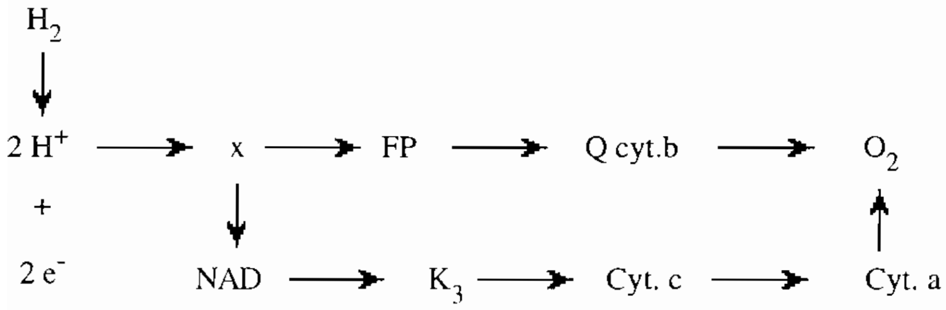
أما الجزء الثانى فمرتبط بالغشاء ويختزل أزرق الميثيلين والاكسچين كمستقبل فسيولوچى للايدروچين . وهو يدخل فى سلسلة انتقال الالكترونات التى تلازم الفسفرة المؤكسدة وهناك بعض الدلائل على وجود $NADH_2$ - oxidase (EC 1.6.99.3) الذى يلامس أكسدة $NADH.H^+$.

$$NADH.H^+ + O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O_2$$

أى أنه يمكن القول أن بكتريا أكسدة الايدروچين بها نوعين من انزيمات Hydrogenases لهما وظيفتين مختلفتين مثل البكتريا الفوتوثروفية . احدهما مرتبط (Particulate) بعملية فسفرة ADP إلى ATP والثانى (Soluble) ينقل الالكترونات إلى الاكسچين عبر $NADH_2$.

وأغلب الميكروبات تحتوى على الانزيم المرتبط بينما *Nacordia* تحتوى على الانزيم الذائب فقط فى حين اعداد قليلة نسبياً من الميكروبات تمتلك كلا الانزيمين مثل *Alcaligins eutrophus* .

ويمكن تصور نظام انتقال الالكترونات وأكسدة $NADH_2$ كما بالرسم .



شكل (٦-٥) : نظام انتقال الالكترونات فى *Hydrogenomonas eutropha* النامية تحت ظروف اتوتروفية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- ويعتقد أن الفسفرة المؤكسدة لـلايدروچين تتحدد فى الخطوات ما بين H_2 ، Cyt. b . وباعتبار ك أ٢ كمصدر وحيد لـلكربون والهيدروچين كمعطى وحيـد للالكترونات فإن تفاعلات الطاقة لميكروب *Hydrogenomanas* تتبع المعادلة التالية :

$$CO_2 + 2\,H^+ \longrightarrow (CH_2O) + H_2O \quad \Delta F = +8.2$$

$$H_2 + O_2 \longrightarrow H_2O \quad \Delta F = -56.3$$

$$CO_2 + 2\,H_2 + O_2 \longrightarrow (CH_2O) + 2\,H_2O \quad \Delta F = -48.3\ \text{Kcal.}$$

ومن قياسات الطاقة يتبين أن امول H_2 ينتج ما يعادل ٢ مول ATP . ويحتاج ٥ مول ATP لتحويـل امـول ك أ٢ إلى مادة الخلـية أى يحتاج ٥ مول H_2 لتمثيل ٢ مـــول ك أ٢ .

وبكتيريا الايدروچين قـادرة على تخليق حامض بولى هيدروكسى بيـوتيريك ليس فقط هتيـروتروفيا من الـبيروفات والاستيـات ولكن اوتوتروفـيا من ك أ٢ من خـلال دورة كالفين.

ولقد افترض Schlegel سنة ١٩٦٦ التصورين التاليين :

(أ) يتكون استيتيل كوانزيـــم A من ٣ - فـوسـفو جليسرات عبر البيـروقات وتفاعل نزع ك أ٢ Decarboxylation .

(ب) يتكون استيتيل كوانزيم A من الـفركتوز ٦- فوسفات أو الريـليلوز ٥ - فوسفات عبر تفاعل phosphoketolase (PK) .

وحيث أنه لا يوجد تفاعل PK فى بكتريا الايدروچين فإن الافتراض الأول هو الطريقة الوحـيدة الممكـنة والانـزيم الذى يلامس هذا التفاعـــل هـو بيروفـــات ديهيدروجينير (EC 1.2.4.7) .

$$\text{Pyruvate} + \text{COA-SH} + NAD^+ \xrightarrow{\text{DH}} \text{acetyl-COA} + CO_2 + NADH.H^+$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- وتحت الظروف الهيترتروفية فإن بكتريا الايدروچين تستخدم دورة حمض الستريك (TCA) كمصدر تخليق ATP وسحب استيل كوانزيم A من هذه الدورة لتخليق بيتاهيدروكسى بيوترات سيكون على حساب تخليق ATP حيث لن تعمل دورة TCA بطريقة مثلى .

- وعموماً استيل كوانزيم A المتكون عبر النمو الاتوتروفى أو الهيترتروفى لبكتريا الايدروچين يحدث له عملية Carboxylation إلى malonyl CoA الذى يدخل فى تكوين بولى هيدروكسى بيوترات . وتكوين المالونات يبدو كخطوة أولية لتخليق الليبيدات أو البروتينات فى وجود مصدر N . وسرعة تكوين هيدروكسى بيوترات أسرع بكثير تحت الظروف الهيترتروفيه عن الاتوتروفية .

- وتستطيع بكتريا الايدروچين استخدام بعض الكربوهيدرات كمصدر للكربون مثل الجلوكوز والفركتوز والريبوز والجلوكونات . وتتم تحولات الجلوكوز عبر دورة Entner & Doudoroff (ED) ، ويدل وجود انزيم 6-phospho gluconate dehydrogenase فى بعض بكتريا الايدروچين على حدوث نشاط عن طريق دورة HMP .

- "Hydrogen effect" وهى ظاهرة تطلق على التأثير المثبط لجزئ الايدروچين على تكوين الانزيمات لدورة ED مما يسبب نقص فى معدل النمو أو تكوين هيدروكسى بيوترات بنسبة ٨٠ ٪ . وتستطيع بكتريا الايدروچين تكوين البولى فوسفات تحت الظروف الهوائية من الارثوفوسفات ودورها يبدو لتزويد الخلية بالفوسفات (مركب تخزين) .

وعموماً يمكن اعتبار أن تمثيل العناصر الغذائية العضوية لتكوين مادة الخلية اما الطاقة اللازمة لعمليات التخليق فتشتق من أكسدة الايدروچين .

٤٠٦ بكتريا أكسدة الحديد Iron-Oxidizing bacteria

تتم تحولات الحديد الميكروبية من خلال طريقين :

١ - الكائنات المتخصصة التى تؤكسد أيون الحديدوز إلى الحديديك كمصدر للطاقة مثل بعض الطحالب الخضراء المزرقة وبكتريا الحديد الحقيقية مثل :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Ferrobacillus ferrooxidans , Gallionella , Thiobacillus ferrooxidans

٢ - بواسطة الميكروبات الغير متخصصة والتى تستطيع تحويل بعض المواد العضوية المحتوية على الحديدوز وينطلق الحديديك فى صورة $Fe (OH)_3$ أو يخلب داخل غلاف الخلية Cell Sheaths .

وسيكون الحديث تفصيلاً عن المجموعة الأولى التى تؤكسد الحديد كمصدر للطاقة .

ميكروب *Ferrobacillus ferrooxidans*

- المعلومات المتاحة عنه محدودة ربما بسبب نقص الطرق المناسبة للحصول على نموات كافية منه . حيث يلزم لإنتاج ١-٢ جرام خلايا حوالى ١٨ لتر بيئة .
- يشتق الميكروب طاقته من التفاعل التالى :

$$4\,Fe\,CO_3 + O_2 + 6\,H_2O \longrightarrow 4\,Fe\,(OH)_3 + 4\,CO_2$$

$$\Delta F = -\,40\ Kcal\,/\,mole$$

ومثل باقى Chemolithotrophs فإن مشكلة تكوين ATP والقوة المختزلة $NAD(P)H_2$ تظل قائمة . وتعلل الدراسات الأولية لـ Aleem & Lee سنة ١٩٦٣ ذلك بحدوث انتقال الكترونى من Ferro Cyt.C إلى NAD^+ فى مستخلص الخلايا . وثبت أنه يحتوى على سيتوكرومات a ، b ، c وأن :

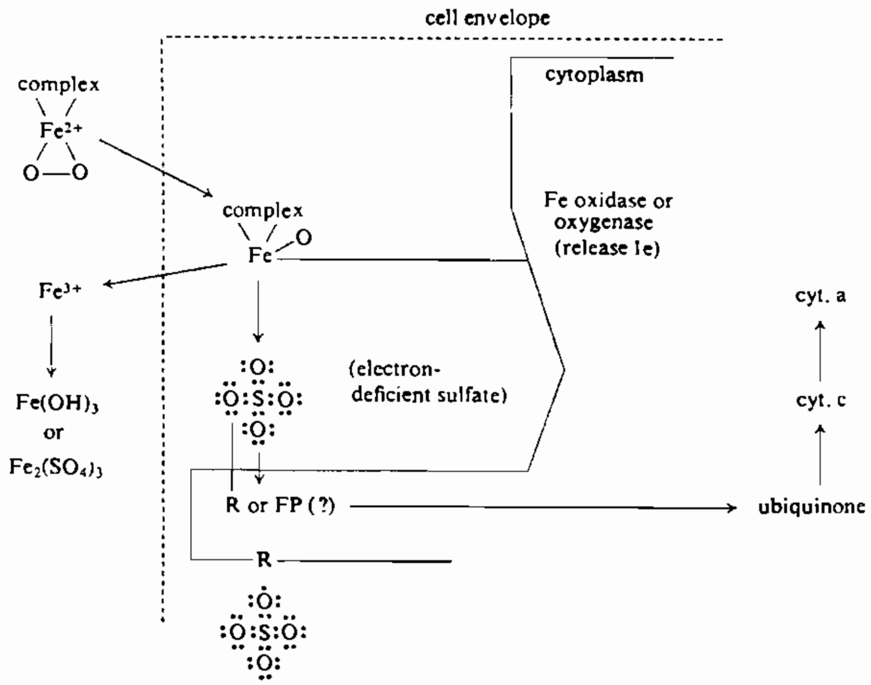
$$Em\ of\ Fe^{2+} / Fe^{3+} = 770\ mV$$

وهذا الجهد ينقص عندما يرتبط الحديد مع انيون مثلاً الاكسالات حيث جهد اكسالات الحديد يصل تقريباً إلى الصفر عند pH حوالى 7 . . وممكن أن يكون التفاعل الانزيمى للسيتوكروم C مع ايون الحديدوز تفاعل منتج للطاقة كما هو الحال مع انزيم iron-Cyt.C reductase (EC 1.9.99.1) الذى له القدرة على نقل الالكترون من ايون الحديدوز إلى سيتوكروم C .

- ويصاحب أكسدة الحديدوز إلى الحديديك تكوين حمض الذى هو عادة حمض الكبريتيك . ولذا عند وضع أى تصور لأكسدة الحديد فلابد أن يوضع فى الاعتبار

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الاحتياج إلى $SO_4^{=}$ وكذا دخول Fe^{2+} لداخل الخلية أو بقاؤه مرتبطاً على سطحها وهذا يقودنا للتصور التالى :



شكل (٦-٦) : أكسدة الحديدوز بواسطة *Ferrobacillus Ferrooxidans*
ويلاحظ ارتباط السلفات مع مجموعة R (فلافو بروتين)

ومن الرسم يتضح أنه يتكون أولاً معقد حديد - أكسجين والحديد فى هذا المعقد oxygenated وليس oxidized حيث لم يحدث انتقال للالكترون . وهذا المعقد يتكون اما فى المحلول أو على سطح الخلية حيث يتفاعل مع Fe - oxi- (oxygenase) dase وينطلق الكترون الذى ينتقل إلى الخلية عبر السلفات أو الفلافوبروتين (FP) ثم عبر ubiquinone إلى Cyt. C ومنه لـ Cyt. a وأخيراً إلى الاكسچين كمستقبل نهائى . بينما يتأكسد الحديدوز إلى الحديديك وينطلق فى صورة ايدروكسيد أو كبريتات الحديديك ويعتقد أن خطوة انتقال الالكترون إلى Cyt. C يقابلها خطوة فسفرة كما فى اجناس *Nitrobacter* ، *Nitrosomonas* .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- وتتكون القـوة المختزلة NAD (P) H_2 فى خطوة انسياب الكترونى عكسى لأنه لا يمكن تكون معقد حديد ذو جهد أكبر من (Em - 320 mV) لنظام $NAD^+ / NADH.H^+$. وهذا يعنى وجود نفـس سلـلة انتقال الالكترون السـابق شرحها فى *Nitrosomonas* (شكل ٦-٢ السابق) .

- ويستـطيع ميـكروب *F. ferrooxidans* النمـو أيضاً على الكـبريت المعدنـى وأكسدة النيتريت .

- وأثبـتـت الـدراسات الحديـثة ان *F. ferrooxidans* ليس اوتوتـروفـى حتمى ولـكنه اختيارى . حيث بعد فتـرة تأقلم على الجلوكوز يستطيع الميكـروب النمو على الجلوكوز وأيضاً على المانيتول وبعض السـكريات الأخرى .

وتحولات الجلوكوز الهوائية بواسطة الميكروب تتم عبر دورة EMP - حيث لم يكشف وجود ٦- فوسفوجلوكونات ديهيدروجـنيز - ثم يكمل تحوله عبر دورة TCA . ونظام الهدم هـذا يعدّل نظام انتقـال الالكترون حيث تسـتطيع الالكـترونات دخول السلـسلة التنفسيـة عند مستوى $NAD^+ / NADH.H^+$. ولإعادة تـكوين الأحمـاض ثنائـية الكربوكسيـل المستخدمة فى أغراض التخـليق الحيوى فإنه الميكروب يمـتلك أيضاً انزيم phosphoenolpyruvate Carboxylase الذى يعمل كـ anaplerotic enzyme فى تكوين الاكسالواسيتات ولا تستطيع البيروفات ولا حتى البيروفات المرتبطة بـ ATP ان تحل محل فوسفو انيول بيروفات (PEP) وينشط انزيم PEP - Carboxylase بواسطة اسيتيل كوانزيم A ويثبط بواسطة الاسبارات asparate . وتشير كل الـدلائل على أن الميكروب ليس mixotroph بل ينمـو اوتوتروفيا وبعد التـأقلم على الجلوكـوز يصبح هتيرتروفيا .

ميكروب *Thiobacillus ferroxidans*

يعطى الاحتيـاج للكبريتات وتأثير الـفوسفات ومعدل أكسدة الحديد بـعض الانطباع ان التحولات الاتوتروفـية لهذا الميكروب تتشابـه مع سابقه *Ferrbacillus ferrooxidans* مع اختلاف هام وهو قدره الميكروب على أكسدة مـركبات الكبريت المختزلة مثل H_2S بالإضافة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

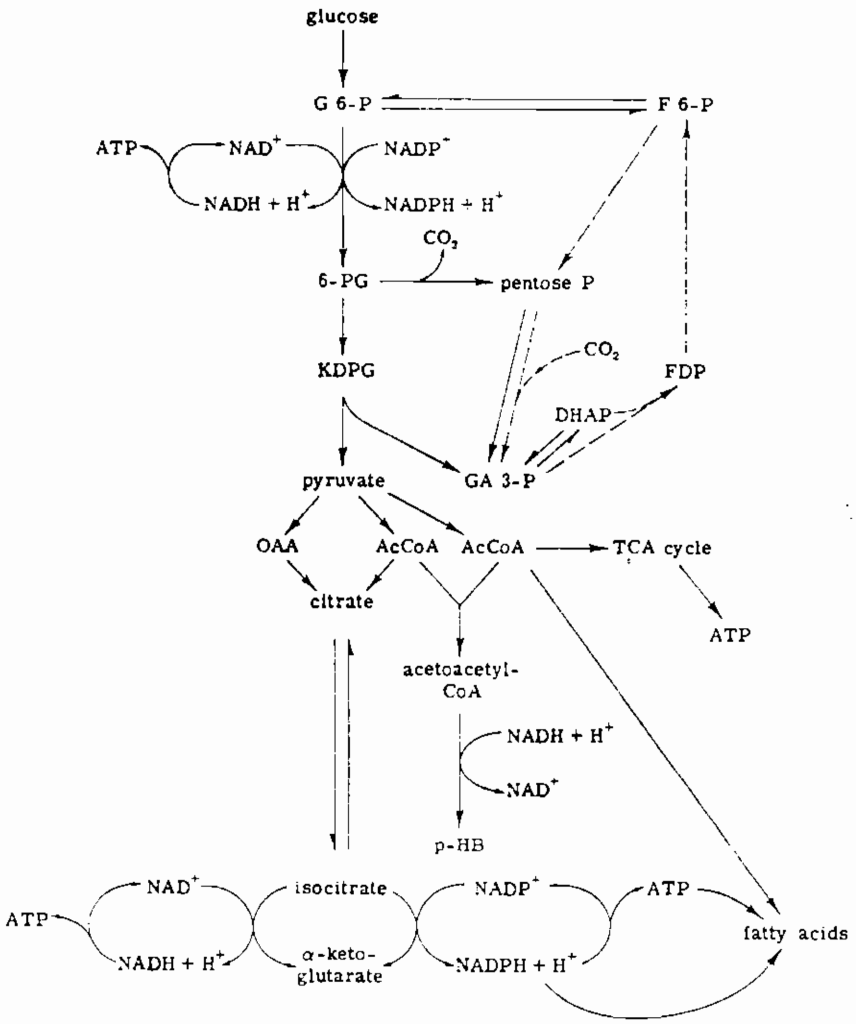
لأكسدة الحديدوز . ومعدل أكسدة مركبات الكبريت أقل بكثير عن معدل أكسدة الحديدوز . وبحسابات المولر فإن الميكروب يستطيع أكسدة ١٨٠ مول حديدوز تقريباً فى نفس الوقت الذى يحتاجه لأكسدة ١مول كبريت . وهناك فرق آخر بينما تستطيع *F. ferrooxidans* استخدام الجلوكوز عبر دورة EMP ولا تستطيع النمو mixotroph فإن *Thiob. ferrooxidans* يهدم الجلوكوز عبر دورة ED مثل بكتريا الايدروچين وتستطيع النمو mixotrophically .

وفى تجربة باستخدام جلوكوز $[C^{14}]$ وجد أن انزيمات دورة ED يزداد نشاطها إذا نمى *Thiobacillus ferrooxidans* على بيئة تحتوى الحديد والجلوكوز أو الجلوكوز فقط . والخلايا النامية تحت ظروف هيترتروفيه لها القدرة على اتمام دورة TCA كاملة بينما الخلايا النامية اوتوتروفيا تفتقد انزيمات ∝ - كيتو جلوتارات ديهيدروجينيز ، NAD_2-oxidase . كذلك وجود نوعين من isocitrate dehydrogenases ذو أهمية حيث الانزيم المرتبط بـ NAD^+ هو Constitutive ومسئول عن انتقال الالكترونات بينما الانزيم المرتبط بـ $NADP^+$ هو adaptive للنمو الهيتروفى ويستخدم لأغراض التخليق الحيوى .

أما إعادة تكوين الأحماض ثنائية الكربوكسيل اللازمة لتخليق الأحماض الامينية أو الدهنية فيستخدم انزيم Pyruvate Carboxylate وليس PEP-Carboxylase . كما يشير المستوى المنخفض من انزيم Fructsose diphosphate aldolase إلى أن دورة EMP تستخدم فقط عكسياً (gluconeogenesis) لأغراض التخليق الحيوى .

وبناء على كل الاعتبارات السابقة فإن تصورات التحولات الايضية التى يقوم بها ميكروب *Thiobacillus ferrooxidans* يمكن تلخيصها فى الرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٦-٧) : النمو الاتوتروفي (---) والنمو الهتيروتروفي (———)

والتحولات الايضية في ميكروب *Thicbacillus ferrooxidans*

نقلاً عن : Tabita & lundgren, 1971

G 6-P: glucose 6-phosphate; F 6-P: fructose 6-phosphate; 6-PG: 6-phosphogluconate; KDPG: 2-keto-3-deoxy-6-phosphogluconate; DHAP: dihydroxyacetone P; OAA: oxalacetate; p- HB: poly β-hydroxybutyric acid; GA 3-p: glyceraldehyde 3-p; FDP: fructose diphosphate.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ومن الملاحظات الجديرة بالذكر التى يمكن استخلاصها من الرسم السابق الآتى :

- وجود تفاعل Transketolase - Transaldolase مما يشير لإمكانية حدوث دورة HMP أيضاً .
- وجود انزيم جلوكوز ٦- فوسفات ديهيدروجينيز المرتبط بالمرافقات الانزيمية NAD^+ ، $NADP^+$ ويعتبر مفتاح (key) دورتى HMP ، ED ويمكن تثبيطه بواسطة NAD المختزل وكذا ATP . ولا يشاهد تأثير allostery له بعكس بكتريا الايدروچين .. ولم يعرف بعد هل لذلك دخل فى وجود كلا الدورتين (ED , HMP) فى *Thiob. ferrooxidans* بينما دورة ED فقط فى بكتريا الايدروچين .
- ميكانيكية تنظيم regulatory mechanism للنمو الاتوتروفى أو الهتيرتروفى لم تكتشف بعد وربما يلعب glucose 6 - DH ، iso citrate DH دوراً هاماً فى ذلك .
- انتقال الالكترون تحت الظروف الهتيرتروفية بسيط جداً :

$$NAD \longrightarrow Cyt.\ C \longrightarrow Cyt.\ a \longrightarrow O_2$$

وتتكون خلاله كل ATP المطلوب .

بكتريا الحديد الغير متخصصة Other iron bacteria

يستطيع عدد من البكتريا أكسدة الحديدوز ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) وأيضاً مركبات المنجنيز ($Mn^{2+} \rightarrow Mn^{4+}$) وترسيبها فى أغلفتها Cell Sheath . وهى تقع فى أجناس عديدة ووضعها التقسيمى غير مستقر للآن ومن أمثلتها :

Leptothrix discophorus

Leptothrix ochracea, Sphaerotilus natans

وهى ميكروبات تنمو فى سلاسل طويلة مرتبطة ببعضها بغلاف رقيق Sheath ولذا تبدو خيطية ولها القدرة على تكوين بولى - بيتا هيدروكسى بيوتيرات عند إضافة الجلوكوز للبيئة . ويزداد معدل تكوين البولمر فى وجود ايونات المنجنيز والماغنسيوم اما الكالسيوم فتحتاجه فى تكوين الغلاف .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ومن الأجناس الأخرى لبكتريا أكسدة الحديد :

Siderocapsa, Siderophaera, Siderobacter, Sideromonas

ومن أهم الأجناس *Gallionella* وقد اكتشف حديثاً قـدرته على تمثيل ك أ٢ اوتوتروفيا مـن خلال دورة الـريبـلـوز بيـوفوسـفـات وامتـلاكه لانـزيم Ribulose biphosphcte carboxylase ولذا وضع فى مجموعة Lithotrophic bacteria .

٥٠٦ بكتريا اكسدة الكبريت Sulfer - Oxidizing bacteria

- تحصل على الطاقة من أكسدة مركبات الكبريت المعدنية لتكوين الكبريتات كناتج نهائى .

$$\left.\begin{matrix} H_2S \\ S^o \\ S_2O_3^{=} \\ S_4O_6^{=} \end{matrix}\right\} \xrightarrow{O_2} SO_4^{=}$$

- وهى تقع فى عدة أجناس حسب الشكل المورفولوجى والصفات الفسيولوجية والبيئية .

1 - *Thiobacillus*
2 - *Thiospira*
3 - *Thiomicrospira*
4 - *Thiospheara*
5 - *Thiovulum*
6 - *Acidophilium*

ومنها الخيطية الشكل مثل : *Thiothrix , Thioplaca , Beggeatoa spp.*

- وينتشر وجودها فى ماء الـبحر والتربة ومياه المجارى والعيون الكبريتـية وأغلبها هوائية حتمية ما عـدا بعضها الذى يستخدم بـدائل الاكسجين مثل النترات والحـديديك (تنفس لاهوائى) .

- أهـم أجنـاسها *Thiobacillus* ومعظـــم أنواعـــها Species اوتوتروفية حتمية مثل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

T. thiooxidans ، *T. neapolitanus* ، *T. thioparus* وبعضها mixotrophs مثل *T. novellus* ، *T. intermedivs* ، *T. perometabolis* .

ولعمل تصور عام للتحولات الايضية لهذه الميكروبات توجد عقبتين :

أ - نوع المركب الكبريتى الذى سيتأكسد حيث يوجد ثيوسلفات ، ثيوسلفيت ، الكبريت المعدنى، الكبريتيد .

ب - مشكلة النفاذيه كما نوقشت فى بكتريا الحديد .

وبالنسبة للعقبة الأولى فقد قسمت إلى أربع طرق :

(١) أكسدة الثيوسلفات إلى التتراثيونات والتى تتأكسد إلى الكبريتات كما فى *T. thiooxidans* :

$$6\,Na_2S_2O_3 + 5O_2 \longrightarrow 4\,Na_2SO_4 + 2\,Na_2S_4O_6$$

$$2\,Na_2S_4O_6 + H_2O + O_2 \longrightarrow 2\,Na_2SO_4 + 6\,H_2SO_4$$

(٢) أكسدة الثيوسلفات أولاً إلى الكبريت والذى يتأكسد إلى الكبريتات ويمثلها *T. thioparus* :

$$5\,Na_2S_2O_3 + H_2O + 4O_2 \longrightarrow 5\,Na_2SO_4 + H_2SO_4 + 4\,S$$

$$2\,S + 3\,O_2 + 2\,H_2O \longrightarrow 2\,H_2SO_4$$

(٣) أكسدة الثيوسلفات مباشرة إلى الكبريتات ويمثلها *T. novellus* .

$$Na_2S_2O_3 + 2\,O_2 + H_2O \longrightarrow Na_2SO_4 + H_2SO_4$$

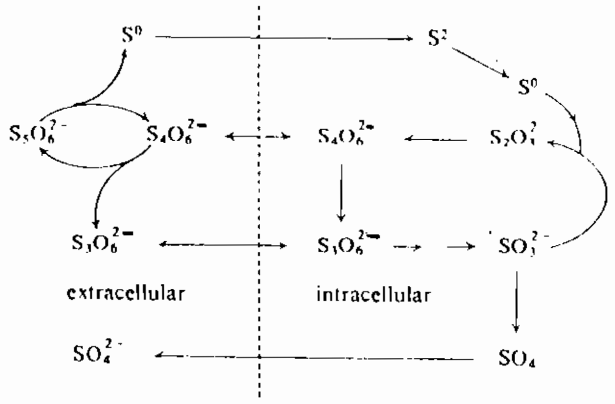
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(٤) أكسدة الثيوسلفات إلى التراثيونات والكبريتات ويصاحبه ارتفاع ملحوظ فى pH ويقوم به بعض mixotrophs :

$$2\,Na_2S_2O_3 + H_2O + \frac{1}{2}\,O_2 \longrightarrow Na_2S_4O_6 + 2\,NaOH$$

واما بالنسبة للعقبه الثانية (مشكلة النفاذية) فقد اتضح من الدراسات التى أجريت فى وجود ميكروب *Thiobacillus* sp. ان الثيوسلفات تلعب دور المفتاح key فى تحولات الكبريت وان اختزال S^0 المعدنى إلى S^{2-} يحتاج لوجود الجلوتاثيون glytathione المختزل مظهراً إمكانية وجود permeability barrier ووظيفته غير انزيمية وهى تشبه لما حدث فى أكسدة الحديد بواسطة *Ferrobacillus* sp. التى تحتاج إلى السلفات لانتقال الالكترون إلى داخل الخلية.

وعموماً يمكن وضع تصور عام لطريقة انتقال مركبات الكبريت فى Thiobacilli كما يلى :



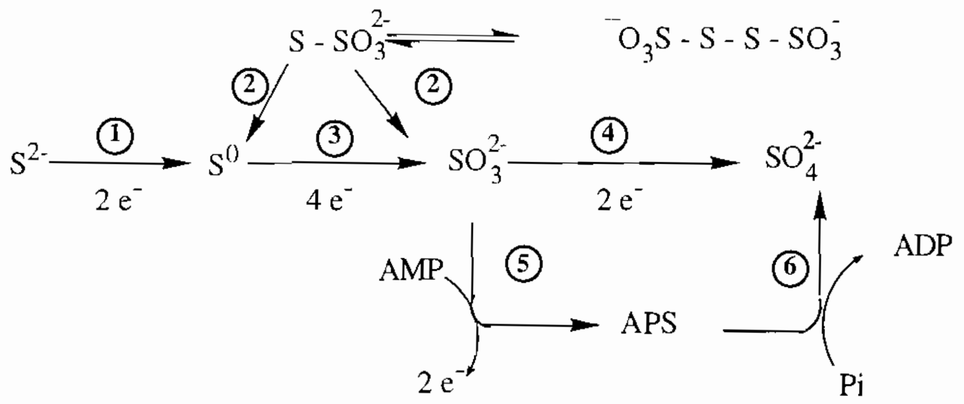
شكل (٦-٨) : انتقال وأكسدة مركبات الكبريت بواسطة Thiobacilli

ومنه نتبين أن S^{2-} فقط تستطيع دخول الخلية بينما بقية التفاعلات تحدث على سطح الخلية وتحتاج للحامل .

ومما يؤيد نظرية permeability barrier أنه وجد أن SO_3^{2-} يثبط أكسدة الثيوسلفات فى مستخلص الخلايا .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

* دورة اكسدة مركبات الكبريت وكيفية الحصول على الطاقة :



شكل (٦-٩) : ميكانيكية اكسدة مركبات الكبريت وتكوين الطاقة

وأهم الانزيمات المشاركة فى هذه التفاعلات هى :

(١) Sulfide Oxidase ويحتاج لوجـود الجلوتاثيون الذى يؤكـسد السلفيد إلى الـكبريت المعدنى .

(٢) rhodanese redcutase (EC 2.8.1.1) الذى يشق Cleavage الثيوسلـفات $S_2O_3^{2-}$ إلى $SO_3^{2-} + S^O$.

(٣) Sulpher oxidase (EC 1.13.11.18) الذى يؤكسد الكبريت المعدنى إلى ثيوسلفات وهو عبارة عن oxygenase محتوى على الحديد .

(٤) Sulphite oxidase (EC 1.8.3.1) الذى يؤكسد السلفيت إلى السلفات .

(٥) APS - reductase (adenylyl sulfate reductase) (EC 1.8.99.2) ويلامس تكوين ادينوسين فوسفوسلفات .

(٦) Sulfate adenylyl transferase (EC 2.7.7.5) أو يـطـلـق عـلـيـه ADP-Sulphurylase وهو يلامس تكوين السلفات ، ADP .

ويبدو أن الالكـترونات الناتجة من أكـسدة السلفيت مـباشرة إلى السلفـات (تفاعل ٤) تدخل السلسلة التنفسية قبل مستوى Cyt. C كما بالرسم التالى .

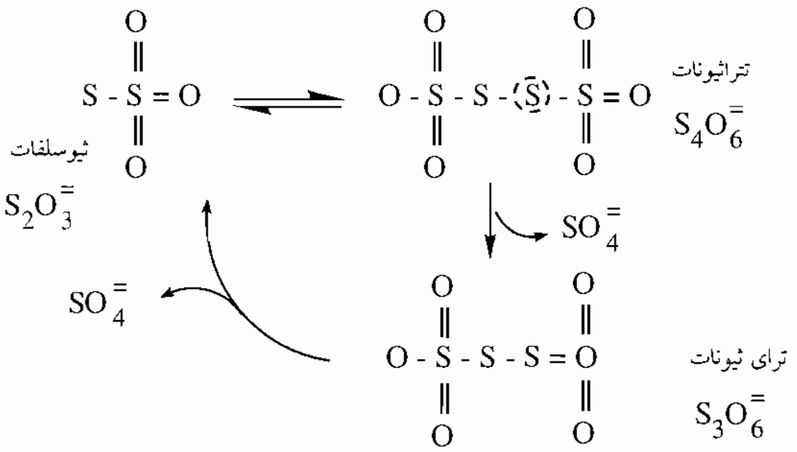
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$SO_3^{2-} \xrightarrow{2e^-} Q_28 \longrightarrow Cyt.b \longrightarrow Cyt.\ c \longrightarrow Cyt.\ a_1 \longrightarrow O_2$$
$$\downarrow SO_4^{2-}$$

وتتلازم خطوة الأكسدة المباشرة هذه مع عمليــة فسفرة مؤكسدة حيث تدخل الالكترونات عند مستوى الفلافين أو الكينون كما سيلى شرحه . (ص٢٦٢)

وبعض Thiobacilli مثل *T. denitrificans* ، *T. thioparns* يمكنها استخدام الطاقة الناتجــة مـــن أكـــسدة الـسلفيــت إلـــى الـسلـفات بطريقة الـفسفرة عــــند مستوى مــــادة التفاعـــل Substrate level phosphorylation (تفاعـــل ٥ ، ٦) بتأثـــير انزيـــــم ATP : AMP phosphotransferase (EC 2.7.4.3) أو مــــــا يـعــرف بـــ adenylate kinase . ويتكون امول ATP لكل امول سلفات ناتج

- وهناك طـريقة أخرى لأكـــسدة الثيوســلفات حيث يــرتبط ٢ مول ثيــوسلفات لتــكوين التراثيونات tetrathionate والتى تتأكسد بالتالى إلى trithionate ثم فى النهاية إلى thiosalfate منتجه ٢ مول سلفات أثناء الدورة الحلقية كما بالرسم التالى :

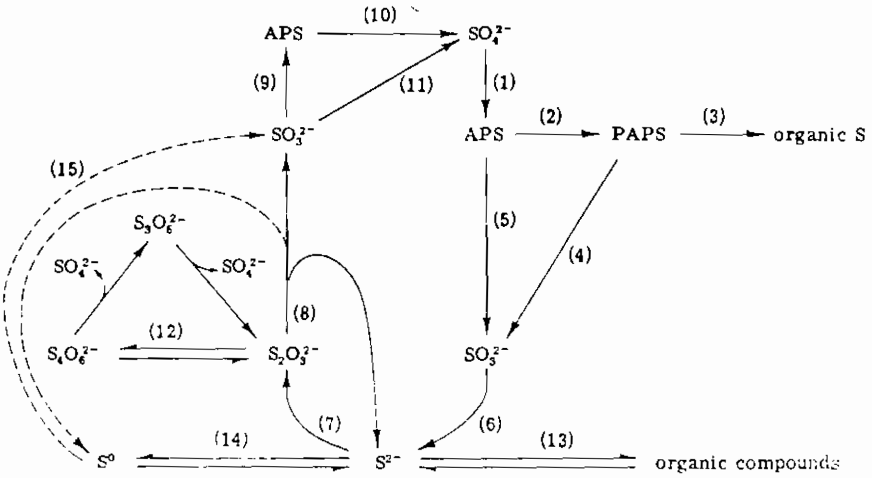


شكل (٦-١٠) الدورة الحلقية لاكسدة الثيوسلفات

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والتتراثيونات لا تعمل كمادة تفاعل Substrate لتكوين ATP إلا فى وجود الجلوتاثيون حيث تتأكسد سريعاً بطريقة غير انزيمية إلى الثيوسلفات . وأكسدة التتراثيونات تثبط عند ١٠ ٪ أكسچين بينما تنشط تحولاتها تحت الظروف اللاهوائية .

فإذا ربطنا بين كل تفاعلات دورة الكبريت فى الطبيعة متضمنا dissimilatory redcution فى (*Desulfovibrio*) ، assimilatory reduction فى (النبات ، الثدييات) ، (Thiobacilli) Sulfer oxidation ، فإن الدورة تبدو كما بالرسم التالى :



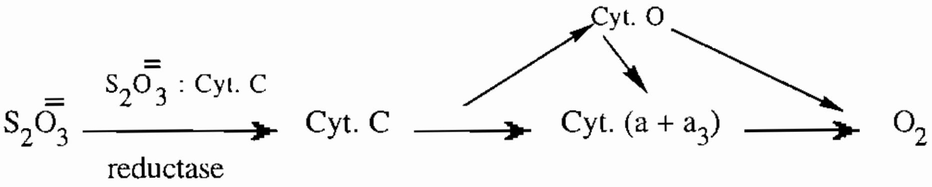
شكل (٦-١١) : تفاعلات أكسدة واختزال المركبات الكبريتية فى الطبيعة
نقلاً عن Doelle سنة ١٩٧٥

ومن الرسم : فإن تفاعلات (١) ، (٥) ، (٦) تستعمل بواسطة ميكروبات اختزال الكبريت الهدمى dissimilatory ، تفاعلات (٢) ، (٣) (٤) تستعمل بواسطة مختزلات الكبريت النبائى assimitltory ، التفاعلات من (٧) إلى (١٢) وكذا (٤) بواسطة Thiobacilli وتفاعل (١٣) بواسطة أغلب الميكروبات . ولقد ذكرت الانزيمات التى تلامس هذه التفاعلات بأرقامها الكودية كل فى موضعه سابقاً .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

- عمـلية تمثـيل ك أ٢ اوتوتروفـيا بـواسطـــة Thiobacilli تحتـاج لـــقـوة مخـــتزلة $(NAD\ (P)\ H_2)$ بالإضافة إلى ATP . حيث يرتبط نظام أكسدة الثيوسلفات (انتقال الثيوسلفات عبر الغشاء الخلوى وما يتـبعه من أكسدة) مع انتقال الالكترونات . وانزيم تنشيط الثيـوسلفات يسمى Cyt. C reductase : $S_2O_3^{2-}$ وهو لا يدخـل فى عملـية الفسفرة المؤكسدة .

وكما يتضح فإن انتقال الالكترونـات إلى جزئ الاكسجين يمر خلال سيتوكرومات c ، o ، a ، a_3 وهذا يقابله تكوين ATP وتصل p/O ratio إلى 1.0 .



والاختزال المباشر لـ NAD (P) بواسطة مركبات الكبريت المعدنية يستحيل حدوثه من الناحية الثرموديناميكية لأنه يتضمن تفاعل ماص للطاقة .

$$(S^{2-} + HS^{+} + H_2S) + 3\ H_2O + 3\ NAD\ (P) \longrightarrow SO_3^{2-} + 3\ NAD\ (P)\ H + 5H^{+}$$

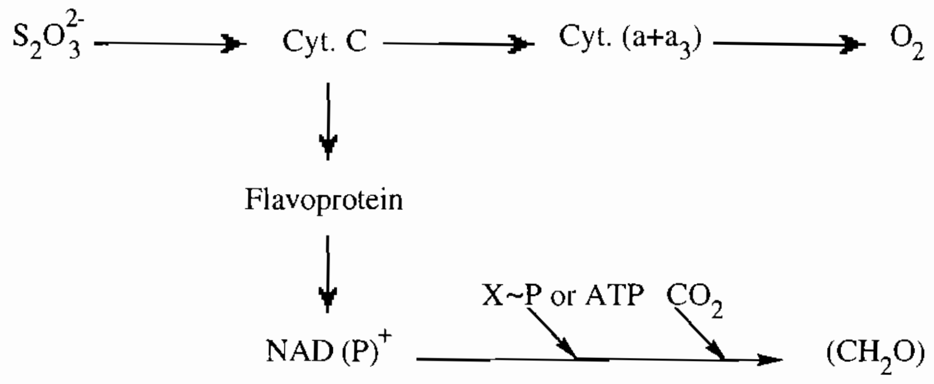
$$\Delta F = +\ 186\ Kcal/mole$$

$$SO_3^{2-} + H_2O + NAD\ (P) \longrightarrow SO_4^{2-} + NAD\ (P)H.\ H^{+}$$

$$\Delta F = +\ 3.7\ Kcal/mole$$

لذا طريقة تـكوين القوة الاختزالة اللازمة لـتثبيت ك أ٢ يتم بواسطة انسـياب الكترونى عكـــسى Reverse ATP- driven election transport حـيث تتجـه الالكترونات مـــن Cyt. C إلى الفلافوبروتين بدلا من الاكسجين كما هو بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

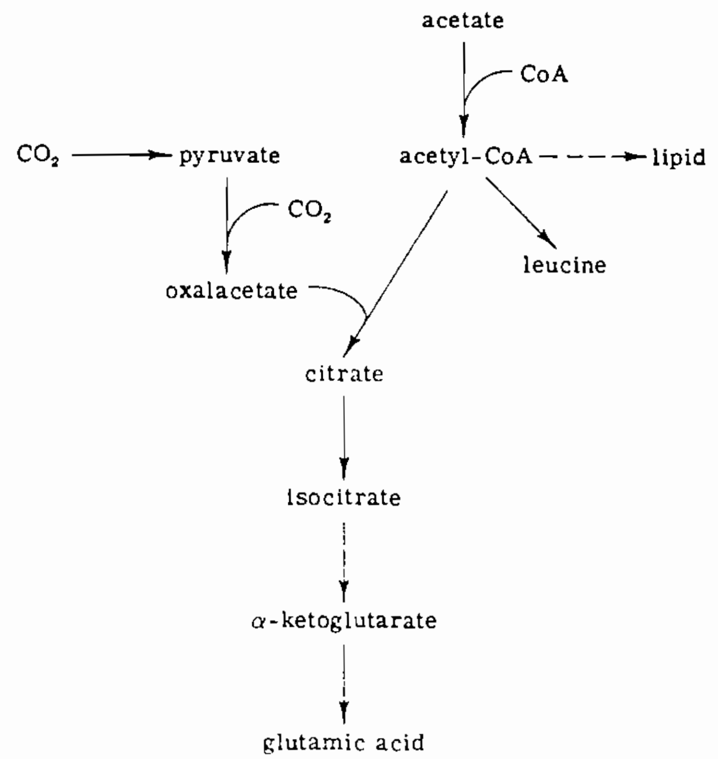


شكل (٦-١٢) : نظام انتقال الالكترونات فى Thiobacilli

ودخول الالكترونات يتم عند مستوى الفلافين مما يقّصر طول سلسلة انسياب الالكترون العكسى ولذا فالطاقة الناتجة من الميكروبات الاتوتروفية عموماً قليل .

- بعض أنواع Thiobacilli يستطيع استخدام المواد العضوية مثل حمض الاسبارتيك ، مستخلص الخميرة ، جلوتامات ، استيات . . . إلخ ، ولكن لا يوجد نمو فى غياب الثيوسلفات . وفى كل الأحوال يثبط تخليق انزيم الريبلوز بيوفوسفات كربوكسيليز الخاص بدورة كالفن وتثبيت ك أ٢ اوتوتروفيا فى وجود هذه المواد العضوية .
وتمثيل هذه المركبات العضوية يعطى الدليل على وجود انزيمات دورة TCA فى *T. thoparus* .
أما ميكروب *T. neapolitanus* الاتوتروفى الحتمى فيستطيع تنشيط بعض الأحماض الامينية الخارجية لإدخالهم مع ك أ٢ فى تكوين البروتين أو لتخليق البرولين والارجنين من الجلوتامات وكذا الادينين والجوانين من الجليسين وتشبه ميكانيكية التخليق الحيوى فى هذا الكائن تقريباً الكائنات الهيتروتروفيه مع الاحتياج للطاقة الاوتوتروفية .
وأشهر مثال على ذلك تنشيط الأسيتات إلى اسيتيل كوانزيم A واستخدامها كمصدر رئيسى لتخليق الليبيدات والأحماض الامينية ثم تكثيف acetyl CoA مع الاكسالواستيات (المتكونة من تثبيت ك أ٢) لتكوين السترات كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٦-١٣) : تحولات الاسيتات بواسطة الاتوتروفى الحتمى *T. neapolitanus*

- وبعض أفراد thiobacilli الـ mixotroph مثل *T. novellus* يستطيـع النمو تحت ظروف هتـيرتروفية كـاملة ولا تحتاج إلى الـطاقة الاتوتروفـية . ويبدو وجود تـغيرات جوهرية فى بناء الغشاء السبتـوبلازمى وكذا امتلاك الميكروب لكل انزيمات دورة TCA ودورة glyoxylate . كما يمتلك انزيم .glutamate dehydrogenase المرتبط بالمرافقات الانزيمية $NADP^+$ ، NAD^+ والذى يلعب دوراً تنظيمياً فى تخليق الجلوتامات بالذات حيث ينظم AMP (الذى يتكـون أثناء عمليات التـخليق الحيوى) التـوازن بين بناء وهدم الجلـوتامات . ويسـتطيع مـيكروب *T. novellus* استـعادة قدرته عـلى النـمو الاتوتروفى بمجرد توافر ك أ٢ وبعض الأحماض العضوية فى البيئة مع الثيوسلفات .
- وعملـية تنظيم الـنمو الاتوتروفـى والهيترتـروفى تتم عند مـستوى glucose 6-P dehydrogenase ، isocitrate DH ، ∝ keto glutarate DH المرتبطة بـ NAD (P) حيث **تحت الظروف الاتوتروفية** يكون أكسدة الثيوسلفات فى أقصى معدلاتها بينما يقل نشاط انزيـات هدم الجلوكوز **بينما تحـت الظروف الـ mixotroph** يقلل

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وجود المواد العـضوية من الطاقة اللازمـة للنمو ويثبط نـظام أكسدة الثيوسلـفات وتحفز انزيمات هدم الجلوكوز . **وفى الظروف الهيتروتروفية** وغياب الثيوسلفات فإن دورتى ED ، TCA تصـبحان فى أقـصى معدلاتـهما . والـتحكم فـى انزيم G-6P DH (بواسطة ATP الذى يثبط هذا الانزيم) هو الذى يحدد الدورة المستخدمة وتشبه فى ذلك بكتريا الايدروچين .

- ونظام تكوين الطاقة فى thiobacilli الهيتروتروفية غير واضـح للآن ويبدو أنها تمتلك نظام الانسيـاب الالكترونى العكسى . وفـى هذه الحالة فإن أكسدة الأحمـاض العضوية تنتج مكونات وسطية بالخـلية عالية الطاقة مثل ATP أو مشتقاتها (~X) التى تعكس الانسياب الالـكترونى العادى فى الـسلسلة التـنفسية بحيـث تختزل NAD^+ بواسـطة Cyt. C كما فى بقية الاتوتروفيات .

$$\text{Succinate} + \text{FP} \longrightarrow \text{Fumarate} + \text{FPH.H}^+$$

$$\text{FPH.H}^+ + 2\ \text{Cyt. CFe}^{3+} + (\text{X}) \longrightarrow (\sim\text{X}) + \text{FP} + 2\ \text{Cyt. CFe}^{2+} + 2\ \text{H}^+$$

$$(\sim\text{X}) + 2\ \text{Cyt. CFe}^{2+} + \text{NAD}^+ + 2\ \text{H}^+ \longrightarrow (\text{X}) + 2\ \text{Cyt. CFe}^{3+} + \text{NADH.H}^+$$

ويمكن تلخيص المعادلات السابقة فى الصورة التالية :

$$(\text{Succinate} \xrightarrow{2\text{H}^+} \text{FP} \longrightarrow \text{Cyt. C Fe}^{3+} \longrightarrow \text{NAD}^+ \longrightarrow \text{NADH}_2)$$

أو أن يتأكسد Cyt. C مباشرة بواسطـة جزئ الاكسـچين مع إنتاج مركب غـنى الطاقة (~X) .

$$2\ \text{Cyt. CFe}^{2+} + 2\ \text{H}^+ + \frac{1}{2}\ \text{O}_2 + (\text{X}) \longrightarrow 2\ \text{Cyt. CFe}^{3+} + \text{H}_2\text{O} + (\sim\text{X})$$

وهذا المركب الـغنى بالطاقـة يتكون عند مسـتوى السيتوكـروم اكسيديز الطـرفى ويمكن استخدامه فى انتقال الالكترون العكسى لاختزال $NAD(P)^+$.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦٠٦ الفرق بين الميكروبات الاتوتروفية والهتيرتروفية

سبق تعريـف الميكروبات الاتوتروفيـة بأنها التى تستـطيع الحصول على طاقـتها اما من الضوء (الفوتوتروفية) أو أكـسدة المواد الغير عضوية (Clemolithotroph) واستخدام ك أ٢ كمصدر كربون وحيد وتمـثيله إلى مادة الخلية من خلال دورة كالفن (الريـبولوز بيوفوسفات) ولكن وجد أن عدد ليس بالقليل من ميكروبات المجموعة السابقة يستطيع النمو تحت الظروف الهتيروتروفيـة فيما يسمى border line cases . وثبت أن التـركيب الخلوى متـشابه فى الاتوتروفية والـهتيرتروفية وان كليـهما يملكان نفس الانزيمـات ويحتاجان نفس الفيـتامينات والمرافقات الانزيميـة بل يملكان نظام الفسفـرة لتكوين ATP مع تميز الاتوتروفيـة بامتلاكها بعض الانزيمات الإضافيـة لتمكينها من أكسدة الأملاح الغـير عضوية واختزال ك أ٢ لتخليق مادة الخلية .

فلماذا لا توضع الميكروبات الاتوتروفية مع الهتيرتروفية خاصة أن بعضها يستطيع تمثيل الجلوكوز ولكن ليس كمصدر للطاقة ؟

حاول Kelly سـنة ١٩٦٧ وضـع تعريـف يتضـمن ٦ نـقاط (مـنفردة أو مـجتمـعة) للميكروبات الاتوتروفية .

(١) نقاذيتها المحدودة للمواد العضوية .

(٢) عدم مقدرتها على أكـسدة المواد العضوية للحصول على الطاقة أى حـتى فى حالة نفاذية بعض المواد الـعضوية خلال الغشـاء فإن الميكروب لا يستـطيع الحصول علـى طاقة من أكسدتها .

(٣) عدم مقدرتها على تخليق مادة الخلية العضوية من أى مصدر كربونى خلاف ك أ٢ الذى يُمثّل من خلال دورة كـالفن . وقد عدل هذا البنـد أخيراً بقدرة الميكروب عـلى امتلاك انزيم ريبولوز ١ر٥ بيوفوسفات كربوكسيليز (مفتاح دورة كالفن) .

(٤) يُثّبـط أو يُـوقَف نموهـا فى وجـود مواد عضويـة خارجية مـثل إضافة الجـلوكوز - الاسيتات . . . إلخ .

(٥) التثبيط الذاتى من نواتج التحـولات الايضية العضوية التركيب feed back inhibition مثل حمض البيروفيك يثبط ميكروبات Thiobacilli بقوة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(٦) الاعتماد علي طاقة الضوء (الفوتوتروفية) وأكسدة المواد الغير عضوية (الكيموتروفية) ووجود الأجهزة الخاصة بذلك .

ورغم ذلك فلابد من مزيد من الدراسات على الميكانيكيات المنظمة لعملية تثبيت ك أ٢ . ولتجاوز هذه المشكلة وإيجاد Terminology محدد قام Peck سنة ١٩٦٨ بتقسيم الميكروبات الكيموتروفيه إلى ٣ مجاميع :

(أ) obligate autotroph وهى التى تحصل على طاقتها فقط من أكسدة المواد الغير عضوية ولا تستطيع تمثيل المواد العضوية البسيطة مثل الاستيات بنفس طريقة ك أ٢ ومثالها *Thiobacillus thiooxidans* ، *Nitrosomonas europeae* .

(ب) Facultative autotroph وهى القادرة على استخدام كل من المواد العضوية والغير عضوية كمصدر للطاقة والنمو ومثالها *Nitrobacter* sp. ، *Thiobacillus intermedius*، *Hydrogenomonas* sp. .

(جـ) Assimilatory autotroph التى تحصل على طاقتها فقط من أكسدة المواد الغير عضوية ولكنها تستطيع إدخال المواد العضوية خلال الغشاء الخلوى وتستخدمها فى التخليق الحيوى لمكوناتها ومثالها *Dosulfovibrio* .

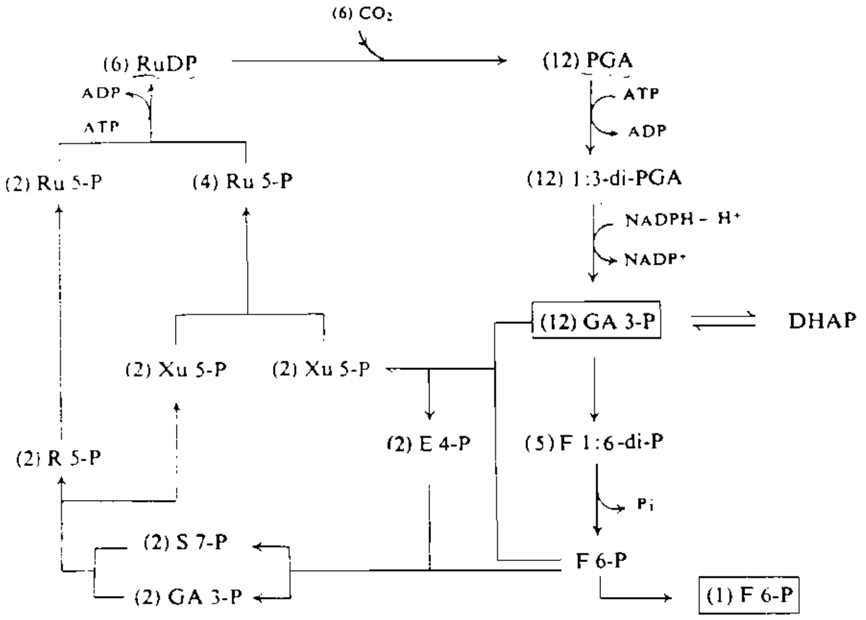
وأخيراً قام Ritteaberg سنة ١٩٦٩ بتغيير أسماء المجاميع الثلاثة السابقة إلى Chemolithotrophic heterotroph ، mixotroph ، obligate Chemolithotroph على الترتيب .

أما بالنسبة للميكروبات الفوتوتروفية فقد سبق مناقشة الفروق بين أفرادها فى الباب الثالث من هذا الكتاب .

وعموماً فإن مشكلة النمو الاتوتروفى أو الهتيرتروفى فى كلا الميكروبات الفوتوتروفية أو الكيموتروفية تكاد تكون متطابقة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٧٠٦ تثبيت ك أ٢ من خلال دورة كالفن



شكل (٦-١٤) : تصور عام لدورة كالفن (الريبولوز بيوفوسفات)

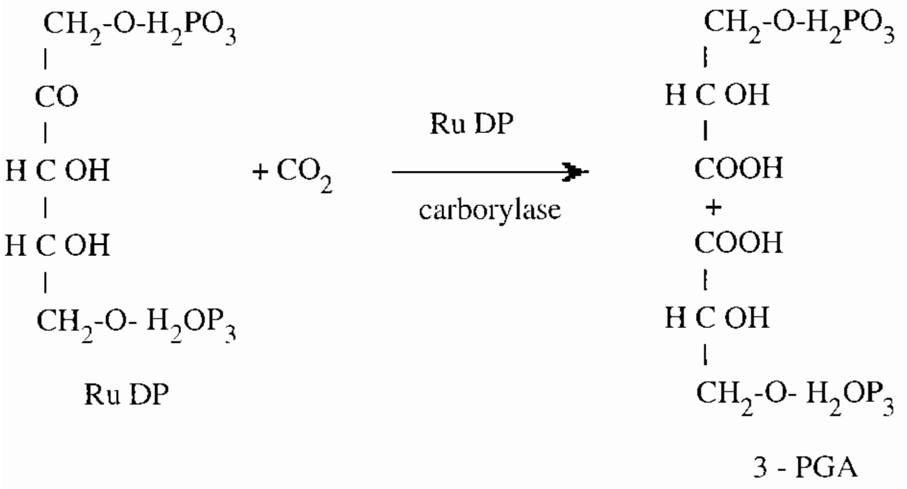
ومحصلة هذه الدورة هو :

$$6\ CO_2 + 18\ ATP + 12\ (NADPH.H^+) \longrightarrow$$
$$1\ Fructose\ 6\text{-}P + 18\ ATP + 12\ NADP^+$$

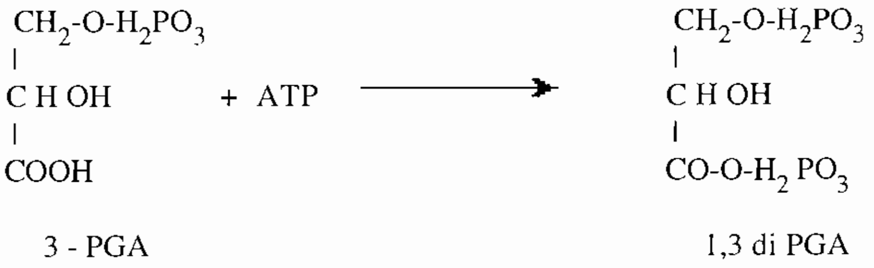
وتفصيلاتها كالتالى :

(١) يتحد ك أ٢ مع الريبلوز ١ر٥ داى فوسفات (Ru DP) فى وجود انزيم ريبولوز داى فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.1.39) وهو يعتبر مفتاح (key) هذه الدورة ويتكون ٢ مول من ٣ - فوسفو جليسرات (3-PGA) .

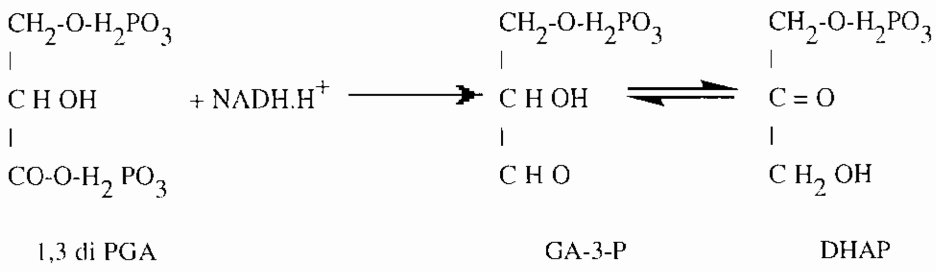
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



(٢) يـتحول ٣ – فوسفو جليـسرات إلى ١ر٣ دى فوسفو جليـسرات (1.3 di PGA) فى وجود انزيم فوسفو جليسرات كينيز (EC 2.7.2.3) وهى خطوة فسفرة تحتاج لطاقة .

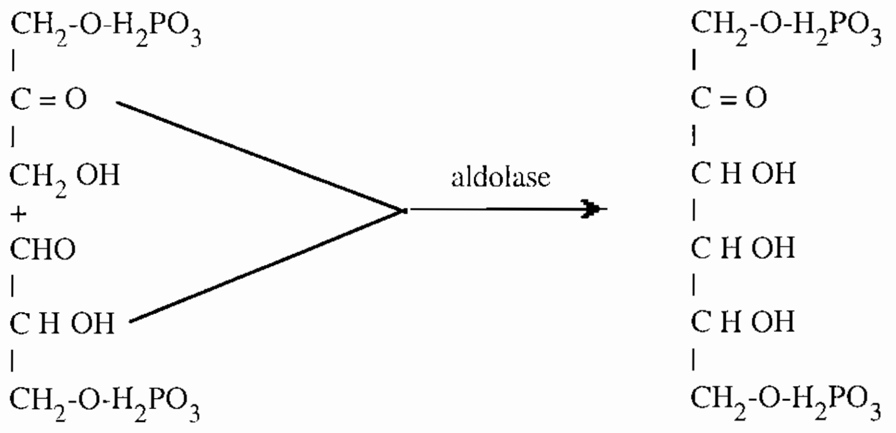


(٣) أكسـدة مفـفرة ثانية فى وجود انزيم NADP-linked dehydrogenase (EC 1.2.1.13) لتكوين جـليسرلدهيد ٣ – فوسفات (GA-3-P) . والمركـب الأخير يـوجد فى حالة تـــوازن مع دى هيـدروكـــــــــس اسيتـــــــون فوسفات (DHAP) بمساعدة انـــزيم triosephosphate isomerase (EC 5.3.1.1) .



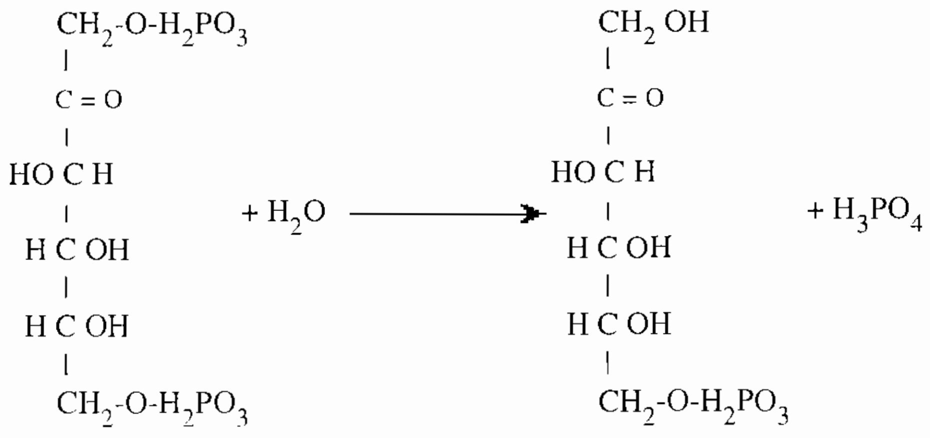
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

(٤) ربـــط المـركبين ذوى الثلاث ذرات كربـــون الســابقــين بواســـــطة انزيـــــم Fructose diphosphale aldalase (EC 4.1.2.13) لتـكوين فركـتوز ١ر٦ دى فوفسفات .



F 1,6 di-P

(٥) تحويل فـركتوز ١ر٦ دى فوسفات إلى فـركتوز ٦- فـوسفات بنـزع مجموعة فـوسفات dephosphorylation وذلك في وجـــــود انزيـــــم Hexose diphosphatase (EC 3.1.3.11) .

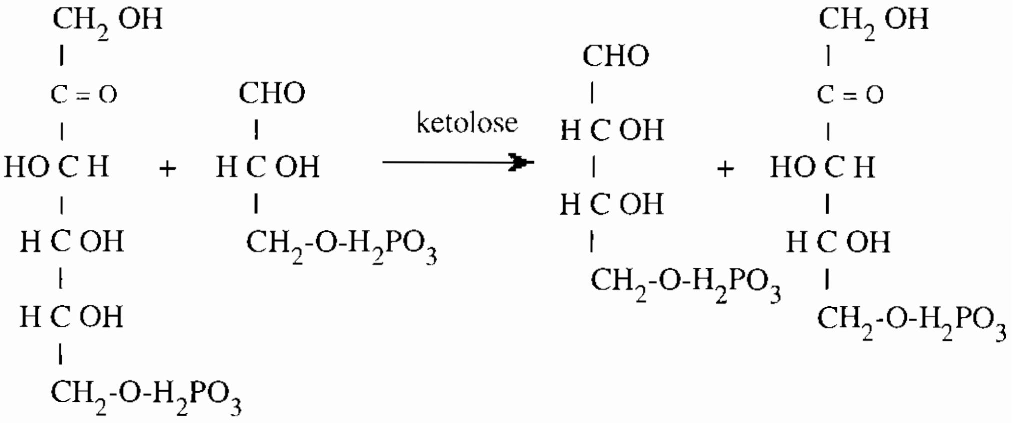


F 1,6 di P　　　　F 6-P

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والـفركتوز ٦ - فوسفات يمكن أن يـتحول فى طريقين مـختلفين أما إنـتاج سكروز أو بنتوزات (كما فى حالة الميكروبات الاتوتروفية) التى تدخل فى تكوين الأحماض النووية مثل RNA ، DNA أو تدخل فى إعادة غـلق الدورة الحلقية بتكويـن الريبولوز ١, ٥ داى فوسفات .

(٦) يقـوم انزيم Transketolase (EC 2.2.1.1) بربـط F 6-P مـع GA3-P وشقهما (فصلهما) إلى اريثروز ٤ - فوسفات (E 4-P) ، الزيليلوز ٥- فوسفات (Xu-5P) .

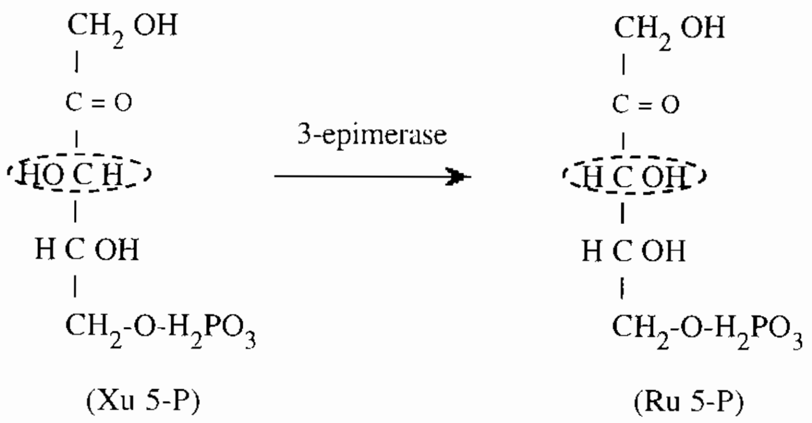


(F 6-P) (GA 3-P) (E 4-P) (Xu 5-P)

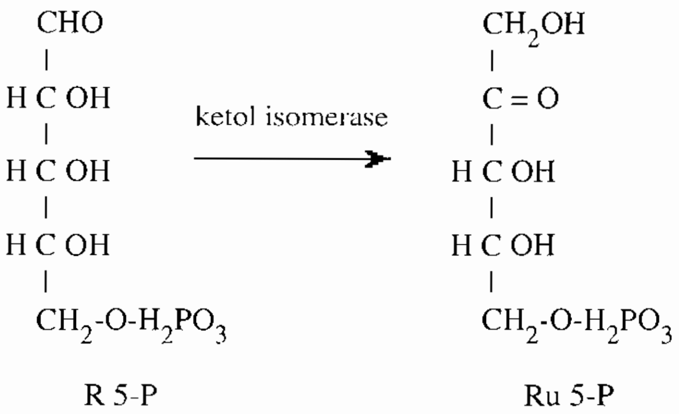
(٧) تستكمل بقية الخطوات مثل دورة HMP حيث فى وجـــود Transaldolase يرتـــبط E 4-P مع F 6-P ويحدث تفاعـل انشقاقى Cleavage reaction ينتج عـنه سيدو هيـبتلوز ٧ - فوسفات (S 7-P) ، الجليسرلـدهيد ٣ - فـوسفات (GA 3-P) والذى يتبعـه تفاعل انشقاقى ثـان يلاسه Transketolase يتكون عنـه ريبوز ٥ - فـوسفات (R-5-P) ، الزيليلوز ٥ - فوسفات (Xu-5-P) .

(٨) يتحـــول الزيليلوز ٥ - فوسـفات إلـــى الريبولوز ٥ - فوسفات (Ru 5-P) فى وجود Ru 5-p 3-epimerase (EC 5.1.3.1) .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

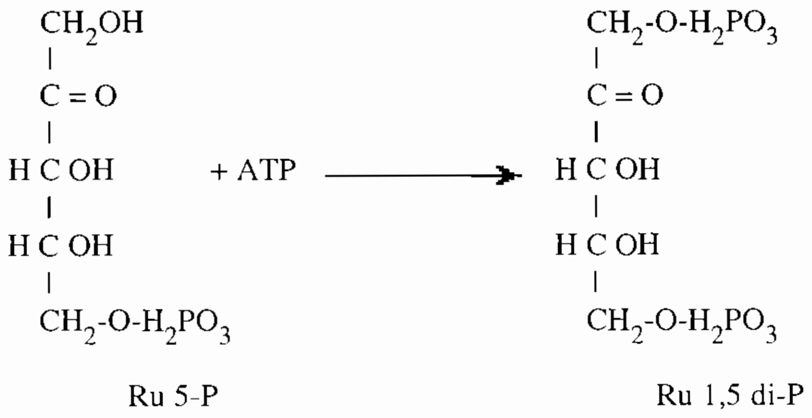


بينما يتحول الريبوز ٥- فوسفات (R 5-P) إلـى ريبولوز ٥- فوسفات (Ru 5-P) في وجود انزيم R-5-P ketol isomerase (EC 5.3.1.6) .

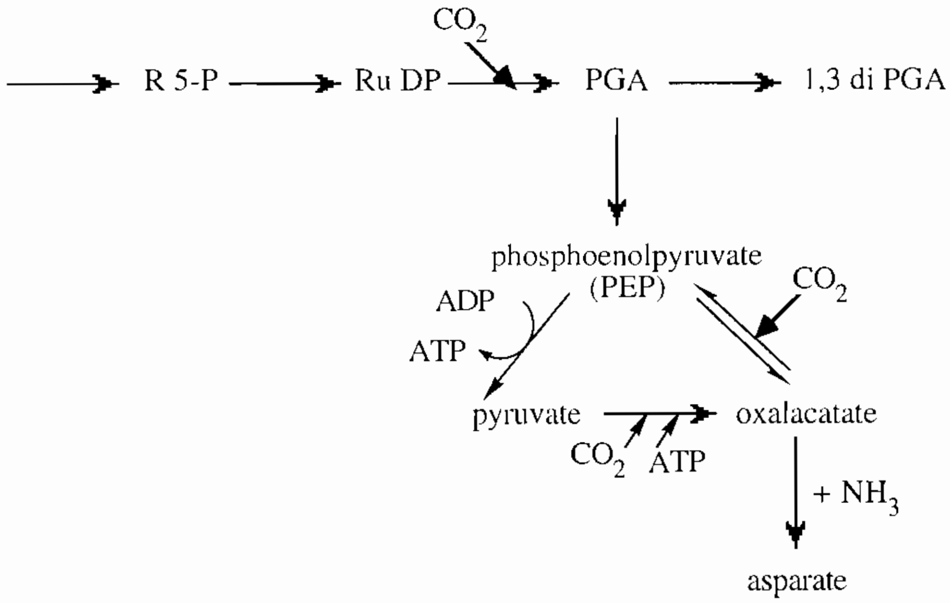


(٩) الانـزيم الثانـــي الــــذي يميز دورة كالفـــن ويغلق الـــدورة الحلقية هـــو phosphoribulokinase (EC 2.7.1.19) وهـــو يفسفر الـريبولـوز ٥- فوسـفات إلـــى ريبولوز ١ر٥ داي فـوسفات (Ru DP) الذي هو مـفتاح الدورة والذي سـميت باسمه .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



ويقاس حدوث أو غياب تثبيت ك أ٢ بواسطة دورة كالفن بتقدير نشاط انزيم ريبولوز دى فوسفات كربوكسيليز والذى عرف فى المراجع القديمة باسم Carboxy dismutase ومع ذلك فإنه ليس كل الميكروبات الاتوتروفية تستطيع القيام بدورة كالفن كما وصفت سابقاً فهناك بعض الميكروبات القليلة مثل *Chromatium* تتبع ميكانيكية أخرى قريبة منها تعتمد على احتياجها إلى خطوتين لتثبيت ك أ٢ بدلاً من واحدة .



شكل (٦-١٥) : دورة تثبيت ك أ٢ المضاعفة فى *Chromatium*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ففى هذا الميكروب ثبـت أن حمض الاسبارتيك من النواتج الثابتة لعـملية تثبيت ك أ٢ وان ذلك يرجع إلى خـطوة إضافة ك أ٢ ثانية عند مستوى فوسفـو اينول بيروفات يلامسها انزيم PEP Carboxylase (EC 4.1.1.31) وينتج عنها اوكسالواستيات . وبواسطة عملية نقل مجموعة الامين Transamination يتكون الاسبارات . ولهذا افترض أن *Chromatium* يستعمل دوره «تثبيت ك أ٢ مضاعفة» كوسيلة سريعة لإدخال الكربون فى الأحماض العضوية ثم الامينية لتخليق مادة الخلية .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أسئلة للمراجعة

١ - اذكر ٥ مجاميع مختلفة للميكروبات Chemolithotrophs التى تقوم بعملية التنفس الهوائى .

٢ - «يتضمن أكسدة الامونيا إلى النيتريت انتقال ٦ (سته) الكترونات» ناقش هذه العبارة موضحاً المركبات الوسطية وتعاقب سلسلة التفاعل .

٣ - «خطوة أكسدة الهيدروكسيل منتجه للطاقة exergonic مما يدل على ارتباطها بنظام السلسلة التنفسية» وضح ذلك .

٤ - اشرح كيف تستطيع بكتريا التأزت (أو الكيموتروفية عموماً) الحصول على طاقتها (ATP) ، تكوين القوة المختزلة ($NADH.H^+$) اللازمة لتثبيت ك أ٢ برغم آن جهد الأكسدة والاختزال لمواد تفاعلها أقل بكثير من جهد $NAD^+ / NADH_2$ ؟

٥ - اذكر أهم الفروق بين النظام الانزيمى لكل من *Netrosomonas* ، *Nitrobacter* ؟

٦ - «تستطيع بكتريا *Hydrogenomonas* النمو اوتوتروفيا وهتيروتروفيا» ناقش هذه العبارة موضحاً الانزيم المسئول (Key) للنمو الاتوتروفى ، الظروف اللازم توافرها لتكوين بولى هيدروكسى بيوترات ، تأثير الايدروچين H_2-effect ؟

٧ - اشرح الفارق بين ميكروبى أكسدة الحديد .

Ferrobacilles ferrooxidans & Thiobacillus ferrooxidans

٨ - اشرح السلسلة التنفسية لميكروبات Thiobacilli .

٩ - اشرح المصطلحات التالية :

Obligate Facultative , assimilatcry autotrophs

وكذا Chemolithotrophic heterotroph, Mixotroph

١٠- اشرح سلسلة انتقال الالكترون لميكروب mixotroph يستطيع أكسدة المركبات الغير عضوية مثل السلفيت ، أو المركبات العضوية مثل الجلوكوز تحت الظروف الهوائية ؟

١١- ما هو الفرق بين Sulfate oxidation ، assimilatory Sulate reduction ، dissimilatory Sulfate reduction ؟

١٢- اشرح لماذا وضعت الخمس مجاميع بكترية السابقة تحت مسمى aerobic chemo-lithotraphs ومدى انطباق شروط Kelly عليها .

١٣ - ماذا يعنى « دورة تثبيت ك أ٢ المضاعفة » ؟ وأين تلاحظ وما أهميتها ؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1. Aleem, M.I.H. and Lee, H. (1963). ATP–dependent reduction of NAD by ferrocytochrome C in chemolithotrophic bacteria. Nature (London) 200 : 759.
2. Aleem, M.I.H. (1965). Thiosulfate oxidation and electron transport in *Thiobacillus novellus*. J. Bacteriol. 90 : 95.
3. Anderson, K.J. and Lundgren, D.G. (1969). Enzymatic studies of the iron–oxidizing bacterium. Can. J. Microbiol. 15 : 73.
4. Blackkolb, F. and Schlegel, H.G. (1968). Regulation der Glukose–6–phosphate DH aus *Hydrogenomonas* H16 durch ATP und NADH2. Arch. Mikrobiol. 63 : 177.
5. Delwiche, C.C. (1981). Denitrification, nitrification and atmospheric nitrous oxide. John Wiley & Sons Inc., New York.
6. Doelle, H.W. (1975). Bacterial metabolism 2nd Ed. Academic Press, New York.
7. Gundersen, K. (1968). The formation and utilization of reducing power in aerobic chemolithotrophic bacteria. Z. Allg. Mikrobiol. 8 : 445.
8. Hurlbert, R.E. and Lascelles, J. (1964). Ribulose diphosphate carboxylase in Thiorhodaceae. J. Gen. Microbiol. 33 : 445.
9. Kelly, D.P. (1967) Problems of autotrophic microorganisms. Sci. Progr. (London), 55 : 35.
10. Lees, H. (1954). The biochemistry of nitrifying bacteria. Symp. Soc. Gen. Microbiol. 4 : 84.
11. Peck, H.D., Jr. (1968). Energy–coupling mechanisms in chemolithotrophic bacteria. Annu. Rev. Microbiol. 22 : 489.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

12. Ramsay, H.H. (1968). Autotrophic and Heterotrophic metabolism in *Hydrogenomonas facilis.* Antonie van Leeuwenhoek, J. Microbiol. Serol. 34 : 71.

13. Rittenberg, S.C. (1969). The role of exogenous organic matter in the physiology of chemolithotrophic bacteria. Advan. Microbiol. Physiol. 3 : 159.

14. Rose, A.H. (1965). Chemical Microbiology. Butterworth, London.

15. Schlegel, H.G. (1966). Physiology and biochemistry of Knallgas bacteria. Advan. Comp. Physiol. Biochem. 2 : 185.

16. Schön, G. (1965). Untersuchungen über der Nutzeffekt von *Nitrobacter winogradskyi* Buch. Arch. Mikrobiol. 50 : 111.

17. Tabita, R. and lundgren, D.G. (1971). Heterotrophic metabolism of the chemolithetrophic *Thiobacillus ferrooxidans.* J. Bacteriol. 108 : 334.

18. Trudinger, P.A. (1967). The metabolism of inorganic sulfur compounds by Thiobacilli. Rev. Pure Appl. Chem. 17 : 1.

19. Umbreit, W.W. (1962). Comparative physiology of autotrophic bacteria. Bacteriol. Rev. 26 : 145.

20. Yoshida, T. and Alexander, M. (1964). Hydroxylamine formation by *Nitrosomonas europaea.* J. Biochem. 75 : 1265.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب السابع

التنفس الهوائى

Chemoorganotrophic bacteria

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

يحصل عدد كبير مـن الميكروبات وخلايا حية أخرى على طاقتـها من أكسدة المركبات العضوية بواسـطة جزئ الأكسجين وذلك فى سلسلـة من التفاعلات التى تلامسـها مجموعة متخصصة من الأنزيمات. وناتج الأكسدة الكاملة هو ك أ$_{٢}$، يد$_{٢}$أ. والالكترونات المنطلقة من مادة التفاعل أثناء هـذه الأكسدة تنساب خلال حوامل خاصة متدرجة الجـهد وفى النهاية إلى الأكسجين كمستقبل نـهائى. وأثناء ذلك يتكون ATP اللازم لعملية التخليق الحيوى. ولقد ذكرت سابقًا الـعمليات (الدورات) التـى تؤدى لتكوين البيـروفات من السكريات الـسداسية والخماسية والثـلاثية أما أكسدة البيروفات الـكاملة إلى ك أ$_{٢}$ ، يد$_{٢}$أ فتلاحظ مـن خلال ما يسمى دورة الأحماض ثلاثيـة الكربوكسيل TCA أو دورة كربس (نسبة لـمكتشفها) أو دورة حمض الستريك (مفتاح الدورة) .

١.٧ دورة حمض الستريك Tricarboxylic acids cycle (TCA)

- بالإضافة لدورها فى أكسدة الأحماض العضوية وتكوين الطاقة فإنها تلعب دورًا هامًا فى عمـلية التخليق الحيـوى لمادة الخلية حيث ينـتج عنها ٢ - أوكسوجلوتارات التـى تعتبر بادرة تكوين حمض الجلوتاميك الذى يعتبـر مفتاح تكوين الأحماض الآمينية والبروتين أو الأوكسالـو اسيتات ومـا يتبعهـا من تكويـن حمض الأسبارتـيك وبقيـة الأحماض الأمينية.

١.١.٧ تكوين اسيتيل كوانزيم A :

- تستقبل دورة حمض الستريك حمض الأسيتيك فى صورة أسيتيل كوانزيم A حيث ينزع ك أ$_{٢}$ من حمض البـيروفيك ويتكون حمض ثـنائى الكربون منشط . وخـطوة تكوين أسيتيل كوازيم A يشارك فيها ٣ إنزيمات مختلفة بالإضافة إلى المرافقات الإنزيمية التالية:

الثيمين بيروفوسفات (TPP) ، حمض الليبوئيك، NAD^{+} .

أما الانزيمات الثلاث فهم :

a) Pyruvate dehydroganase (EC 1.2.4.1)

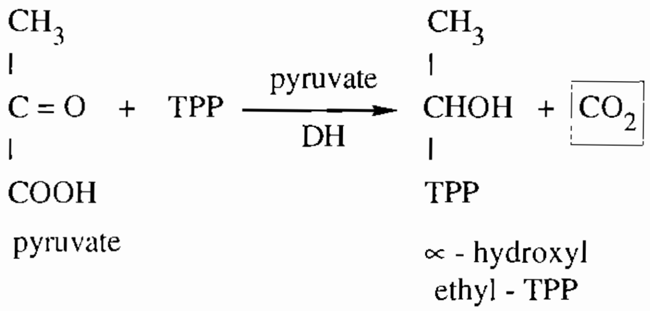
b) Lipoate acetyl transferase (EC 2.3.1.12)

c) Lipoamide dehydrogenase (EC 1.6.4.3)

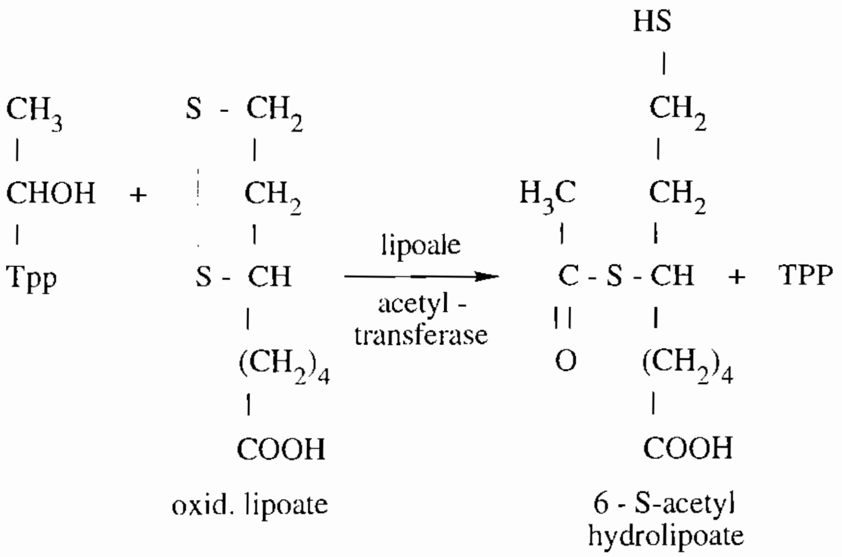
وتسلسل خطوات تكوين أستيل كوازيم A كالتالى :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

خطوة (١) : دخول البيروفات فى Carbanion للثيمين فوسفات وحدوث عملية نزع ك أ٢ وتكوين الهيدروكسيل إيثيل ثيمين فوسفات ويلامسها إنزيم (a) .

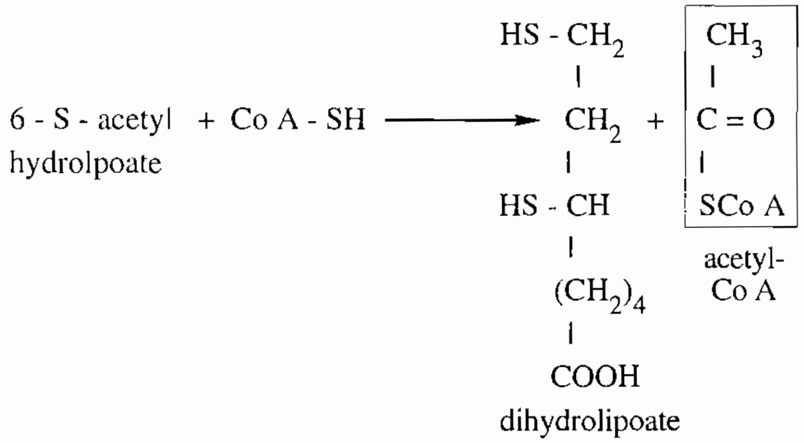


خطوة (٢) : نقل مجموعة الهيدروكسيل إيثيل إلى حمض الليبوئيك مع حدوث أكسدة لها أثناء النقل لتتحول إلى مجموعة أسيتيل ويكون المركب 6 - S - acetyl hydrolipoate ويلامسها إنزيم (b) .

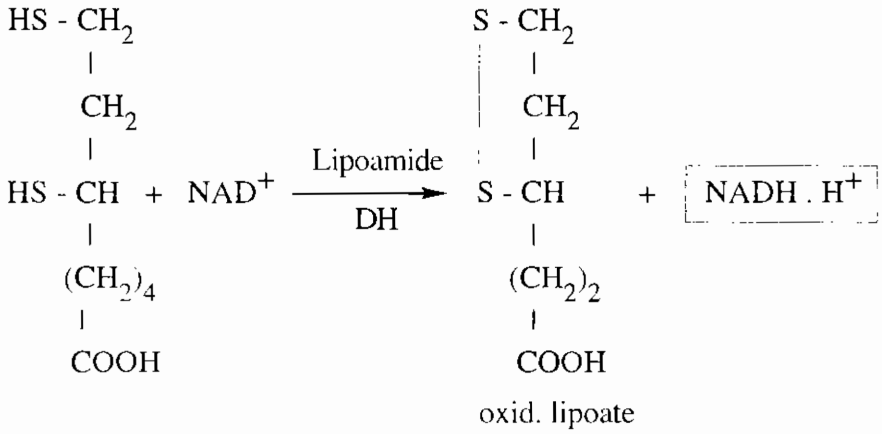


ويعقب ذلك نقل مجموعة الأسيتيل إلى مجموعة الثيول (ذرة الكبريت) للمرافق CoA ويتبقى دى هيدروليبوئات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



خطوة (٣) : ويلامسها إنزيم (C) وهى أكسدة الدهيدروليبوئات إلى ليبوئات مع اختزال NAD^+.

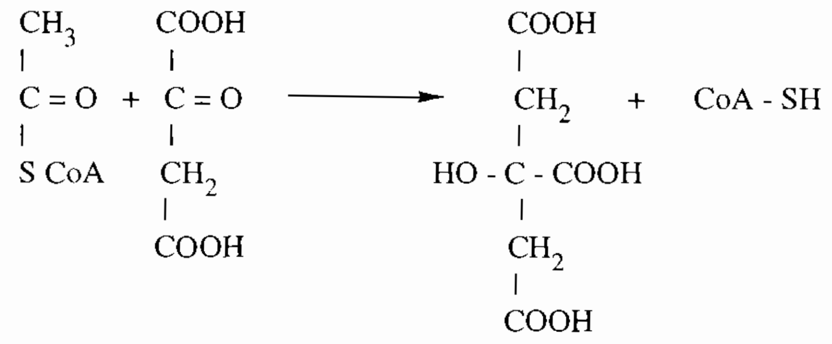


أما دور CoA فينظر له كحامل لمجاميع الاسيتيل مثل ATPحامل لمجاميع الفوسفات، NAD^+ حامل للالكترونات فى الخلية . والطاقة الناتجة عن تحلل hydrolysis مركب أسيتيل كوازيم A حوالى $\Delta F = - 8800$ cale/mole وهى أعلى من الطاقة الحرة الناتجة من تحلل ATP وتعتبر مجموعة الآسيتيل هى الوقود المحرك لدورة TCA .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٢.١.٧ خطوات دورة TCA :

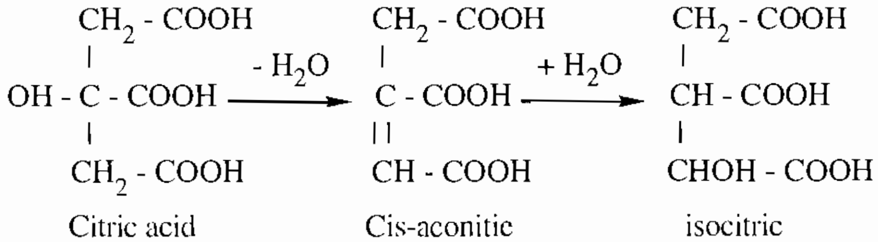
وأولى خطوات دورة TCA هو أعطاء (نقل) مجموعة الأسيـتيل المرتبطة مع كواتزيم A إلى حمض رباعى الكربون ثنائى الكربوكسيل هـو أوكسالواسيتات لتكوين حمض الستريك الثلاثى الكربوكسيـل (مفتاح الدورة) ويتحرر CoA الذى يعاود الدخول فى تـكوين أسيتيل كوانزيم جديد .



acetyl - CoA   oxalacetic acid   Citric acid

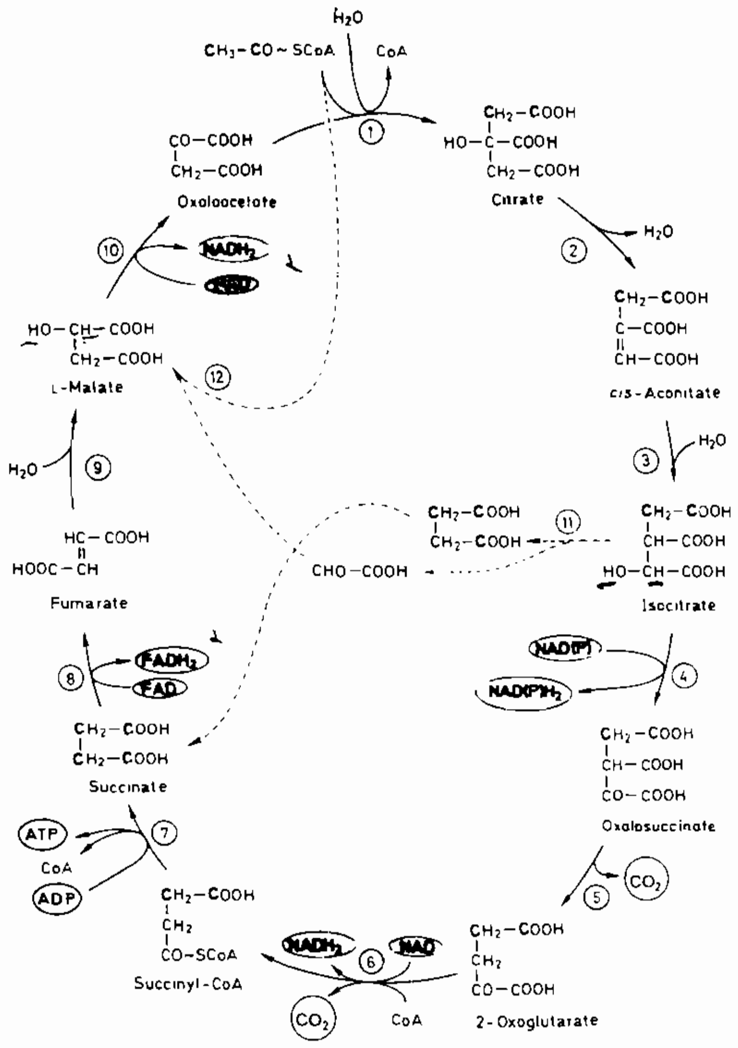
ويلامس هذا التـفاعل إنزيم (EC 4.1.3.7) Citrate synthase ويعرف أيضًا باسم Citrogenase وأيضًا oxalacetate transcetase ويثبط بواسطة $NADH . H^+$ أحد نواتج الدورة فيما يعرف بـ "allosteric effect" ولم يلاحظ هذا التثبيـط فى الثدييات أو الخمائر ولكنه يـبدو متخصصًا جـدًا للميكروبـات . وأظهرت تنقيـة الإنزيم بواسطة أعمـدة الفصل الكروماتوجرافى وجود نوعين من Citrate synthase . أحدهما ذو حجم كبير وهو حساس لـ $NADH. H^+$. والآخر ذو حـجم جزيـئى صغيـر. وكذلك يُثَبـط الإنزيم بواسـطة أوكسوجلوتارات بنفس الطريقة السابقة "allosteric inhibition" .

الخطوة الثانية : هـى تكـوين Cis - aconitate ثـم isocitrate فى وجـود إنزيـم aconitate hydratase (EC 4.2.1.3) الذى يلامس كلا التفاعلين .



Citric acid   Cis-aconitic   isocitric

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

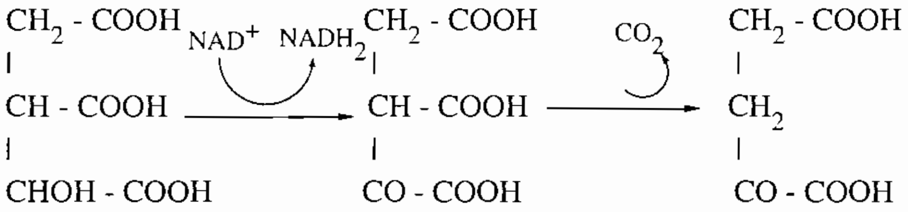


شكل (١.٧) : دورة حمض الستريك (TCA) ، تفريعه glyoxylate فى التنفس الهوائى نقلاً عن شليجل ١٩٨٦ .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

والأحماض الثلاثة توجد فى حالة توازن معًا أو بمعنى آخر تكون خليطًا متوازنًا .

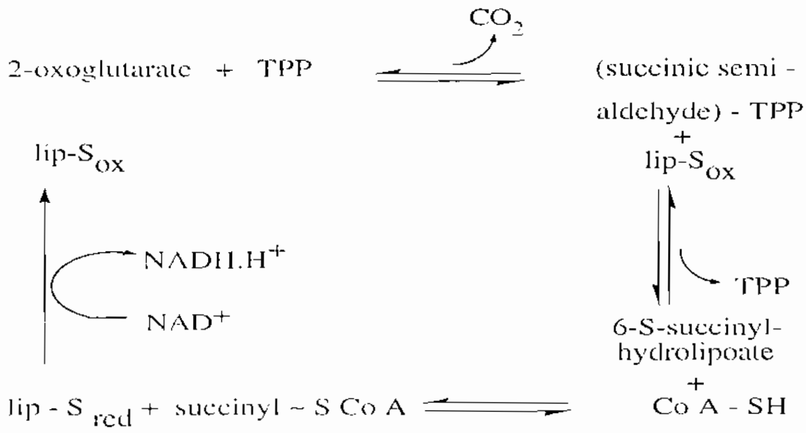
الخطوة الثالثة : تحول أيسوستريك إلى أوكسالوسكسينات فى وجود إنزيم (EC 1.1.1.4) isocitrate dehydrogenase ومنتجا $NADH . H^+$ وبنفس الإنـزيم يلامس تحول أوكسالوسكسينات إلى أوكسو جلوتارات وينطلق ك أ٢ وهو أحد جزيئين يـنطلقان من الأسيتيل الذى غذيت به الدورة .



isocitric acid   oxalosuccinic acid   2-oxoglytaric acid

ويعتبر isocitrate نقطة التفرع لدورة glyoxylate وجدير بالذكر أن البـكتريا تفضل استـخدام المرافق الإنـزيمى NADP مع إنـزيم isocitrate DHبينما الفـطريات والخمائر متخصصة للمرافق NAD^+ .

الخطوة الرابعة : هى تحول أوكسو جلوتارات إلى سكسنيل كوانزيم A وينطلق ك أ٢ (الجزئ الثـانى) وذلك فى وجـود إنزيم (EC 1.2.4.2) 2-oxoglutarate DH وهو معقد إنزيمى يحـتاج وجود الثيمين بيـروفوسفات (TPP) ، حمض الليـبوثيك ، Co A، NAD^+ ، Mg^{++} مثل البيروفات ديهيدروجينـيز السابقة شرحه . ويتأكسد $NADH_2$ المتكون من خلال سلسلة انتقال الالكترون .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويلعب معقد الأكسوجلوتارات ديهيدروجينيز دورًا تنظيميًا هامًا فى البكتريا اللاهوائية الاختيارية وهو حساس جدًا لنقص الأكسجين .

الخطوة الخامسة : يتحول سكسنيل كوانزيم A إلى حمض السكسنيك بملامسة إنزيم Succinyl- Co A Synthetase (EC 6.2.1.5) مع تحرير Co Aوتكوين جزئ ATP .

$$\begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ C=O \\ | \\ S\,Co\,A \\ \text{Succinyl Co A} \end{array} + ADP + Pi \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ CH_2-COOH \\ \text{Succinic acid} \end{array} + ATP + Co\,A$$

الخطوة السادسة : هى أكسدة السكسينات إلى الفيومارات بواسطة إنزيم Succinate dehydrogenase (EC 1.3.99.1) .

$$\begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ CH_2-COOH \\ \text{Succinate} \end{array} + {}^1/_2\,O_2 \longrightarrow \begin{array}{l} CH-COOH \\ || \\ CH-COOH \\ \text{Fumarate} \end{array} + H_2O$$

وثبت أن إنزيم السكسينات ويهيدروجينز مرتبط بقوة بسلسلة انتقال الالكترون وتدخل الالكترونات عند مستوى الفلافوبروتين حيث يتكون $FADH_2$. ويثبط هذا الانزيم بقوة بواسطة الاكسالواسيتات .

الخطوة السابعة : عبارة عن عملية هدرجة للفيومارات عند الرابطة المزدوجة لتكوين المالات فى وجود إنزيم Fumarate hydratase أو ما يسمى Fumarase (EC 4.2.1.2).

$$\begin{array}{l} CH-COOH \\ || \\ CH-COOH \\ \text{fumarate} \end{array} + H_2O \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2-COOH \\ | \\ CHOH-COOH \\ \text{malate} \end{array}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الخطوة الثامنة (الأخيرة) : هى أكسدة المالات إلى أوكسالواستيات بتأثير إنزيم malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) ويتكون $NADH.H^+$.

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ CHOH - COOH \end{array} + NAD^+ \longrightarrow \begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ CH_2 - COOH \end{array} + NADH . H^+$$

malate oxalacetate

ويتكون هذا الإنزيم من ٤ تحت وحدات فى *Bacillus stearothermophilus* ويبلغ وزنه الجزيئى 117.000 بينما فى *E. coli* يتكون من ٢ تحت وحدة فقط ووزن الجزئ 60.000 وتستطيع *E. coli* استخدام $NADP^+$ كمرافق للإنزيم (Malic DH) بدلاً من NAD^+ . وهناك فرق جوهرى بينهما : حيث الإنزيم المرتبط بـ NAD^+ يكون Constitutive ويلعب دوراً هدمياً بينما الإنزيم المرتبط بـ $NADP^+$ فهو inducible ويبدو أنه يلعب دوراً تخليقياً فى تحولات الأحماض رباعية الكربون حيث يلامس تحول الماليك إلى البيروفات كما فى التفاعل :

$$\begin{array}{l} CH_2 - COOH \\ | \\ CHOH - COOH \end{array} + NADP^+ \longrightarrow \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C = O + CO_2 + NADPH_2 \\ | \\ COOH \end{array}$$

malic pyruvate

ويختلف نشاط صورتى الانزيم باختلاف تركيب بيئة النمو . فإنزيم malic DH المرتبط بـ $NADP^+$ يثبط بقوة بواسطة اكسالواسيتات بينما المرتبط بـ NAD^+ يتأثر تأثراً طفيفاً به. وهذا يشير إلى أن الإنزيم الأول ذو طبيعة allosteric protein حيث يتأثر نشاطه بواسطة تراكم نواتج تفاعله "Feed back inhibition" .

الخلاصة : يتبين من تفاعلات (خطوات) دورة TCA وأن جزئ اسيتيل كوانزيم A وجزئ أكسالواسيتات قد دخلا وأنه نتج ٢ جزئ ك أ٢ وجزئ أكسالواسيتات بالإضافة إلى الطاقة ويمكن التعبير عن ذلك بالمعادلة :

$$\text{acetate + oxalacetate} \longrightarrow 2\ CO_2 + \text{oxalacetate} + (E)$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وبخصم أوكسالو اسيتات من طرفى المعادلة فإنها تأخذ الشكل النهائى :

$$\text{acetate} \longrightarrow 2\,CO_2 + \text{(E)}$$

أى أن جزئ الجلوكوز يتأكسد من خلال دورة EMP إلى ٢ بيروفات والذى يتأكسد كل جزئ منه بواسطة Pyruvate dehyrogenase إلى أسيتيل كوانزيم A + ك أ٢ ثم تتأكسد الأسيتات من خلال دورة TCA إلى ٢ ك أ٢ فيكون الناتج ٦ ك أ٢ .

أما حسابات الطاقة بالنسبة لجزئ جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة عبر دورة EMP ، ثم دورة TCA وكل الأيدروجين تم أكسدته إلى H_2O من خلال السلسلة التنفسيه كالتالى :

- ٢ جزئ $NADH_2$ من دورة EMP .
- ٢ جزئ $NADH_2$ من Pyruvate DH (خطوة تكون اسيتيل كوانزيم A)
- ٢ × ٣جزئ $NADH_2$ من دورة TCA .
- ٢ جزئ $FADH_2$ من دورة TCA .

المجموع ١٠ جزيئات $NADH_2$ + ٢ جزئ $FADH_2$ واعتبار P/Oratio = ٣ ، ٢ على الترتيب . فالناتج هو (١٠ × ٣) + (٢ × ٢) = ٣٤ جزئ ATP بالإضافة إلى ٢ مول ATP من دورة EMP - ٢ مول ATP من خطوة سكسينيل كوانزيم A فى دورة TCA . فيكون الناتج النهائى هو ٣٨ جزئ ATP لكل ١ جزئ جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة .

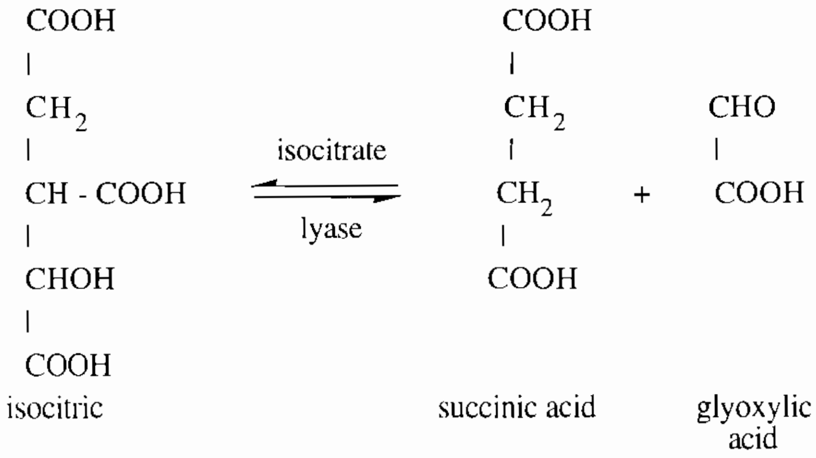
$$C_6H_{12}O_6 + 6\,O_2 \longrightarrow 6\,CO_2 + 6\,H_2O + 38\,ATP$$

وهذه الحسابات تسرى على معظم البكتريا وفى الميتاكوندريا للكائنات الأرقى. ولكن هناك عدد من البكتريا يوجد بها ٢ نقطة فسفرة فقط لانتقال الالكترون من $NADH_2$ أى أن النسبة P / O هى ٢ فقط وفى هذه الحالة - كما فى *E. coli* مثلاً - فإن أكسدة الجلوكوز هوائيًا تنتج فقط ٢٦ جزئ ATP .

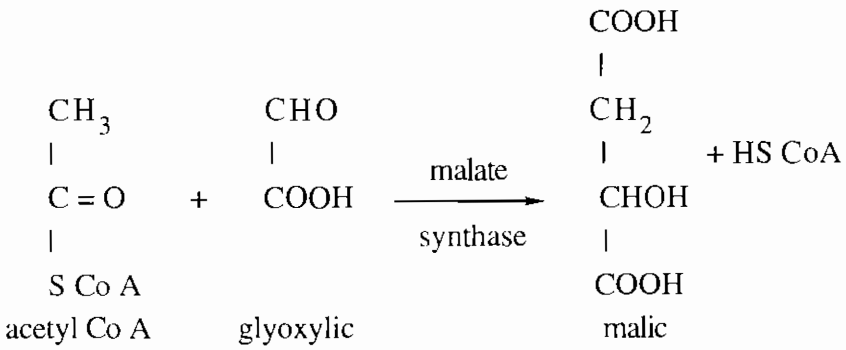
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢.٧ دورة Glyoxylate (DCA)

وتعرف بدورة الأحماض ثنائية الكربوكسيل (DCA) أو دورة Krebs - Kornberg . حيث قاد أكتشاف الانزيمين isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) ، malate synthase (EC 4.1.3.2) إلى وجود ميكانيكية حلقية لإعادة تكوين الأحماض رباعية الكربون ثنائية الكربوكسيل داخل دورة TCA . وهى ذات أهمية كبيرة فى تحولات الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة وتسمى بدورة glyoxylate . وفيها ينشق الأيسوسترات إلى سكسينات، جليوكسالات بمساعدة إنزيم isocitrate lyase .



والخطوة الثانية فى هذه التفريعة تتضمن اتحاد اسيتيل كوانزيم A مع الجليوكسالات مكونًا المالات فى وجود إنزيم malate synthase .



ولا يحدث هدم للأسيتات مع أنطلاق طاقة ولكن تتكون أحماض رباعية الكربون ثنائية

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الكربوكسيل. والتحولات التالية لهذه الأحماض تعطى البادئات لأغلب مكونات الخلية مثل الأوكسال أسيتات الذى يشتق منه الأسبارتيك وغيره من الأحماض الأمينية .

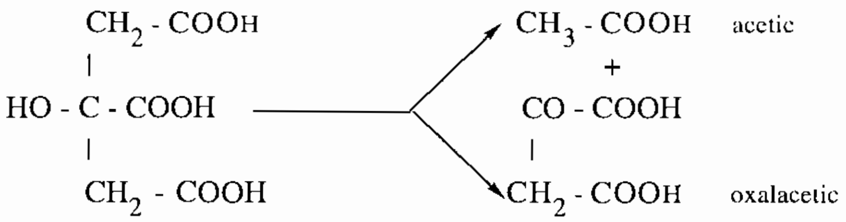
٣.٧ تحولات الأحماض الكربوكسيلية Carboxylic acid metabolism

١.٣.٧ تحولات السترات Citrate metabolism

تستخدم الكائنات نظام نفاذية خاص مرتبط بالطاقة يتمكن من نقل السترات وتمثيلها أيضًا تحت الظروف الهوائية أو بطريقة التخمر كما فى Enterobaeteria ، *Halobacterium sp.*، *Pseudomonas sp.* .

- فتحت الظروف الهوائية تمثل السترات عبر الدورة TCA إلى الأوكسال أسيتات والذى يتحول إلى البيروفات بنزع ك أ$_2$ منه بملامسة إنزيم oxalacetate decarboxylase (EC 4.1.1.3) فى بيئة خالية من الصوديوم . وتتحول البيروفات عبر دورة gluconeogenesis (عكس دورة EMP) وفى وجود أسيتات كوانزيم A إلى أحماض دهنية عالية ومنها تتكون مادة الخلية خلال دورات التخليق الحيوى المختلفة. وقد لوحظ ذلك فى *Halobaeterium salinarum* ، *Pseudomanas aeruginosa* على سبيل المثال .

- أما طريقة التخمر والذى يحدث تحت ظروف لاهوائية أو هوائية أحيانًا فيبدأ بتفاعل أنقسامى للسترات إلى الأسيتات والأكسال اسيتات بملامسة إنزيم Citrate lyase (EC 4.1.3.6) .



ثم يحدث نزع لجزئ ك أ$_2$ من الأكسال أسيتات ويتكون البيروفات بواسطة نوع آخر من إنزيم oxalacetate decarboxylase والذى يتميز بعدم حساسيته تجاه EDTA واحتياجه المطلق إلى الصوديوم حيث فى غياب Na^+ لا يتحول السترات مطلقًا بطريقة التخمر. وقد وجدت بعض الميكروبات مثل *Salmonella typhimurium* ، *Aerobacter aerogenes* تستطيع استعمال السترات هوائيًا فى بيئة الصوديوم بطريقة التخمر .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وقد أكتشف Sachan & stern سنة ١٩٧١ وظيفة أخرى لإنزيم oxalacetate decar-boxylase حيث يعمل كحامل بروتينى فى عملية انتقال السترات إلى داخل الخلية. وهذا الإنزيم المنشط بالصوديوم يُحَفز induced بوجود السترات وربما يُفسر وضعه كأحد مكونات نظام الانتقال فى الغشاء سبب تمثيل السترات العالى تحت الظروف الهوائية.

والفرق الرئيسى بين التحولات تحت الظروف الهوائية واللاهوائية هو تفاعل انقسام السترات حيث يغيب إنزيم oxoglutarate dehydrogenase تحت الظروف اللاهوائية. ولم تشاهد دورة glyoxylate أثناء تحولات السترات سواء هوائيًا أو لاهوائيًا .

٢.٣.٧ تحولات المالات Malate metabolism

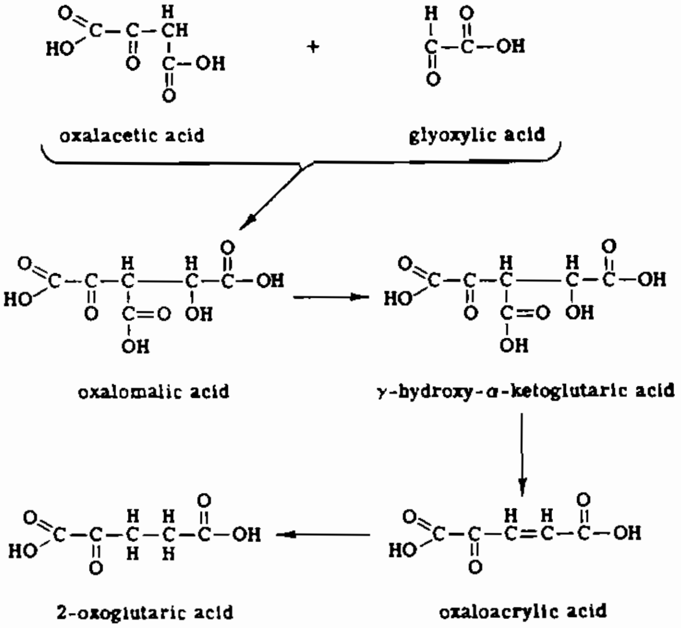
درست تحولات المالات تحت الظروف الهوائية بواسطة *Azotobacter vinelaudii* ، وبينما Pseudomonads يؤكسد *A. vinelandii* المالات بواسطة مالات ديهيدروجينز مرتبط بـ FAD فإن Pseudomanads تستخدم مالات ديهيدروجينز مرتبط بـ $NADP^+$ (EC 1.1.1.40) لأكسدة المالات إلى أوكسال أسيتات .

ويستطيع ميكروب *Acetobacter xylinum* تكوين الاوكسال اسيتات اذا نمى على المالات ولكن بميكانيكية اخرى . حيث تختلف عن NAD^+ - malic dehyalnegenase (Ec 1.1.1. 38) لانه ثبت أن حتى فى وجود هذا الانزيم لا يتراكم الاكسال استيات .

يبدو أن الميكروب لا يؤكسد المالات فى خطوة واحدة ولكن يحتاج لخطوتين : الأولى مع NAD^+ malate DH (EC 1.1.1.37) لتكوين الأوكسال أسيتات ثم oxalacetate de carboxylase لنزع ك أ٢ وتكوين البيروفات .

وبالرغم من أن ميكروب *Acetomonas suboxydans* لا يمتلك إنزيمات دورة TCA فإنه يلاحظ تكوين 2-oxoglutarate وذلك أما عن طريق ٢ - كيتوجلوتارات أو ٥,٢ داى كيتو جلوكونات أو يستعمل طريق آخر كما بالتفاعل التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٧ . ٢) : تكوين أوكسوجلوتارات بواسطة *Acetomonas suboxydans*

٧.٣.٢ تحولات الجليكولات Glycolate metabolism

يتطلب نمو الميكروبات على المركبات ثنائية الكربون كمصدر وحيد للكربون ولتكوين مادة الخلية الدخول فى بعض التفاعلات الأولية لتكوين مركب وسطى ذو مستوى أكسدة أعلى من الأسيتات حتى يستطيع الدخول فى دورة TCA أو دورة glyoxylate . وتتأكسد الجليكولات إلى الجليوكسالات glyoxylate بواسطة إنزيم غير معروف يشبه - FAD glycolate oxidase (EC 1.1.3.1) فى النباتات وهذا التفاعل يحتاج جزئ أكسجين وينتج طاقة $\Delta F = - 41$ Kcal / mole عند 8.0 pH .

$$\underset{\text{glycolic}}{\begin{matrix} CH_2OH \\ | \\ COOH \end{matrix}} \longrightarrow \underset{\text{glyoxylic}}{\begin{matrix} CHO \\ | \\ COOH \end{matrix}} + 2H^+$$

وبتأثير Carboligase (EC 4.1.1.47) يتكثف ٢ جزئ glyoxylate معًا لتكوين المركب الوسطى المطلوب tartronic semialdehyde وينطلق ك أ٢ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$2\begin{array}{c} CHO \\ | \\ COOH \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} CHO \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} + CO_2$$

glyoxylic acid → tartronic semialdehyde

ويختـزل إنزيم tartronic semialdehyde reductase (EC 1.1.1.60) المركب الوسطى إلى جليسرات فى وجود $NADH.H^+$.

$$\begin{array}{c} CHO \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} + NADH.H^+ \longrightarrow \begin{array}{c} CH_2OH \\ | \\ CHOH \\ | \\ COOH \end{array} + NAD^+$$

tartronic semiakdehyde → glycerate

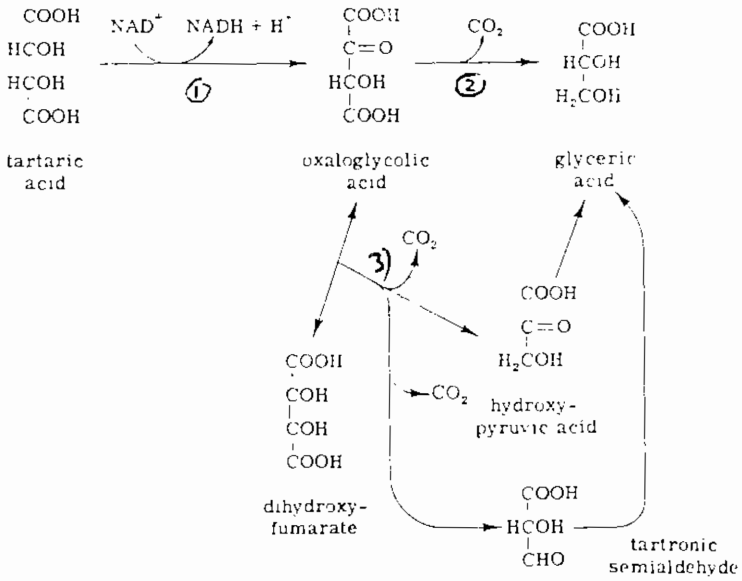
ثم تحدث عمـلية فسفرة لـلجليسرات بـواسطة glycerate kinase (EC 2.7.1.31) ويتكون ٣ - فوسـفو جليسرات والذى يتحول إلـى البيرفات عبر فوسفات أيـنول بيروفات. ويدل النشاط الـعالى لإنزيمى isocitrate lyase ، malate synthase على استخدام دورة glyoxylate فى الأكسـدة الكاملة للجليكولات إلى ك أ$_2$.

كما أن بعض pseudomonads يستطيع اختزال glyoxylate إلى glycolate بملامسة إنزيم glyoxylate reductase (EC 1.1.1.26) .

٤.٣.٧ تحولات الطرطرات Tartrate metabolism

يستطيـع ميكروبى *Pseudomonas putida* ، *Ps. acidovorans* تكوين حمض الجليسريك من L (+) - or meso-tartaric acid كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٣.٧) : تحولات الطرطرات

ويـلامس التفـاعل (١) إنزيم tartarate dehydrogenase (EC 1.1.1.93) وهو متخصص للطرطرات ولا يهاجم L (-) or D (+) malic acid .

أما التـفاعل (٢) فيلامـسه إنزيم oxaloglycolic reductase (EC 1.1.1.92) مع حدوث نزع لجزى ك أ٢ .

أما تفاعل (٣) فهو تفاعل غير إنزيمى ويلامسه كاتيون Mg^{++} ويتم فيه نزع ك أ٢ من oxaloglycolic لتكـوين هيدروكـى بـيروفات أو طرطرات سمـى الدهيد وكلاهمـا سهل التحول إلـى الجليـسـرات بواسطة hydroxy pyruvate reductase (Ec 1.1.1.29) ويـرافـقه $NAD (P) H. H^+$ الذى يتأكسد إلى $NAD (P)^+$ للمـركب الأول أو إنزيم tartronic semi aldehyde reductase (EC 1.1.1.60) المرتبط بـ NAD^+ الذى يختزل إلى $NADH_2$ ويحتمل أن تحدث فسفرة لحمض الجليـسريك مكونًا ٣ - فوسـفو جليسرات والذى يدخل دورة EMP مكونًا البيروفـات والذى يدخل بدوره فى TCA وتحدث الأكسدة الكاملة حتى ك أ٢ ، يد٢ أ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

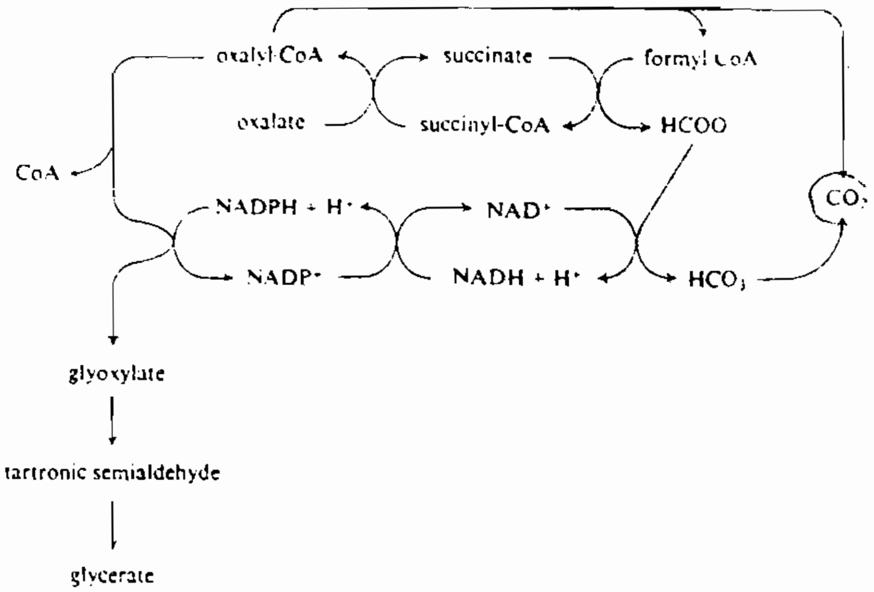
٥.٣.٧ تحولات الأوكسالات والفورمات Oxalate & Formate metabolism

يستطيع ميكروب *Pseudomonas oxalaticus* النمو على الـفورمات أو الأوكسالات كمصـدر وحـيد للكربـون. حـيـث يؤكـد الفورمـات بواسطة Formate dehydroge-nase (EC 1.2.2.1) وينتـج ك أ$_2$ الذى يثبـت بواسطة ميكانـيكية تشبه دورة كالفن حيث يدخل ك أ$_2$ عند مستوى فوسفو جليسرات أو المالات. ويمكنه تثبيت ك أ$_2$ أيضًا عند مستوى البيروفات أو الفوسفواينول بيروفات

$$\text{pyruvate} + CO_2 \xrightarrow{NADH.H^+ \;\curvearrowright\; NAD^+} \text{malate}$$

$$\text{phosphoenolpyruvate} + CO_2 \xrightarrow{IDP \;\curvearrowright\; ITP} \text{oxalacetate}$$

أما إذا نمى *Ps oxalaticus* على الأوكسالات فإن إنزيم - ريبلوز دى فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.1.39) يغيب ولهذا تتعطل دورة كالفن. وقد اقترح Kornberg سنة ١٩٥٩ الدورة التالية :

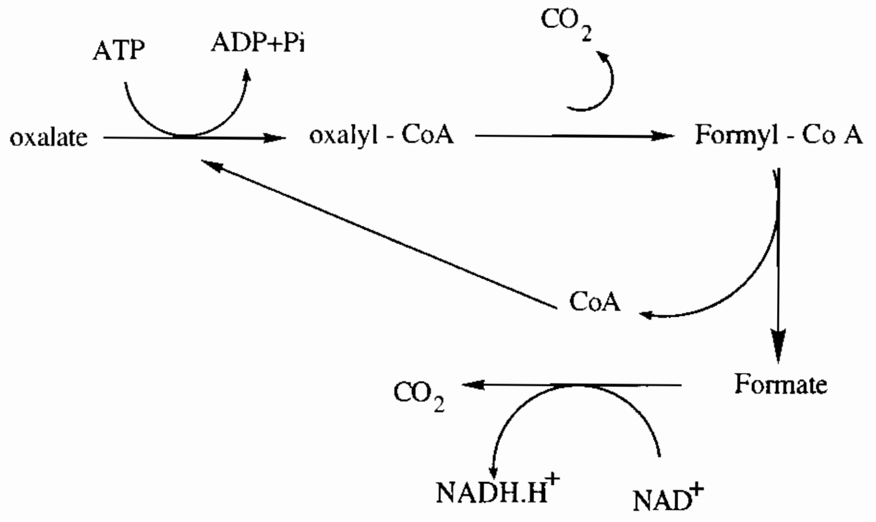


شكل (٤.٧) : تحولات الأوكسالات والفورمات فى *Ps. oxalaticus*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حيث تتأكسد الأوكسالات إلى glyoxylate . ولكى تعمل دورة TCA ، ودورة glyoxylate لابد من تكون أسيتيل كوانزيم A وذلك عن طريق بعض المركبات الوسطية والبيروفات كما أن أسيتيل كوانزيم A مع glyoxlate يتحدان ويكونا المالات بمساعدة malate synthase وبذلك تكتمل دورة glyoxtlate . ويبدو أنها تستخدم أساسًا لبناء مادة الخلية من بولى - β - هيدروكسى بيوترات أما دورة TCA فتستخدم فى إنتاج الطاقة .

وتُلامَس عملية نزع ك أ٢ من oxalyl - Co A لتكوين Formyl - Co A بواسطة إنزيم oxalyl - Co A dehydrogenase (EC 4.1.1.8) وهذا التفاعل يحتاج ثيمين بيروفوسفات (TPP) كمرافق ويحفز بواسطة الكاتيونات Mg^{++} ، Mn^{++} .

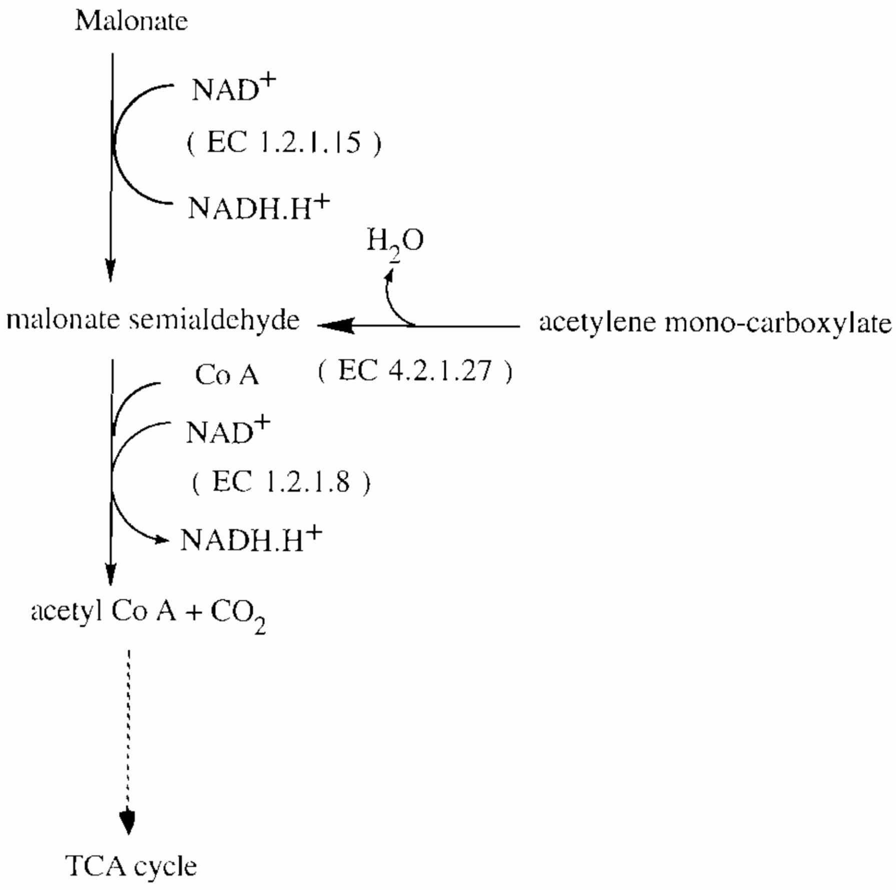


٦.٣.٧ تحولات المالونات Malonate metabolism

المالونات مثبط معروف لإنزيم Succinic dehydrogenase (EC 1.3.99.1) .

وتستطيع ميكروبات عديدة من أفراد Pseudomonads أكسدته أكسدة شبه كاملة حيث تتأكسد المالونات أولاً إلى مالونات سيمى الدهيد بواسطة malonate semialde dehydrogenase (EC 1.2.1.15) ويتكون هذا المركب أيضًا بنزع جزئ ماء hydration من حمض أسيتلين مونو كربوكسيليك فى وجود إنزيم Ma. semialdahde dehydratase (EC 4.2.1.27) كما بالرسم :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٧.٥) : تحول المالونات فى *Pseudomonas fluorescens*

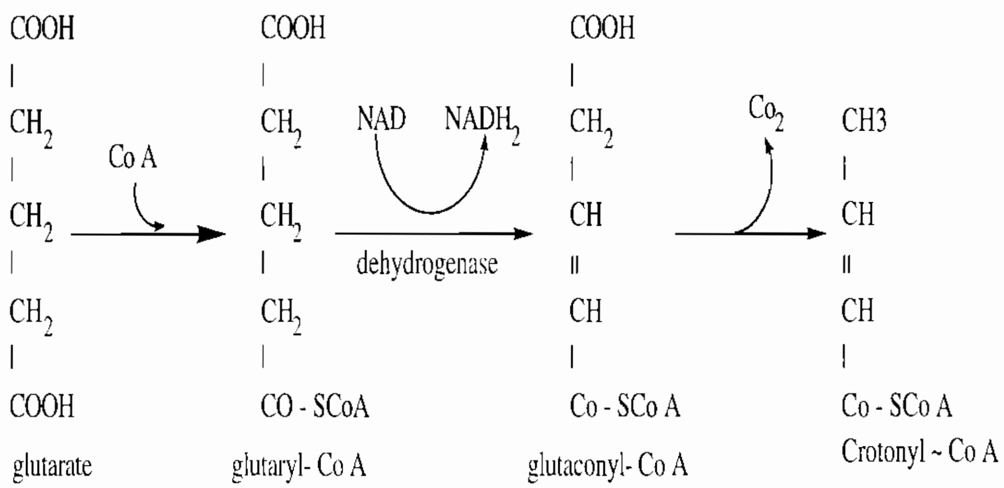
والخطوة التالية هى نزع ك أ٢ من المالونات سمى الدهيد والذى يحتاج TPP ، Co A ، Mg^{++} ويتكون اسيتيل كوانزيم A الذى يدخل دورة TCA . والإنزيم المسئول عن هذه الخطوة هو Malonate semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.8) وهو معقد إنزيمى (راجع بند ٧.١٠.١) .

٧.٣.٧ تحولات الجلوتارات Glutarate metabolism

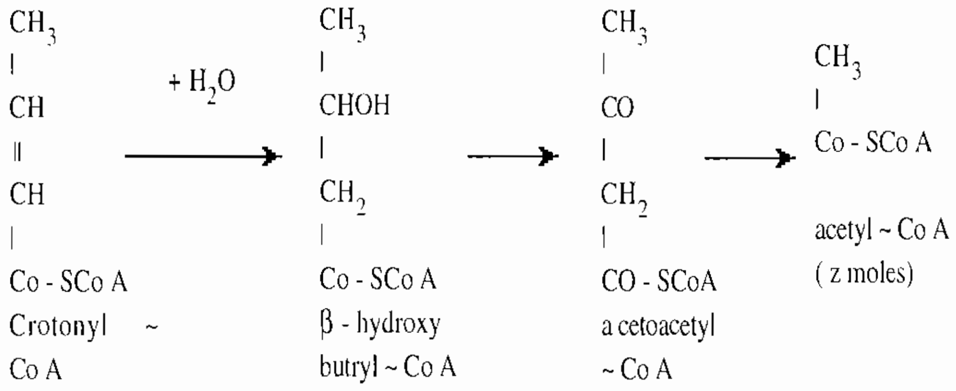
يستطيع *Ps. fluorescens* تحويل الجلوتارات إلى ك أ٢ وأسيتيل كوانزيم A بطريقة مشابهة لما يحدث فى أنسجة الحيوان . حيث تُنشّط الجلوتارات أولاً بواسطة Co A ويتكون glutaryl - Co A حيث لا يمكن تمثيل الجلوتارات كحمض حر .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

- ثم تحدث عملية أكسدة للمركب glutaryl - Co A ينتج عنها glutaconyl - Co A والذى يتبعه مباشرة نزع مجموعة CO_2 ويتكون Crotonyl - Co A والإنزيم المسئول هو glutaryl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.7) المرتبط بـ FAD .



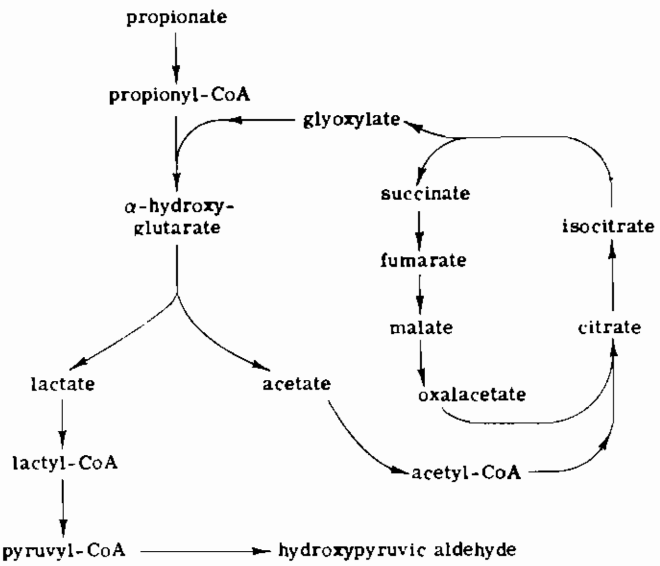
- ثم تحدث عملية إضافة جزئ ماء (hydration) لمركب Crotonyl - Co A فى وجود إنزيم crotonase (EC 4.2.1.17) ينتج عنها بيتا - هيدروكسى بيوتريل - كوانزيم A والذى يتحول إلى أستيواسيتيل كوانزيم A والذى يتكون عنه ٢ مول أسيتيل كوانزيم A الذى يدخل دورة TCA .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٨.٣.٧ تحولات البروبيونات Propionate metabolism

يستطيع *Esherichia coli* تمثيل البروبيونات هوائيًا خلال دورة glyoxylate والمركب النهائى لم يعرف بعد .



شكل (٦.٧) : تحولات البروبيونات فى *E. coli*

حيث تنشّط البروبيونات أولاً بواسطة Co A ويتكون بروبيونيل كوانزيم A الذى يتحد مع glyoxylate فى وجود إنزيم hydroxyglutorate synthase (EC 4.1.3.9) ليكون هيدروكسى جلوتارات ثم يحدث تفاعل انشقاقى cleavage reaction ليتكون اللاكتات والأسيتات وتدخل الأسيتات عبر أسيتيل كوانزيم A إلى دورة TCA and / or دورة glyoxylate . أما اللاكتات فتُنَشّط فى وجود إنزيم Lactyl - Co A synthetase ويتكون لاكتيل كوانزيم A الذى يتحول إلى بيروفيل كوانزيم A ومنه يتكون هيدروكسى بيروفات الدهيد وأى تحولات أخرى لهذا المركب غير معروفة .

وأثبتت الدراسات على طفرات عديدة من *E. coli* أن تركيز مادة التفاعل النامى عليها الميكروب - إذا كان عاليا - يؤثر على تحول البروبيونات إلى أسيتات وفى هذه الحالة ينشط isocitrate lyase ويزداد معدل دورة glyoxylate أما التركيزات المنخفضة فتؤدى إلى تحول البروبيوتات إلى أحماض رباعية الكربون غير معلومة ويحتمل استعمال دورة اللاكتات فى هذا الغرض .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٩.٣.٧ تحولات اللاكتات Lactate metabolism

تتشابه الميكانيكية الإنـزيمية لهدم اللاكتات هوائيًا فى *Acetobacter* ، *Acetomonas* والإنزيم المسئول هو lactate oxidase (EC 1.13.12. gr) وهو لا يحتاج لمرافقات إنزيمية ويعتقد أنه monooxygenases وأن مادة التفاعل تستخدم كمعطى الكترون داخلى .

$$\text{D-lactate} + O_2 \longrightarrow \text{acetate} + CO_2 + H_2O$$

والبيـروفات نفسها يمـكن تمثيلهـا عندئذ بثلاث طـرق مختلفة بـواسطة بكتريـا حمض الخليك .

١ - Pyuvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) الذى يلامس تكون الأسـيتالدهيد +ك أ٢ وتلاحـظ هذه الميـكانـيكيـة فى *Acetomonas suboxydans* ، *Acetobacter peroxydans* .

٢ - Pyruvate oxidase وهو يحتاج الثيـمين بيروفوسفات (TPP) ويوجد فى *Acetobacter pastenrianum, A. Liquefaciens* والناتج هو الأسيتات .

٣ - خليط مـن الإنزيـم السابـق (١) أى Pyruvate decarboxylase ونظام السيتوكروم ولا يحتـاج لمـرافقـات ويعـمـل O_2 كمستقبـل للالكتـرون وهـو يشـبه Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.2.2) والناتج هو الأسيتات .

٤.٧ تنظيم تحولات الأحماض الكربوكسيلية

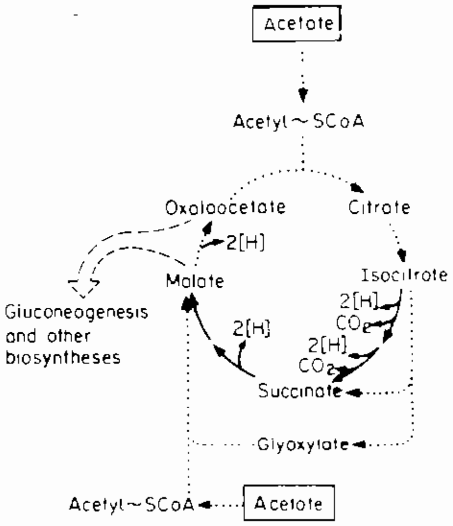
Regulation of Carboxylic acid metabolism

هناك علاقة متينة بين تفاعلات الهدم Catabolic والبناء anabolic . فتحت الظروف الهوائية هناك دورة TCA التى تخدم كحلقة وصل بين نواتج الهدم مع تكوين الطاقة وبادئات البناء وما يعقبها من تفاعلات بناء تعرف anaplerotic sequences أى أن دورة TCA هامة للتنفس وانتاج الطاقة من ناحية وللتخليق الحيوى للخلية من ناحية أخرى .

وأحـد الإنزيمـات anaplerotic سبق ذكـره أثناء منـاقشة دورة glyoxylate وهـو isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) الذى يلامس أنـشقاق أيـوسترات إلى حـمض رباعى

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

الكربون (السكسينات) ، مركب ثنائى الكربون (glyoxylate). والإنزيم الثانى هو malate synthase (EC 4.1.3.2) الذى يلامس اتحاد أسيتيل كوانزيم A مع glyoxylate لتكوين المالات أى أن الميكروبات التى تستخدم السترات والأسيتات كمصدر وحيد للكربون تستطيع تكوين ٢ مول حمض رباعى الكربون ثنائى الكربوكسيل من ١ مول سترات، ١ مول أسيتات. والأحماض الرباعية تستخدم كبادئات بناء فى تكوين الأحماض الأمينية والدهنية وتخليق مادة الخلية عبر ما يسمى gluconeogenesis .

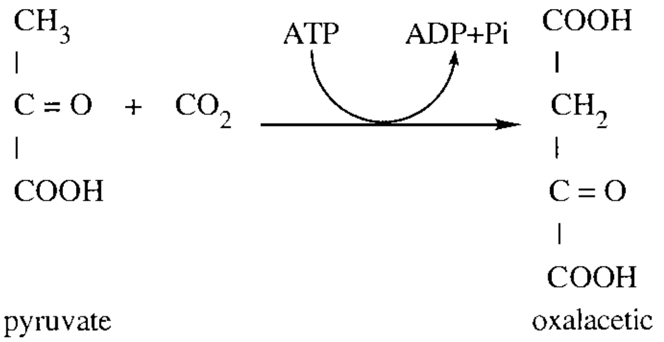


شكل (٧.٧) : التفاعلات الأيضية التى تمد الخلية بالطاقة والكربون أثناء النمو على الأسيتات نقلاً عن schlegel سنة ١٩٨٦ (تفاعلات البناء « دوره glyoxylate » ، « تفاعلات الهدم « دوره TCA »)

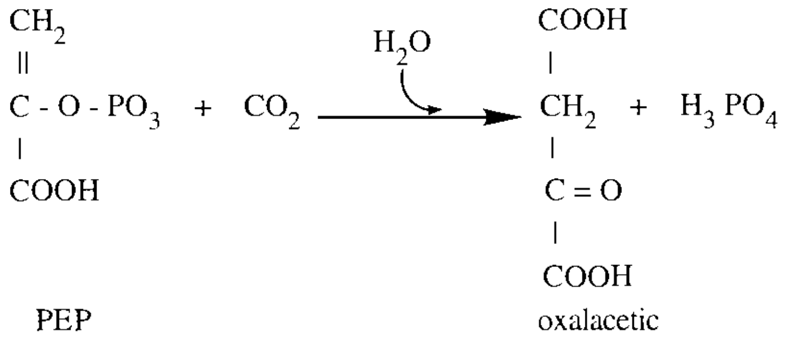
بالإضافة إلى دورة glyoxylate التى تقوم بتزويد الخلية بالأحماض C_4 فإنه يلزم لبدء دورة TCA ضرورة الحصول على مركبات C_4 (وبالتحديد الأكسال أسيتات) وهذا يحدث بتثبيت ك أ٢ . وقد وجد فى عالم البكتريا ٥ انزيمات مسئولة عن آلية تثبيت ك أ٢ كالتالى :

١ - Pyruvate carboxylase (Pyr-Cx) المرتبط بالبيوتين (EC 6.4.1.1) وهو ينتج حمض أوكسال أسيتيك من البيروفات (وهو يختلف عن الإنزيم الموجود فى الثدييات الذى يحتاج acetyl Co A بدلاً من البيوتين) .

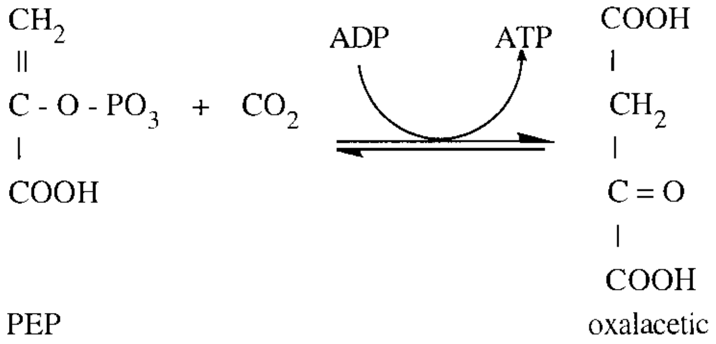
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



٢ - (EC 4.1.1.31) Phosphoenolpyruvate carboxylase (PEP-Cx) الذى يلامس تحول الفوسفوانيول بيروفات إلى الأوكسال أسيتـات. وتنطلق مجموعة الفوسفات الغير عضوية حره .



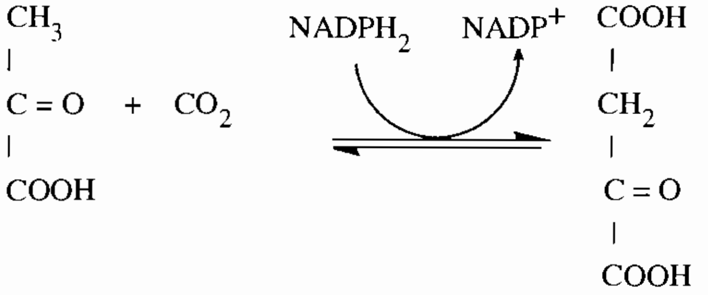
٣ - (EC 4.1.1.49) phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEP-CK) الذى ينتج الأوكسـال اسيتات من الفوسفو أيـنول بيروفات ولكن يحتـاج لمساعدة من ADP الذى يستقبل مجموعة الفوسفات الغير عضوية مكونًا ATP .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٤ - Phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase (EC 4.1.1.32) (PEP-CtrP) وهو يلامس تفاعل شبيه بالتفاعل السابق ولكن يحتاج البيكربونات والفوسفات الغير عضوى الذى يتحول إلى البيروفوسفات .

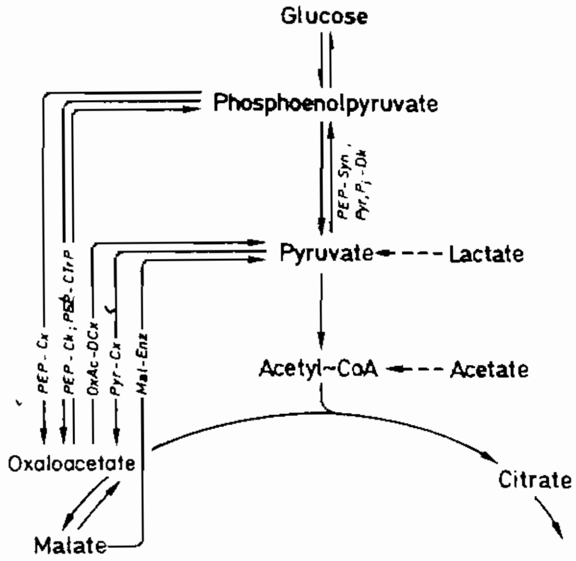
٥ - malic enzyme (EC 1.1.1.40) الذى يلامس reductive carboxylation للبيروفات مكونًا المالات مع أكسدة $NADPH.H^+$ إلى $NADP^+$.



pyruvate oxalacetic

وهكذا أثنان من هذه التفاعلات البنائية (anaplerotic reactions) تعملان عند مستوى البيروفات وثلاثة يعملون عند مستوى الفوسفواينول بيروفات. وبالطبع فإنه ليس كل هذه الإنزيمات موجودة فى نفس الكائن. ففى Enterobacteria يبدو أن PEP - carboxylase هو الإنزيم الأساسى وأما باقى الإنزيمات فتعمل - فى حالة وجود مركبات C_4 فعلاً - فى نزع ك أ$_2$ decarboxylation . فمثلاً إنزيم الماليك يمكنه استعادة البيروفات لتخليق الأنين، الفالين، الليوسين أو حتى أسيتيل كوانزيم A لتخليق الأحماض الدهنية . ولقد ثبت وجود تنافس فى مركز الطاقة بين إنزيمى PEP - synthetase ، Pyruvate DH فإذا كانت شحنة الطاقة ذات قيمة عالية فإن التحول يكون فى اتجاه PEP (تخليق حيوى) وإذا كانت شحنة الطاقة منخفضة فإن الاتجاه يكون ناحية الهدم وتكوين أسيتيل كوانزيم A . وهذه العملية التنظيمية بواسطة شحنة الطاقة (adenylate energy charge) يتدخل فيها التثبيط الرجعى Feed back inhibition . ويبدو أنها تؤدى فى النهاية لتكيف الخلية حسب الاحتياج اللحظى للتحولات الأيضية ؛ وهذا التأثير التنافسى يغيب فى الخلايا النامية على الجلوكوز وينشط جدًا فى الخلايا النامية على المركبات ذات الوزن الجزئ المنخفض مثل الأسيتات. ويمكن تلخيص التفاعلات anaplerotic الرئيسية الداخلة فى تحولات الكربون هوائيًا كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



Enzymes: Mal-Enz, malate enzyme; OxAc-DCx, oxaloacetate decarboxylase; PEP-Ck, phosphoenolpyruvate carboxykinase; PEP-Cx, phosphoenolpyruvate carboxylase; PEP-Syn, phosphoenol pyruvate synthetase; PEP-CTrP, phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase; Pyr-Cx, pyruvate carboxylase; Pyr, P_i-Dk, pyruvate orthophosphate dikinase.

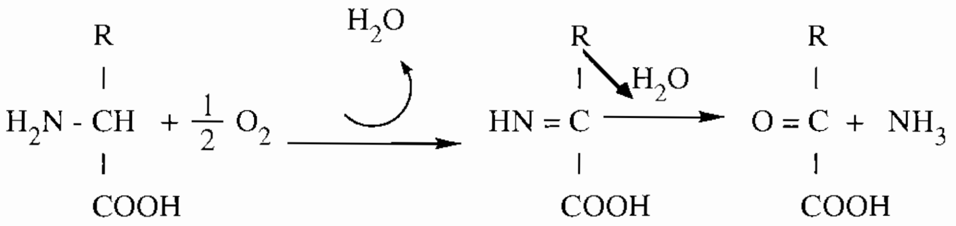
شكل (٨.٧) : كيفية الحصول على مركبات C_4 (المالات، الأكسال أسيتات)
من المركبات C_3 (البيروفات، فوسفو إينول بيروفات) نقلا عن شليجل سنة ١٩٨٦

٥.٧ تحولات الأحماض الأمينية Amino acids metabolism

تستطيع البكتريا الهوائية والاختيارية مثل التابعة لعائلات Enterobacteriaceae ، Pseudamonadaceae أكسدة البروتين والأحماض الأمينية تحت الظروف الهوائية واستعمال هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنتروجين والطاقة .

إنزيمات أكسدة الأحماض الأمينية ذات طبيعة فلافوبروتينية وذات جهد أكسدة واختزال حوالى 4 mV - وعادة تتأكسد الأحماض الأمينية D-amino acids إلى imino acids يتبعها تحلل مائى إلى الحمض الكيتونى المقابل. أما الأحماض الأمينية من النوع (-L) فيحدث لها عملية نقل مجموعة الأمينو Transamination أولاً قبل أى تحللات أخرى .

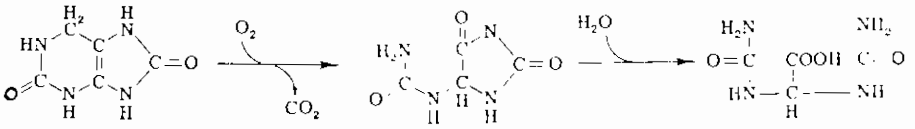
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



D-amino acid imino acid Keto acid

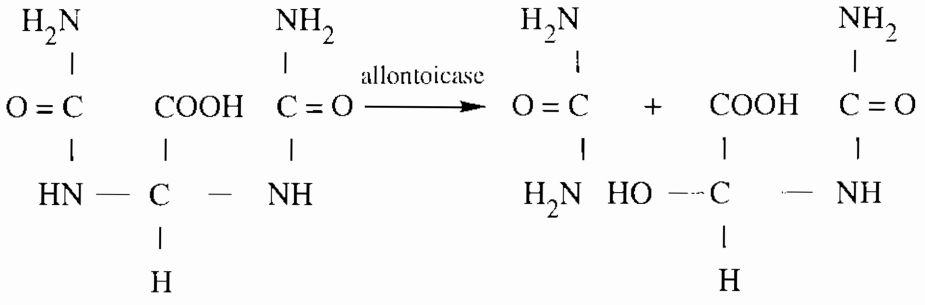
١.٥.٧ تحول حمض اليوريك والالنتوين Uric acid and allantoin

يتم تحلل الألنتوين من خلال ٣ طرق مختلفة معتمداً على تخصص الإنزيم المشارك. وأكثر الطرق شيوعًا المستخدمة بواسطة *Pseudomonas aerugenosa* ، *Ps. fluorescens* حيث يتأكسد أولاً حمض اليوريك إلى الألنتوين بمساعدة إنزيم urate oxidase (EC 1.7.3.3) وينطلق ك أ٢ ثم يعقب ذلك إضافة جزئ ماء hydration بملامسة إنزيم allantoinase (EC 3.5.2.5) الذى ينتج حمض الألنتويك .



uric acid allantoin allantoic acid

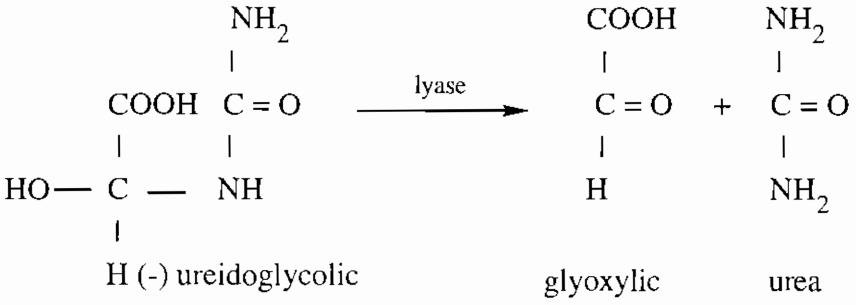
وعند هذا المستوى تتشعب الدورة. فالميكروبان السابقان يحولان حمض الألنتويك إلى اليوريا في خطوة واحدة بمساعدة allontoicase (EC 3.5.3.4) ، (-) Ureidoglycolic ويعرف أيضًا بإنزيم allontoate amidinohydrolase



allautoic acid urea (-) ureido - glycolic

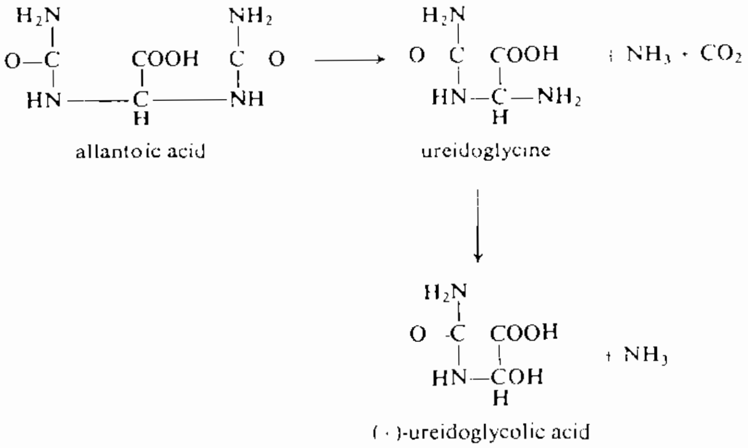
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويتحرر جزئ يوريا آخر بتأثير إنزيم (-) ureidoglycolate lyase (EC 4.3.2.3) ويتكون glyoxylic كناتج نهائى ثان بجانب اليوريا .



أمـا ميـكروب *Ps. acidovorans* فيـسـلـك طريـقًا ثانـيًا حيـث لا يفـرز إنزيم allantoicase ولكـــن يملك إنزيـين هـــما allantoate amidohydrolase ، (+) ureidoglycine aminohydrolase اللذان يحـــولان حمـض الالنتويك إلــــى (+) ureidoglycolic وتنطلق الأمونيا ، ك أى فى وجود المركب الوسطى يوريدوجليسرين .

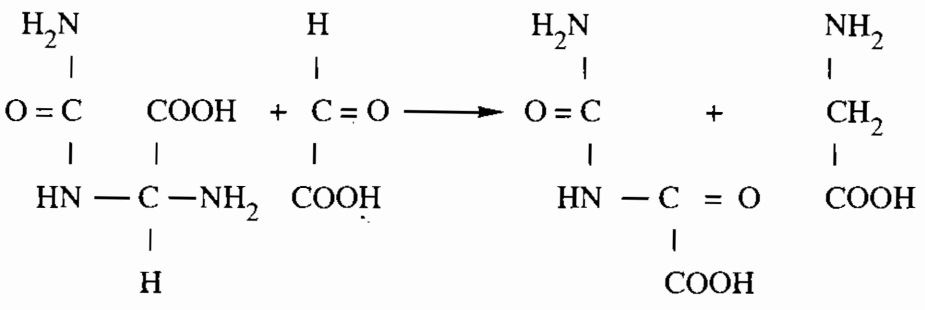
والمركب الناتج (+) ureidoglycolic يتحول إلى glyoxylateواليوريا بواسطة lyase كما سبق .



وفى ميكروب *Ps. acidovorans* ايضا يمكن نقل مجموعة أمينو transamination من

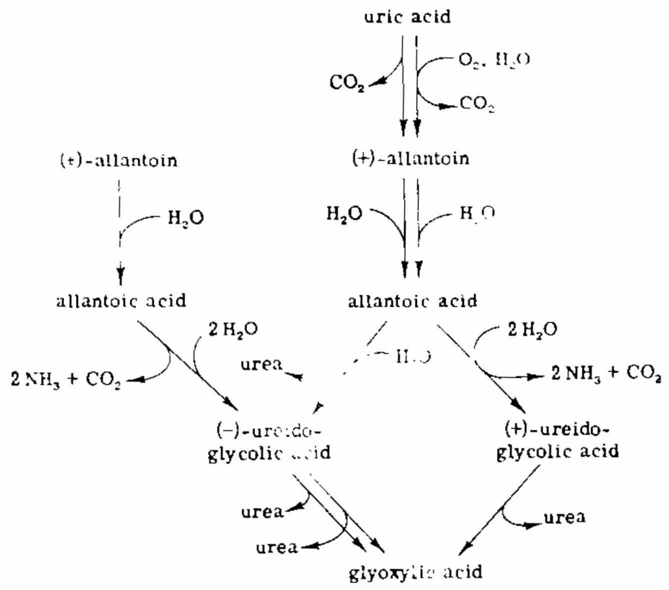
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المركب الوسطى ureidoglycine إلى المركب glyoxylate ويتكون oxaluric acid والجليسين .



أما الطريق الثالث ويقوم به *E. coli* ، *Arthrobacter allantoicus* حيث يتحول حمض الالنتويك إلى ureidoglycolate (-) مع تكوين ٢ مول أمونيا ، ١ مول ك أ٢ بتأثير إنزيم allantoate amidohydrolase بدون مركب وسطى .

ويمكن تلخيص كل التفاعلات السابقة فى الرسم التالى :



شكل (٩.٧) : تحولات حمض اليوريك والالنتوين نقلاً عن Vogels, 1969

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢.٥.٧ تحول التربتوفان Tryptophan

تقسيم مجموعة ميكروبات Pseudomonads طبقًا لأسلوبها فى تمثيل التربتوفان إلى:

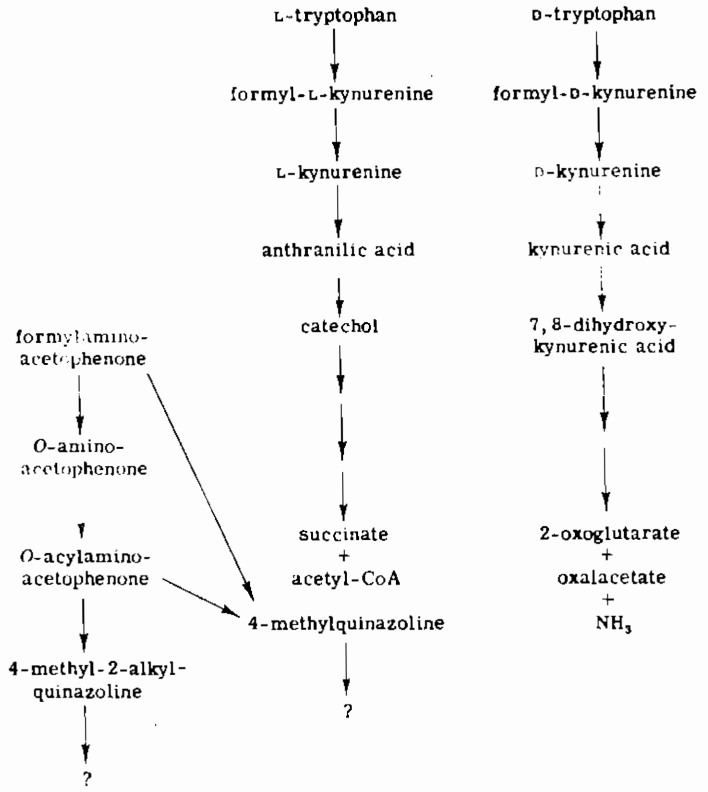
١ - المجموعة الحلقية aromatic وهى التى تحلل التربتوفان من النوع (L) عبر anthranilic acid ويمثلها *Ps. fluorescens* .

٢ - مجموعة quinoline وهى تحلل التربـتوفان من نوعى (L) ، (D) عبر Kynurenic acid ويمثلها *Ps. acidoyorans* .

٣ - مجموعة racemase - aromatic وهى تحلل التربتوفان من نوع (L) ، (D) عبر حمض anthranilic .

٤ - مجموعة quinazoline وهى تحلل التربتوفان من نوعى (L) ، (D) عبر - O-amino acetophenone ويمثلها *Ps. aerugenosa* .

ويمكن تلخيص ذلك بالرسم التالى :

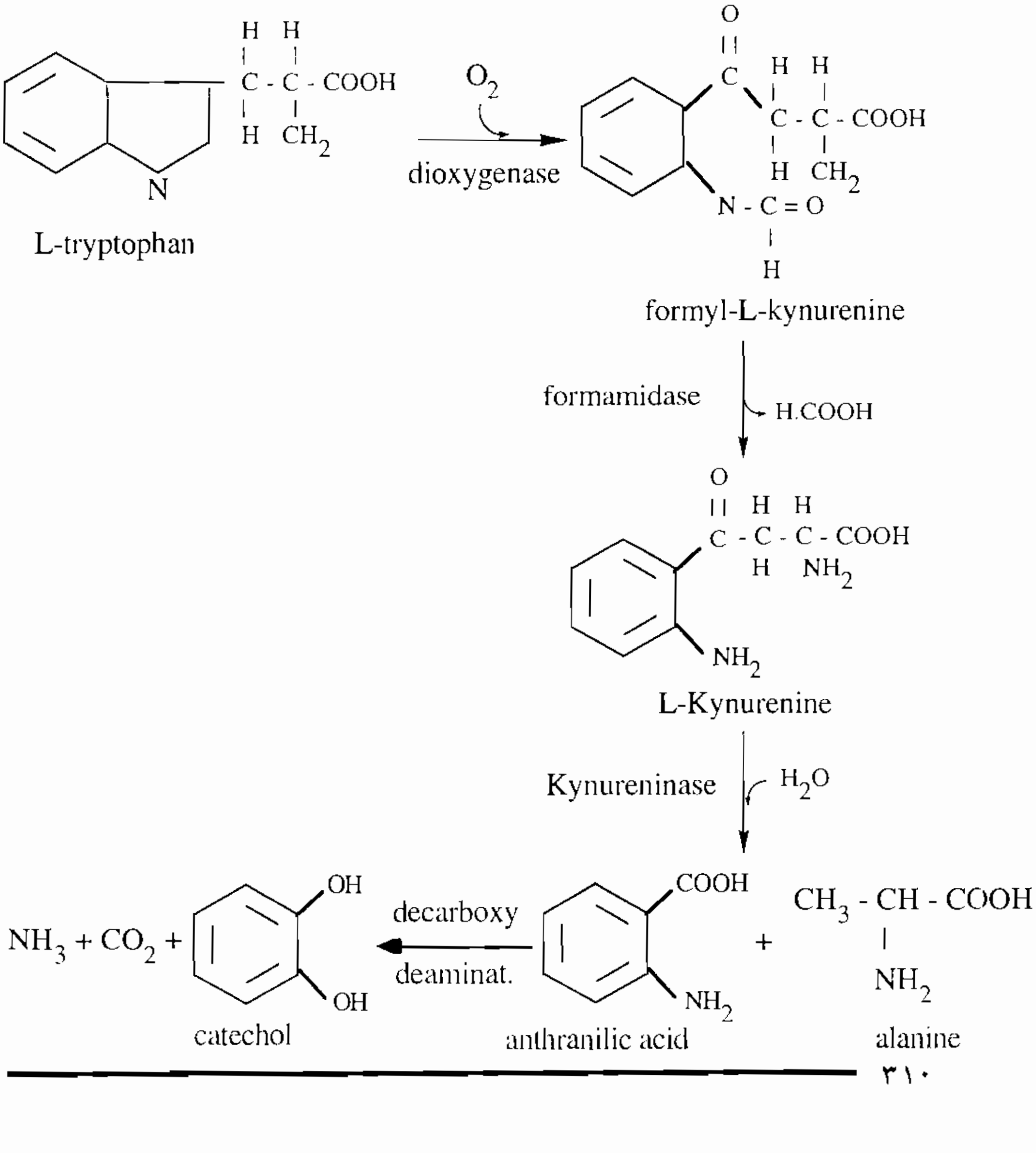


شكل (٧ . ١٠) : تحولات التربتوفان بواسطة pseudomonads

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

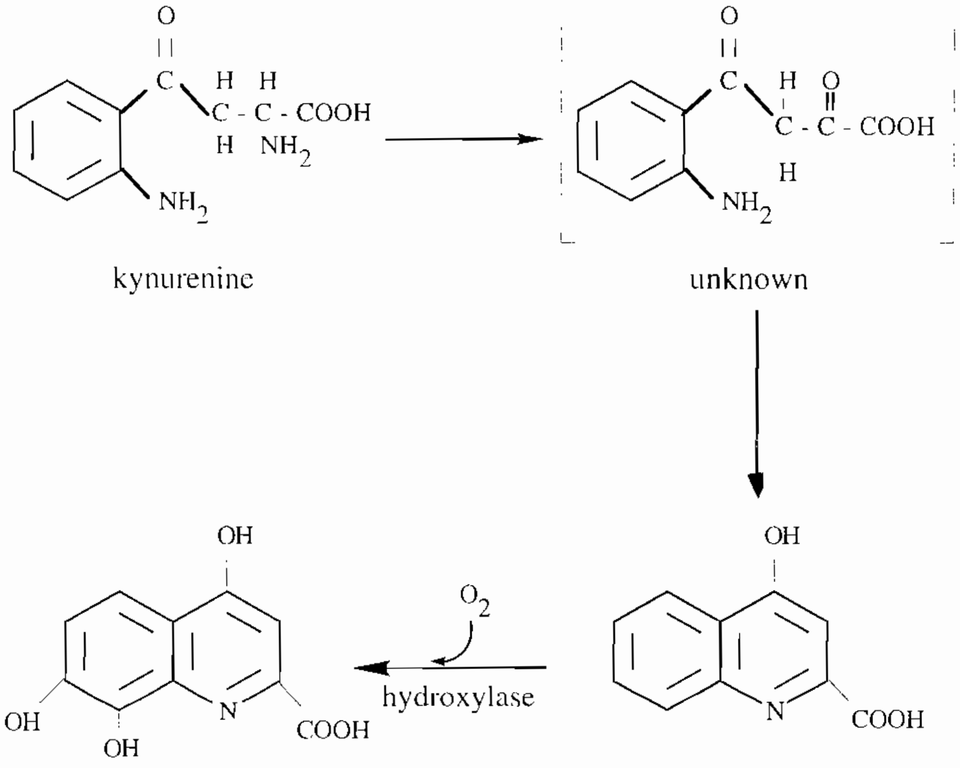
المجموعة الأولى : تهاجم التربتوفان (L) بواسطة إنزيم 2,3 dioxygenase (EC 1.13.11.11) ويتحول إلى formyl - L - kynurenine . وهذا الإنزيم يحتوى مجموعة hematin كمجموعة مرافقة ويدخل O_2 إلى الحلقة (Pyrrole ring) .

ثم تنزع الفورمات بواسطة إنزيم (EC 3.5.1.9) Kyn. Formamidase ويتكون Kynurenine ثم يعقب ذلك تحلل مائى للسلسلة الجانبية إلى الآنين بواسطة إنزيم Kynureninase (EC 3.7.1.3) ويتكون حمض anthranilic وأخيراً تحدث عملية نزع ك أ، مؤكسدة + عملية نزع مجموعة أمين مع إدخال الأكسجين والناتج هو Catechol والذى يكمل تحولاته عبر دورة *β - Ketoadipate* .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

المجموعة الثانية : حيث يتحول tryptophan (-L) or (-D) عبر oxygenase المتخصص، formamidase إلى kynurenine - (L) & (D) كما فى المجموعة الأولى وبدلاً من kynureninase يقوم الميكروب بإفراز kynureninase oxidase (D) or (L) الذى ينتج kynurenic acid عبر مركب وسطى غير معلوم .

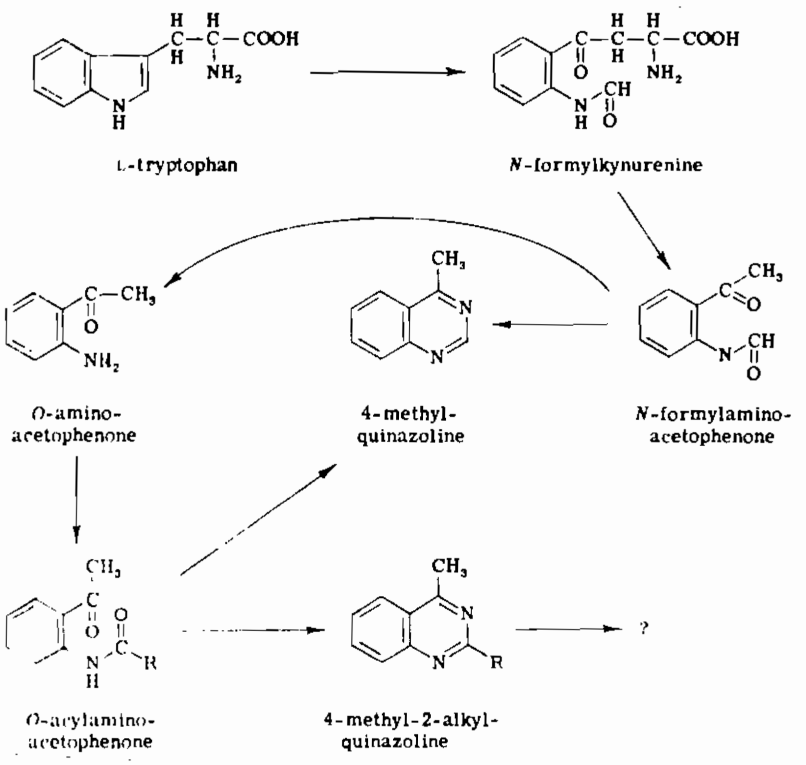


والخطوة الأخيرة تتم فى وجود Kynurenate 7, 8 hydroxylase (EC 1.14.99.2) والناتج النهائى لهذا الطريق هو 2 - oxoglutarate ، oxalacetate ، NH_3.

المجموعة الثالثة : فهى تحول التربتوفان سواء (D) أ، (L) عبر anthranilic acid والفرق بينهما وبين المجموعة الأولى هو وجود racemase الذى يمكّن الكائن من تحويل التربتوفان من نوع (D) إلى النوع (L) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المجموعة الرابعة : ويمثلها *Ps. aerugenesa* . وبرغم أنه أمكن تحديد وتعريف خطوات التحول إلا أن الإنزيمات المشاركة لم توصف بعد. والرسم التالى يظهر خطوات التحول فى هذه المجموعة .



شكل (١١.٧) : تحولات التربتوفان فى المجموعة الرابعة ويمثلها *Ps. aerugenosa*

وقد لوحظ أن تحولات التربتوفان فى الميكروبات تختلف تمامًا عن الموجودة فى أنسجة الثدييات وربما يرجع ذلك لوجود oxygenase فى الميكروبات .

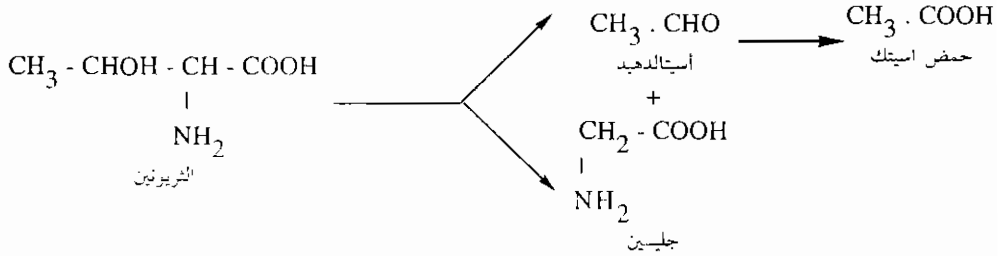
وتستطيع ميكروبات *streptomyces* ، *B. cereus* أيضًا تمثيل التربتوفان (D) ويبدو أن هذا التحول يلعب دورًا هامًا أثناء التجرثم .

وثبت أن انزيم 2, 3 dioxygenase هو إنزيم allosteric يلعب دورًا تنظيميًا فى الدورة عند مستوى formyl kynurenine .

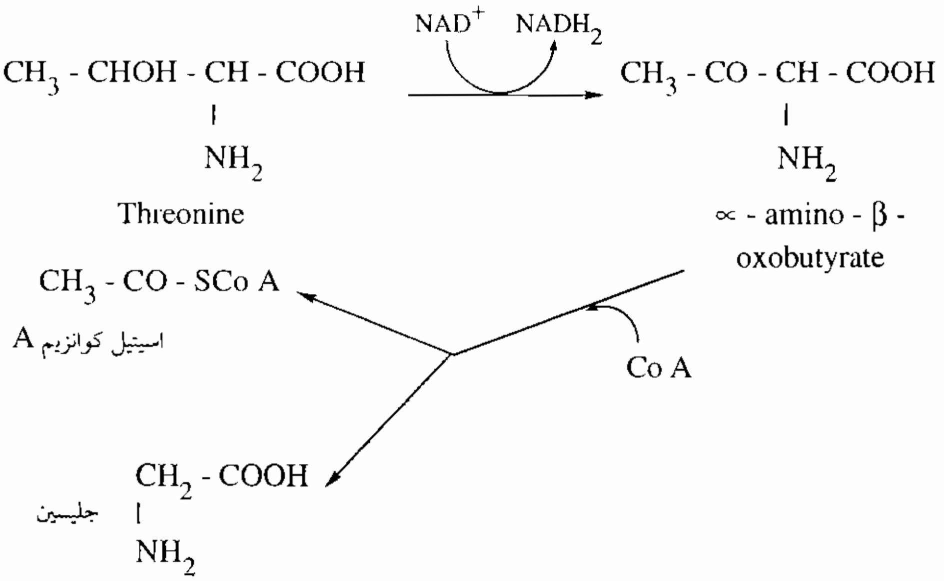
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣.٥.٧ تحولات الثريونين Threonine

يمكن تمثيل الثريونين تحت الظروف الهوائية عبر ٣ طرق مختلفة معتمداً على الإنزيم (Key) الموجود - ويمكن للعديد من Pseudomonads استخدام L-threonine كمصدر وحيد للكربون والطاقة حيث لها القدرة على إفراز إنزيم serine hydroxy methyl transferase (EC 2.1.2.1) الذى يشق الثريونين إلى أسيتالدهيد والجليسين ثم يتحول الأسيتالدهيد إلى الأسيتات الذى يدخل دورة glyoxylate .

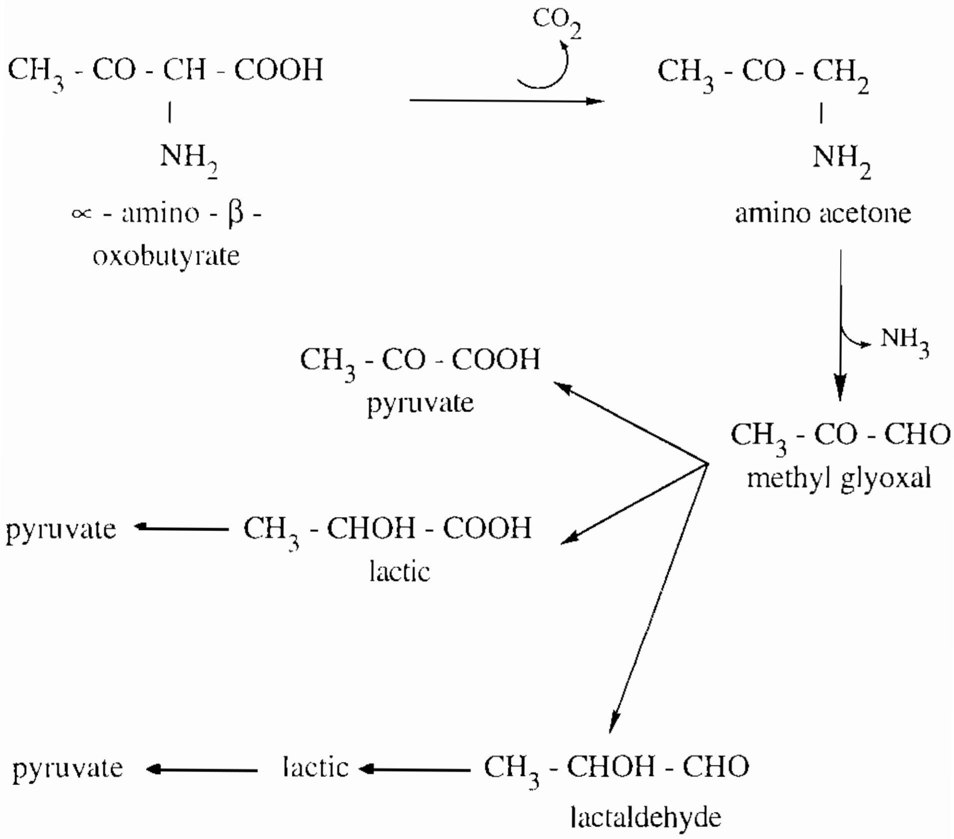


أما ميكروب *Arthrobacter* فلا يستطيع إفراز الإنزيم السابق ولكن يفرز (L) threonine - 3 dehydrogenase (EC 1.1.1.103) والذى يؤكسد الثريونين إلى ألفا - أمينو - بيتا - أوكسو بيوترات والذى ينشق فى وجود Co A إلى أسيتيل كوانزيم A والجليسين (الذى يدخل دورة السيرين) والإنزيم المسئول عن ذلك هو ∝ - amino - β - oxobutyrate Co A - ligase كما يظهر ذلك فى التفاعل التالى :



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

أما ميكروب *Bacillus subtilis* فيستطيع تمثيل الثريونين والأمينوبروبانول عبر أمينو أسيتون والميثايل جليوكسال إلى البيروفات. فعند مستوى الفا - أمينو - بيتا اوكسو بيوترات (من المعادلة السابقة) يحل إنزيم amino acctone - reductase محل A ligase ... كما يلي :



ويتبع الميثايل جليوكسال ٣ طرق لتكوين البيروفات :

١ - الأكسدة المباشرة فى وجود methyl glyoxal dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ .

٢ - أكسدة الميثايل جليوكسال إلى اللاكتك فى وجود إنزيم methyl glyoxalase ثم إلى البيروفيك .

٣ - التحول الغير مباشر عبر لاكتل الدهيد فى وجود إنزيم NADPH - linked methyl glyoxal reductase (EC 1.1.1.78) ثـم إلـى اللاكتيك فى وجـود إنـزيم

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

lactaldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.22) ثم إلى البيروفيك بواسطة lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.1) على الترتيب . والبيروفيك نفسه يدخل دورة TCA أو دورة glyoxylate .

أما تحول الأمينو بروبانول بواسطة هذه الميكروبات بدلاً من الشريونين فإن إنزيم (D) or (L) - amino propan - 2 - ol dehydrogenase (EC 1.1.1.74 or 75) يلامس الأكسدة إلى الأمينو أسيتون والذى يتبع الطريق السابق (أمينو أسيتون ← ميثايل جليوكسال ← بيروفات) وتفرز بعض ميكروبات Enterobacteriaceae هذا الإنزيم ولكن لتكوين الأمينو بروبانول بدلاً من الأمينو أسيتون (تفاعل عكسى) وذلك لانتاج فيتامين B_{12} .

٤.٥.٧ تحولات الليسين Lysine

يستطيع *Pseudomonas putida* تمثيل الليسين من خلال طريقين محددين أحدهما الصوره الحلقية ومادة تفاعله D - lysine والآخر الصوره غير الحلقية ومادة تفاعله L - lysine كما بالرسم (شكل ٧ - ١٢) .

والإنزيمات المسئولة عن الطريق الغير حلقى معروفة وهى حسب رقم التفاعل كالتالى :

١ - L - lysine - 2 - mono oxygenase (EC 1.13.12.2) .

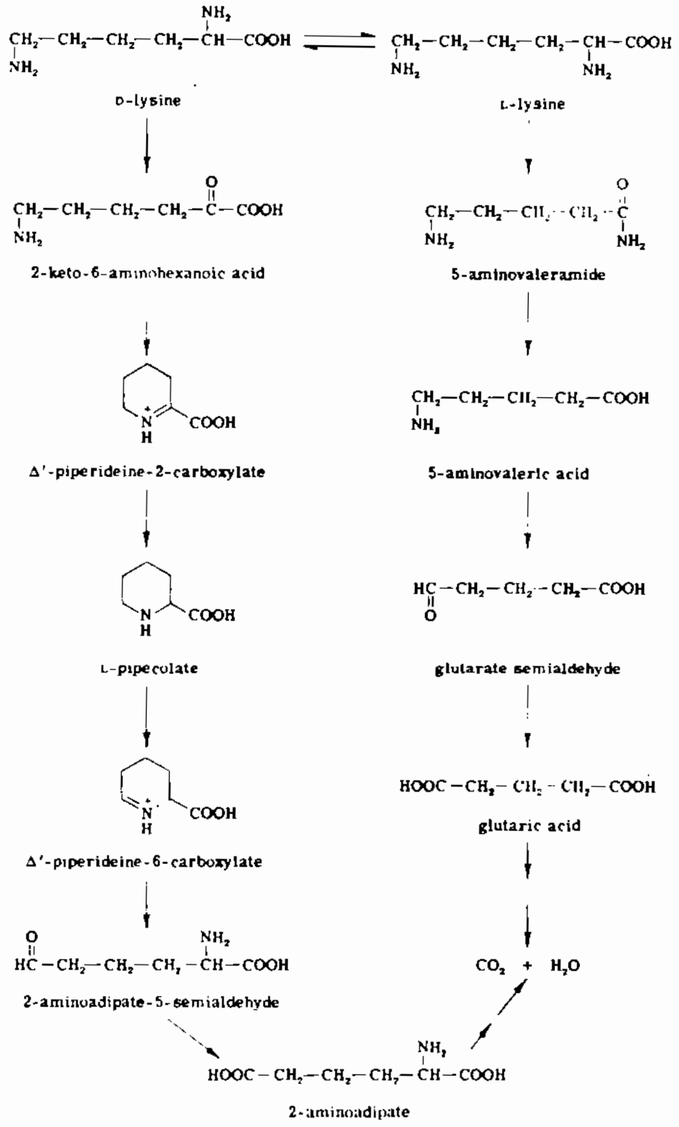
٢ - amino valeramide amidase (نزع مجموعة الأمينو) .

٣ - amino valerate transaminase (نزع مجموعة الأمينو الثانية) .

٤ - glutaric semialehyde DH (EC 1.2.1.20) .

أما الإنزيمات المسئولة عن الطريق الحلقى فمازالت غير محددة والمركب الوسطى لهذا الطريق هو L-pipecolate وسنتحدث عنه فى الباب القادم .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

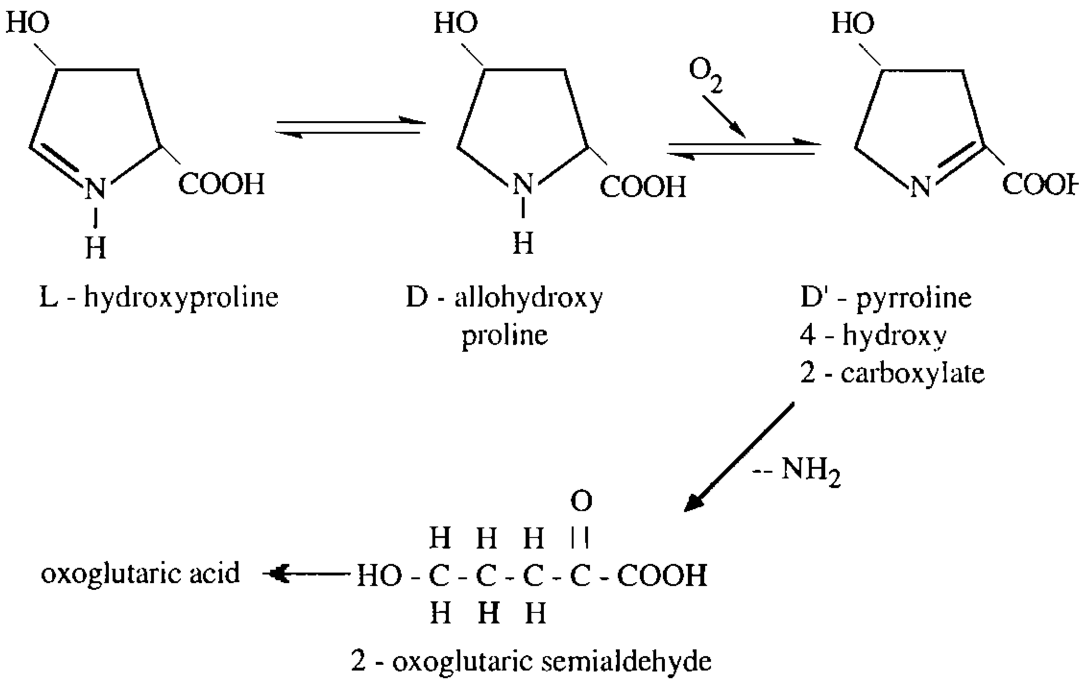


شكل (١٢.٧) : تحولات الليسين بواسطة *Ps. putida* نقلاً عن Miller & Rodwell 1971

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥.٥.٧ الهيدروكسى برولين Hydroxy proline

يمكن تمثيله بـواسطة ميكروبات *Ps. putida* ، *Ps. convexa* ،*Ps. fluorescens* مكونًا ٢ - أوكسو جلوتارات الذى يدخل دورة TCA .



والخطوة الأولى : هى تفاعل عكسى بواسطة 2 - epimerase (EC 5.1.1.8)

والثانية : تفاعل أكسدة بواسطة oxygenase .

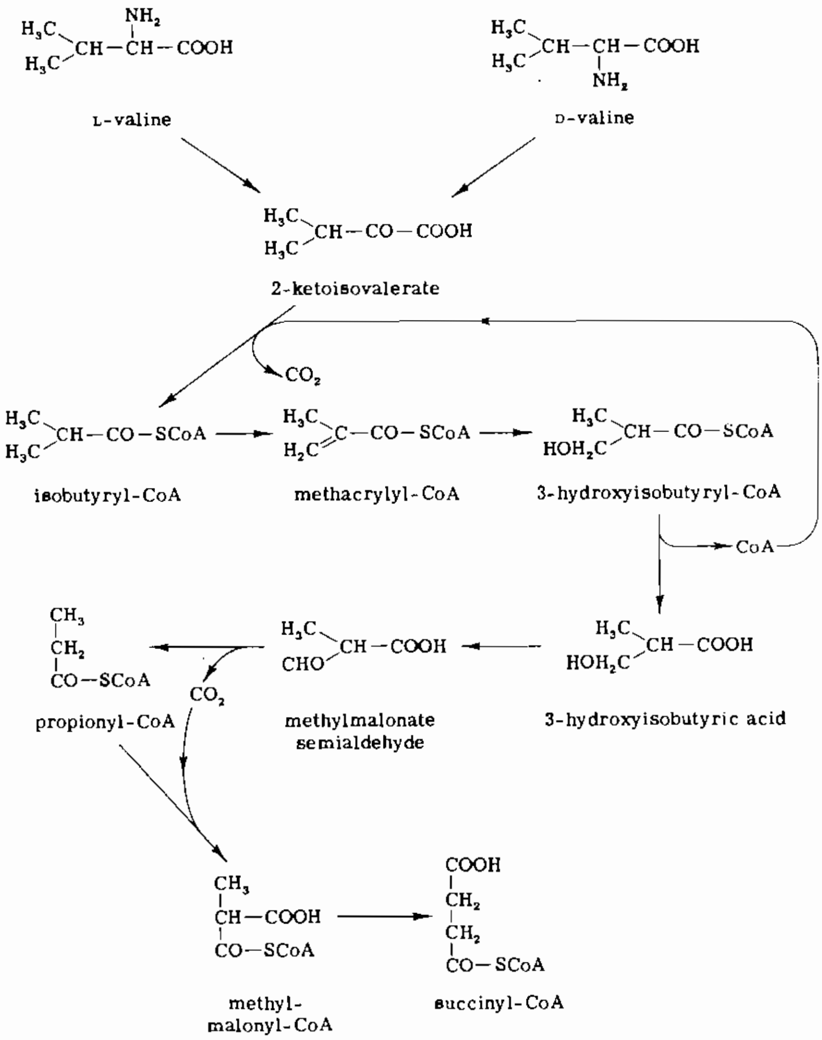
والثالثة : نزع مجموعة الأمينو بواسطة deaminase لتكوين أوكسو جلوتارات سمى الدهيد .

والأخيرة : أكسدة بواسطة dehydrogenase مرتبط بـ +NAD لتحويل سمى الدهيد إلى حمض أكسو جلوتاريك .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦.٥.٧ تحولات الفالين Valine

يمكن تمثيل كلا الايسومير (-D)، (-L) لمركب الفالين بواسطة *Pseudomonas aerugenosa* حيث تحدث أكسدة dehydrogenation للمركب D-valine بينما يحدث نقل مجموعة أمينو transamination للمركب L-valine ويتكون نفس المركب الوسطى كيتو أيسوفاليرات .



شكل (١٣.٧) : تحولات الفالين الهوائية بواسطة *Ps. aerugenosa*

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ثم يتحول كينو أيسوفاليرات بعملية نزع ك أ٢ مؤكسدة oxidative decarboxylation فـــى وجـــود Co A إلـــى أيســو بيوتيريل - كوانــزيم A . والإنزيم المشـــارك هـــــو 2 - ketoisovalerate dehydrogenase (EC 1.2.1.25) . ويعقب ذلك خـطوتين نزع ايدروچين وادخال جزئ ماء فتتكون ٣ - هيدروكسى أيسوبيوتيرات والذى يتأكسد إلى ميثيل مالـونات ســـمى الدهيـد فـــى وجـــود (EC 1.1.1.31) hydroxy butyrate DH وهـــذا المركب الأخير يتأكسد إلى propionyl - Co A فى وجود إنزيم ديهيدروجينز مرتبط بـ NAD^+ ، Co A مع أنطلاق ك أ٢ .

ومركب بروبيونيل كوانزيم A يتحول أمـا عن طريق acrylyl - Co A إلى لاكتيل كوانزيم A أو عبر ميثيـل مالونات كوانزيم A إلى سكسينل كوانزيم A ثم إلى السكسينات ومنها إلى دورة TCA أو دورة glyoxylate.

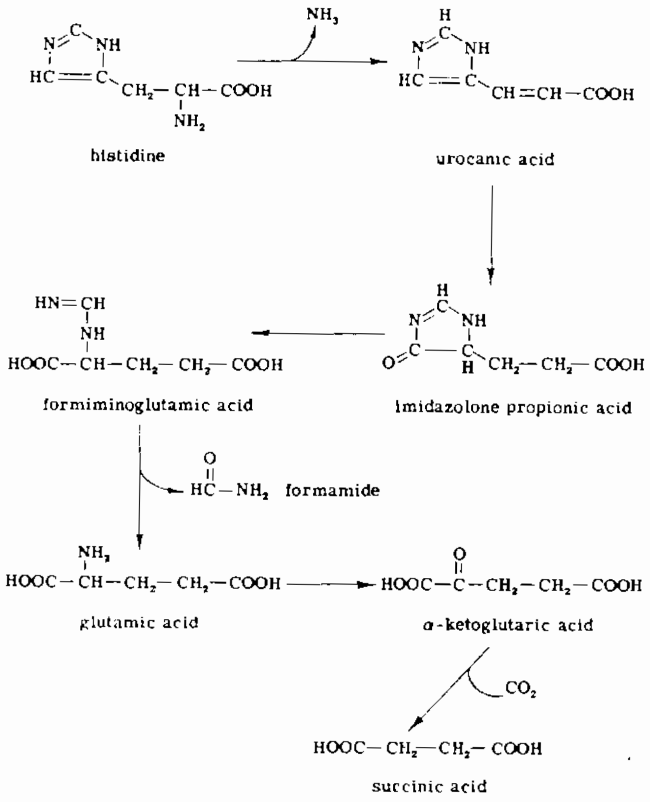
وثبت أن ميكروب *Ps. aerugenosa* يمكنه تكوين الالانين، الأسبارتـيك عند تنميته على الفالين مما يدل على وجود تفريعات أخرى من بروبيونيل كوانزيم A .

٧.٥.٧ تحولات الهستيدين Histidine

يكثر تمثيل الهســتيدين بواسطة الميكروبات . وهناك بعض الفــروق البسيطة بين تحولاته تحت الظروف الهوائية واللاهوائية .

أما تحــت الظروف الـهوائيـة فإنه يـحدث أولاً عـمليـة نزع الأميــنو فى وجــود إنزيم histidine lyase (EC 4.3.1.3) إلى حمض urocanic الذى يختـزل فى وجود -uroca nate hydratase (EC 4.2.1.49) إلى أميد ازولون بروبيونات . أمـا كسر الحلقة فيحدث بملامسة إنزيم imidazolone propionase (EC 3.5.2.7) مكـونا formiminoglutamic ثم يحدث تحـلل مائى فينقســم الجزئ إلى formamide والجلوتاميك والإنـزيم المسئول هو formiminoglutamase (EC 3.5.3.8) ثم يتحول الجـلوتاميك إلى كيتو جـلوتاريك ثم السكسينات فدورة TCA كما يتضح من الشكل التالى (٧-١٤) .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (١٤.٧) : تحولات الهستيدين الهوائية

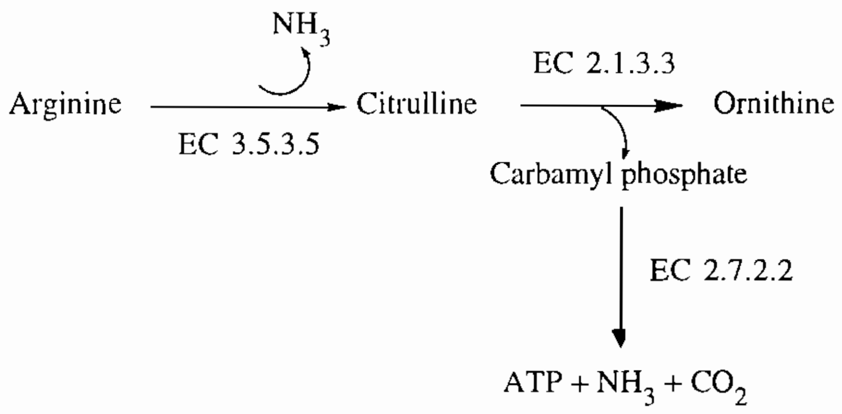
وقد لوحظ بعض الفروق بين العائلات البكتيرية فى هدم الهستيدين . ففى Pseudomonads تستعمل المركب الأول (حمض urocanic) كمحفز فسيولوجى physiological inducer أما السكسينات فتلعب دوراً فى التثبيط الرجعى feed back inhibition . . أما فى Enterobacteriaceae مثل *Aerobacter aerogenes*, *Salmonella typhemurium* فتلعب اليورونيك أسيد دور المحفز الفسيولوجى وتخليق ammonia يتأثر بالظروف البيئية المحيطة .

٨.٥.٧ تحولات الارجينين Arginine

يرتبط هدم الارجينين فى *Streptococcus faecalis* بتكوين ornithine . حيث

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

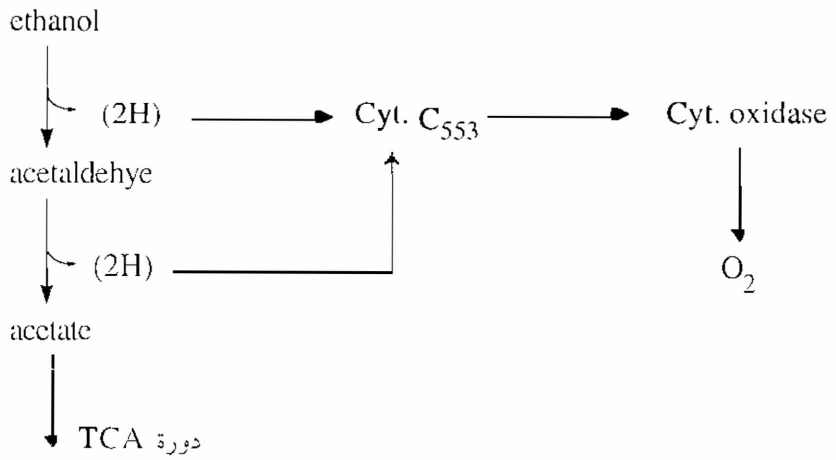
يلامس إنزيم Arginine deiminase (EC 3.5.3.5) تحويل الارچينين إلـى سترولين مع أنطلاق الأمونيا .



وفى وجـود إنزيم Ornithine Carbamoyl transferase (EC 2.1.3.3) ينشق السترولـين إلى أورنيثين وكاربامـيل فوسفات والذى يكمل تحـولاته فى وجود Autrescine carbamate kinase (EC 2.7.2.2) ليكون ATP ، الأمونيا ، ك أ٢ كنواتج نهائية .

٦.٧ تحولات الإيثانول Ethanol

تستطيع ميكروبات *Acetobacter* ، *Acetomonas* أكسدة الإيثانـول إلى الأسيتات الذى يـدخل دورة TCA منتـهيًا إلى ك أ٢ ، يـد ٢ أ . ويعتبـر الأسيتالدهيـد هو المركب الوسطى فـى أكسدة الإيثانول والإنزيم المسئول هو ethanol dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.1) كما هو بالرسم .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويتميز ميكروب *Acetomonas suboxydans* بقدرته على اختزال $NADP^+$ بمعدل يفوق ٤ مرات اختزال NAD^+ بواسطة ميكروب *Acetobacter peroxydans* .

أما الاسيتالدهيد فيتأكسد بواسطة aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.3 or 1.2.1.10) المرتبط بـ $NAD\ (P)^+$ والالكترونات الناتجة من التفاعل تدخل السلسلة التنفسية (نظام انتقال الالكترون) عند مستوى Cyt. C (553) وتراكم $NADPH_2$ الناتج ذو تأثير سئ على مواصلة أكسدة الآسيتات خلال دورة TCA فيتجه التفاعل ناحية التخليق الحيوى بواسطة gluconeogenesis .

ميكروب *Pseudomonas aeruginosa* يمتلك إنزيم aldehyde dehydrogenase - يختلف عن السابق - حيث يحتاج K^+ ، NH_4^+ لتنشيطه .

ووجود pyruvate dikinase الذى يحول البيروفات، ATP ، الفوسفات المعدنى (Pi) إلى فوسفواينول بيروفات، AMP وبيروفوسفات يؤكد حدوث gluconeogensis (عكسى glycolysis) فى بكتريا حمض الخليك أما وجود pyruvate kinase فى نفس الوقت فيدل على أن *Acetobacter xylinum* قادر على النمو على الجلوكوز . وكلا الإنزيمين يمكن التحكم فيهما بواسطة nucleotides فإذا كانت نسبه ATP / ADP عاليه فذلك يشجع gluconeogenesis (التخليق الحيوى) بينما النسبة المنخفضة أو تركيز AMP العالى يشجع الهدم Catabolism حيث AMP يثبط تفاعل dikinase ولمزيد من التفاصيل فى هذه الجزئية يرجع إلى Benziman & Eizen سنة ١٩٧١ .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أسئلة للمراجعة

١ - ماهى أهم الفروق بين نظام انتقال الالكترونات فى Chemolithotrophs ، Chemoorganotrophs الهوائية ؟

٢ - أشرح دورة TCA مع ذكر الانزيمات المشاركة فيها .

٣ - آشرح بالتفصيل ميكانيكية آكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A .

٤ - لماذا يعتبر المالات مركب مفتاحى فى دورة TCA ؟

٥ - ناقش حسابات الطاقة الناتجة عن دورة TCA التى تعتبر المصدر الرئيسى للطاقة للميكروبات الهيتروتروفية الهوائية .

٦ - ماهو دور دورة glyoxylate ؟ وماهى الإنزيمات الرئيسية المشاركة فيها ؟

٧ - ماهو anaplerotic sequences ؟

٨ - آشرح الطريقتين المستخدمين فى تحولات السترات .

٩ - قارن بين التحولات الهوائية للجليكولات بواسطة *Pseudomonas* أو اللاهوائية بواسطة *Microceccus denitrificans* .

١٠- قارن بين تحولات الطرطرات فى كل من Pseudomonads & lactobacillaceae ؟

١١- قارن بين التحولات الهوائية واللاهوائية لحمض البروبيونيك .

١٢- ناقش باختصار الطرق الآربعة المستخدمة فى تحولات التربتوفان الهوائية .

١٣- «يتحول الثريونين عبر ٣ طرق مختلفة معتمدا على الانزيمى المفتاحى الموجود» ناقش هذه العبارة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1 - Adams, E (1959). Hydroxyproline metabolism 1- Conversion to ∝ - ketoglutarate by extracts of *Pseudomonas*. J. Biol. chem. 234 : 2073.

2 - Asai, T. (1968). "Acetic acid bacteria classification and biochemical activities" Univ. of Tokyo press, Tokyo.

3 - Behrman, E.J. (1962). Tryptophan metabolism in *Pseudomonas*. Nature (London). 196 : 150.

4 - Benziman, M and Eizen, N (1971). Pyruvate - phosphate dikinase and the control of gluconeogenesis in *Acetobacter xylinum*. J. Biol. Chem 246 : 57.

5 - Blackmore, M. A and Turner, J. M. (1971) Threonine metabolism via two - carbon compounds by *Ps. oxalaticus*. J. Gen. Microbid. 67 : 243.

6 - Doibel, R. H (1964). Utilization of arginine as an energy source for the growth of *streptococcus faecalis* . J. Bacteriot. 87 : 988.

7 - Hug, D.H, Roth, D. and Hunter, J (1968) Regulation of histidine catabolism by succinate in *Pseudomonas putida*. J. Bacteriol. 96 : 396.

8 - Ichihara, A, Furiya, S. and Suda, M. (1960). Metabolism of L - lysine by bacterial enzymes. III) lysine racemasc. J. Biochem. 48 : 277.

9 - Karlson, P. (1965). "Introduction to modern biochemistry" 2 nd Ed. Academic Press., New York.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

10- Kornberg, H. L. and Krebs, H.A. (1957) Synthesis of cell constituents from C_2 units by a modified TCA. Nature (London) 179 : 988.

11- Kornberg, H. L. (1967) Anaplerotic sequences and their role in metabolism. Essays Biochem. 2 : 1.

12- Krebs, H. A. (1970). Rate control of the tricarboxylic acid cycle. Advan. Enzyme Regul. 8 : 335.

13- Miller, D. L. and Rodwell, V. W. (1971) Metabolism of basic amino acids in *Pseudomonas putida* catabolism of lysine by cyclic and acyclic intermediates. J. Biol. Chem. 246 : 2758.

14- Norton, J. E. and Sokatoh, J. R. (1966). Oxidation of D- and L- valine by enzymes of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol. 92 : 116.

15- Sacchan, D. S and stern, I. R. (1971). Studies of citrate transport in *Aerobacter aerogines*. Biochem, Biophys. Res. Commun. 45 : 402.

15a- Schlegel, H. G. General microbiology. 6 th Ed. Cambridge press.

16- Vogels, G. D. (1969). Stereospecificity in the allantoin metabolism. Antonie van leeuwenhoek; J. Microbiol. serol. 35 : 236.

17- Weitzman. P. D. and Dunmore, P. (1969). citrate synthases : Allosteric regulation and molecular size. Biochem. Biophy. Acta 171 : 198.

18- White, D. C. and Sinclair, P. R. (1971) Branched electron transport systems in bacteria. Advan. Microbial. Physiol. 5 : 173.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب الثامن

التنفس الهوائى
تحولات الهيدروكربونات

Hydrocarbons metabolism

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

بعض المواد الكيمياوية الثابتة والمعقدة التركيب مثل البارفينات ، الزيوت المعدنية ، المشتقات البترولية والمطاط يمكن أن تتحلل بيولوجيًا. وعمليات هدم الهيدروكربونات عمومًا هى عمليات أكسدة .

وتستخدم بعض الميكروبات المحللة للمركبات الهيدروكربونية مواد تفاعل مساعدة Co-substrates كمصدر لطاقة وفى نفس الوقت تؤكسد الهيدروكربونات أكسدة غير كاملة (خطوة أو خطوتين) وهذه الميكانيكية تسمى Co-oxidation أو Co-metabolism للهيدروكربونات وأهم أمثلتها التخلص من المخلفات الصناعية فى محطات معالجة مياه الصرف باستخدام الحمأه المنشطة activated sludge .

وعمومًا يتكون أثناء تحول الهيدروكربونات الأحماض الدهنية والتى تتعرض لعمليات أكسدة إضافية بطرق مختلفة (ألفا ، بيتا ، أوميجا) .

١.٨ طرق أكسدة الأحماض الدهنية

١.١.٨ الاكسدة من النوع ألفا $\propto$ - oxiation

وهى تحدث فى الوضع أو ذرة الكربون رقم ٢ من السلسلة ونتيجة هذا التفاعل هو ك أ٢ من الحمض الدهنى معطيًا odd - numbered fatty acid . والميكانيكية الحقيقية لهذا التفاعل ليست معروفة .

٢.١.٨ الاكسدة من النوع بيتا β - oxidation

هذا النوع من الأكسدة هو الشائع والأكثر دراسة فى الأحماض الدهنية وينتج عنه وحدات من الأسيتات (C_2) . والخطوة الأولى فيه هى عملية تنشيط الحمض الدهنى بواسطة نقله transformation إلى Co A - thioester المقابل وذلك بملامسة إنزيم acyl - Co A synthetase (EC 6.2.1.3) .

$$R - COOH + Co\ A - SH + ATP \rightleftharpoons R - CO - SCo\ A + AMP + PPi$$

وأشهر الأمثلة هو تكوين أسيتيل كوانزيم A ، بروبيونيل كوانزيم A .

أما الأحماض الدهنية ذات السلسلة الطويلة المشبعة فتتحول إلى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١ - الصورة الغير مشبعة بواسطة acyl. Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.3)

$$R - CH_2 - CH_2 - CO\ SCo\ A + \underset{(H - acceptor)}{A} \longrightarrow R - CH = CH - COSCo\ A + AH_2$$

٢ - المركب الناتج (fattyacyl - Co A الغير مشبع) تحدث له عملية هدرجة بواسطة hydratase مكونًا β - hydroxy acyl-Co A للحمض الدهنى المستخدم :

$$R - CH = CH - CO\ SCo\ A + H_2O \rightleftharpoons R - CHOH - CH_2 - COSCoA$$

٣ - المركب الأخير يتأكسد بواسطة hydroxyacyl - Co A:NAD oxidoreductase (EC 1.1.1.35) إلى β - keto acyl - Co A ester المقابل :

$$R - CHOH - CH_2 - COSCo\ A + NAD^+ \rightleftharpoons R - \underset{\underset{O}{||}}{C} - CH_2 - COSCo\ A + NADH.H^+$$

٤ - وأخيرًا يحدث تفاعل أنشقاقى thiolytic cleavage للمركب β - keto acyl ويتكون أسيتيل كوانزيم A ويقوم إنزيم thiolase (EC 2.3.1.16) بملامسة التفاعل :

$$R - \underset{\underset{O}{||}}{C} - CH_2 - CO\ SCo\ A + CoASH \rightleftharpoons R\text{-}CO\ SCo\ A + CH_2 - CO\ SCo\ A$$

٣.١.٨ الاكسدة من النوع اوميجا ω - oxidation

ويتضمن تحول الحمض الدهنى إلى مركباته الهيدروكسيلية والتى تتأكسد بعد ذلك إلى أحماض دى كربوكسيلية (ثنائية الكربوكسيل) وهذا النظام يحتاج استخدام نظام انتقال الالكترون بالذات مع Cyt. P-450 أو Thioredoxin أو Cyt. C reductase المرتبط بـ $NADP^+$ يلاحظ هذا النوع من الأكسدة كنظام ذو وظائف متعددة أثناء تحول الهيدروكربونات .

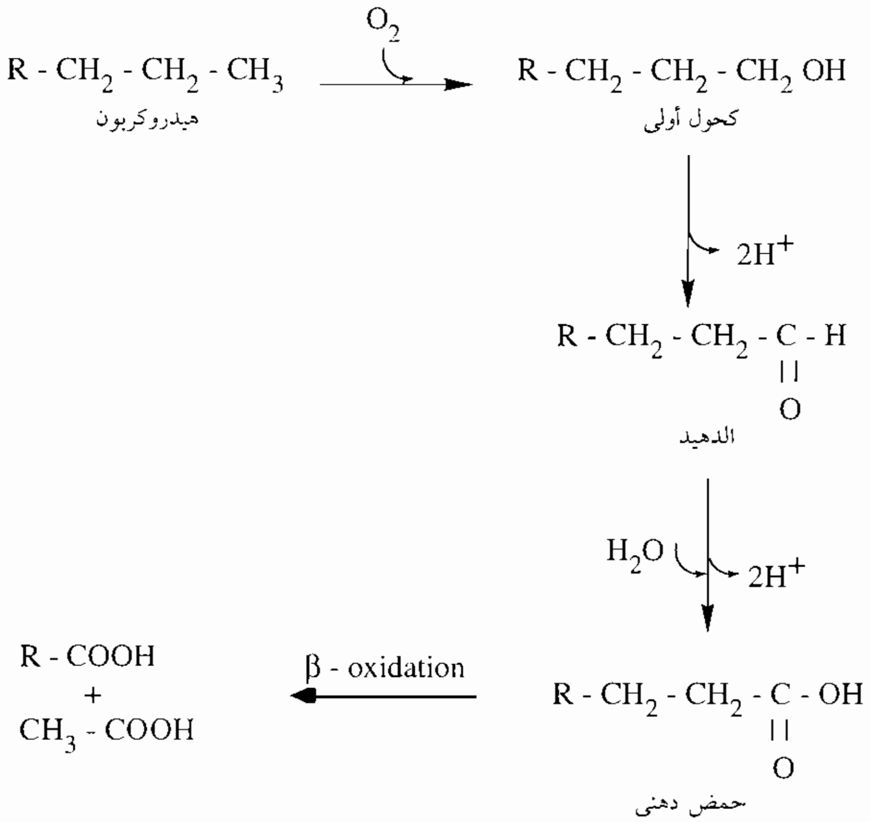
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٢.٨ أكسدة الألكانات والألكينات Alkanes & Alkenes

يهاجم الأكسجين جزئ الألكان بـطريقتين أما من طرف واحد monoterminal أو من كلا الطرفين diterminal حيث تتأكسد مجموعة الميثيل فى كل الأحوال .

١.٢.٨ الأكسدة من طرف واحد Monoterminal oxidation

وهو أشهر أنواع الأكسدة لسلاسل الهيدروكربونات والناتج الأساسى هو الكحول الأولى الذى يتأكسد إلى أحماض دهنية التى تتأكسد بطريقة β - oxidation إلى حمض الأسيتيك .

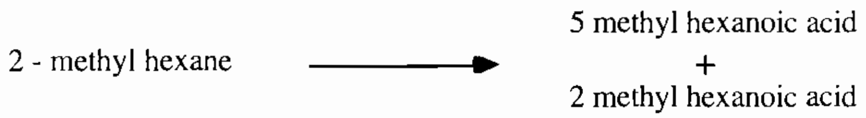


وأهمية الكحولات الأولية هو تشجيع إفراز إنزيم -NAD (P)$^+$ - linked alcohol de hydrogenase المرتبط بالغشاء الخلوى كما فى حالة *Ps. aerugenosa* . كما تتضح أهمية ذرة الكربون رقم ١ لعملية الأكسدة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

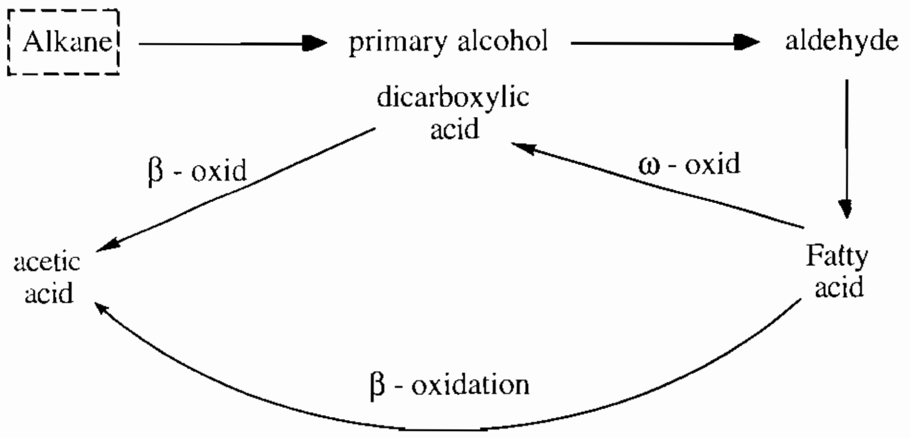
٢.٢.٨ الاكسدة من الطرفين Diterminal oxidation

قليل من البكتريا تهاجم كلا نهايتى السلسلة مثل *Ps. aeruginosa* النامى على 2 - methyl hexane وينتج خليط من الأحماض .



ومازال هناك اعتقاد أن الميكروب يهاجم طرف واحد ثم الطرف الثانى وليس الطرفين فى وقت واحد .

وسواء كانت الأكسدة من طرف واحد أو طرفين فإن الهجوم يقع على مجموعة الميثيل ويؤدى لتكوين الكحول المقابل ثم الألدهيد ثم الحمض الدهنى والأخير يتحلل بواسطة β - oxidation أ، ω - .



وعموماً فإنه يلزم لاكسده مجموعة الميثيل وجود مجموعتين مختلفتين من المرافقات الانزيمين :

- فى pseudomonads بواسطة rubredoxin كمنشط لـ O_2 .
- فى *Corynebacterium* بواسطة Cyt. P-450 .

أما أكسدة مجموعة الميثلين فتحتاج بلا شك Cyt. P-450 .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣.٢.٨ اكسدة الميثان Methane oxidation

لا يُنظَر للبكتريا التى تستخدم الميثان - كمصدر للكربون والطاقة - كأحد البكتريا المحللة للهيدروكربونات ولكن كمجموعة متخصصة جدًا من البكتريا تستخدم المركبات وحيدة الكربون . وتضمها مجموعة methylotrophic bacteria التى تستخدم ايضا الميثانول ، الأحماض الأمنية الميثيلية ، داى ميثيل أستر ، الفورمالدهيد ، الفورمات بجانب الميثان وهى تقع فى عدة أجناس مثل *Methylomonas* ، *Methylococcus* ، *Methylosnus* وتتميز بعدم قدرتها على اسخدام السكريات ، الأحماض العضوية أو الكحولات .

كيفية الحصول على الطاقة : تؤكسد الميكروبات الميثان إلى الميثانول ثم الفورمالدهيد ثم الفورمات وأخيرًا إلى ك أ٢ طبقًا للمعادلة .

$$CH_4 \xrightarrow[H_2O + X]{O_2 + XH_2} CH_3OH \xrightarrow[(2H^+)]{} HCHO \xrightarrow[(2H^+)]{H_2O} HCOOH \xrightarrow[(2H^+)]{} CO_2$$

والخطوة الأولى (أى أكسدة الميثان إلى ميثانول) تتضمن دخول جزئ أكسجين غازى (ليس من الماء) فى التفاعل وذلك فى وجود إنزيم methane oxygenase بينما XH_2 هو العامل المختزل. وهى تختلف عن التصور السابق بوجود hydroxylase الذى يتضمن دخول الماء فى تفاعله :

$$CH_4 + H_2O \longrightarrow CH_3OH + 2(H^+)$$

حيث لم يعزل بعد أحد من إنزيماته .

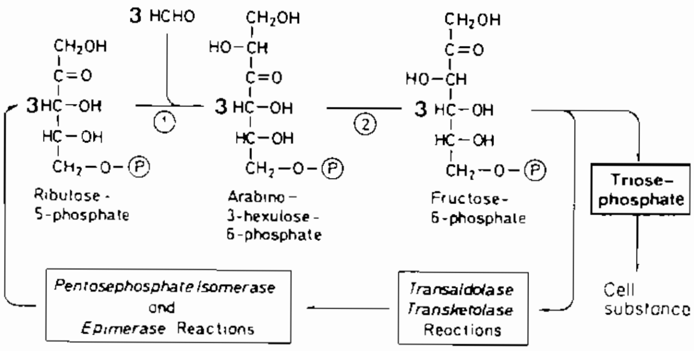
والخطوة الثانية (أكسدة الميثانول إلى الفورمالدهيد) ثبت أنها لا تعتمد على الكتاليز ولكن تتم بواسطة methanol dehydrogenase الذى يستخدم أحد مشتقات Pteridine (methoxatin) كمجموعة مرافقة بدلاً من الفلافوبروتين وتركيبه عبارة عن (PQQ) pyrroloquinoline quinone .

أما **الخطوة الثالثة** (أكسدة الفورمالدهيد إلى الفورمات) فتتم فى وجود إنزيم formaldehye dehyrogenase مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.2.1.1) ويحتاج إلى الجلوتاثيون المختزل (GSH) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أما **الخطـوة الأخيرة** (اكسـدة الفـورمـات إلى ك أ٢) فتـلامـس بواسـطة انزيـم fermate dehydrogeuase (EC 1.2.1.2) مرتبط بـ NAD^+ .

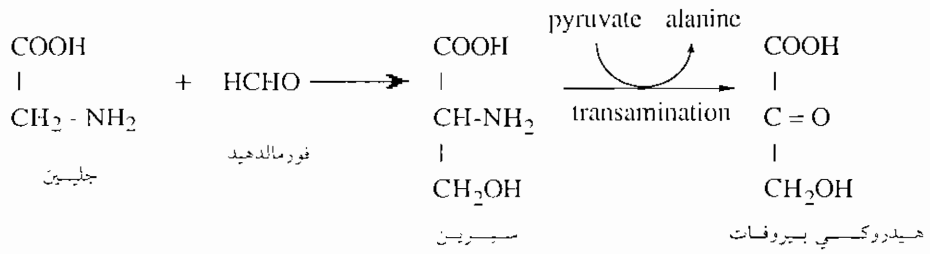
تخليق مـادة الخلية : يبـدأ من الفـورمالدهـيد حيث يـثبت مـن خلال دورة ريبـولوز مونوفوسفات وخلالها يتحد الفورمالدهيد مع الريبولوز - ٥ فوسفات مكونًا arabino - 3 - hexulose - 6 - phosphate (في وجـود إنزيم hexulose - 6P synthase) والذي يتـحول إلى الفركتوز ٦ - فوسفات (بملامسة hexulose - 6P isomerase) والأخير يعاد تحويله إلى البنتوزفوسفات كما في دورة كالفن .



شكل (٨ . ١) : دورة الريبولوز مونوفوسفات لتثبيت الفورمالدهيد
نقلاً عن Strom et al. 1974

تمثيل المركبات ك١ من خلال دورة السيرين Serine pathway

تمت الدراسة في وجود ميكروبي *Pseudomonas M. A.* ، *Hyphomicrobium X.* حيث يستقبل الجلـيسين المركب أحادي الكربون - الفورمالدهيد - ويتـكون السيرين بملامسة إنزيم Serine hydroxymethyl transferase (EC 2.1.2.1) ثم تحدث خطـوة نقل مجموعة الأمين بين السيرين والبيروفات ويتكون الهيدروكسي بيروفات :



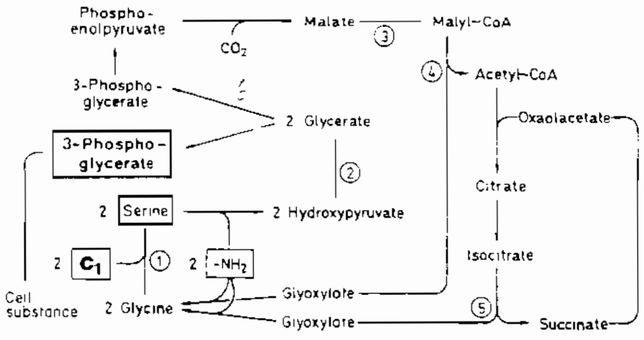
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويختـــــزل المركـــــب الأخيـــــر إلـــــــى الجليـــسرات فـــــــــى وجـــــود hydroxypyruvate reductase (EC 1.1.1.29) وأخـيراً تتحــول الجلسرات إلــــــى ٣-فوسفوجليسرات في وجود glycerate kinase (EC 2.7.1.31) وهذا المركب يدخل في التخليق الحيوى لمادة الخلية أو يدخل دورة EMP كما هو مبين بدوره السيرين بالشكل (٨-٢)

ثبت أن ميكروب MA *Pseudomonas* يمتلك اثنـين من إنزيمات دورة EMP لتحويل ٣-فوسفـوجليسرات عبر ٢ - فوسفو جليسرات إلى فوسفو أينـول بيروفات والذى تحدث له عملية Carboxylation (إضافة ك أ٢) في وجود PEP - Carboxylase (EC 4.1.1.31) وتتكون المالات . وبملامسة إنزيم malate thiokinase يتكون Malyl - Co A والذى يتحول إلى acetyl Co A في وجود الإنزيم المكتشـف حديثًا في كثير من البكتريا المـمثلة لمركبات C_1 وهو malyl - Co A lyase (EC 4.1.3.24) .

$$\text{malyl-Co A} + \text{ATP} \longrightarrow \text{acetyl - Co A} + \text{glyoxylate} + \text{ADP} + \text{Pi}$$

وهذا هو مصدر الجزئ الأول من glyoxylate أما مصدر الجزئ الثانى فهو اتحاد أسيتيل كوانزيم A مع الأوكسال أسيتات مكونًا السترات ثم الأيسوسترات الذى ينقسم بمساعدة إنزيم isocitrate lyase ويتكون السكسينات, glyoxylate ومن هذين الجـزئيين (glyoxylate) يتكون الجليسين ويصبح ميسرًا لتكوين السيرين وإعادة الدورة .

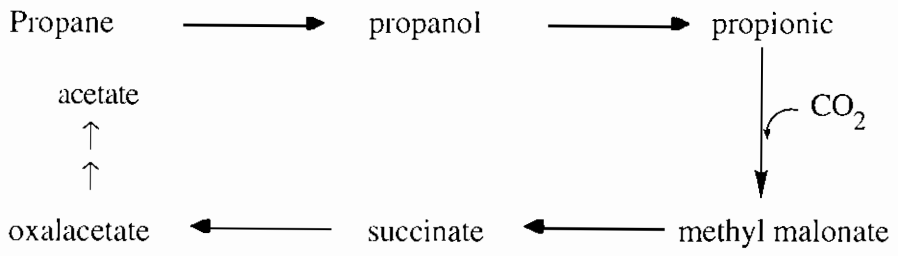


شكل (٢.٨) : تمثيل المركبات C_1 عبر دورة السيرين نقلاً عن شليجل ١٩٨٦

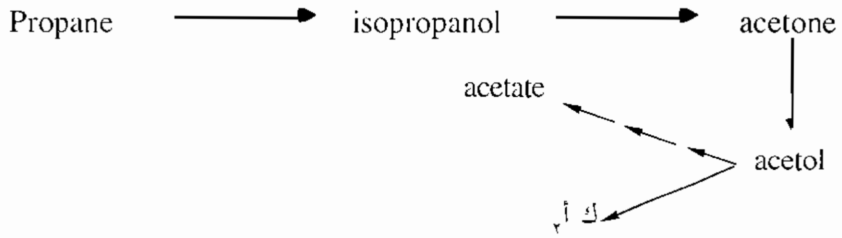
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٤.٢.٨ أكسدة البروبان Propane oxidation

ويتم ذلك عن طريق الأكسدة الطرفية حيث يتأكسد البروبان إلى البروبانول ثم إلى البروبيونيك. وفي وجود *Brevibacterium* sp. JOB 5 يمكن تحويل البروبيونيك إلى الأسيتات عبر ميثيل مالونات والسكسينات .



وفي دراسة باستخدام إنزيم isocitrate lyase لوحظ أن البروبان لا يتأكسد حتى بالطريق الطرفي ولكن عبر أيسوبروبانول والأسيتون إلى الأسيتول ومنه إلى الأسيتات ، ك أ٢ . ووجود الأسيتات يشجع تكوين الإنزيم السابق .



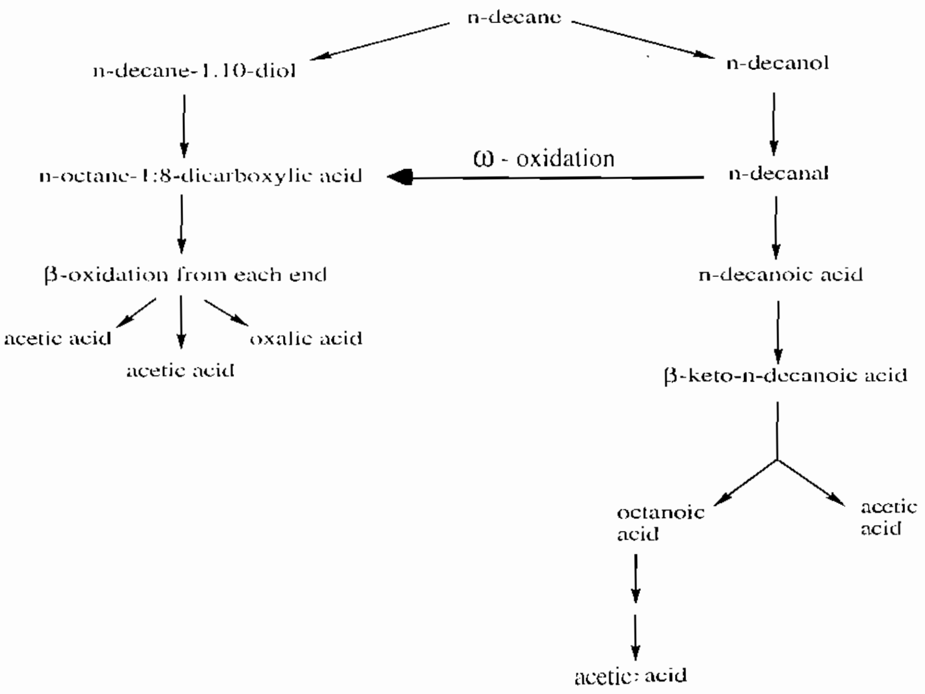
٥.٢.٨ أكسدة الديكان n - Decane oxidation

يتأكسد n. Decane بواسطة *Mycobacterium rhodochrous* وبعض أفراد Pseudomonads إلى n-Decanol والذي يتحلل في وجود alcohol & aldehyde dehydrogenases إلى حمض n- Decanoic ثم يحدث β - oxidation والناتج النهائي حمض الخليك وهناك دورة بديلة يحدث فيها ω - oxidation ، ∝ أولاً للديكان حيث يتكون المركب الوسطي أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل ثم يتبعها β - oxidation له حتى مستوى حمض الخليك والاكساليك.

وكلا الدورتين يمكن أن يلتقيا معًا بالأكسدة (نوع أوميجا) للمركب ديكانول مكونًا أوكتان ١ : ٨ ثنائي الكربوكسيل كما بالرسم التالي (شكل ٨-٣)

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وطبيعة الناتج النهائى تـعتمد على الألكان إذا كان فردى (add) أو سلسلة . فالأكسدة (بيتا) للألكان من النوع odd بعد الوصول إلى الحمض الدهنى تـعطى أسيتات وبروبيونات فى monoterminal attack أو أسيتات ومـالونات فى diterminal attack ومازالت هناك دراسات على الديناميكية الحرارية لهذه العمليات .



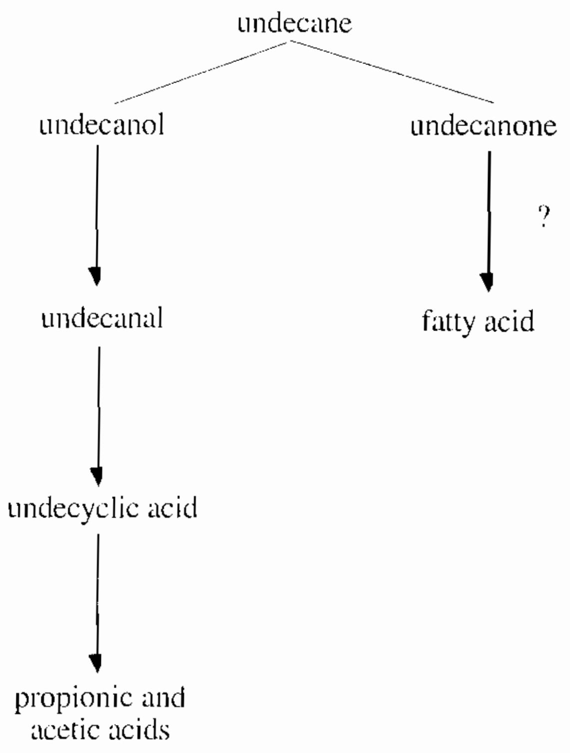
شكل (٣.٨) : أكسدة n - Decane بواسطة الميكروبات

٦.٢.٨ اكسدة المركبات الغير ديكانية Undecane oxidation

يستطيع ميكروب *Pseudomonas* sp. H المعزول من بحر الشمال بواسطة killinger (1970) وهو متـحمل للـملوحة العـالية أكسـدة الهيدروكـربونات (Undecanes) وذلك بالأكسدة الطرفية يتبعها β - oxidation والناتج النهائى أحماض الأسيتيك والبروبيونيك .

وهناك أكسدة تحت طرفيـة ينتج عنها undecanome ومازالت تحولاتـه إلى الأحماض الدهنية غير معلومة (شكل ٨-٤ التالى).

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٨ . ٤) : أكسدة مركبات undecane

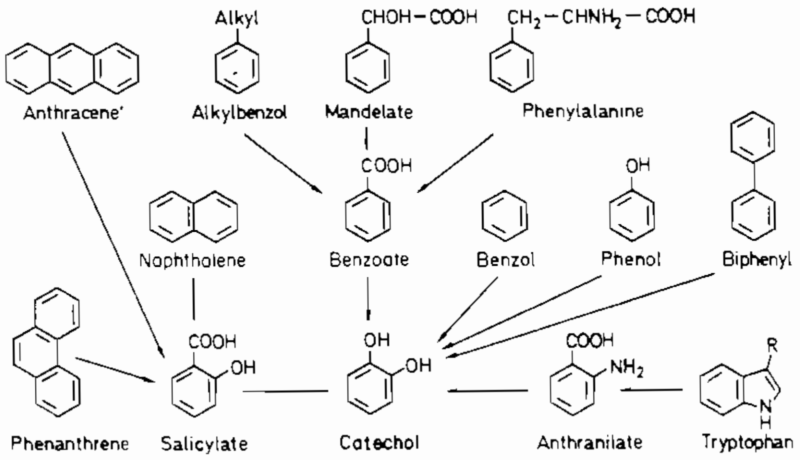
٣.٨ أكسدة الهيدروكربونات الحلقية Aromatic Hydrocarbons

حظيت أكسدة وهدم الهيدروكربونات الحلقيـة باهتمام كبير في العقود الأخيرة وبرغم أزدياد المعلومات المتاحة من تحولات المركبات الحلقية إلا أن الأمر اقتصر على عدد محدود من البكتريا وبالذات التابعة لجنس *Pseudomonas* وتشير الأبحاث الحديثة إلى إمكانية هدم المركبات الحلقية تحت الظروف اللاهوائية ولكن ميكانيكية ذلك لم تتضح بعد .

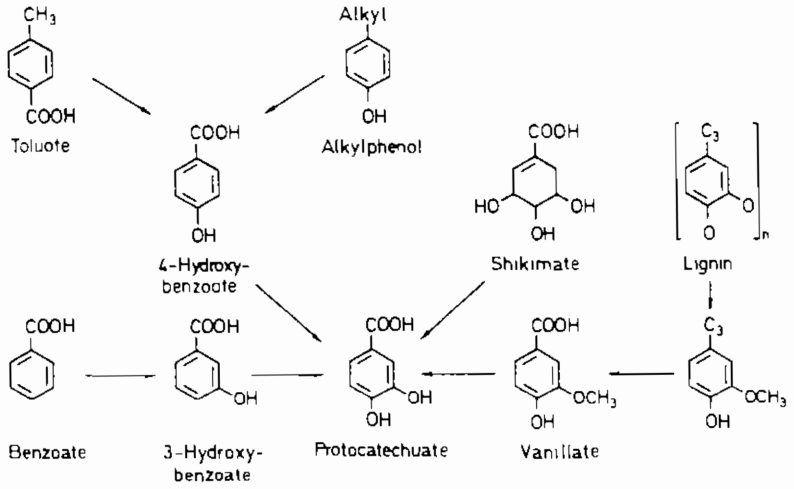
١.٣.٨ الإعداد لكسر الحلقة Preparation of ring cleavage

تتحول أغلب الهيدروكربونات الحلقيـة بالأكسدة إلى واحد من مركبين وسطين آساسيين قبل كسر الحلقة وهما Protocatechuate ، Catechol كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

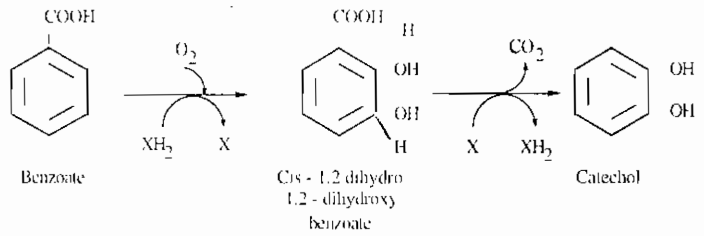


شكل (٨ . ٥) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى Catechol



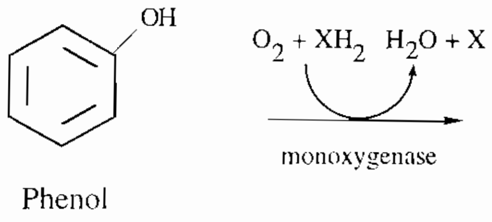
شكل (٨ . ٦) : طرق هدم المركبات الأروماتية المؤدى إلى protocatechuate

وفى كل الأحوال فإن مجموعة الهيدروكسى تدخل إلى الحلقة . ويمكن تفسير تكوين مركب Catechol (٣,١ دى هيدروكسى بنزين) اللازم قبل كسر الحلقة كما فى المعادلة التالية :



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويلامس هذا التفاعل إنزيم benzoate 1,2 dioxygenase (EC 1.13.99.2) حيث يدخل جزئ O_2 أولاً إلى الحلقة ويعقب ذلك عمليتى نزع الأيدروجين ونزع ك أ٢ ليتكون الكاتيكول. أما المركبات الفينولية فيلامسها إنزيم phenol - 2 - monooxygenase حيث تدخل أحدى ذرتى O_2 للحلقة والأخرى تختزل إلى الماء .



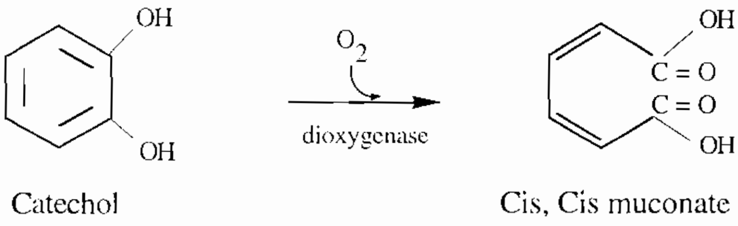
والمجاميع الاستبدالية الموجودة على الحلقة الأروماتية يتم التخلص منها عادة - ولكن ليس دائمًا - قبل كسر الحلقة فمثلاً مجاميع النيترو ، السلفونات ، الكلورو يحل محلها مجموعة هيدروكسى. أما السلاسل الجانبية الأليفاتية فيمكن تقصيرها أو حتى التخلص منها بعدة طرق أو تظل على اتصالها بالحلقة .

٢.٣.٨ كسر الحلقة Ring cleavage

يلامس كسر الحلقة إنزيم dioxygenase الذى يقوم بإدخال جزئ O_2 للحلقة ويحدث ذلك الكسر بأحد طريقتين :

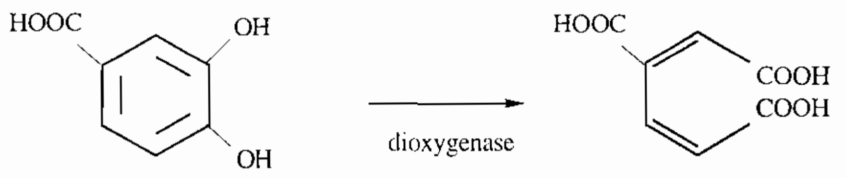
(I) Ortho or intradiol cleavage

وأهم الميكروبات التي تقوم به *Ps. putida* ، *Acienetobacter calcoaceticus* ، *Alcaligenes eutrophus* ويحدث الكسر بين ذرتى كربون متجاورتين عليهما مجموعتى هيدروكسى وينشق Catechol بواسطة إنزيم Catechol - 1,2 - dioxygenase (ortho - pyro - catechase) (EC 1.13.11.1) .



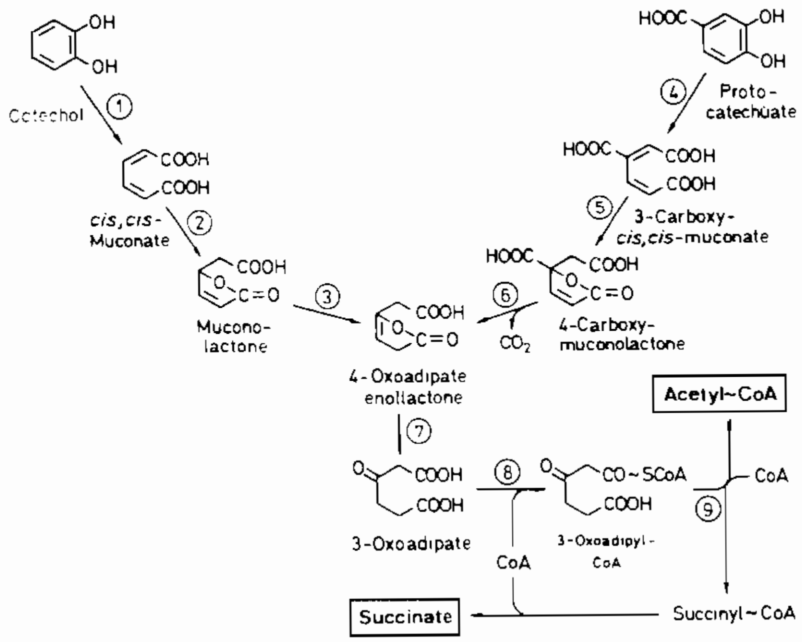
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أما مركب Protocatechuate فينشــق فى وجود إنزيم - 3,4 - protocatechuate dioxygenase (EC 1.13.11.3) مكونا ٣ - كربوكسى cis, cis ميكونات كمايلى .



protocatechnate 3- Carboxy Cis, Cis muconate

وكلا المركبين الناتجيين من كسر الحلقة يــواصلان تحولهما عبر المركب الوسطى المعروف 3- oxoadipate والأخير ينشـط بواسطة Co A - transferase وينقسم إلى سـكسينل كوانزيم A ، أسيتيل كوانزيم A اللذان يدخلان فى الـدورات المعروفة مثل TCA . ويمكن تلخيص تفاعلات كسر الحلقة الأروماتية بطريقة ortho وتحولات 3- oxoadipate pathway فى الرسم التالى :

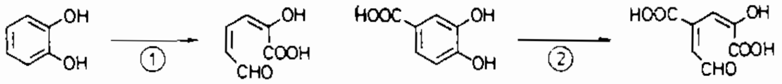


شكل (٧.٨) : كسر الحلقة بطريقة ortho-cleavage
وتحولات 3-oxoadipate pathway

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Meta or extradiol cleavage (II)

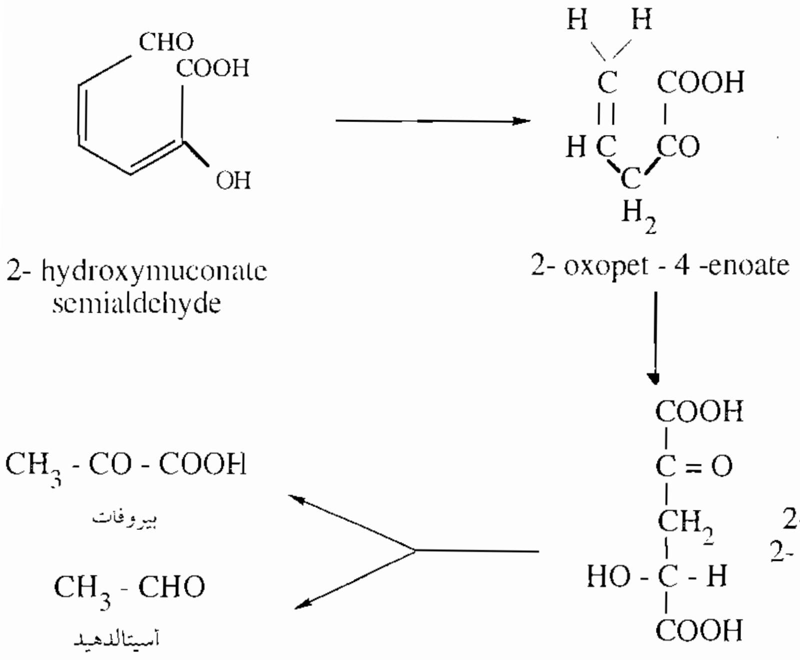
يحدث الكسر بين ذرة كربون عليها مجموعة هيدروكسي وأخرى مجاورة لها لا تحمل مجموعة هيدروكسي ويلامس التفاعل بواسطة dioxygenases والمركب الناتج من الكاتيكول هو ٢ - هيدروكسي ميكونات سمي الدهيد والإنزيم المسئول هو Catechol - 2,3 - dioxygenase (meta pyrocatechase) . أما المركب الناتج من protocatechuate فهو ٢ - هيدروكسي -٤ - كربوكسي ميكونات سمي الدهيد وذلك بملامسة إنزيم (EC 1.13.11.8) protocatechuate 4,5 dioxygenase .



Catechol — 2-Hydroxy-muconate-semialdehyde — Protocatechuate — 2-Hydroxy-4-carboxymuconate-semialdehyde

شكل (٨.٨) : كسر الحلقة بطريقة meta cleavage

ومشتقات الميكونات سمي الدهيد الناتجة تدخل في الدورات المعروفة عبر البيروفات والأسيتالدهيد كما يلي :



2- hydroxymuconate semialdehyde

2- oxopet - 4 -enoate

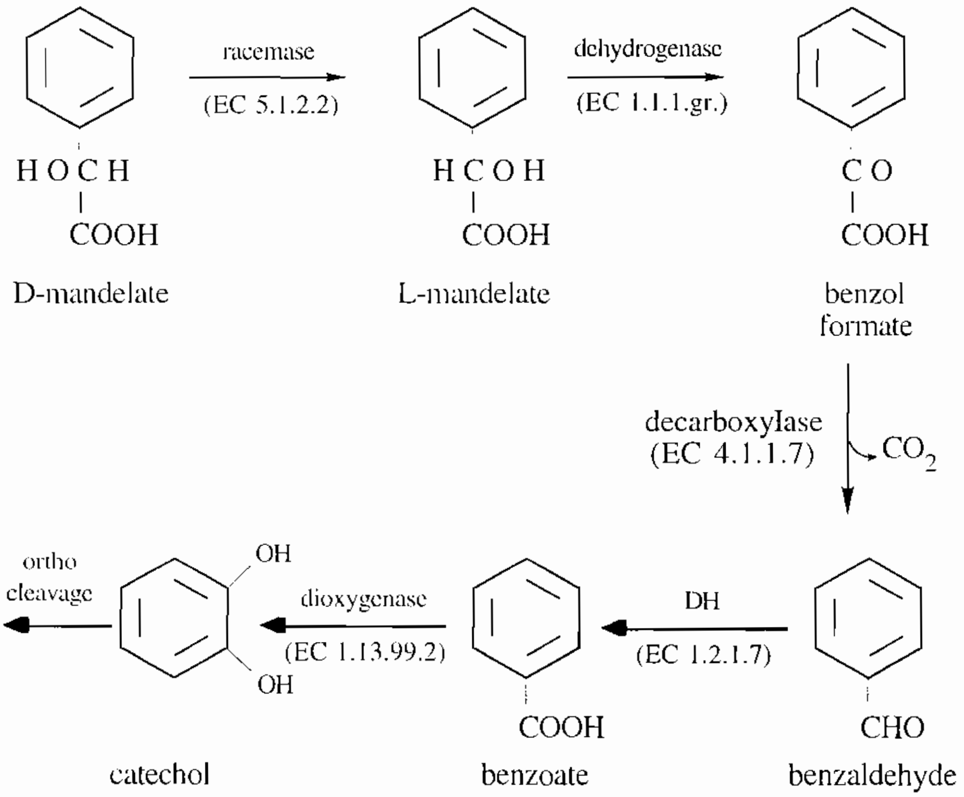
2- hydroxy-2- oxovalerate

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وتحديد إفراز الإنـزيمات المسئولة عن الانـشقاق سواء ortho أو meta تلعب الظروف البيـئية النـامى فيهـا الميكروب وكـذا مرحلة الـنمو البـكتيرى دورًا هـامًا فيه. وفى بـعض pseudomonads يرتبط هدم المركبـات الحلقية عبر catechol بكسر الحلقة بطريقة othro بينما المـهدومة عبر protocatechuate يستخدم طريقة meta لكسر الحلقة ولـكن لا يعتبر ذلك تعميمًا .

٣.٣.٨ تحول D - Mandelate

يدخل هذا المـركب فى سلـسلة مـن تفاعلات الهدم حتـى يصل إلى Catechol والذى يدخل بدوره فى ortho cleavage وينتهى بتكوين β - ketoadipate ومنه إلى الأسيتيل كوانزيم A والسكسينات .

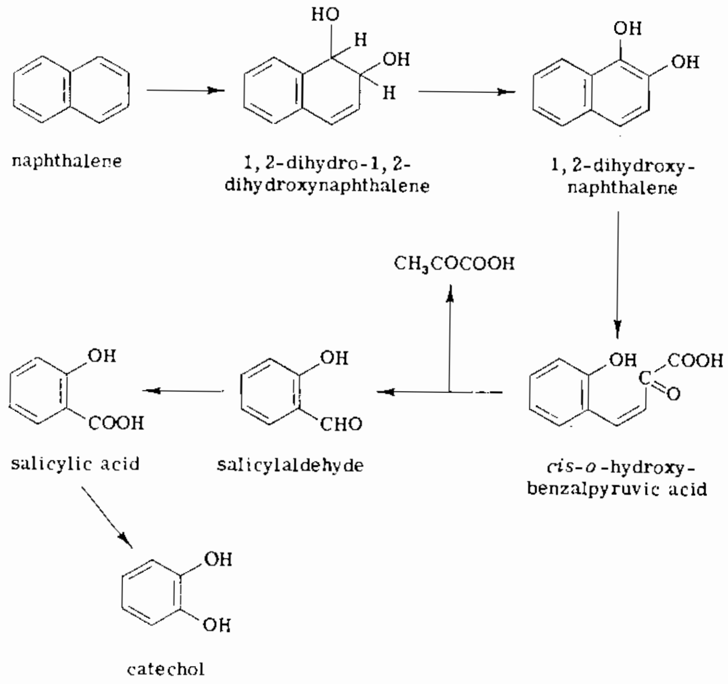


شكل (٩.٨) : تحولات D-mandelate لتوضيح ortho - cheavage لحلقة البنزين

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٤.٣.٨ تحول النفثالين Naphthalene

لوحظ ذلك في عدد من ميكروبات التربة مثل *Psudomonas denitrificans*، *Ps .fluorescens* ، *Achromobacter* sp. . ويمثل salicylate ، catechol المركبات الوسطية فى سلسلة هدم حلقتى النفثالين .



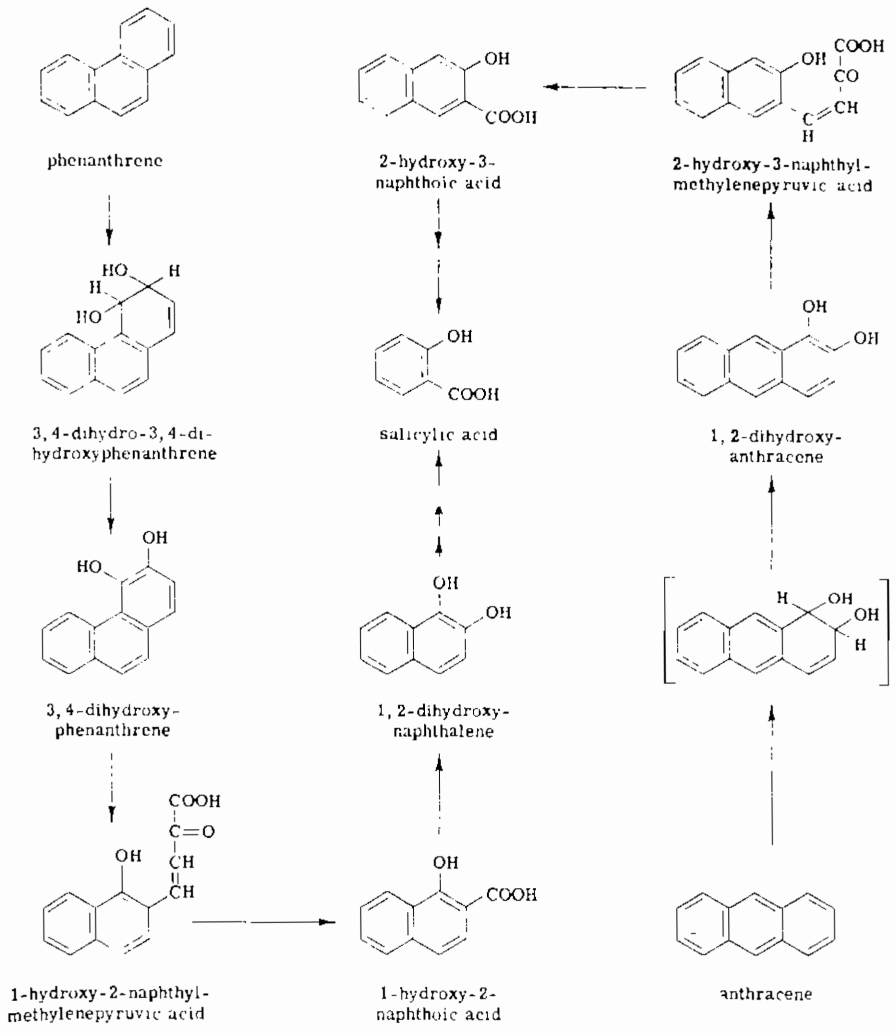
شكل (٨ . ١٠) : أكسدة النفثالين بواسطة Pseudomonads
نقلاً عن Davis & Evans سنة ١٩٦٤

والخطوة الأولى هى آكسدة النفثالين إلى ٢,١ دى هيدروكسى نفثالين وعند هذا المستوى تنكسر الحلقة الأولى ويتكون Cis - o - hydroxy benzal pyruvate الذى ينشق إلى ساليسيل الدهيد + البيروفات فى وجود aldolase . وبعملية أكسدة يتحول الأخير إلى حمض السليسليك الذى يحدث له عملية نزع ك أ٢ مصحوبة بالأكسدة ويتحول إلى كاتيكول ويلامس الخطوة الأخيرة إنزيم (EC 1.14 . 13.1) Sulicylate 1-mono oxygenase ويتحول الكاتيكول إلى β - ketoadipate ويكمل تحوله كما سبق .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥.٣.٨ تحول anthracene & phenanthrene

وهما مركبان ثلاثى الحلقات تستطيع ميكروبات *Flavobacterinm* sp. هدمها بكسر الحلقات واحدة وراء الأخرى فى نظام يشبه أكسدة النفثالين السابق ويلعب حمض السليسليك دور المركب الوسطى فى عملية الهدم .



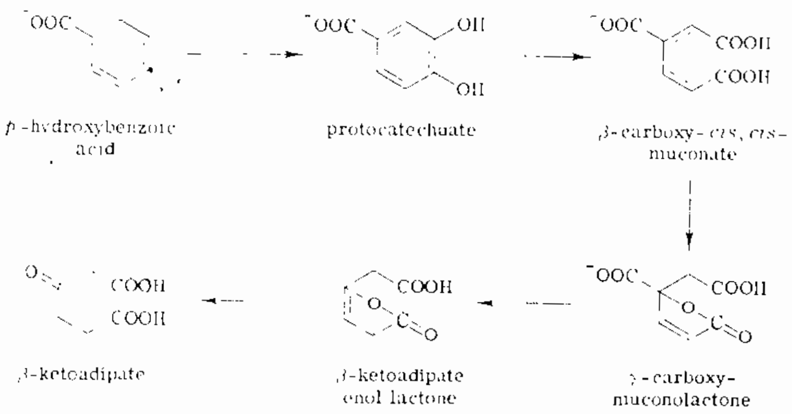
شكل (٨.١١) : تحولات Phenanthrene ، anthracene

نقلاً عن Fernely et al, 1964

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٦.٣.٨ تحول هيدروكسى بنزوات P - Hyroxy benzoate metabolism

بعض الهيدروكربونات التى تستخدم دورة β - ketoadipate تستعمل protochatechuateبدلاً من Catechol كمركب وسطى للتفاعل مثل الهيدروكسى بنزوات الذى درس فى العديد من البكتريا مثل *Ps. putida , Moraxella calcoaceticus* حيث يهاجم المركب بعملية هدرجة فى الوضع ٣ لانتاج protocatechuate (٣،٤ دى هيدروكسى بنزوات) بمساعدة إنزيم 4-hydroxy benzoate 3- monooxygenase (EC 1.14.13.2) .



شكل (١٢.٨) : تحولات هيدروكسى بنزوات فى *Pseudomonas putida*

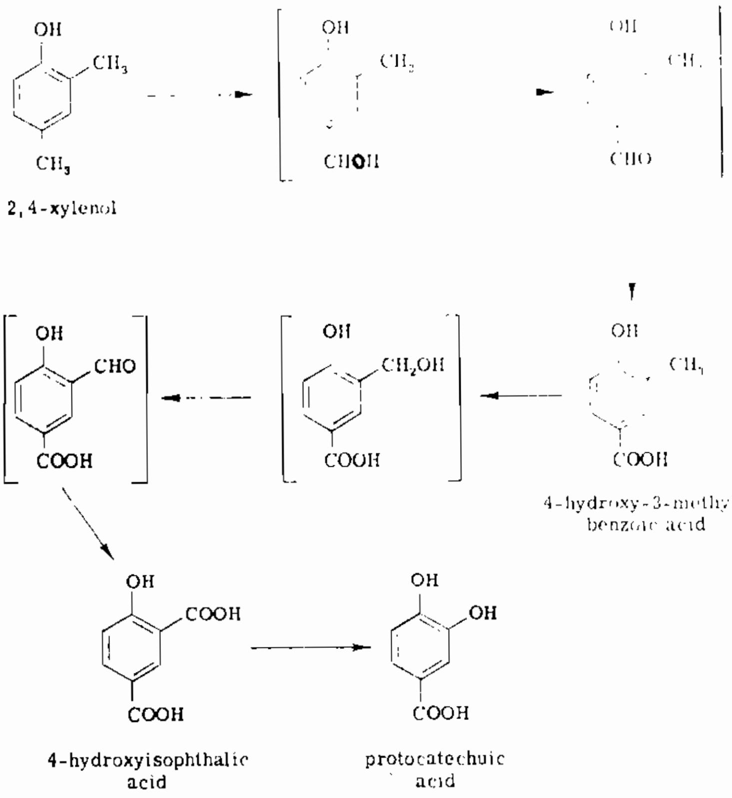
والخطوة الثانية هى أكسدة Protocatechuate بطريقة ortho ويتكون ٣ - كربوكسى Cis, Cis ميكونات ويعقب ذلك عملية lactonization حيث يتكون ٤ - كربوكسى ميكونولاكتون فى وجود إنزيم Cycloisomerase (EC 5.5.1.2) .

وبنزع ك أ٢ يتكون β - ketoadipate lactone بمساعدة إنزيم carboxy muconolactone decarboxylase (EC 4.1.1.44) ومن المركب الأخير يتكون β - ketoadipate .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٧.٣.٨ تحول الزيلينول 2,4- Xylenol

درس ذلك فى fluorescent pseudomonads حيث تتحول مجموعة الميثيل فى الوضع بارا para إلى هيدروكسيل ثم إلى الكربوكسيل ويعرف المركب الوسطى الناتج بحمض ٤- هيدروكسى ٣- ميثيل البنزويك. والجزء التالى من الهدم يتم تحويل مجموعة المثيل الثانية بنفس الأسلوب مكونًا ٤- هيدروكسى آيسوفيثاليك والذى يتحول إلى Protocatechuate حيث يدخل فى ortho - cleavage منتهيا إلى β - ketoaipate كما بالرسم التالى :



شكل (١٣.٨) : تحولات ٤,٢ الزيلينول بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas*

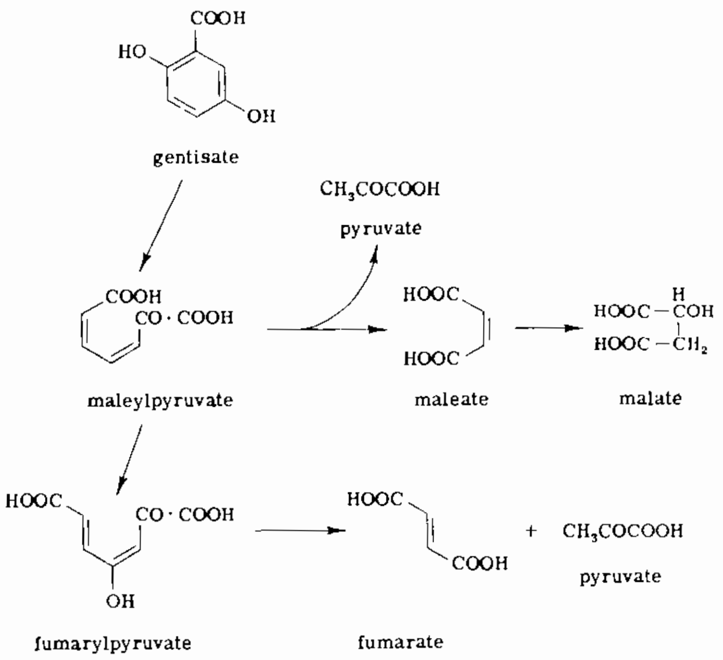
نقلاً عن Chapman & Hopper, 1968

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٨.٣.٨ تحول Gentisate

بالإضافة إلى Catechol ، Protocatechuate يبرز Gentisate كمـركب وسطى فـى تحـولات الهيـدروكربونات قبـل الدخول فـــى تفاعلات كـسر الحلقـة وبالأخص أثناء نمو *Ps. acidovorans* على هيدروكسى بنزوات الذى يـتأكـد بتأثير إنزيم 6- hydroxylase إلى gentisate وهو إنزيم متخصص فى ذرة الكربون رقم ٦ (أما 4- hydroxylase المتخصص فى الوضع ٤ فينتج عنه protocatechuate كما لوحظ ذلك فى *Ps. testosteroni*) .

ويتأكـد Gentisate بواسطة gentisate 1,2 dioxygenose (EC 1.13.11.4) إلى ماليل بيروفات (كسر الحلقة) وبعملية isomerization يتحول إلى فيوماريل بيروفات وهذه الخطوة تحتاج تركيز عالـى من الجلوتاثيون المختزل (GSH) ولذا يشك فى حدوثها بواسطة *Ps. acidovorans* ويستـطيع الميـكروب تحويل مـاليل بيـروفات إلى مالـييت maleate والبيروفات وبالهدرجة يتحول الماليـيت إلى مالات .



شكل (٨.١٤) : تحولات Gentisate بواسطة أحد سلالات *Pseudomonas*
نقلاً عن lack, 1959

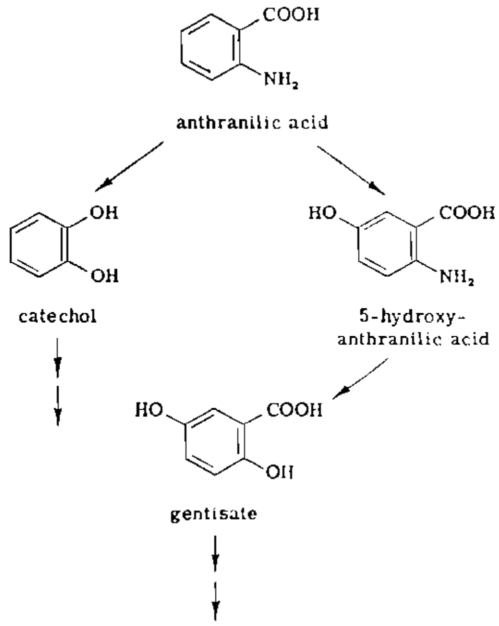
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وهناك بعض السلالات من *Pseudomonas* التى تستطيع بالفعل تحويل ماليل بيروفات إلى نظيرة الأيسوميرى نيوماريل بروفات ويعقب ذلك تحلل مائى إلى الفيوماريك ثم إلى البيروفيك .

ويستعمل gentisate pathway أثناء أكسدة m- cresol حيث يتحول الأخير إلى ٣- هيدوكسى بنزوات أولاً قبل تكوين Gentisate وبنفس الطريقة يتحول 2,5 xylenol إلى ٤ - ميثيل چينتسات .

٩.٣.٨ تحولات Anthranilic acid

يمكن أن يتحول عن طريقين أما تكوين المركب الوسطى Catechol أ، المركب الوسطى gentisate .



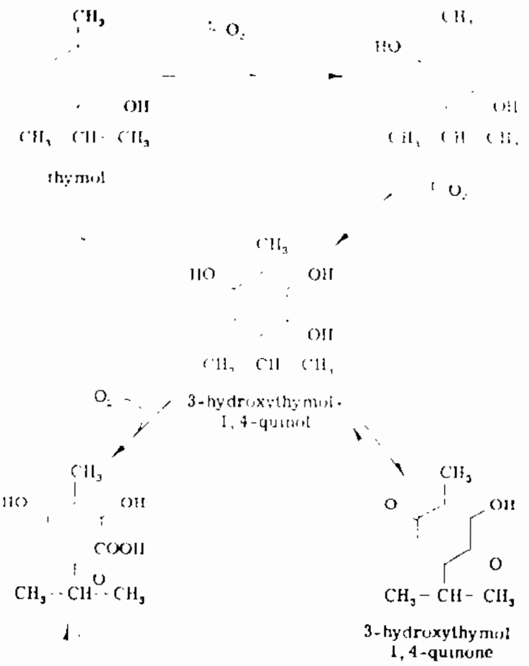
شكل (١٥.٨) : تحولات anthranilic بواسطة *Nocardia* نقلاً عن Cain سنة ١٩٦٨

ويقوم بذلك ميكروب *Nocardia opaca* ويبدو أن تكوين catechol هو الأسلوب السائد والإنزيم المسئول هو 5-hydroxylase حيث يقوم بنزع مجموعة الأمين واستبدالها بمجموعة الهيدروكسيل فى الوضع 5 .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١٠.٣.٨ تحولات الثيمول Thymol

ويعتبر أبرز مثال لأسلوب meta cleavage لكسر الحلقة الأروماتية حيث يستطيع ميكروب *Ps. putida* تحويل الثيمول إلى أيسوبيوترات ، أسيتات ، ٣ - أوكسو بيوترات كنواتج نهائية للتفاعل. وكيفية ذلك أن الثيمول يتعرض للأكسدة مرتين لتكوين ٣ - هيدروكسى ثيمول - ١ , ٤ كينول الذى يتحول بسهولة فى التربة إلى الكينون المقابل ذو اللون الارجوانى .



شكل (١٦.٨) : تحولات الثيمول بواسطة *Ps. putida* نقلا عن

Chamberlain & Dagley, 1968

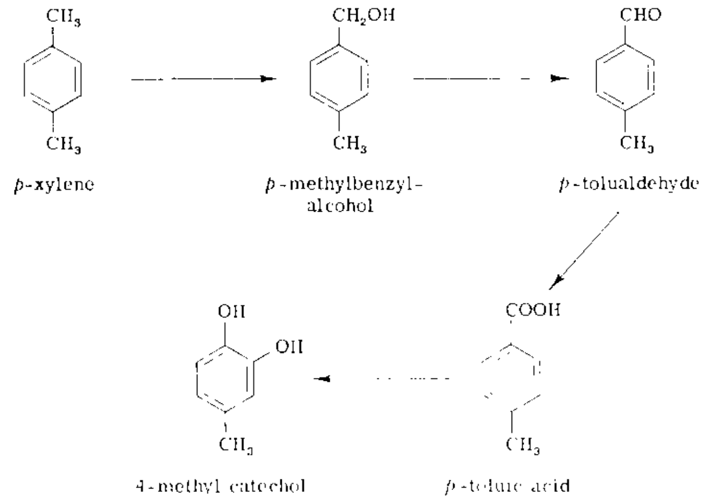
أما حلقة البنزين فى quinol فتنكسر فى وجود dioxygenase ويكمل الهدم حتى النواتج النهائية (أيسو بيوترات ، أسيتات) السابق ذكرها .

١١.٣.٨ تحولات P-xylene

وهو يشبه تحول 2.4 xylenol السابق وصفه فى فقرة ٧.٣.٨. حيث تستطيع بعض سلالات *Pseudomonas* أكسدة أحدى مجموعتى الميثيل إلى P. toluic acid مروراً بالكحول والألدهيد المقابل ثم تحدث عمليتى decarboxylation ، hydroxylation ويتكون ٤ - مثيل كاتيكول.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أما الجزء الثاني من التفاعل (كسر الحلقة) فتختلف عن xylenol حيث تنشق الحلقة بأسلوب meta cleavage إلى ٢ - هيدروكسي ٥ - ميثيل ميكونات سمي الدهيد والذى يتحول بدوره إلى 2-oxopent - 4 - enoate ومنه إلى البيروفات والاسيتالدهيد .



شكل (١٧.٨) : تحولات P-xylene نقلا عن Davis et al, 1968

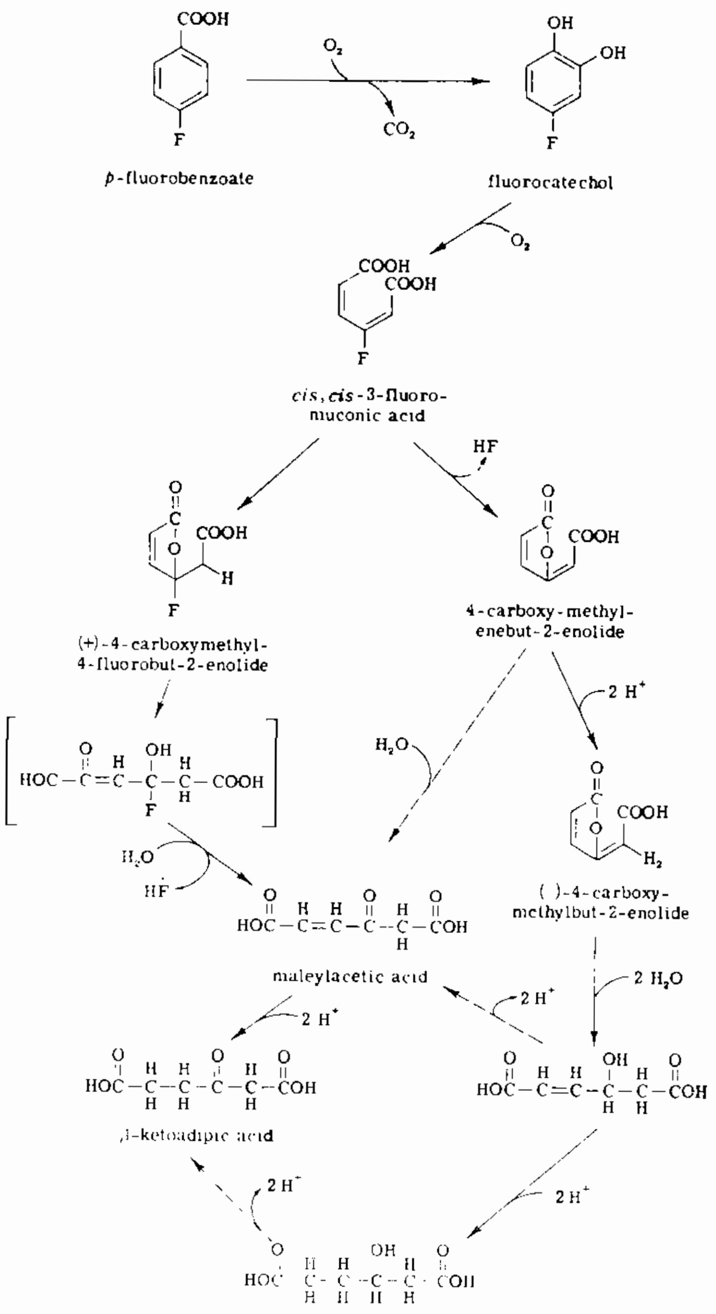
٤.٨ تحولات الهيدروكربونات الحلقية الهالوجينية

Halogenated aromatic Hydrocarbons

وهى مركبات سامة جدًا ولا يعرف الكثير عن تحولاها ويعتبر ميكروب *Nocardia erthropolis* من الميكروبات القليلة الى درست والقادرة على تحويل نيتروبنزوات ، فلوروبنزوات ، فلوروبروتو كاتيكوات .

ويرجع التأثير السام غالبًا إلى تكوين فلوروسترات المثبط القوى لدورة TCA . ويتبع هدم النيتروبنزوات ، الفلوروبروتو كاتيكوات طريق protocatechuate والناتج النهائى هو الأسيتات (أو الفلوروامييتات) والسكسينات. أما مركبى ٢ أو ٤ - فلوروبنزوات فيتبعا طريق catechol والناتج النهائى هو الفلورو اميتات والسكسينات للمركب الأول أو الاميتات والفلوروسكسينات للمركب الثانى. وبالنسبة لمركب P-florobenzoate فيتحول عبر الطريقين (الكاتيكول، البروتوكاتيكوات) والاختلاف يحدث فى خطوة أنطلاق (خروج) الفلوريد فقط. والمهم فى ذلك أن الفلور يخرج قبل تكوين β-ketoadipate والدخول فى دورة TCA كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (١٨.٨) : تحولات P - فلوروبنزوات بواسطة Pseudomonads

عن Harper & Blakley (1971)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥.٨ تحولات الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسى الكيل

Phenoxyalkyl carboxylic acids

أصبح التخلص من المبيدات وملوثاتها هو موضوع الساعة. ويتركز (PCR) Pest con- trol research الحالى على ايجاد مركبات عضوية تتحكم فى الافات الحشرية والأمراض النباتية سواء بكتريا أو فطرية أو فيروسية. وقابلية هذه المبيدات على التحلل ذو أهمية طبيقية نظرًا لسمية هذه الكيمياويات للإنسان والحيوان.

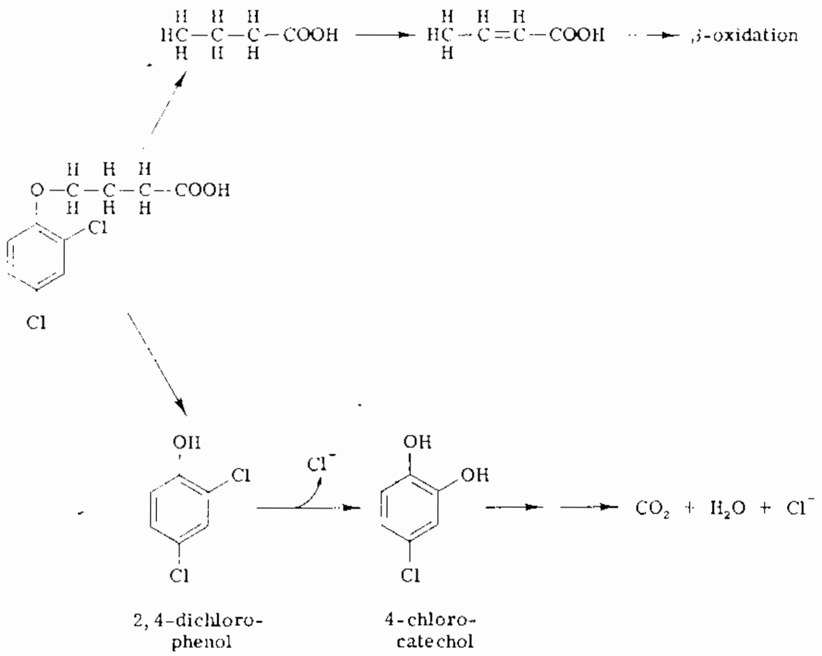
وتتحطم معظم المبيدات أو يتخلص من سميتها بأساليب وتقنيات مختلفة فى التربة وأغلبها ينصب على النشاط البيولوجى biological degradation . ومعظم المبيدات المقاومة للتحلل هى هيدروكربونات مكلورة مثل aldrin ، chloradane ، DDT ، dieldrin، phenoxy herbicides مثل 2,4 D . أى أن البناء أو التركيب الكيمياوى للمبيد يؤثر على مقاومة التحلل persistence ومعدل التحول ويمكن الرجوع لكثير من المراجع فى هذا الصدد مثل Audus 1964 ، Gripps 1971 . . .الخ .

والميكانيكية العامة لأكسدة الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسى الكيلية مازالت محل تساؤل ! فالبعض يفترض أن aliphatic moiety لهذه الأحماض تتحول بواسطة β - oxidation وتشير دراسات على تحلل ٢,٤ داى كلوروفينوكسى البيوترات بواسطة *Flarobacterium* إلى حدوث التحلل بواسطة كسر رابطة الأستر بدلاً من β - oxidation للأحماض الدهنية. وهذا الكسر لرابطة الأستر يؤدى إلى تكوين ٢,٤ داى كلورو فينول وحمض البيوتيريك والأول تحدث له عملية dehalogenation عند الوضع ortho والناتج هو 4-chlorocatechol قابل للتحلل الكامل مع احتمال تكون - chloro Cis, Cis muconic acid. وعمومًا توجد طريقتين لتحول الأحماض الكربوكسيلية الفينوكسى الكيلية :

١ - تستخدم أساسًا بواسطة *Nocardia* sp وتشمل الآكسدة (β) للسلاسل الأليفاتية وتؤدى لتكوين مركبات وسطية phytotoxic من المركبات الأصلية .

٢ - كسرا رابطة الأستر بالأكسدة وتتم غالبًا بواسطة *Flauobacterium* sp. وتؤدى للتخلص من المجموعات الاستبدالية الجانبية وبالتالى من سمية مبيدات الأعشاب . (كما يظهر ذلك من الرسم التالى) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



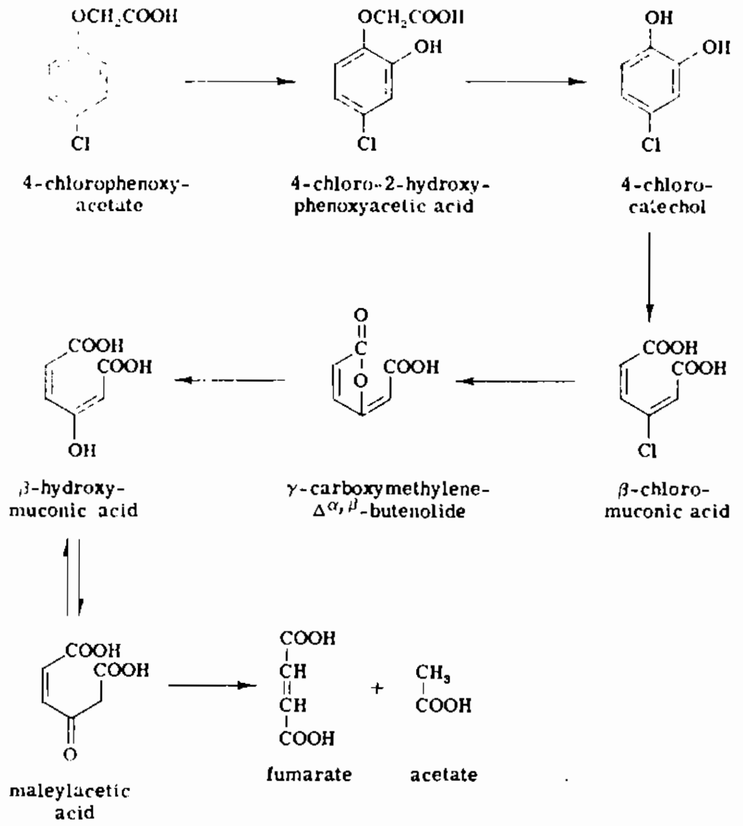
شكل (١٩.٨) : تصور عام للأكسدة الأولية للأحماض الكربوكسيلية الفينوكسى الكيلية نقلاً عن Mac Rae et al., 1963

١.٥.٨ تحولات ٤- كلوروفينوكسى أسيتات 4- Chlorophenoxy acetic acid

يستعمل مبيد الحشائش الهرمونى ٤ - كلوروفينوكسى آسيتات مع ٤،٢ داى كلورو فينوكسى أسيتات، ٤ - كلورو -٢- ميثيل فينوكسى أسيتات بنجاح فى مجال وقاية النبات وأصبح واسع الانتشار عالميًا .

وتستطيع كثير من الميكروبات مهاجمة هذه المبيدات وتحليلها ولكن بدرجات مختلفة مثل *Flavobacterium aquile* ، *Nacardia coeliaca* ، *Corynebacterium* sp. ، *Achromobacter* sp. ، *Arthrobacter* sp. ، *Mycoplana* sp. ، *Pseudomonas* NCIB 9340 ، وهناك نوع واحد من *Pseudomonas* ، *Arthrobacter* يستطيع هدم ٤- كلوروفينوكسى أسيتات بالكامل إلى الفيورمارات والآسيتات كما بالرسم التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٨ . ٢٠) : تحولات ٤- كلوروفينوكسى أسيتات بواسطة الميكروبات

نقلاً عن Evans, et al, 1971

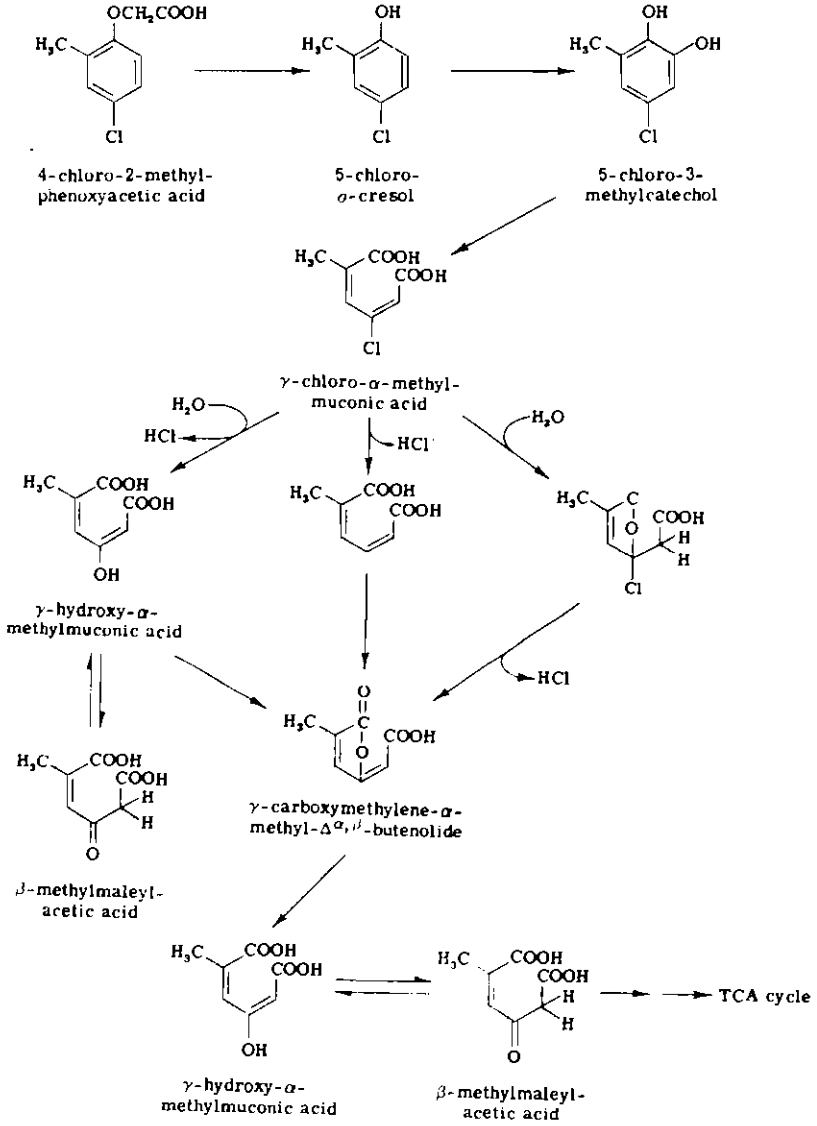
حيث يبدأ التحلل بعملية hydroxylation (إدخال OH -) للحلقة الآروماتية فى الوضع ortho وتكون ٤- كلورو -٢- هيدروكسى فينوكسى أسيتات . ثم تكسر رابطة الأستر ويتكون glyoxylate ، ٤- كلورو كاتيكول الذى يدخل فى orthro - cleavage للحلقة مكونًا β- كلوروميوكنات الذى يفقد أيون الكلوريد (Cl^-) فيما يسمى dehalogenation ويتحول بعملية lactonization إلى اللاكتون المقابل أى γ- كربوكسى ميثيلين بيوتانوليد وهذا اللالكتون يتحول سريعًا إلى ماليل أسيتات ثم إلى الفيومارات والأسيتات .

٢.٥.٨ تحول ٤-كلورو -٢- ميثيل فينوكسى أسيتات

وهو أكثر ثباتًا فى التربة من ٢ , ٤ داى كلوروفينوكسى أسيتات . والخطوة الأولى هى كسر رابطة الأستر واستبدالها بمجموعة هيدروكسى مكونًا ٥-كلورو - O- كريسول + الجليوكسلات ثم تحدث عملية hydroxylation فى الوضع ortho مكونًا ٥- كلورو -٣- ميثيل كاتيكول

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وهذه الخطوة تـختلف فى الترتيب عن المركب السابق ٤- كلورو فينوكس آسيتات . والخطوة التالية هى كسر الحلقة بطريقة ortho - cleavage ويتكون ﻻ-كلورو - ∝ - مثيل ميكونات الذى يفقد أيـون الكلوريد dehalogenation بواحد من ٣ طـرق (كما بالرسم) مع عـملية lactonization (تكوين اللاكتون المقابل والناتج ﻻ - كربوكسى ميثيلين - ∝ - ميثيل بيونوليد والذى يتحول بدورة إلى ميثيل ماليل آسيتات ومنه إلى دورة TCA .



شكل (٨ . ٢١) : تحولات المبيد العشبى الهرمونى : ٤- كلورو -٢- ميثيل فينوكسى أسيتات بواسطة ميكروبات التربة - نقلاً عن Gaunt & Evans, 1971

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

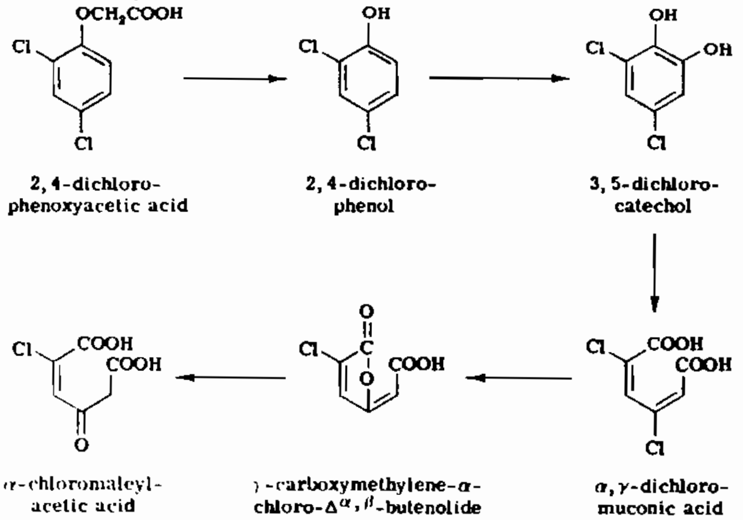
٣.٥.٨ تحول ٤،٢ داى كلورو فينوكسى اسيتات

ɔrophenoxy acetate (2,4 D)

يشبه سابقه فى خطوات الهدم الأولى من حيث كسر رابطة الأستر واستبدال السلسلة الجانبية بمجموعة الهيدروكسى ليعطى ٢,٤ داى كلوروفينول ، جليوكسالات. ثم يقوم ميكروبى *Pseudomonas* NCIB 9340 ، *Arthrobacter* sp. بعملية hydroxylation فى الوضع ortho مكونًا ٣,٥ داى كلورو كاتيكول ثم يحدث كسر الحلقة بطريقة ortho مكونًا ∝ ، ٧داى كلورو ميكونات. (بينما يستطيع ميكروبى *Flarobacterium* ، *peregrinum* *Achromobacter* sp. تحويل ٢,٤ داى كلوروفينول إلى ٤- كلورو كاتيكول ثم إلى ٤- كلوريد ميكونات).

على أى حال مركب ∝ ، ٧داى كلوروميكونات تحدث له عمليتى dehalogenation ، lactonization (نزع أحد أيونات Cl^- مع تكوين اللاكتون المقابل) والناتج تكوين ٧- كربوكسى ميثيلين -∝- كلورو بيوتانوليد والذى يتحول إلى كلورو ماليل أسيتات. وتعتمد نواتج هدم هذا المركب على المرحلة التى يطرد فيها أيون الكلوريد المتبقى

- فإذا طرد Cl^- أثناء مهاجمة كلورو ماليل أسيتات فإنه يتحول إلى 3- kitoadipic ثم السكسينات .
- أما إذا ظل Cl^- فى الجزئ فإن كلورو ماليل أسيتات يتحول إلى 2, chloro -4- keto adipic الذى يتحول إلى الكلورو سكسينات ثم السكسينات أى ينطلق (Cl^-) فى آخر خطوة بالتفاعل .



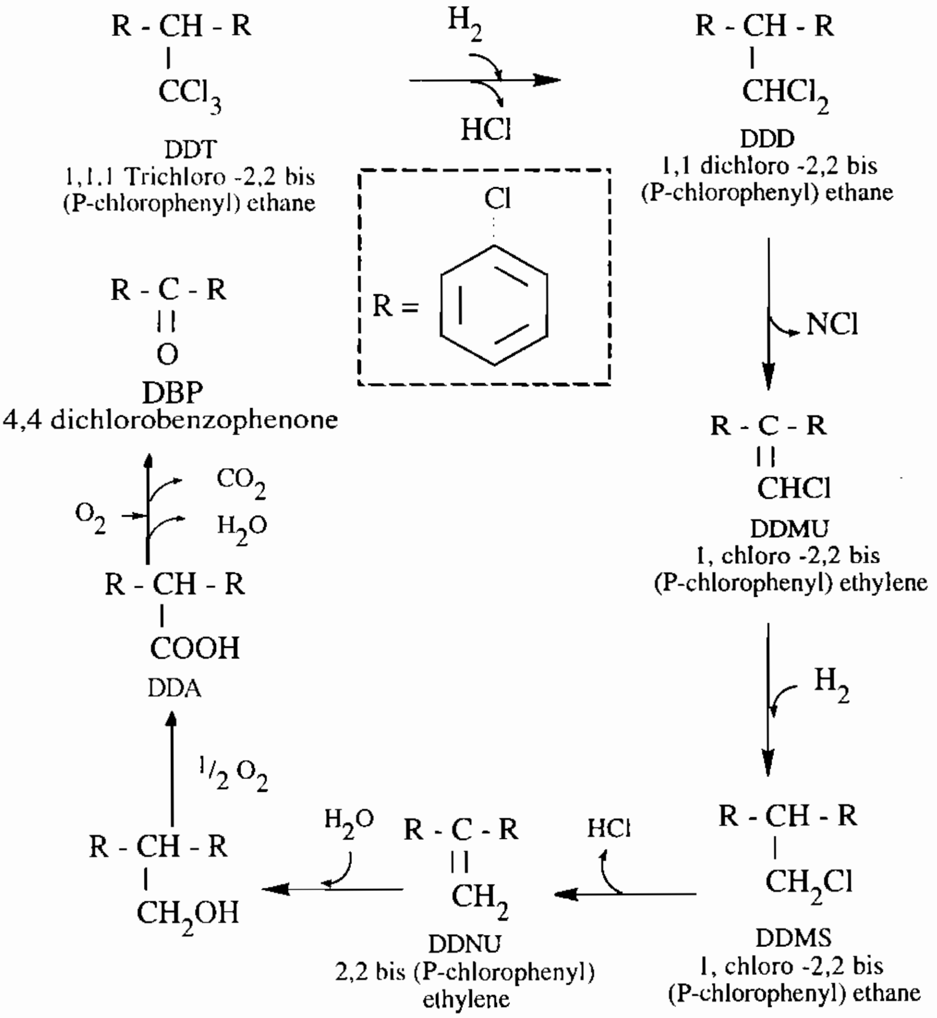
شكل (٨.٢٢) : تحول ٢,٤ داى كلوروفينوكسى آسيتات نقلاً عن Tiedje et al, 1969

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٤.٥.٨ تحولات DDT . DDD . DDMS . DDNU

هناك بعض المبيدات المعـروفة يمكن هدمها ميكروبيًا ولكن ميكانيـكية أو طريقة التحول لم تعرف بعد بالكامل .

فمثلاً هدم مركب DDT (١،١،١ تراى كـلورو - ٢،٢ bis - كلوروفينـيل - إيثان) بواسطة *Aerobacter aerogenes* له ٧ ميكانـيكيات على الأقل ويتركز الاهـتمام الأساسى على أيونات الكلوريد لأنه لو تخلص منها سيؤدى للتخلص من سمية المبيد. ويتحول DDT أولاً إلى DDD (نفس التركيب السابق ولكن أيون كلوريد أقل) ثم يتابع التخلص من Cl^- .



شكل (٢٣.٨) : تحولات DDT ، DDD ، DDMS ، DDNU

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥.٥.٨ [illegible] الريبوفلافين Riboflavin

يستطيع [illegible] *Pseudomonas* أكسدة الريبوفلافين إلى البيوتيريك ، البيروفات ، البروبيونيك ، [illegible] أسيتات .

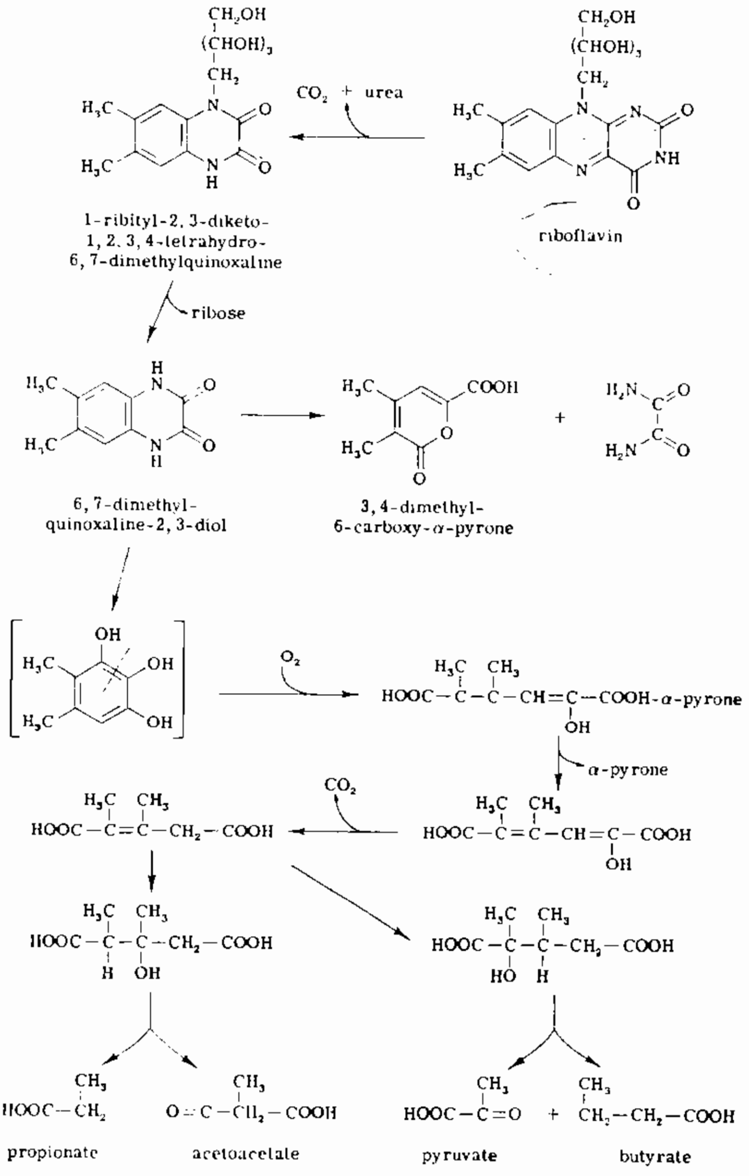
الخطوة الأولى عملية hydroxylation لجزئ الريبوفلافين ينتج عنها (١- ريبتيل ٣,٢ - داى كيتو ٤,٣,٢,١ تترا هيدرو ٧,٦ داى ميثيل كينو كسالين) وتحتاج هذه الخطوة إلى الأكسجين ويخرج ك أ٢ ، يوريا .

الخطوة الثانية فصل السلسلة الجانبية بالأكسدة وينتج عنها خروج الريبوز ويتكون ٧,٦ دى ميثيل كينوكسالين ٣,٢ - ديول والذى يتحول فى اتجاهين .

أما إلى تكوين ٤,٣ داى ميثيل -٦- كربوكسى - الفابيرون **أو** الطريق الثانى الذى يؤدى إلى تكوين البيروفات ، البيوترات ، البروبيونات ، الآسيتو أسيتات ويمكن تلخيص التصور العام لهذه التحولات كما بالرسم التالى (شكل ٨ - ٢٤) .

ويعتمد تحديد اتجاه التفاعل على درجة التهوية لبيئة النمو فالتهوية العالية تشجع الطريق المؤدى إلى الأحماض الصغيرة مع أنطلاق ك أ٢ بكمية كبيرة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



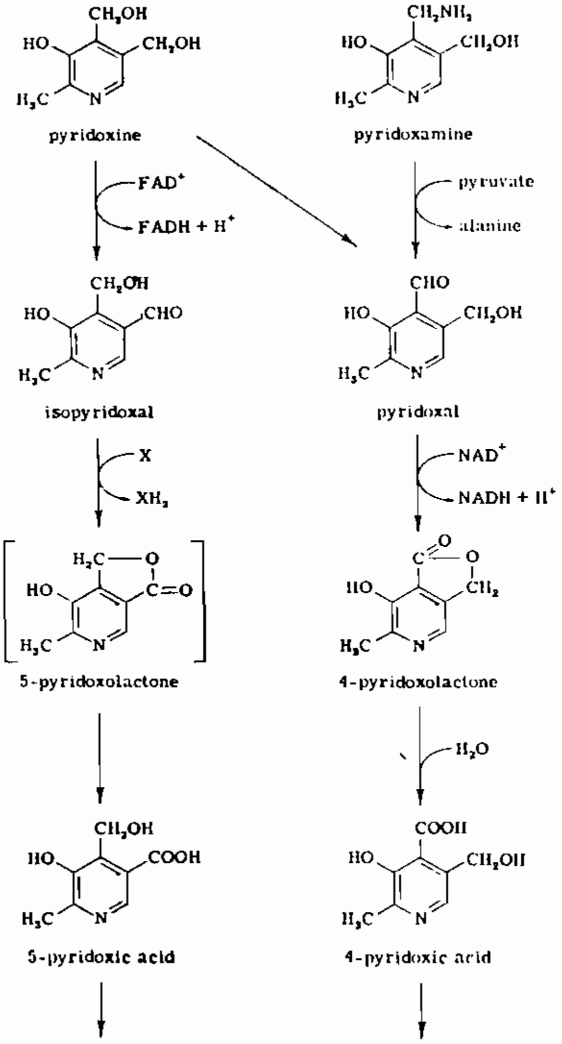
شكل (٢٤.٨) : تحلل الريبوفلافين بواسطة *Pseudomonas* RF

نقلاً عن Barz & Stadtman (1969)

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٦.٥.٨ تحولات فيتامين B_6 (Pyridoxine)

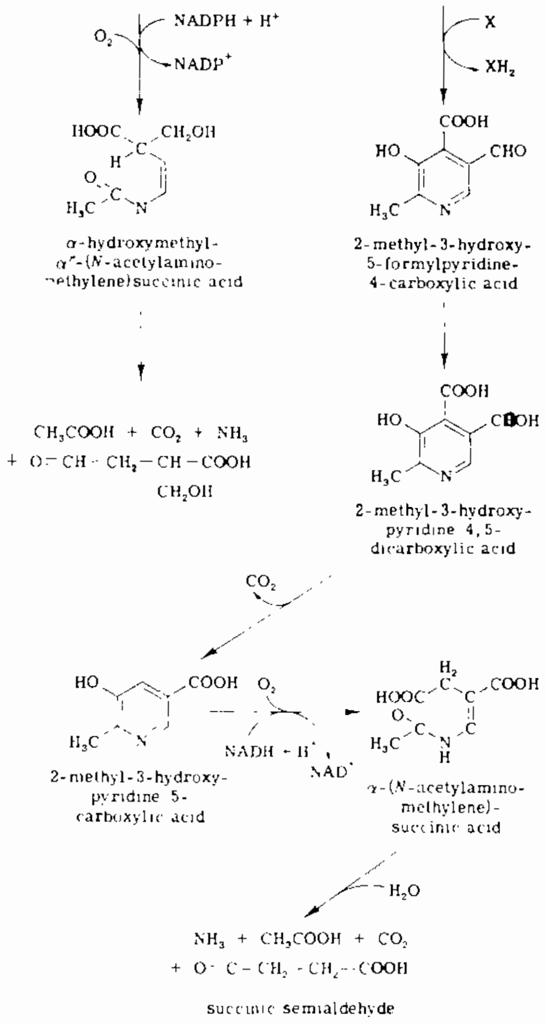
يُستخدم طريقان مختلفان لهدم فيتامين B_6 ويعتمد ذلك على وجود Pyridoxine أوPyridoxamine كمصدر وحيد للكربون والطاقة .



شكل (٢٥.٨) : تحولات فيتامين B_6 (Pyridoxine) ، Pyridoxamine
بواسطة كائنات التربة (بقية الشكل بالصفحة التالية)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الطريقة الأولى هـــو تحـــول بيـــردوكسين بواســـطة *Pseudomonas* ويشمل Pyridoxine 5-dehydrogenase (EC 1.1.99.9) المرتبط بـ FAD ويستعمل ٢,٦ داي كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين وينتج عنه isopyridoxal .



تابع شكل (٨.٢٥) : لتحولات فيتامين B_6 نقلاً عن Sparrow et al. 1969

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويوجد إنزيم آخر مختلف تمامًا هو Pyridoxine 4- oxidase (EC 1.1.3.12) معزول من *Pseudomonas* MA-1 يلامس تحول Pyridoxine إلى Pyridoxal وهو يستعمل كل من الأكسجين، دى كلورو أندوفينول كمستقبل للأيدروجين .

المهم أن أيسو بيردوكسال الناتج يتأكسد إلى ٥- بيردوكسال أسيتون والذى يتحول مباشرة إلى 5-pyridoxic acid وعند هذا المستوى من التفاعل يحدث كسر الحلقة بواسطة pyridoxate dioxygenase (EC 1.14.12.5) ويتكون أحد مشتقات السكسينك ومنه يتكون الاستيك، ك أ٢، الأمونيا ، السكسينات سمى الدهيد كنواتج نهائية .

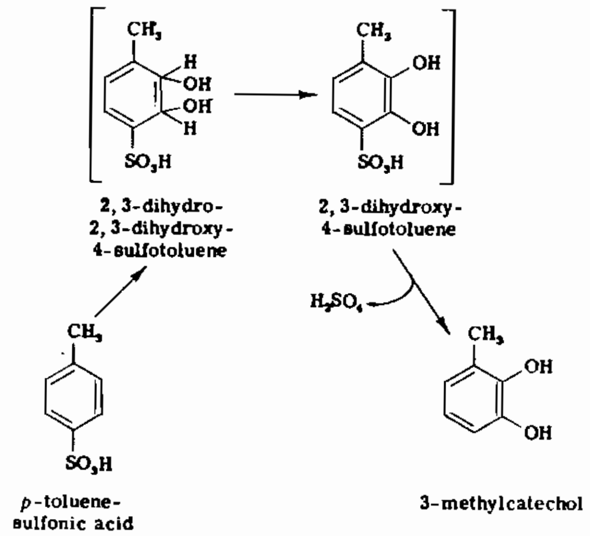
الطريقة الثانية وقد درست بتوسع أكبر . فالخطوة الأولى لتحول pyridoxamine هى نزع مجموعة الأمينو مكونًا Pyridoxal ومحولا البيروفات إلى الآنين. ويلى ذلك تكون 4-pyridoxolactone بملامسة إنزيم pyridoxal DH المرتبط بـ NAD^+ والأخير يتحول إلى حمض 4-pyridoxic فى وجود إنزيم pyridoxolacetionase (EC 3.1.1.27) والخطوة التالية هى أكسدة مجموعة الكحول فى 4 pyridoxic acid فى خطوتين متعاقبتين ($CH_2OH \rightarrow CHO \rightarrow COOH$) مكونًا حمض ٢- مثيل -٣- هيدروكسى بيريدين - ٤,٥ دى كربوكسيليك ثم تنزع ك أ٢ من الوضع ٤ حتى يدخل فى تفاعل oxygenase cleavage لكسر الحلقة وينتج الفا - (أسيتيل أمينو ميثلين) - سكسينات، والذى يتحول بدوره فى وجود hydrolase إلى النواتج النهائية (الأسيتات، ك أ٢ ، أمونيا ، سكسينك سمى الدهيد) وبرغم أن كلا الدورتين المستخدمتين فى تحول فيتامين B_6 ذات إنزيمات inducibleإلا أنه ليس معروفًا للآن إذا كانت Single or sequential induction .

٧.٥.٨ تحولات سلفونات التولوين P-toluene sulfonate

يستطيع العديد من أفراد Pseudomonads تحويل السلفونات الحلقية مثل سلفونات التولوين حيث تتحرر مجموعة السلفونات من الحلقة الأروماتية مع حدوث oxygenase reaction مكونًا ٣-ميثيل كاتيكول يعقبه كسر الحلقة بطريقة meta ويتكون البيروفات والأسيتات كنواتج نهائية(شكل ٨-٢٦) .

ويستطيع ميكروب *Alcaligenes* تحويل سلفونات الكيل البنزين بنفس الطريقة السابقة من حيث مهاجمة السلسلة الجانبية مكونًا مشتقات الكاتيكول قبل كسر الحلقة. ويستطيع *Ps. testosteroni* استخدام سلفونات البنزين كمادة نمو جديدة .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٨.٢٦) : تحولات P - toluene sulfonate
(المرجع Focht & Williams, 1970)

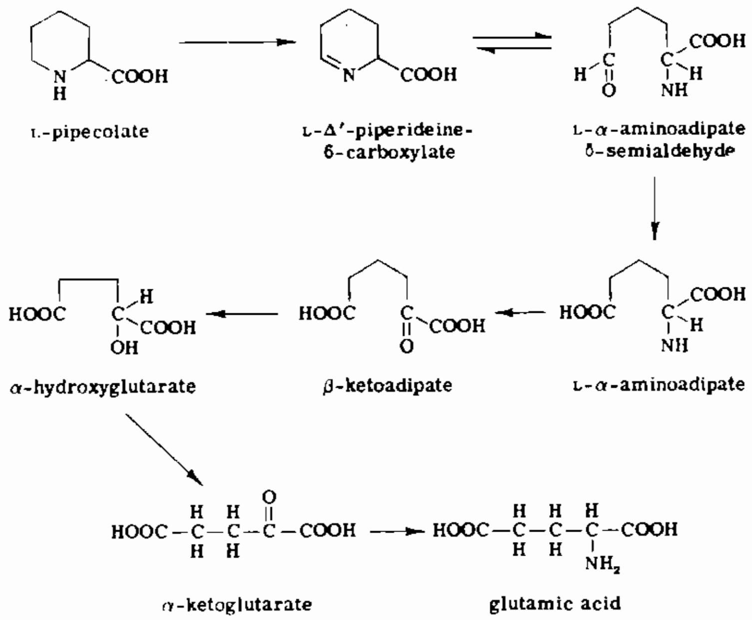
٨.٥.٨ تحولات البيبى كولات Pipecolate

يستطيع ميكروب *Ps. putida* القيام بهدم هذا المركب الحلقى المرتبط بمجموعة النيترو. والخطوة الأولى هى عملية أكسدة بيبى كولات إلى L-6-piperideine -6- carboxylate فى وجود إنـزيم pipecolate dehydrogenase (EC 1.5.99.3) يعقب ذلك تـفاعل غير إنزيمى ينتج عنه L-∝-aminoadipate semialdehye (كسر الحلقة) والـذى يتأكسد بدوره إلى L-∝-aminoadipate (الالدهـيد ← كربوكـسيل) والخطوة الثـالثة هى عملـية نزع مجموعة الأمين ويتكون β-ketoadipate ومنه يتكون الفا هيدروكسى جلوتارات الذى يتأكسد إلى الفاكيتو جـلوتارات بملامسة إنزيم oxidoreducase (EC 1.1.99.2) مرتبط بالغشاء الخلوى والمعروف بـ (*Ps. putida* - ETP) وهذا الإنزيم متخصص للايسومير (L) . وفى حالة استخدام O_2 كمستقبل نهائى للالكترون فإن نظام انتقال الالكترون يتبع :

$$\text{Substrate} \longrightarrow \text{Fp} \longrightarrow \text{Cyt. b} \longrightarrow \text{Cyt. c} \longrightarrow O_2$$

والتفاعل الأخيـر يتضمن نقل مجموعـة الأمين ويتحول الفاكيتوجـلوتارات إلى حمض الجلوتاميك .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٨.٢٧) : تحولات L-pipecolate بواسطة *Ps. putida*

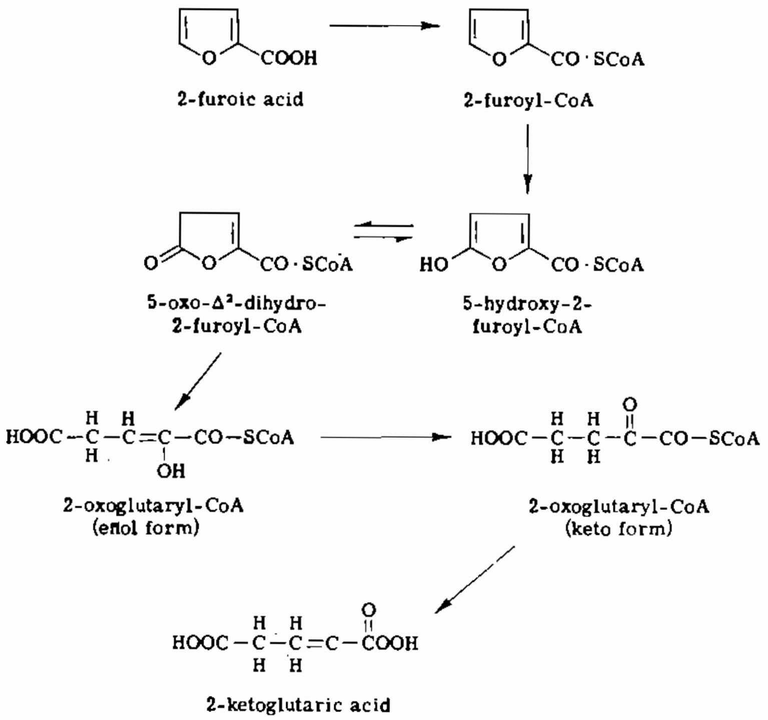
نقلاً عن Basso et al سنة ١٩٦٢

٩.٥.٨ تحول 2- Furoic acid

ترجع أهميـة هذا التحول لقيام الميـكروبات بمهاجمة حلـقة الفيوران Furan الهامة فى الأبحاث الأكلينيكية .

والخطوة الأولى هـى تحول ٢- فيـوريك أسيد إلـى فيوريل كـوانزيم A بملامسة إنزيم L-Furoyl- Co A synthetase . ويلى ذلك عملية إدخال (OH -) فى الوضع 5 ويكون ٥- هـيدروكـسى ٢- فيـورويل كـوانزيم A والـذى يوجـد فى حـالة تـوازن مع نـظيـره الكيتونى 5-oxo-Δ^2- dihydro -2- furoyl - Co A والأخير يـتحول بواسـطة إنزيم lactone hydrolase إلى الصورة الأينولـية للمركب 2-oxoglutaryl - Co A ثم إلى الصورة الكـيتونية لنـفس المركب. وأخيراً بـتأثير thiolester hydrolase يخرج Co A ويتكون الناتج النهائى 2-oxoglutarate كما هو موضح بالشكل التالى .

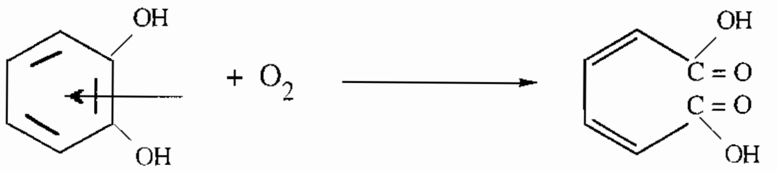
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٨.٢٨) : تحولات 2-furoic acid (المرجع (Trudgill (1969)

٦.٨ إنزيمات Oxygenases

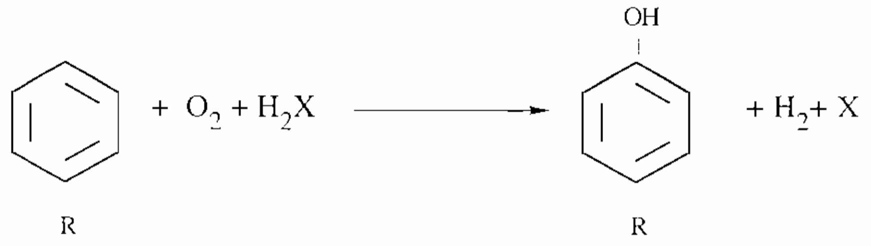
هى مجموعة من الإنزيمات التى تلامس إدخال جزئ الأكسجين إلى المركبات العضوية المختلفة وتم تعريفها بواسطة IUB بأنها الإنزيمات التى تلامس إضافة جزئ الأكسجين عبر الرابطة المزدوجة بين ذرتى كربون. أى إضافة كلا ذرتى جزئ الأكسجين إلى مادة التفاعل (وليس أى من الذرات المضافة مصدرها الماء المذيب) . ولذا استعمل Hayaishi, 1966 اصطلاح dioxygenase لهذا النوع من الإنزيمات .



طريقة تأثير dioxygenase

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويتبع نفس المجموعة إنزيمات "hydroxylases" وهى إنزيمات تلامس أيضًا إضافة جزئ الأكسجين لمادة التفاعل ولكن ذرة واحدة فقط من جزئ الأكسجين تدخل لمادة التفاعل بينما الذرة الثانية تكون ماء ويمثل H_2X معطى الأيدروجين .



طريقة تأثير hydroxylase (mono oxygenase)

وقد استعمل Hayaishi سنة ١٩٦٦ اصطلاح monooxygenase لهذا النوع من الإنزيمات بينما يفضل Mason et al سنة ١٩٥٥ تسمية هذه الإنزيمات "mixed function oxidases" وهى تسمية قديمة وطويلة .

ويمكن فصل oxygenases عن oxidases بوضوح فالأخيرة إنزيمات تستعمل جزئ الأكسجين كمستقبل للالكترون ولذا تكون H_2O_2 أو H_2O كناتج ولا تدخل الأكسجين إلى مادة التفاعل .

وتنتشر إنزيمات oxygenases بصورة واسعة فى الطبيعة فهى :

- هامة فى تفاعلات الهدم والتخليق بالذات المركبات الأروماتية حيث تعتبر الإنزيم الأول الذى ينقل الهيدروكربونات الغير قابلة للتحلل مثل البنزين ، نفثالين إلى مركبات اليفاتية يمكن استخدامها فى دورات التحولات الأيضية السائدة .
- تؤكسد الألكان لتعطى أحماض دهنية التى تواصل تحولها بواسطة β or ω- oxidation

علمًا بأنه لا يزال العديد من المركبات الحلقية لم يعرف بعد ميكانيكية تحولاتها .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

أسئلة للمراجعة

١ - حدد الـفروق بين الأكـسدة alpha ، beta ، omega المتبعة فـى أكسدة الأحماض الدهنية؟

٢ - ماهو الفرق بين الأكسدة diterminal ، menoterminal للألكان ؟

٣ - ما المقصود بالاصطلاح "mixed function oxidase" مقارنة بـ oxygenase ؟

٤ - أشرح كيفية إعداد الحلقة الأروماتية للكسر ؟

٥ - ما الفرق بين ortho & meta cheavage لحلقة البنزين ؟

٦ - ما المقصود بـ sequential induction لأى دورة تحلل ؟

٧ - أشرح الطريقتين المختلفتين لاستخدام الهيدروكربونات وصولاً إلى β-ketoadipate ؟

٨ - ماهو الفرق بين Catechol pathway ، gentisate ؟

٩ - أشرح الفرق بين تحولات الهيدروكربونات الأروماتية ، الأروماتية الهالوجينية .

١٠- ماهى الميكانيكية المنظمة (المحددة) لتحولات هيدروكسى بنزوات بواسطة *Ps putida* ، *Alcaligenes eutrophus* ، *Acinetobacter calcoaceticus* ؟

١١- أشرح تحولات مبيـد الحشائش الهرمونى ٢- ميثيل ٤- كلوروفينوكـسى أسيتات والمبيد الحشرى DDT ؟

١٢- ناقش كيفية مهاجمة الميكروبات لحلقة Furan ؟

١٣- ما الفرق بين طريقة تأثير dioxygenase ، monooxygenase ؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1 - Audus, L. J. (1964). "The physiology and Biochemistry of Herbicides" Academic Press, New York.

2 - Barz, W and Stadtman, E. R. (1969). Bacterial degradation of riboflavin. Arch. Mitrobiol. 67 : 128.

3 - Basso, L. V., Rao, D. R. and Rodwell, V. W (1962). Metabolism of pipecolic acid in *Pseudomonas* species. J. Biol. Chem. 237 : 2239.

4 - Cain, R. B. (1968). Anthranilic acid metabolism by microorganisms. Antonie van leeuwenhoek; J. Microbiol Serol. 34 : 417.

5 - Chamberlain, E. M. and Dagley, S. (1968). The metabolism of thymol by *Pseudomonas*. Biochem. J. 110 : 755.

6 - Chapman, P.J. and Hopper, D.J. (1968). The bacterial metabolism of 2,4 - xylenol. Biochem. J. 110 : 491.

7 - Cripps, R. E. (1971). The microbial breakdown of pesticides. Soc. Appl. Bacteriol. Symp series, 1 : 255.

8 - Davies, J. I. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of naphthalene by soil pseudomonads. The ring - fission mechanism. Biochem. J. 91 : 251.

9 - Davies, R. S., Hossler, F.E. and Stone R. W. (1968). Metabolism of p- and m- xylene by species of *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol. 14 : 1005.

10- Evans, W. C., Smith, B. S., Moss, P. and Fernaley, H. N (1971) Bacterial metabolism of 4-chlorophenexyacetate. Biochem J. 122 : 543.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

11- Fernley, H. N., Griffiths, E. and Evans, W.C. (1964). Oxidative metabolism of phenanthrene by soil bacteria. The initial ring fission step. Biochem. J. 91 : 15.

12- Focht, D.D. and Williams, F. D. (1970). The degadation of p- toluene sulfpnate by *Pseudomonas*. Can. J. Microbiol 16 : 309.

13- Gaunt, T. K. and Evans, W. C. (1971). Metabolism of 4- chloro -2- methyl phenoxyacetate by soil pseudomonads - Ring fission, Loctonizing and delactonizing enzymes. Biochem. J. 122 : 533.

14- Harper, D. B. and Blokley, E. R. (1971) The metaboliam of p - fluorophynyl acetic acid by *Pseudomonas* sp. II The degrative pathway. Can, J. Microbiol. 17 : 645.

15- Hayaishi, O. (1966). Crystalline oxygenase of pseudomonads - Bacteriol. Rev. 30 : 720.

16- Killinger, A. (1970) Der Abbau von Undecan durch ein marines Bakterien. Arch. Microbiol 73 : 160.

17- Lack, L. (1959). The enzymic oxidation of gentisic acid. Biochem Biophys. Acta 34 : 117.

18- Mac Rae, I. C., Alexander, M. and Rovira, A. D. (1963). The decomposition of 4-(2,4 - dichlorophenoxy) butyric acid by *Flavobacterium* sp. J. Gen. Microbiol. 32 : 69.

19- Ornston, L.N. and stanier, R. Y (1966). The conversion of catechol and protocatechuate to β- ketoadipic acid by *Ps. putida*. J. Biol Chem. 241 : 3776.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

20- Schlegel, H.G. (1986). General microbiology, 6th Ed., Cambridge Univ. Press, London.

21- Sparrow, L. G., Ho, P.P.K., Sundaram, T.K. Zach, D., Nyns, E. T. and Snell, EE. (1969) The bacterial oxidation of vitamin B_6. J. Biol. Chem. 244 : 2590.

22- Steenson, T. I. and Walker, N. (1956) observations on the bacterial oxidation of chlorophenoxy acetic acids. Plant & Soil 8 : 17.

23- Taylor, H. F. and Wain, R. L. (1962). Side chain degradation of certain ω - phenoxyalkane carboxylic acids by *Nocardia cocliaca* and other microorganisms isolated from soil. Proc. Roy. Soc. ser. B. 268 : 172.

24- Tiedje, H.M., Duxbury, J.M., Alexander, M. and Dawson, J. E. (1968), 2,4-D metabolism : Pathway of degradation of chloro-catechols by *Arthrobacter* sp. J. Agr. Food Chem. 17 : 1021.

25- Trudgill, P.W. (1969). The metabolism of 2-furoic acid by *pseudomonas* F2. Biochem. J. 113 : 577.

26- Vestal, T. R. and Perry, J. J. (1969). Divergent metabolic pothways for propane and propionate utilization by a soil isolate. J. Bacterial. 99 : 216.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الباب التاسع

التخمرات

Fermentations

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١.٩ مقدمة عامة

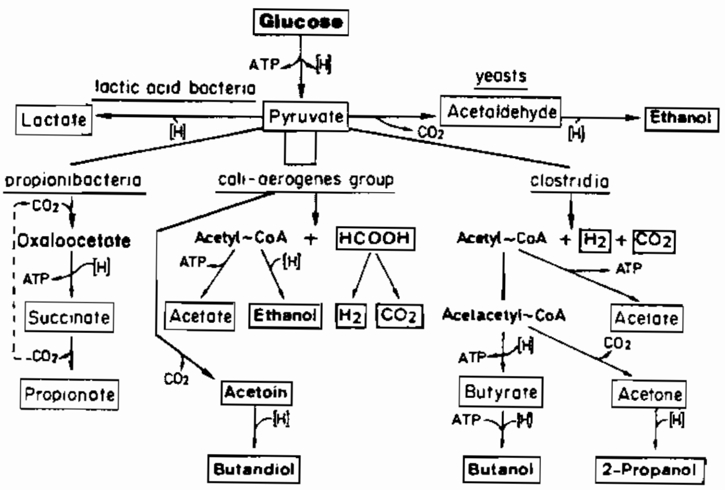
- التخمر عملية أيضية بهدف إعادة تخليق الطاقة وفيهما تستخدم نواتج الهدم العضوية «كمعطى» وأيضا «كمستقبل» للايدروجين (أو للالكترون)، أى ليس للاكسجين أو بدائله (النترات - الكبريات . . . الخ) دور هنا كما قال باستير "La Fermentation est la via sans l'air" أي التخمر هو الحياة بدون هواء .

- وخطوات التخمر عبارة عن نزع الأيدروجين (dehydrogenation) حيث ينتقل الايدروجين إلى عامل مساعد مثل NAD^+ أو $NADP^+$ والميكروبات التى تقوم بها لا تملك نظام السلسلة التنفسية لانتقال الالكترون e - transport chain ولذا تحدث عملية إعادة تخليق ATP عادة بأسلوب substrate level phosphorylation .

- ويتكون أثناء تخمر الكربوهيدرات كثير من النواتج الوسطية سواء بصورة منفردة أو متجمعة مثل الأيثانول - اللاكتات - بروبيونات - فورمات - بيوترات - سكسينات - أسيتات - بيوتانول - آسيتون - بيوتاندول - بروبانول - ك $أ_٢$ - يد $_٢$. وبناء على الناتج النهائى السائد - من الناحية الكمية - تقسم التخمرات إلى تخمر كحولى - تخمر لاكتيكى - تخمر الفورميك . . . وهكذا .

- ومعظم الميكروبات التى تقوم بعملية التخمر لا هوائية حتمية ولكن بعضها لاهوائية اختيارية وتستطيع النمو فى غياب أو وجود الأكسجين وفى هذه الميكروبات الاختيارية يُثبط الأكسجين التخمر ويشجع التنفس. وتعتبر النواتج النهائية لعملية التخمر صفة تقسيمية لمجموعة البكتريا التى تنتجها ويظهر الرسم التالى ملخص مصغر للتفاعلات وللمركبات الوسطية والنهائية الناتجة من تخمر البيروفات وأهم الميكروبات التى تكونها.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٩-١) : ملخص التفاعلات والنواتج لأهم العمليات التخمرية والميكروبات التي تقوم بها (Schlegel, 1986)

– **تخليق الطاقة وتخزينها بواسطة الخمر :**

بمراجعة العدد الضخم من عمليات ونواتج التخمر وجد أن عدد قليل جدًا من التفاعلات هو القادر أو المختص بحفظ الطاقة وأهمها :

١ – ٣,١ فوسفو جليسرات ← (ADP → ATP ، PG-kinase) ← ٣ فوسفوجليسرات

٢ – فوسفو اينول بيروفات ← (ADP → ATP ، Pyr-kinase) ← بيروفات

٣ – أسيتيل فوسفات (بيوتيريل فوسفات) ← (ADP → ATP ، kinase) ← أسيتات (بيوترات)

وأغلب الميكروبات التي تقوم بـعملية التخمر تستخدم التفاعـلين الأول والثاني كما أنها تستخدم البيروفيت او المركبات المـشتقة من أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين وينتج أثناء تخمر الجلوكوز واحد إلى أربع جزيئات ATP .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

أما التفاعل الثالث فيتميز بسهولة تكوين أسيتيل فوسفات من السكريات الخماسية والسداسية مثل الزيليلوز ٥- فوسفات ، الفركتوز ٦- فوسفات في وجود phosphoketolase وأيضًا من أسيتيل كوانزيم A بواسطة phosphotransferase (EC 2.3.1.8) .

$$\text{acetyl - Co A} + \text{Pi} \longrightarrow \text{acetyl phosphate} + \text{Co A}$$

● **ميكانيكية انطلاق H_2 (المادة العضوية كمعطى للأيدروجين)**. تستطيع الميكروبات اللاهوائية أكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A بطريقين :

$$1 -\ \text{pyruvate} + \text{Co A} + 2\ \text{Fd} \xrightarrow{\text{oxidoreductase}} \text{acetyl - Co A} + 2\ \text{FdH} + CO_2$$

$$2 -\ \text{pyruvate} + \text{Co A} \xrightarrow{\text{lyase}} \text{acetyl - Co A} + \text{formate}$$

في التفاعل الأول (Clostridial type) يستخدم إنزيم pyruvate ferredoxin oxidoreductase حيث يختزل Fd (Ferrodoxin) إلى FdH وهو مركب له جهد أكسدة واختزال منخفض ثم ينطلق الأيدروجين بواسطة ديهيدروجينيز منخفض .

$$2\ \text{FdH} \xrightarrow[\text{oxidoreductase}]{\text{Fd: } H_2\text{-}} 2\ \text{Fd} + H_2$$

أما التفاعل الثاني (Enterobacterial type) والذي يصاحبه إنزيم pyruvate - formate lyase فإن الفورمات الناتجة تنشق بواسطة hydrogenlyase وينطلق الايدروجين .

$$\text{formate} \xrightarrow{\text{hydrogenlyase}} CO_2 + H_2$$

وكلا الميكانيكيتين السابقتين لتحرير H_2 تتضمن مركبات وسطية (FdH and formate) ذات جهد أكسدة واختزال منخفض جدًا بحيث أن المكافئات المختزل (البروتون أو الالكترون) المتكونة من أكسدة البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A تنطلق من الخلية بدون صعوبة .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

هذا بعكس الأيدروجين الناتج أصلاً من dehydrogenation للمركب جليسرالدهيد ٣- فوسفات فى شكل $NADH_2$ والذى يجب نقله إلى مستقبل عضوى . . . كثير من البكتريا تحرير هذا الـ H_2 فى وجود إنزيم $NADH_2$: Fd oxidoreductase . . . المعادلة :

$$NADH_2 + 2\,Fd \longrightarrow NAD^+ + 2\,FdH \longrightarrow 2\,Fd + H_2$$

وحيث أن التفاعل السابق تضمن تغيراً إلى جهد أكسدة واختزال أكثر سالبية (من E_0 - 320mV لمركب $NADH_2$ إلى E_0 - 420 mV لمركب Fd) فإن المعادلة لا تميل باتجاه انطلاق الأيدروجين. ولهذا فالميكروبات التى لها القدرة على انتاج H_2 من $NADH_2$ يمكنها استخدام هذا الطريق عند تنميتها فى بيئات مختلطة مع ميكروبات لها القدرة على استخدام جزئ H_2 ويعتبر هذا نوع من التكامل بين الميكروبات فى الطبيعة وهذه البكتريا القادرة على تحرير جزئ H_2 من $NADH_2$ (بالطريق السابق) يمكنها استخدام أسيتيل كوانزيم A كمستقبل للأيدروجين ويحوله إلى أسيتيل فوسفات ومنه يحصل على ATP بواسطة تفاعل الكينيز وبهذه الطريقة يمكنها أن تحصل حتى ٤ جزئيات ATP من تخمير ١ مول جلوكوز ويعتبر الأسيتات هو الناتج النهائى .

٢.٩ تخمرات بكتريا حمض البروبيونيك

تقوم Propionibacteria بتخمير الجلوكوز أو اللاكتات تحت الظروف اللاهوائية مكونه حمض البروبيونيك . وهذه البكتريا غير متجرثمة مختلفة الأشكال فهى كروية فى سلاسل تحت الظروف اللاهوائية وعصوية تحت الظروف الهوائية. وهى توجد غالبًا فى معدة rumen الحيوانات مثل الأبقار والأغنام وتوجد أيضًا فى الألبان والتربة ويمكن عزلها من بيئة أكثار محتوية على اللاكتات ومستخلص الخميرة وأهم أنواعه *Propionibacterium freudenreichii* ، *P. acnes*, *P. pentosaceum* ، *Veillonella alcalescens* (*Micrococcus lactilyticus*) ، *Closteridum propionicum* .

وجنس *propionibacterium* هو الممثل لهذه البكتريا وهو عصويات موجبة لجرام غير متحركة غير متجرثمة ولا تنمو على البيئات الصلبة المعرضة للهواء. ونظرًا لقدرتها على

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

النمو وتخليق ATP تحت ظروف التخمر اللاهوائية فإنه ينظر إلى Propionibacteria على أنها لاهوائية حتمية إلا أنه فى الحقيقة فإن كل أعضاء بكتريا البروبيونيك تستطيع النمو تحت ظروف هوائية ولكن كمية الخلايا الناتجة تحت الظروف الهوائية أقل بكثير عنه تحت اللاهوائية ولهذا فإن Propionibateria تعتبر فى الواقع microaerotolerant . وهى تستطيع تحت الظروف اللاهوائية تخمير الجلوكوز والسكروز واللاكتوز والبنتوز وكذا اللاكتات والمالات والجليسرول إلى حمض البروبيونيك ويتم هدم السكريات السداسية عبر دورة EMP إلى البيروفيك .

وقد اكتشف Wood & Werkman سنة ١٩٣٦ فى دراسة على تخمر الجليسرول بواسطة *P. acidipropionici* قدرتها على تثبيت ك أ٢ بواسطة Carboxlation للبيروفات مكونًا أحماض ثنائية الكربوكسيل ويعرف ذلك بتفاعل "wood-werkman" وهو ليس مقصورًا على بكتريا حمض البربيونيك ولكن يلاحظ فى الحيوانات والنبات ومعظم الميكروبات الهتيرتروفية .

١.٢.٩ تكوين حمض البروبيونيك من الجلوكوز

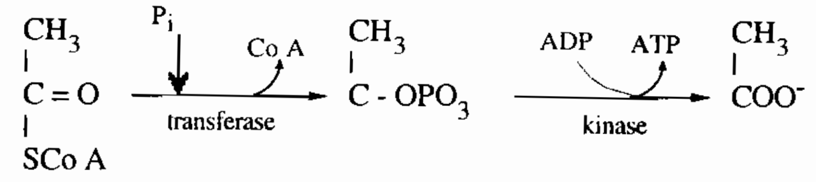
تتكون البيروفات من الجلوكوز بواسطة Propionibacteria عن طريق دورة EMP وعند مستوى البيروفات ينقسم طريق الهدم فى اتجاهين :

الاتجاه الأول : تحول البيروفات إلى أسيتيل كوانزيم A بملامسة إنزيم البيروفات ديهيدروجينيز المرتبط بـ Ferricyto. b_1 (EC 1.2.2.2) وهو يختلف عن البيروفات ديهيدروجينيز المرتبط بـ Lipoate (EC 1.2.4.1) الذى يكون أسيتيل كوانزيم A أيضًا ولكن يحتوى نظامه المعقد على أربع إنزيمات أخرى كما وصف فى دورة TCA. (الباب السابع) .

$$\underset{\text{pyruvate}}{\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ COO^- \end{array}} + NAD^+ + Co\,A \longrightarrow \underset{\text{acetyl - Co A}}{\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ SCo\,A \end{array}} + CO_2 + NADH_2$$

ثم يتحول أسيتيل كوانزيم A إلى أسيتيل فوسفات بملامسة إنزيم Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) ويلى ذلك نقل مجموعة الفوسفات إلى ADP بمساعدة إنزيم acetyl kinase (EC 2.7.2.1) ويتكون ATP والأسيتات كما بالمعادلة التالية :

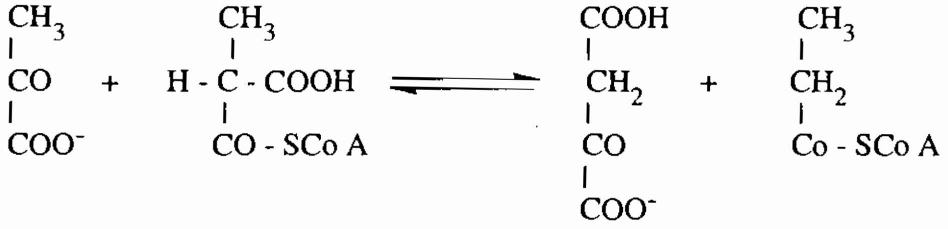
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



acetyl Co A — acetyl phosphate — acetate

أما **الاتجاه الثانى** : وهو تكوين البروبيونات فهو دورة حلقية تبدأ من البيروفات أو من فوسفوإينول بيروفات .

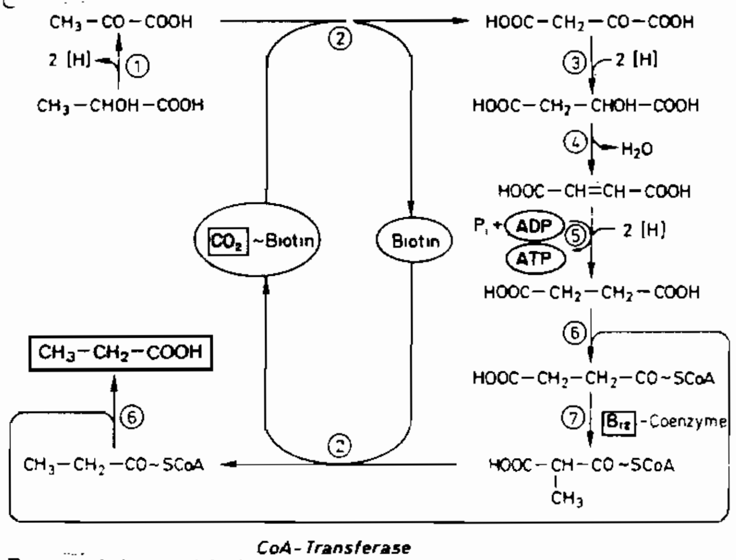
* **بالنسبة للبيروفات** : فإنها تسلك طريق ميثيل مالونيل كوانزيم A حيث يتحول البيروفات إلى أوكسال أسيتات بإضافة جزئ ك أ$_2$ وذلك فى وجود إنزيم methyl malonyl - Co A carboxytransferase (EC 2.1.3.1) وهذا الإنزيم يحتوى على البيوتين (رقم ٢ بالشكل ٩-٢) .



pyruvate — methyl malonyl-Co A — oxalacetate — propionyl-Co A

ويتحول الأكسال أسيتات إلى المالات فى وجود malate dehydrogenase (EC 1.1.1.gr.) (رقم٣) ثم إلى الفيورمارات بعلامة Fumarase (EC 4.2.1.2) (رقم ٤) ثم أخيراً إلى السكسينات فى وجود Fumarate reductase (رقم ٥) والخطوة الأخيرة يصاحبها أنطلاق ATP بواسطة Proton translocation (راجع التنفس الهوائى باستخدام الفيومارات فى الباب السادس). ثم تنشّط السكسينات بنقل Co A إليها فى وجود Co A - transferase (رقم ٦) (EC 2.8.3.5) ويتكون سكسنيل - كوانزيم A والذى يتحول إلى المركب الوسطى (key) المميز للدورة وهو methyl malonyl - Co A وذلك بعلامة إنزيم mutase (رقم ٧) والذى يرتبط بالمرافق الإنزيمى B_{12} (Cyanocobalamin) Vit. . وهذا المركب الوسطى يفقد جزئ ك أ$_2$ - الذى يعاد استخدامه فى تحول البيروفات كما فى المعادلة السابقة - والمركب الناتج هو بروبيونيل كوانزيم A ومنه تتكون البروبيونات فى وجود Co A - transferase (رقم٦) الذى ينقل Co A إلى السكسينات. ويمكن تلخص هذه التفاعلات والانزيمات المشاركة فى الرسم التالى :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



Ezymes: (1) lactate dehydrogenase; (2) methylmalonyl-CoA carboxytransferase; (3) malate dehydrogenase; (4) fumarase; (5) fumarate reductase (leading to re-generation of ATP by proton translocation); (6) CoA transferase; (7) methylmalonyl-CoA mutase.

شكل (٩ . ٢) : طريقة ميثيل مالونيل كوانزيم A لتكوين البروبيونات

ومما يجدر ذكره أثناء تفاعلات تكوين البروبيونات :

١ - انتقال مجموعتى CO_2 ، Co A رجعيًا back من الناتج إلى البادئ بدون المرور بالصورة الحرة .

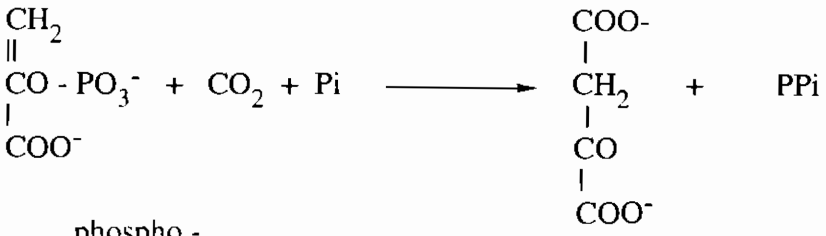
٢ - مشاركة ٣ عوامل مساعدة (بيوتين، Co A، $Co\ B_{12}$) فى التفاعل وهو صفة مميزة له.

٣ - دورة methyl malonyl - Co A تفاعل عكسى بمعنى أن بروبيونيل كوانزيم A (الناتج من تحولات الأحماض الدهنية والأيزوليوسين) يمكن تحويله (بإضافة ك أ٢) إلى ميثيل مالونيل - كوانزيم A ثم إلى سكسنيل - كوانزيم A فى وجود إنزيم mutase المرتبط بـ $Co\ B_{12}$ ويلاحظ ذلك فى ريزوبيا العقد الجذرية وفى أنسجة الحيوانات .

٤ - يتميز هذا الطريق (ميثيل مالونات كوانزيم A) بإنتاج كمية عالية من الطاقة (ATP) حيث يتكون حوالى ٦ مول ATP لكل ١,٥ مول جلوكوز كالتالى : ٤ مول ATP من أكسدة البيروفات إلى الأسيتات، ك أ٢ + ٢ مول ATP من خطوة تحول الفيومارات إلى السكسينات .

* أما **بالنسبة لفوسفواينول بيروفات** : فهو يتحول إلى أوكسال أسيتات فى وجود إنزيم PEP-Carboxy kinase (EC 4.1.1.38) ثم يكمل الدورة كما سبق :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

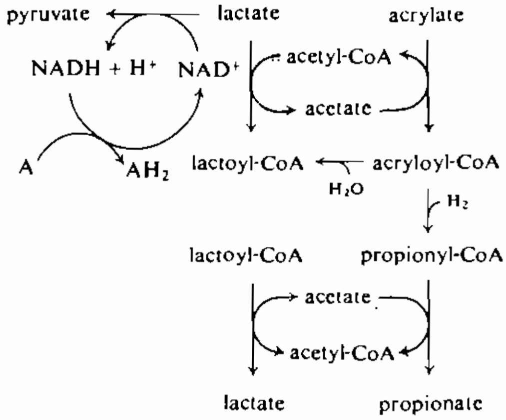


phospho - enolpyruvate　　　　oxalacetate

وبالطبع كمية ATP الناتجة ستقل بمقدار ٤ مول نتيجة فقد خطوة أكسدة البيروفات إلى الأسيتات ، ك أ٢ .

٩.٢.٢ تكوين حمض البروبيونيك من اللاكتات

تستخدم بعض الميكروبات مثل *Clostridium propionicum* ، *Bacteroides rumin* ، *Megasphaera elsdenii* طريقًا آخرًا لتكوين البروبيونات من اللاكتات ويعرف باسم المركب الوسطى (key) فيه وهو acryloyl - Co A كما بالرسم التالى :



شكل (٩ . ٣) : تكوين حمض البروبيونيك باستخدام اللاكتات كمصدر الكربون

حيث يتكون Lactoyl - Co A في وجود إنزيم acetate - Co A transferase (EC 2.8.3.8) . ويتحول هذا اللاكتويل كوانزيم A إلى acryloyl - Co A بملامسة إنزيم Lactoyl - Co A dehydratase (EC 4.2.1.54) ومنه يتكون propionyl - Co A بتأثير إنزيم acyl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.3) .

وبإعادة Co A إلى الأسيتات فى وجود propionyl - Co A transferase (EC 2.8.3.1) تتكون البروبيونات كناتج نهائى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣.٩ تخمرات بكتريا الكلوستيريديم المحلله للسكريات

Saccharolytic Clostridia

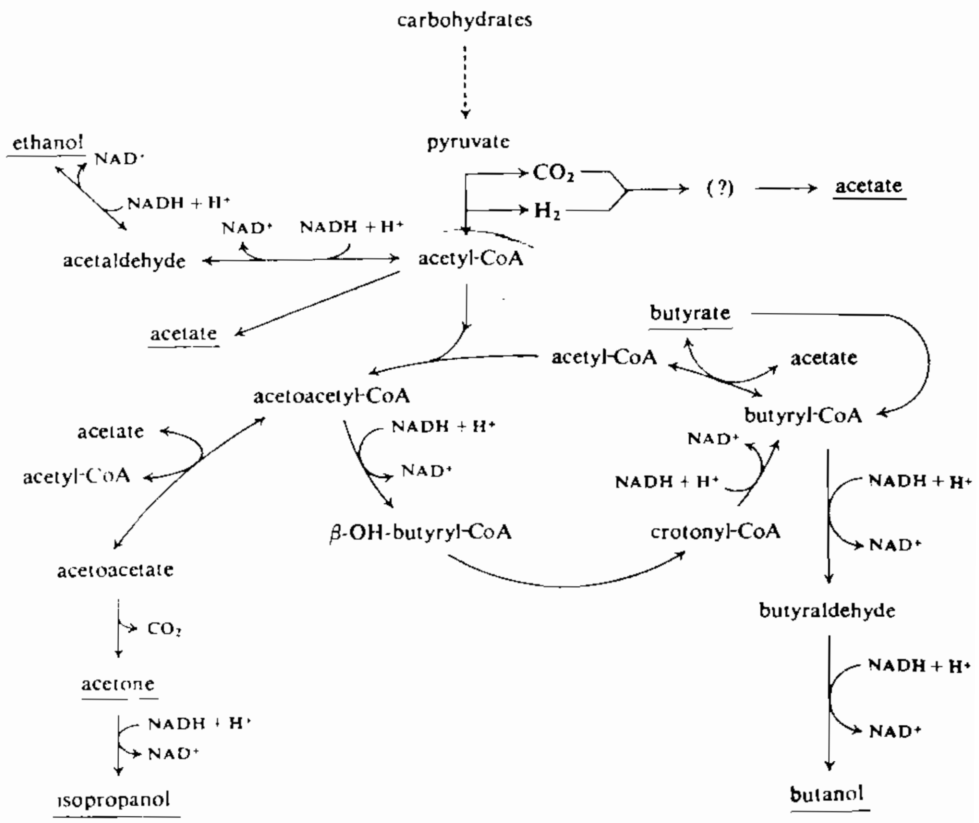
يقوم عدد كبير من البكـتريا التابعة لجنس *Clostridium* بعملية تخمر الكربوهيدرات منتجة أحماض (الأسـيتات، البيوترات، اللاكتات) وكحولات (الآيـزوبروبانول، الإيثانول، البيوتانول) وكيتونات (الأسيتون) وغازات (ك أ٢ ، يد ٢) كنواتج نهائية وذلك حسب مصدر ونوع الكائن .

جدول (٩-١) : حصر لميكروبات Clostridia طبقاً لخواص التخمر من مواد داخلة ونواتج نهائية

Clostridium species	Substrates	Fermentation products
(1) *Butyric acid formation*		
C. butyricum	glucose, starch, dextrin	butyrate, acetate, CO_2, H_2
C. tyrobutyricum	glucose or lactate, glycerol + acetate	butyrate, acetate, CO_2, H_2
C. pasteurianum	glucose, starch, mannose, inulin	butyrate, acetate, CO_2
C. pectinovorum	pectin, starch, glycogen, dextrin	butyrate, acetate
(2) *Butanol formation*		
C. butylicum	glucose	butyrate, acetate, butanol, 2-propanol, CO_2, H_2
C. acetobutylicum	glucose, glycerol, pyruvate	butyrate, acetate, butanol, acetone, acetoin, ethanol, CO_2, H_2
(3) *Propionic acid formation*		
C. propionicum	alanine, threonine	acetate, propionate, CO_2
(4) *Caproic acid formation*		
C. kluyveri	ethanol + acetate + CO_2	caproate, butyrate, H_2
(5) *Stickland reaction*		
C. botulinum		
C. histolyticum	proteins, amino acids	acetate, lactate NH_3, H_2
C. sporogenes		
C. sticklandii		
(6) *Presence of special metabolic pathways*		
C. aceticum	(CO_2 + H_2), fructose	acetate
C. tetanomorphum	glutamate, histidine	butyrate, acetate, NH_3, CO_2, H_2
C. acidi-urici	urea, xanthine	acetate, formate, CO_2, NH_3

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويمكن تلخيص التفاعلات المختلفة لتخمـر الجلوكوز بواسطة الميكروبات التابعة لمجموعه Saccharolytic clestridia كما بالرسم (٩-٤) .



شكل (٩ . ٤) : تكوين الأسيتات ، الأسيتون ، والبيوترات ، البيوتانول والإيثانول بواسطة Sacchorolytic clostridia نقلاً عن Doelle, 1975

ويتبع جنس *Clostridium* تقسيمـيًا عائلة Bacillaceae وهى كائنات مـوجبة لجرام والخلايا الخضريـة عصوية الشكل وهى مـتجرثمة بجراثيـم طرفية أو وسطية تسـبب انتفاخ الخليـة والجراثيم مقـاومة للحرارة وهـى متحركة بـفلاجيلات عديـدة وهى تنمو فـقط تحت الظروف اللاهوائية متراوحة بـين اللاهوائية الحتمية ، microaerotolerant ولا تحتوى على مشتـقات الهيم (سـيتوكروم ، كتـاليز) وأغلـبها ميزوفـيليه (الحرارة المـثلى ٣٠ - ٤٠ °م)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وبعضها ثـرموفيليه (حتى ٧٠ ْم) وتنمو فى pH متعادل أو قلوى وتثبط بـالحموضة العالية كما فى السيلاج والسلامى .

١.٣.٩ تكوين الأسيتات

أول خطوة هو تحويل البيروفـات إلى أسيتيل كوانزيم A ولقد سبـق شرح ذلك تحت الظروف الهـوائية حيث يحـتاج لإنزيم (Pyruvate dehydregenase (EC 1.2.4.1 مع Lipoate ، الثيمين بيروفوسفات (TPP) . ولكن تحت الـظروف اللاهوائية توجد ٣ تقنيات لذلك :

١ - بيروفات ⟵ آسيـتيل كوانزيم A أو آسيتيل فوسفات مع تكوين ك أ٢ ، يد ٢ وعدم استخدام الفورمات كمركب وسطى .

٢ - بيروفات ⟵ أسيتيل كوانزيم A أو أسيتيل فوسفات مع تكوين الفورمات التى تتحول إلى ك أ٢ ، يد ٢ بملامسة إنزيم formate : H_2 lyase .

٣ - البيروفات ⟵ أسيتالدهيد ، ك أ٢ مباشرة .

ويلاحـظ أن نظام (٣) هـو السائد فى الخـمائر والنبـاتات الراقية أمـا نظام (١) فيـميز clostridia بينما نظام (٢) فيميز Entercbacteraceae . كما أن نظام (١) ، (٢) يحتاجان Co A ، TPP .

وحيث أنه فى Enterobacteria تدخل الطاقـة المخزنة فى رابطة الثيـول آستر لمركب أسيتيل كوانزيم A (CH_3 - CO~SCo A) إلى حيز الاستخدام بواسطة تفاعلين :

reaction (1): acetyl Co A + Pi ⟶ Co A + acetyl phosphate

reaction (2): acetyl phosphate + ADP ⟶ acetate + ATP

ويلامس التفاعل الأول إنزيم (phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8 بينما يلامس التفاعـل الثانى إنزيم (acetate kinase (EC 2.7.2.1 والناتج هو الأسيتات فإنه يتضح أن كـل ١ مول أسيتات متكـون يقابله تخـليق ١ مول ATP . وهذا النظـام الأيضى يعتبر طريـقه مبـسطة لتحلل البيروفات إلى الأسيتات مع إنتاج ٢ مـول أسيتات من ١ مـول جلوكوز .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

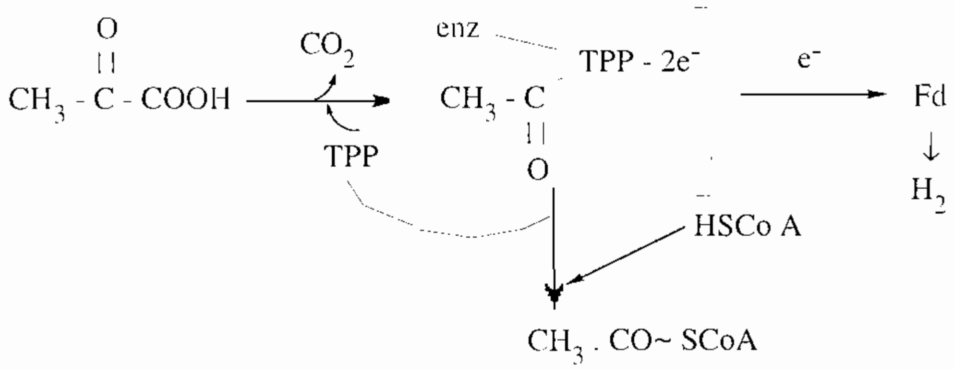
إلا أن Barker, 1956 وجد أن *Cl. thermoaceticum* يكون ٣ مول أسيتات من ١ مول جلوكوز وقد اقترح نظامًا أكثر تعقيدًا وهو اختزال جزئ ك أ٢ بأسلوب معين للحصول على مول أسيتات آخر. ولإجراء هذا الاختزال لابد من وجود مستقبل أيدروجين. وكان معروفًا لبعض الوقت أن تحلل البيروفات فى Clostridia إلى أسيتيل كوانزيم A يتضمن أنطلاق ك أ٢ ، يد٢ فقط إلا أن Wood سنة ١٩٦١ افترض أن الفورمات لابد أن تكون المركب الوسطى فى Clostridia كما هو الحال بالفعل فى Enterobacteria وهى تتحلل فى وجود انزيم formic hydrogenlase فى خطوتين :

$$HCOOH + A \longrightarrow H_2A + CO_2$$

$$H_2A \longrightarrow A + H_2$$

والمركب A (H-accepter) معروف بأنه فيردوكسن (Fd) والإنزيمات المشاركة هى Formale dehydrogenase (EC 1.2.2.1) ، Formale hydrogenlase (EC 1.12.7.1) على الترتيب . ولكن نظراً لأنه لم يثبت بعد وجود الفورمات فى Clostridia فقد حاول Valentine سنة ١٩٦٤ حل هذه المشكلة بعدم اعتبار الفورمات كمركب وسطى وافترض تفاعل خاص بهذه الميكروبات سمى :

"Clostridal type of pyruvate decarboxylation " حيث يقوم إنزيم Pyruvate synthase (EC 1.2.7.1) أو إنزيم pyruvate dehydrogenase. (EC 1.2.2.2) بنزع ك أ٢ من البيروفات وتكوين معقد من الثيمين بيروفوسفات والأسيتيل والانزيم كما بالرسم ومنه ينتقل الألكترون إلى Fd .



شكل (٩ . ٥) : عملية نزع ك أ٢ من البيروفات من النوع Clostridial Type

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

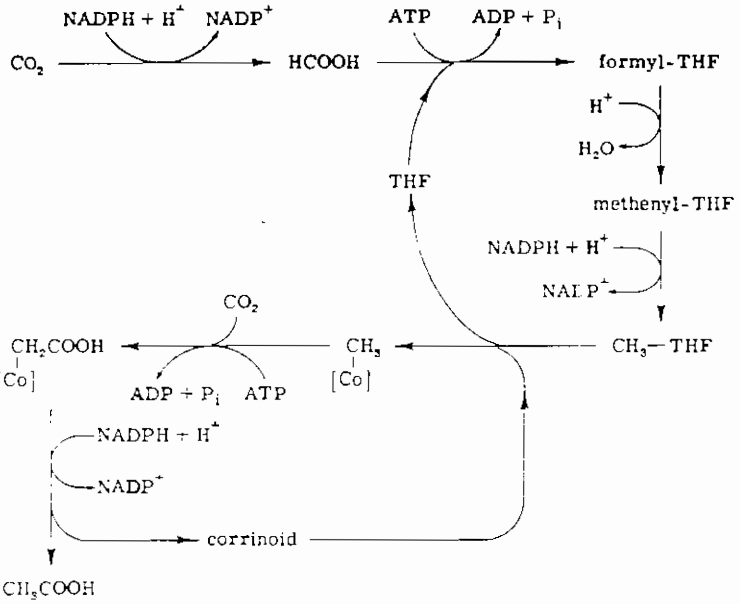
ويعاد أكسدة الفيرودكسين المختزل بواسطة Fd-hydrogenase (EC 1.12.7.1) ويتكون جزئ H_2 أما معقد (الإنزيم – TPP – الأسيتيل) فيُهاجم بواسطة phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) فى وجود Co A ويتكون أسيتيل كوانزيم A . وهذا الاحتياج لـ Co A صفة مميزة لتحول أو نزع ك أ٢ من البيروفات فى Clostridia بعكس نظام formate - pyruvate فى Enterobacteria حيث لا يوجد مثل هذا الاحتياج لـ Co A . وثبت أن Co A يلعب دورًا تنظيميًا فى تثبيط تحول البيروفات فعلاً فى Clostridia .

وتوجد ميكانيكيتين لتحول ك أ٢ إلى جزئ أسيتات ثالث :

١ - التحول المباشر من ك أ٢ إلى الأسيتات .

٢ - التحول الغير مباشر من ك أ٢ إلى الأسيتات عبر ∝ ketovalerates .

الطريق المباشر : أول خطوة هى تكوين الفورمات من ك أ٢ وذلك بملامسة formate dehydrogenase المرتبط بـ $NADPH_2$ والمعزول من *Cl. thermoaceticum* وبرغم أن هذا الاختزال يميل بقوة اتجاه ك أ٢ ، ولذا الفيرودكسين يبدو ضروريًا لدفع التفاعل تجاه البيروفات التى تخدم فى هذه الحالة كمعطى للالكترون لاختزال ك أ٢ .



شكل (٩ . ٥) a : التحول المباشر لـ ك أ٢ إلى أسيتات بواسطة Clostridia

نقلاً عن (Poston et al, 1966)

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

واختزال الفورمات إلى مجموعة الميثل للأسيتات يتم بتأثير عدة إنزيمات أولها (THF) tetrahydrofolate synthetase (EC 6.3.4.3) حيث يتكون فورميل تتراهيدروفوليات

$$THF + HCOOH + ATP \rightleftharpoons formyl - THF + ADP + Pi$$

الذى يختزل إلى ميثنيل تتراهيدروفوليات بملامسة إنزيم methenyl tetrahydrofolate cyclohydrolase (EC 2.5.4.9) وهو حساس جدًا لـ PH حيث يفضل الظروف الحامضية .

$$Formyl - THF + H^{+} \rightleftharpoons N^{5}, N^{10} - methenyl\ THF$$

وفى وجود إنزيم methylene tetrahydrofolate dehydrogenase (EC 1.5.1.5) تختزل مجموعة - methenyl إلى - methylene .

$$N^{5}, N^{10} - methenyl\ THF + NADH.H^{+} \longrightarrow N^{5}, N^{10} - methylene\ THF + NAD^{+}$$

وتختزل مجموعة methylene إلى مجموعة methyl فى وجود - $NADPH_2$ dehydrogenase مكونًا ميثيل تتراهيدرو فولات .

$$N^{5}, N^{10} - methylene\ THF + NADPH.H^{+} \longrightarrow N^{5} - methyl - THF + NADP^{+}$$

وابتداء من هذا المستوى تعتمد الدورة على وجود أو غياب Corrinoids فى الكائن. ففى غيابه تستمر الدورة بإدخال الجليسين عبر السيرين والبيروفات إلى الأسيتات أما فى وجود corrinoids كما فى ميكروب *Cl. thermoaceticum* تنتقل مجموعة الميثيل إلى reduced corrinoid مكونًا معقد بروتينى methyl corrinoid وينفصل THF .

$$N^{5} - methyl - THF + Corrinoid - E \longrightarrow \underset{\underset{(CO)}{|}}{CH_3} + THF$$

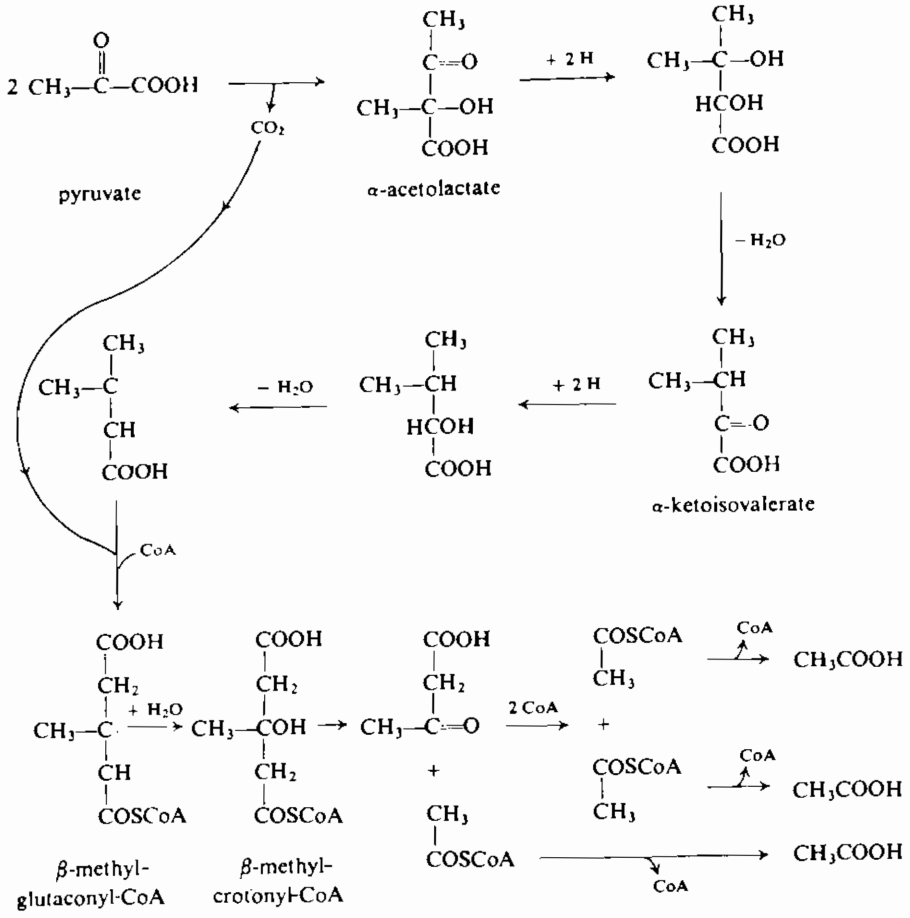
methyl - corrinoid complex

وهذا المعقد يتحد مع ك أ، من البيروفات (عملية Transcarboxylation) مكونًا

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Carboxymethyl corrinoid الذى ينشق فى وجود $NADPH.H^{+}$ مكونًا الأسيتات ، Corrinoid المختزل الذى يعاد استخدامه مرة أخرى .

الطريق الغير مباشر : يتحول البيروفات إلى ∝ - اسيتو لاكتات (بالتكثيف وبنزع ك أ٢) كما بالرسم والذى يتحول إلى المركب الكيتونى ∝ - ketoisovalerate (المركب الوسطى key فى السلسلة) والذى يتحول بتثبيت ك أ٢ فى وجود كوانزيم A إلى β - methyl - glutaconyl - Co A والذى ينشق إلى أوكسال أسيتات وأسيتيل كوانزيم A ثم إلى الأسيتات كما بالرسم التالى :



شكل (٩ . ٦) : التحول الغير مباشر (ك أ٢ إلى الأسيتات)

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويتضح من الرسم كيفية تكوين ٣ مول أسيتات لكل مول من الجلوكوز (= ٢ بيروفات) هذا فى حالة عدم تكون الفورمات فى تحولات الجلوكوز بواسطة *Cl. thermoaceticum* .

أمـا ميكـــــروب *Cl. kluyveri* فإنه يمتـلك إنزيم Formyl - Co A hydrolase (EC 3.1.2.10) كجزء من (EC 2.3.1.8) Phosphate acetyl transferase ولهذا يبدو الميكروب قادراً على تكوين الأسيتات بالأسلوب التالى (يشبه Enterobacterial type) .

$$\text{acetyl phosphate} + \text{Co ASH} \xrightleftharpoons{\text{EC 2.3.1.8}} \text{acetyl - Co A} + \text{Pi}$$

$$\text{acetyl - Co A} + \text{HCOOH} \xrightleftharpoons{\text{Co A - transferase}} \text{formyl - Co A} + \text{acetate}$$

$$\text{formyl - Co A} + H_2O \xrightleftharpoons{\text{EC 3.1.2.10}} \text{formate} + \text{Co ASH}$$

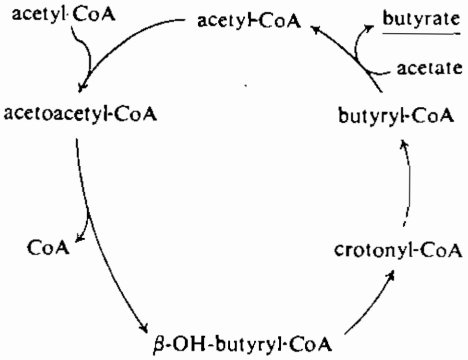
$$\text{acetyl phosphate} + H_2O \rightleftharpoons \text{acetate} + \text{Pi} \quad \text{المحصلة}$$

وهذه الفـروق فى طرق التحول الأيـضى هامة جداً فى تـقسيم البكـتريا التابعـة لجنس *Clostredium* .

٢.٣.٩ تكوين البيوترات Butyrate

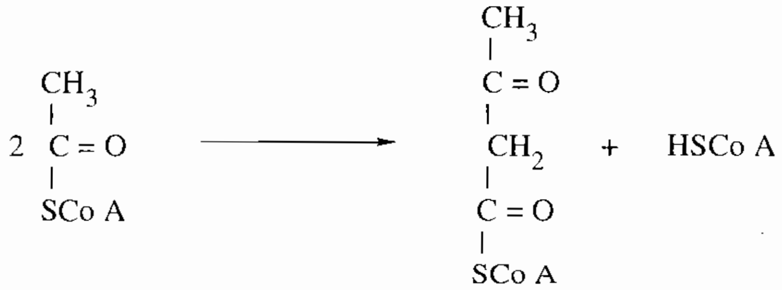
تستطيع بكتريا Soccharolytic clostridia تخمير الجلوكوز إلى حـمض البيوتيريك ويعتبر المركب الوسطى (أسيتيل كوانزيم A) نقطة البداية، لأنه لو نـظرنا من زاوية تكوين الطاقة فإن تكـوين الأسيتات كناتج نهائى وحـيد ليس مقنعًا أو كافيا لصـعوبة إعادة آكسدة $NADH.H^+$ إذا انخفض pH وأصبح الـوسط حامضيا . ولـهذا ليس غريـبًا آن نجد فى Clostridia ميكانيكية حلـقية مشابهة لما فى propionibacteria . وهذه الميكانـيكية تؤدى لتكوين حمـض البيوتيريك - الأقل حموضة بـكثير عن الأسيتات - كناتج نـهائى كما هو موضح بالرسم التالى .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



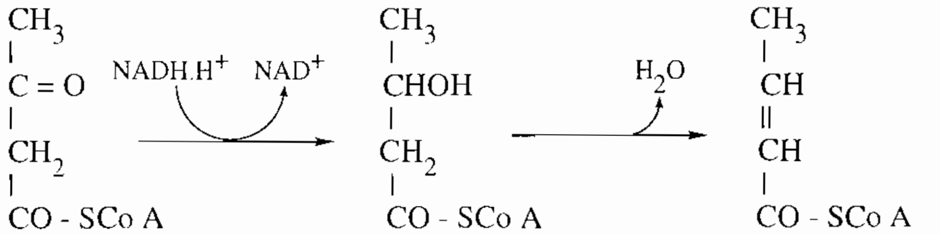
شكل (٩.٧) : تكوين حمض البيوتيريك من أسيتيل كوانزيم A بواسطة Clostridia

حيث يتكثف جزيئين أسيتيل كوانزيم A لتكوين الأسيتو أسيتيل كوانزيم A في وجود إنزيم acetyl Co A : acety transferase أو حديثًا Thiolase (EC 2.3.1.9) ويتحرر جزئ Co A .



acetyl - Co A acete acetyl - Co A

والخطوة التالية هى اختزال أسيتو أسيتيل كوانزيم A إلى بيتا - هيدروكسى بيوتيريل كوانزيم A مع أكسدة $NADH.H^+$ إلى NAD^+ . وتلامس هذا التفاعل إنزيم β-hydroxy butyryl - Co A dehydrogenase (EC 1.1.1.30) ويعقب ذلك خروج

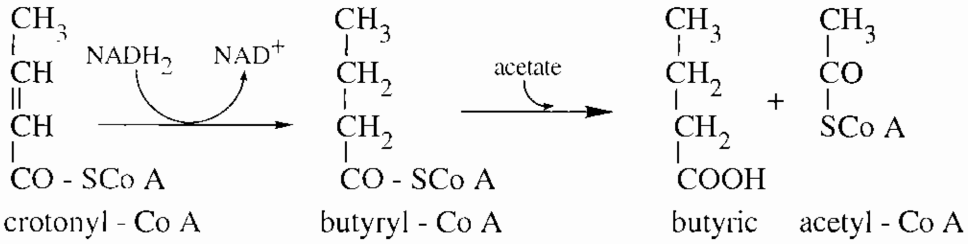


acetoacetyl - Co A β. hydroxybutyryl-Co A Crotonyl - Co A

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

جـــزئ مـــــاء dehydration ويتـكون Crotonyl-Co A وذلك بملامـــسة إنزيـــم enoyl - Co A hydratase أو حديثًا Crotonase (EC 4.2.1.17) .

والخطـوة الأخيـرة هى خـطوة اخـتزال ثـانيـة فى وجـود إنزيم butyryl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.2) حيـث يتكـون البيوتـيريل كـوانزيم A ويتأكسد $NADH.H^+$ إلى NAD^+ ثم تحدث عملية نقل Co A إلى الأسيتات بملامسة butyryl - Co A synthetase (EC 6.2.1.2) ويتكون البيوتيـريك وأسيتيل كوانزيم A الذى يعاود

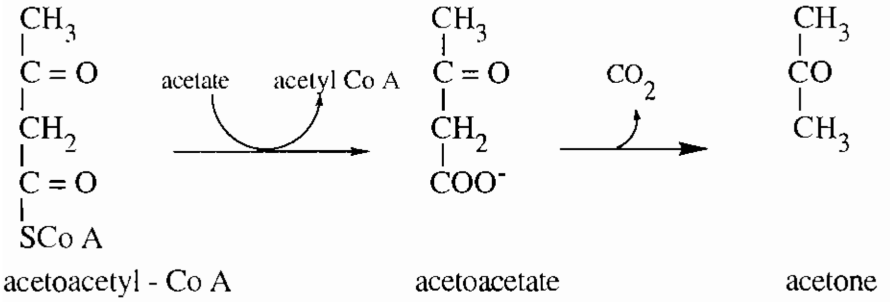


الدخـول فى الدورة مرة أخـرى أو يستعـمل لتكـوين ATP بواسطة phosphate acetyl transferase ، acetate kinase كما سبق شرحه فى تكوين الأسيتات .

٣.٣.٩ تكوين الأسيتون ، الأيزوبروبانول ، البيوتانول ، الإيثانول

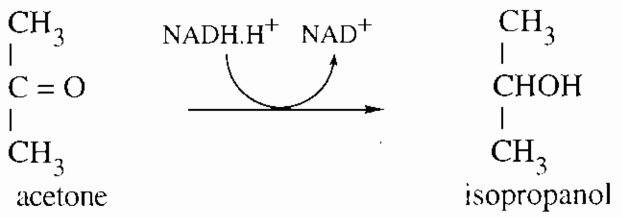
يستـطيع العـديد من Saccharolytic clostridia التـى تخمر الـكربوهيـدرات إلى البيوتيريك أن تغيـر نظامها إلى انتاج الأسيتون أو حول البيوتيريك المـتكون إلى البيوتانول وذلك فى حالة انخفاض pH البيئة عن ٤ بسبب حموضة البيوبريك .

فميكروب *Cl. acetobutylicum* يقوم بتحويل الأسيـتو أسيتيل كوانزيم A إلى آسيتو أسيتات بواسطة Co A - transferase ثم بواسطة إنزيم acetoacetate decarboxylase (EC 4.1.1.4) يتكون الأسيتون .



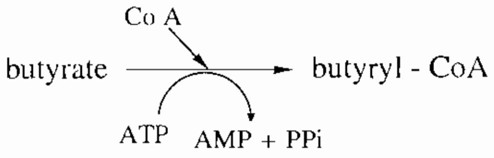
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويستطيع ميكروب *Cl. butylicum* فقط مواصلة اختزال الأسيتون بواسطة إنزيم isopropanol dehydrogenase (EC 1.1.1.80) إلى الأيزوبروبانول ولكنه لا يستطيع تكوين الميثانول .

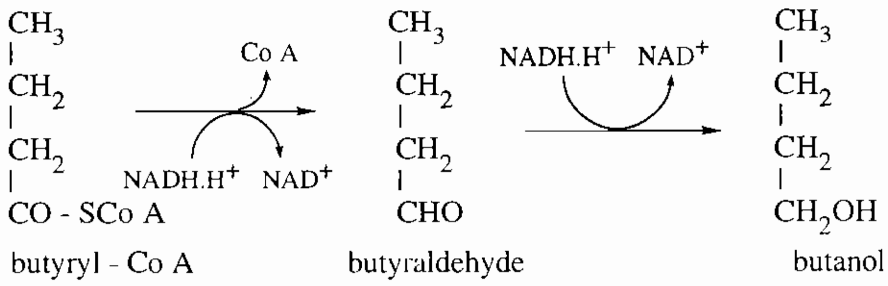


أما اختزال البيوتيريك إلى البيوتانول فيتم فى ثلاث خطوات :

الخطوة الأولى : هى تحويله مرة أخرى إلى butyryl - Co A فى وجود Co A transferase (تفاعل عكسى) أو بطريق آخر فى وجود ATP ، Co A .



الخطوة الثانية : اختزال البيوتيريل كوانزيم A إلى بيوتيرالدهيد ويلامس التفاعل إنزيم butyraldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) وينفرد Co A .

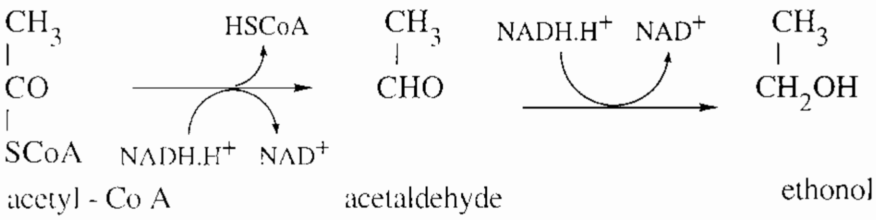


الخطوة الثالثة هى اختزال الألدهيد إلى البيوتانول فى وجود alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) .

بالنسبة لتكوين الإيثانول بواسطة *Cl. acetobutylicum* يختلف عن طريقة تكوينه بواسطة الخمائر وتتفرع سلسلة انتاجه من الأسيتيل كوانزيم A بواسطة aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) السابق ذكره فى اختزال البيوتيريل إلى البيوتيرالدهيد –

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

حيث يتكون الأسيتالدهيد ثم بواسطة alcohol dehydrogenase الذى يختزل الأسيتالدهيد إلى الإيثانول .



٤.٣.٩ تكوين اللاكتات

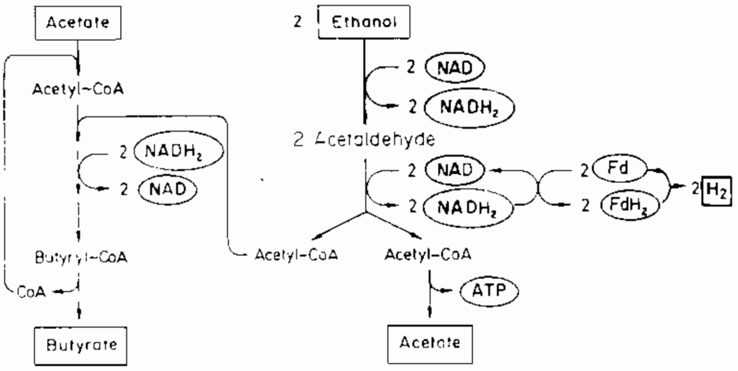
يستطيـع بعض أنواع Saccharolytic clostridia مثل *C. perfringens* ، وبعض البكتريا المنتجة لـلبيوتيريك مثل *Butyribacterium* sp. اختزال البيروفـات إلى اللاكتيك حيث تمتلك إنزيم lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) ويلاحظ هذا الاختزال فقط عند تنمية البكتريا فى وسط غذائى به نقص فى عنصر حديد .

$$CH_3.\ CO.\ COOH \xrightarrow{2H^+} CH_3.\ CHOH.\ COOH$$

بيروفات   لاكتات

٥.٣.٩ تكوين البيوتيريك من الإيثانول والأسيتات

يستطيع ميكروب *Cl. kluyveri* النمو على بيئة إيثانول - أسـيتات منتجا البيوترات . حيث يتأكسد الإيـثانول إلى الأسيتالدهيد ثم إلى أسـيتيل كوانزيم A ويتكون القوة المختزلة $NADH.H^+$ كما بالرسم .

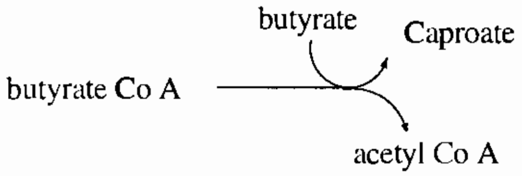


شكل (٨.٩) : تكوين البيوترات أثناء تخمر الإيثانول والأسيتات بواسطة *Cl. kluyveri*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وإذا أضيفت الفوسفات إلى البيئة يلاحظ تكون أسيتيل فوسفات (الذى يستغل فى تكوين ATP) والناتج النهائى هو الأسيتات أما Co A المنطلق يعاد استخدامه فى أكسدة الألدهيد .

- أما فى حالة عدم إضافة فوسفات فإن أسيتيل كوانزيم A يرتبط بدورة إنتاج البيوتيريك حيث يتكون أسيتو أسيتيل كوانزيم A ثم هيدروكسى بيوتيريل كوانزيم A ثم البيوتيريل كوانزيم A .
- فى حالة زيادة الإيثانول فى البيئة فإن الميكروب السابق ينتج carproate بدلاً من البيوتيرات كناتج رئيسى للتخمر حيث تحل البيوترات محل الأسيتات فى التفاعل الأخير (transferase reaction) وتكون Caproate وأسيتيل كوانزيم A .



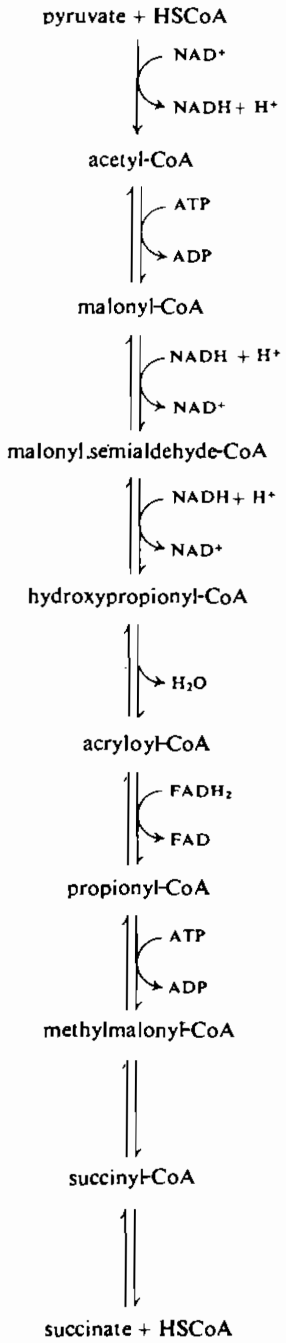
٦.٣.٩ تكوين السكسينات

يقوم ميكروب *Cl. kluyveri* بدوره تخمر أخرى منتجا السكسينات كناتج نهائى أساسى ويوضح الرسم التالى كيفية التفاعل كما هو مبين فى شكل (٩-٩) .

ولقد شُرح سابقًا تكوين أسيتيل كوانزيم A من البيروفات. ثم يقوم إنزيم acetyl - Co A carboxylase (EC 6.4.1.2) بإدخال ك أ٢ ، يد ٢ أ إلى الأسيتيل كوانزيم A مكون مالونيل كوانزيم A وهذا التفاعل يعتمد على وجود ATP ويحتاج البيوتين ، Mn^{++} مثل كل تفاعلات تثبيت ك أ٢ .

$$\underset{\text{acetyl Co A}}{\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ SCoA \end{array}} + CO_2 + H_2O + ATP \longrightarrow \underset{\text{matonyl Co A}}{\begin{array}{l} COOH \\ | \\ CH_2 \\ | \\ C=O \\ | \\ SCo\ A \end{array}} + ADP + Pi$$

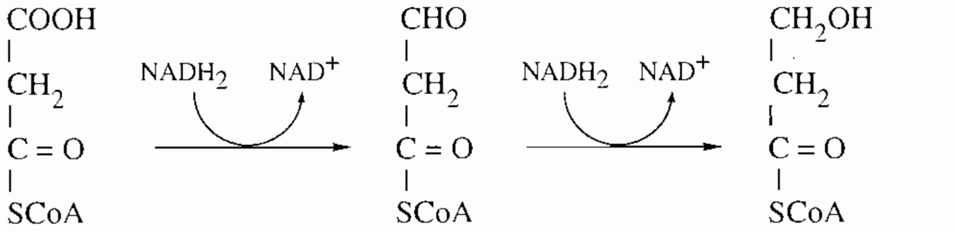
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٩.٩) : تكوين السكسينات من البيروفات بواسطة *Cl. kluyveri* .

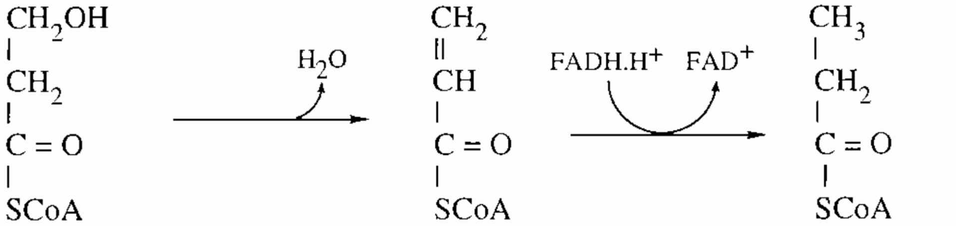
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ثم يقوم malonyl semialdehyde DH (EC 1.2.1.15) باختزال مالونيل كوانزيم A إلى مالونيل سمى الدهيد كوانزيم A ويلى ذلك خطوة اختزال ثانية مباشرة فى وجود إنزيم hydroxy propionate DH (EC 1.1.1.59) ويتكون هيدروكسى بروبيونيل كوانزيم A .



malonyl Co A — malonyl semialdehyde Co A — hydroxy - propionyl- Co A

وبعملية نزع جزئ ماء فى وجود إنزيم enoly - Co A hydratase (Ec 4.2.1.17) يتكون acryloy Co A والذى يختزل فى وجود $FADH.H^+$ (كمعطى للأيدروجين) إلى بروبيونيل كوازيم A .



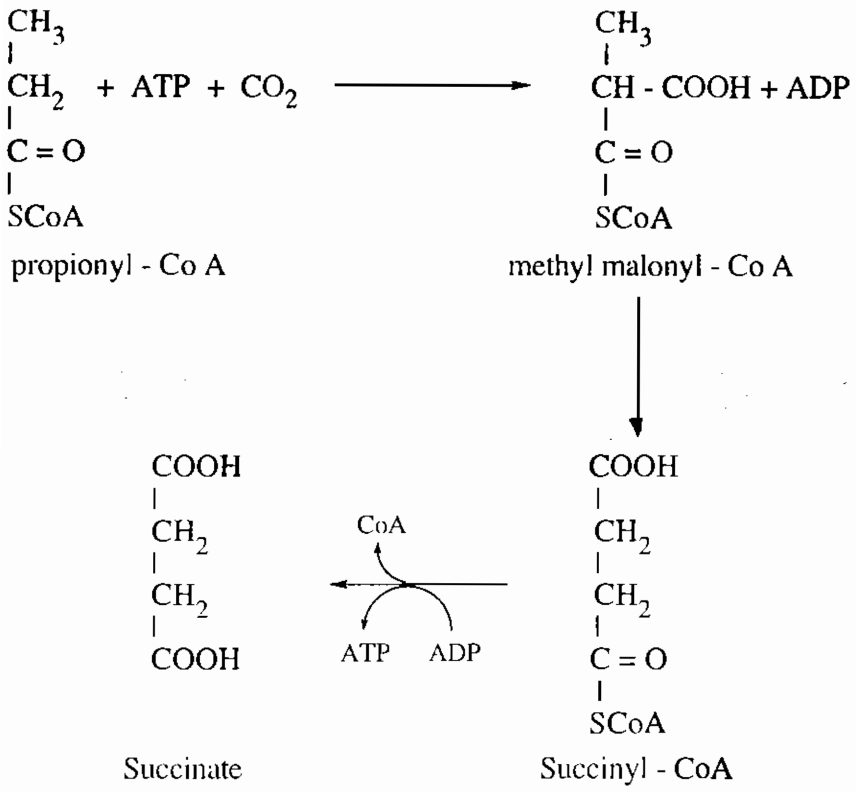
hydroxy - propionyl- Co A — acryloyl- Co A — propionyl- Co A

ثم يتم تثبيت جزئ ك أ٢ الثانى فى وجود البيوتين ، Mn^{++} ، ATP بملامسة إنزيم propionyl - Co A carboxylase (EC 6.4.1.3) وينتج ميثيل مالونيل كوانزيم A والذى يتحول بدوره إلى سكسنيل كوازيم A فى وجود إنزيم methyl malonyl - Co A mutase (EC 5.4.99.2) . (كما يتضح فى المعادلات التالية) .

وبخروج Co A وتكون ATP فى وجود إنزيم Succinyl - Co A Synthetase (EC 6.2.1.5) يتكون السكسينات (الناتج النهائى) .

ومما يجدر ملاحظته أن أغلب أنواع البكتريا الأخرى التى تنتج السكسينات من البيروفات تقوم بذلك عبر دورة glyoxylate .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



٤.٩ تخمرات Enterobacteriaceae

الميكروبات التابعة لهذه العائلة عصويات قصيرة غير متجرثمة سالبة لجرام متحركة بفلاجيلات منتشرة على سطح الخلية هوائية اختيارية تمتلك الهيمين (السيتوكروم والكتاليز) وتحصل على طاقتها أما هوائيًا بالتنفس أو لا هوائيًا بالتخمر. وتعيش عادة فى المعدة والأمعاء intestinal tract. وهى تخمر الجلوكوز مكونة أحماضًا وأحيانا غازات ولها أهمية فى التطبيقات الصحية والبيئية مثل تلوث مياه الشرب وتسبب بعض الأمراض مثل العفن الطرى للبطاطس والتسمم الغذائى بالسالمونيلا ويمكن تقسيم الميكروبات التابعة لها إلى ٣ مجاميع كبيرة :

١ - المنتجة للأحماض mixed acid preducer ويمثلها *E. coli* (MR +. VP -) .

٢ - المنتجة للبيوتانديول butanediol ويمثلها *Aerobacter aerogenes* (MR - . VP +) .

٣ - المنتجة للجليكول ثلاثى الميثيلين ويمثلها *Citrobacter freundii* .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

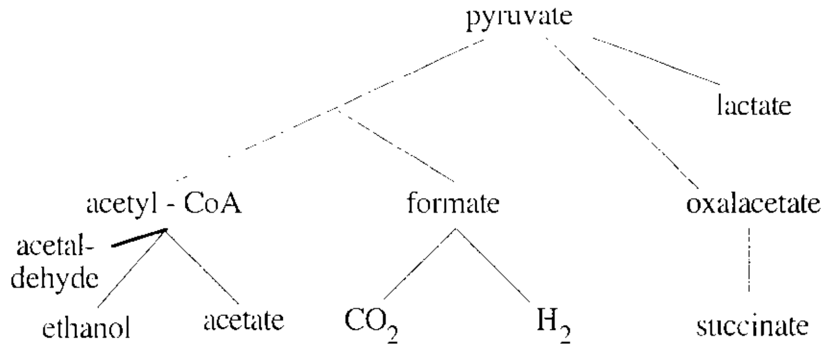
جدول (٩ - ٢) : الفـرق فـي التركيب النوعي والكمي للنواتج المتكـونة بواسطة المجموعتين المنتجة للاحماض والمنتجة للبيوتاندول .

Products		mol / 100 mol glucose *E. coli*	*A. aerogenes*
2.3 Butandiol	CH_3 - CHOH - CHOH - CH_3	0	66.5
Ethanol	CH_3 - CH_2OH	42	70
Succinate	COOH - CH_2 - CH_2 - COOH	29	0
Lactate	CH_3 - CHOH - COOH	84	3
Formate	H - COOH	2	18
Hydrogen	H_2	43	36

وهدم الكربوهيدرات يتم غالبًا بواسطـة دورة الفركتوز ثنائي الفوسفات (EMP) وآحيانًا بواسطة دورة البنـتوز فوسفات (HMP) وثبت أن الميـكروبات التابعـة لهذه العائلـة تمتلك الإنزيمات الخاصة بهاتين الدورتين ولكن بدرجات متفاوتة مما يؤدى إلى الاختلاف الحادث في أنظمة التخمر التى تقوم بها وبالتالى اختلاف النواتج النهائية الناتجة عنها .

١.٤.٩ الميكروبات المنتجة لخليط الاحماض

تستطيع هدم البيروفات كما يلى إلى العديد من النواتج النهائية كما يلى :



وإذا سار النظام بمعـدله العادى فإنه يمكن وضع المعـادلتين الآتيتين للميكـروبات المنتجة لخليط الاحماض .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

1 - moles (ethanol + acetate) = moles (H_2 + formate)

2 - moles H_2 = moles (CO_2 + succinate)

ويمكن تفسير ذلك كالتالى :

١ مول بيروفات ⟵ ١ مول أسيتيل كوانزيم A + ١ مول فورمات

أى أن :

١ - مولات البيروفات = مولات أسيتيل كوانزيم A = مولات الفورمات .

وحيث أن أسيتيل كوانزيم A يتحول إلى إيثانول ، الأسيتات أو كليهما فيكون :

٢ - مولات البيروفات = مولات الإيثانول + مولات الآسيتات

من المعادلتين (١) ، (٢) يكون .

٣ - مولات الفورمات = مولات (الأسيتات + الإيثانول)

وبما أن الفورمات ينقسم إلى H_2 ، CO_2 فيكون :

٤ - مولات H_2 = مولات CO_2 = مولات الفورمات المتحللة

وحيث أن كل الفورمات لا تتحلل فيكون :

مولات الفورمات الكلية = مولات الفورمات المتحللة + مولات الفورمات الباقية

وبوضع معادلة (٤) فى الاعتبار .

٥ - مولات الفورمات الكلية = مولات H_2 + مولات الفورمات الباقية

وبتعويض المعادلتين (٣) ، (٥) يكون الصورة النهائية :

مولات (الإيثانول + الأسيتات) = مولات (الفورمات + H_2)

أما إذا أخذ ك أ٢ فى الاعتبار فيحتمل أن بعض ك أ٢ (الذى أشتق من الفورمات) أنه يستهلك فى إنتاج السكسينات بمعدل ١ مول ك أ٢ لكل ١ مول سكسينات .

∴ مولات ك أ٢ من الفورمات = مولات ك أ٢ المستهلك فى السكسينات + مولات ك أ٢ الباقى

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وحيث أنه من معادلة (٤) :

مولات ك أ٢ من الفورمات = مولات H_2 من الفورمات

فيكون :

مولات H_2 = مولات (ك أ٢ + السكسينات)

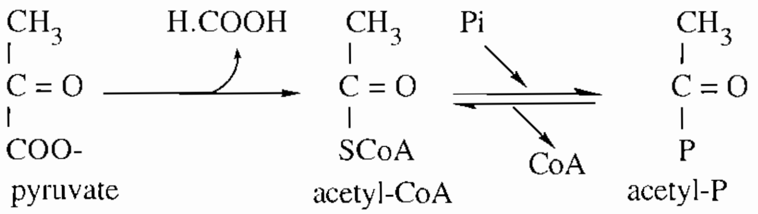
١.١.٤.٩ تكوين الاسيتالدهيد

يمكن في وجود إنزيم pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) تحويل البيروفات إلى الأسيتالدهيد + ك أ٢ وهذا التفاعل يحتاج Mn^{2+} ، TPP كمرافقات إنزيمية .

$$CH_3 - CO - COOH \longrightarrow CH_3 - CHO + CO_2$$

وميكانيكية هذا التفاعل يطلق عليها phosphoroclastic split إذا كان الناتج الفورميك أو thioclastic split إذا كان الناتج ك أ٢ + يد ٢ .

وفي كلا الحالتين فهما وجهان لعملة واحدة synonymous والمركبان الوسطيان acetyl - CoA ، acetyl phosphate في حالة توازن بواسطة phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) .



ولقد عُزل الإنزيم السابق وحددت صفاته وثبت أنه :

allosteric enzyme يُنشَّط بواسطة البيروفات ويُثبَّط بـواسطة $NADH.H^+$ ويتأثر أكثر بوجود ATP ويتحكـم في تكوين أسيتـيل كوانزيم A وبالتالي فـي استخدام دورة TCA بالكامل .

أما تكوين الأسيتالدهيد من اسيتيل كوانزيم A فيحتاج إلى المرافق الإنزيمي NAD^+ في وجود aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.10) .

$$CH_3\text{-}CO\text{-}SCoA + NADH.H^+ \longrightarrow CH_3\text{-}CHO + HSCoA + NAD^+$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وليست هذه الطريقة الوحيدة التي يتكون الأسيتالدهيد بها بواسطة Enterobacteriaceae حيث يمكن تكوينه من الأسيتات بواسطة aldehyde DH آخر (EC 1.2.1.3) وهو إنزيم عالي التخصص جدا كما أن هناك إمكانية ثالثة في وجود NADP$^+$ linked aldehyde DH (EC 1.2.1.5) .

٢.١.٤.٩ تكوين الإيثانول من الأسيتالدهيد

يتم ذلك في وجود إنزيم alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) الذي يتفاعل عموماً مع الكحولات الأولية والثانوية .

$$\underset{\text{أسيتالدهيد}}{CH_3-CHO} + NADH.H^+ \xrightarrow{Zn^{++}} \underset{\text{إيثانول}}{CH_3-CH_2OH} + NAD^+$$

وأثناء تكوين الإيثانول من البيروفات يعاد تكوين ٢ مول من NADH2 لكل مول إيثانول .

٣.١.٤.٩ تكوين الأسيتات

وذلك إما مباشرة من البيروفات أو بطريق غير مباشر من أسيتيل كوانزيم A عبر ٣ طرق مختلفة .

* **الطريقة المباشرة** بملامسة إنزيم pyruvate oxidase (EC 1.2.3.3) . ويربط الفلافوبروتين الذائب بين FAD ، TPP وينشط بواسطة فوسفو ليبيدات والأحماض الدهنية طويلة السلسلة .

$$CH_3-\underset{\|}{C}(=O)-COOH + E\begin{smallmatrix}/FAD\\ \backslash TPP\end{smallmatrix} \longrightarrow CH_3-COOH + CO_2 + E\begin{smallmatrix}/FADH_2\\ \backslash TPP\end{smallmatrix}$$

* **الطريقة الغير مباشرة :**

أ - بملامسة إنزيم acetyl - CoA hydrolase (EC 3.1.2.1) ولا ينتج عن ذلك طاقة .

$$CH_3-C(=O)-SCoA + H_2O \longrightarrow CH_3-COOH + HSCoA$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ب - بملامسة إنزيم acetyl - CoA synthetase (EC 6.2.1.1) ويكون جزئ ATP ولكن يحتاج هذا التفاعل إلى AMP ، بيروفوسفات .

$$\underset{\text{SCoA}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}=\text{O}}} + \text{AMP} + \text{PPi} \longrightarrow \overset{\text{CH}_3}{\text{COOH}} + \text{ATP} + \text{HSCoA}$$

جـ - وهى أكثر الطرق استخدامًا فى *E. coli* وإنتاجًا للطاقة ويلامسها إنزيم phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8) وكذا إنزيم acetate kinase (EC 2.7.2.1) .

$$\underset{\text{acetyl - CoA}}{\underset{\text{SCoA}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}=\text{O}}}} + \text{Pi} \xrightarrow[\text{EC. 2.3.1.8}]{\text{CoA}} \underset{\text{acetyl phosphate}}{\underset{\text{PO}_4^{=}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{C}=\text{O}}}} \xrightarrow[\text{EC. 2.7.2.1}]{\text{ADP} \to \text{ATP}} \underset{\text{acetate}}{\overset{\text{CH}_3}{\text{COOH}}}$$

٤.١.٤.٩ تكوين ك أ٢ ، يد٢ من الفورمات

يتضمن تكوين ك أ٢ ، يد٢ من الفورمات تفاعلين إنزيمين أحدهما formate DH (EC 1.2.1.2) ذائب والآخر DH (dehydrogenase) مرتبط بالغشاء فى وجود حوامل للالكترون وسطية غير معروفة وليكن X_1 ، X_2 .

$$\text{H.COOH} \xrightarrow{\text{CO}_2} \left[\begin{matrix} X_1 \\ \text{cyt. reductase} \end{matrix}\right] \longrightarrow \left[\begin{matrix} X_2 \\ \text{cyt. C} \end{matrix}\right] \xrightarrow{2\text{H}^+} \text{H}_2$$

وهناك دلائل تشير إلى أن X_2 هو سيتوكروم من النوع C ذو جهد أكسدة واختزال منخفض (Em = - 225 mV) وهذا السيتوكروم يتكون فقط بواسطة بكتريا الكلوليفورم أثناء النمو اللاهوائى. وطبقًا لهذا فإن X_1 يحتمل أن تقوم بوظيفة cyt. C reductase . ولقد بُذلت جهود كثيرة لتحديد الفيرودكسين (Fd) فى الميكروبات اللاهوائية الاختيارية بعد اكتشافه فى Clostridia ولكن كانت النتائج سلبية مما أدى للاعتقاد أن هناك فروق نوعية فى المرافقات المشاركة فى الميكروبات اللاهوائية الحتمية واللاهوائية الاختيارية بالرغم من أن

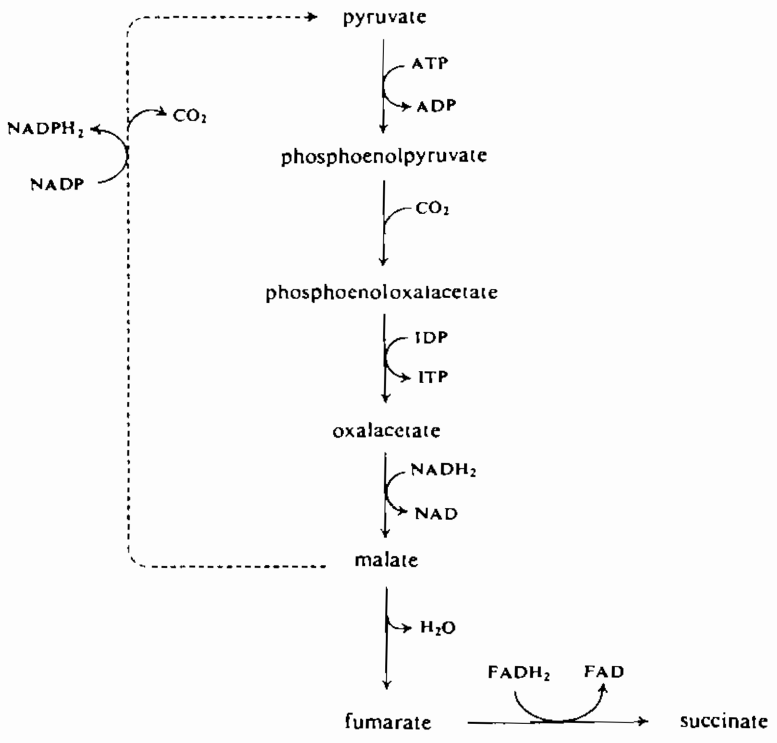
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الجهد المنخفض يشير إلى إمكانية آن يكون Cyt. C ، Fd متطابقان .

وأهمية هذا التفاعل هو هدم الفومارات إلى كميات متساوية من ك أ٢ ، يد ٢ ولكن هناك الكثير من البكتريا ليس لها القدرة على هدم الفورمات وبالتالى يتراكم كناتج نهائى مثل *Salmonella* ، *Shigella* ، *Proteus* ، *Serratia* .

٥.١.٤.٩ تكوين السكسينات

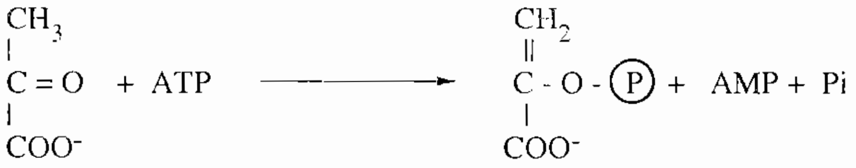
سبق الحديث عن تكوين السكسينات من خلال دورة TCA تحت الظروف الهوائية وأيضًا بواسطة Clostridia تحت الظروف اللاهوائية أما Enterobacteraceae فتستعمل دورة ثالثة تحتوى على بعض إنزيمات TCA كما بالرسم التالى :



شكل (٩ . ١٠) : تكوين السكسينات من البيروفات
بواسطة بكتريا عائلة Enterobaeteraceae مستعملاً دورة TCA العكسية

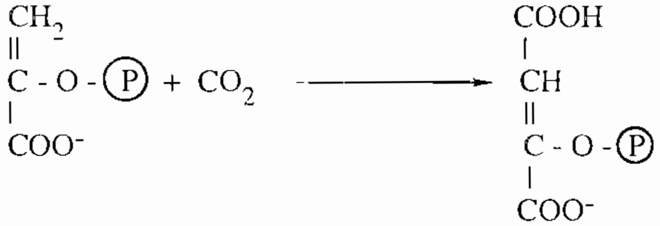
salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

والبداية حدوث عملية فسفرة للبيروفات وتتحول إلى فوسفو إينول بيروفات تحتاج إلى عوامل مسيه Mg^{++} ، K^{+} ، ATP وإنزيم PEP-synthase.



بيروفات فوسفو إينول فوسفات

ثم إدخال جزئ ك أ٢ فى وجود إنزيم PEP - Carboxylase مكونًا فوسفو إينول أوكسال أسيتات .



فوسفو إينول بيروفات فوسفو إينول اوكسال أسيتات

أما الخطوة التالية فهى خطوة إنتاج طاقة حيث تنتقل مجموعة الفوسفات إلى IDP مكونة ITP والأكسال أسيتات ويعتقد أن phosphate transferase يقوم بملامسة التفاعل نظرًا للاحتياج إلى Mg^{++} أما بقية التحولات من أوكسال أسيتات إلى المالات إلى الفيومارات ثم أخيرًا إلى السكسينات فهى تتم فى خطوات مشابه لدورة TCA ولكن بطريقة عكسية .

وميكروبات Enterobacteraceae لها القدرة على قفل الدورة باستخدام malate dehydrogeuase (EC 1.1.1.40) لتكوين البيروفات من المالات . وبذلك يستطيع الكائن تثبيت ك أ٢ من الخطوة السابقة ولكن لا يستطيع إعادة تخليق $NADP^{+}$.

٦.١.٤.٩ تكوين اللاكتات

وذلك بتأثير إنزيم L-lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.27) أو D-lactate DH (EC 1.1.1.28) .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C=O \\ | \\ COO^- \end{array} + NADPH.H^+ \longrightarrow \begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ CHOH \\ | \\ COO^- \end{array} + NAD^+$$

بيروفات   لاكتات

ويلاحظ أن كمية اللاكتات المتكونة تتفاوت حسب الميكروب فمثلاً *Serratia kielensis* تحول نصف البيروفات إلى لاكتات بينما لا تتكون اللاكتات أطلاقًا بواسطة *Aerobacter aerogenes* وكذا تتفاوت كمية اللاكتات حسب ظروف النمو للكائن .

٢.٤.٩ الميكروبات المنتجة للبيوتاندول Butanediol

١.٢.٤.٩ تكوين الاسيتوين Acetoin

توجد ٣ طرق لتكوين الأسيتوين من البيروفات بواسطة الميكروبات كما هو موضح في الشكل (٩.١١) .

الأولى : في الخمائر وتعتمد على التكوين المباشر للأسيتالدهيد من البيروفات يعقبه Carboligase reaction مكونًا الأسيتوين .

الثاني : تكوين الأسيتوين عبر الأسيتولاكتات .

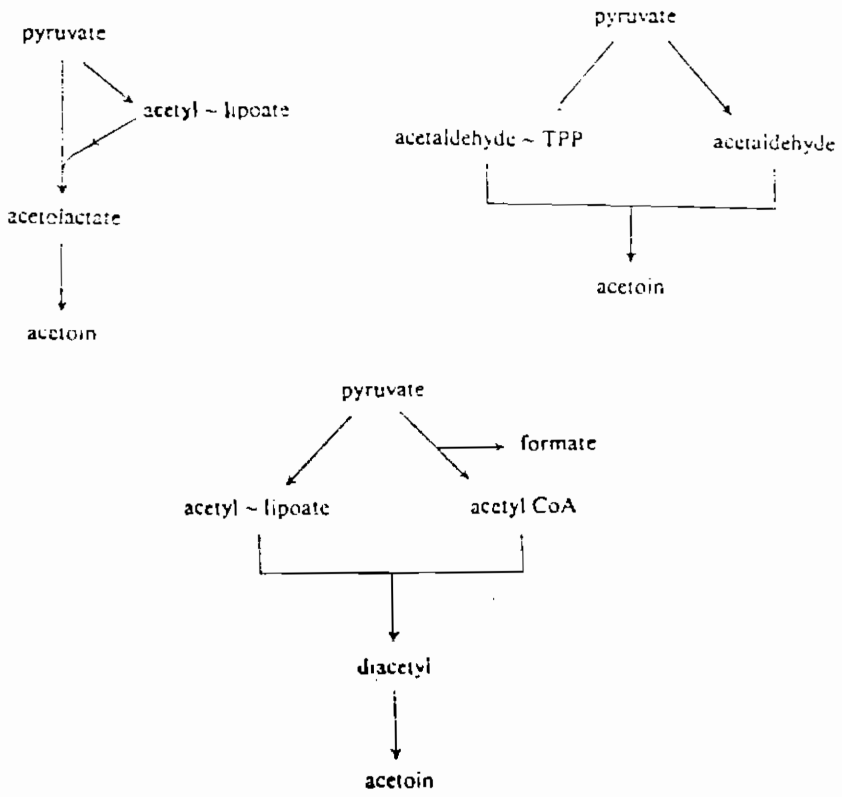
الثالث : يستخدم diacetyl كمركب وسطي لتكوين الأسيتوين .

*** بالنسبة لتكوين الأسيتوين من الأسيتولاكتات**

لا تحتوي ميكروبات *Aerobacter aerogenes* ، *Bacillus subtilis* ، *streptococcus faecalis* ، *Clostridium acetobutylicum* على نظام نزع ك أ$_2$ (decarboxylase) ولا تستطيع إنتاج الأسيتالدهيد ولذلك يفترض وجود إنزيم واحد فقط مسئول عن نزع ك أ$_2$ من البيروفات ونقل الألدهيد وتكوين مركب وسطي ثابت هو $\propto$ - acetolactate وهذا الإنزيم هو acetolactate synthase (EC 4.1.3.18) . والمعادلة الإجمالية له :

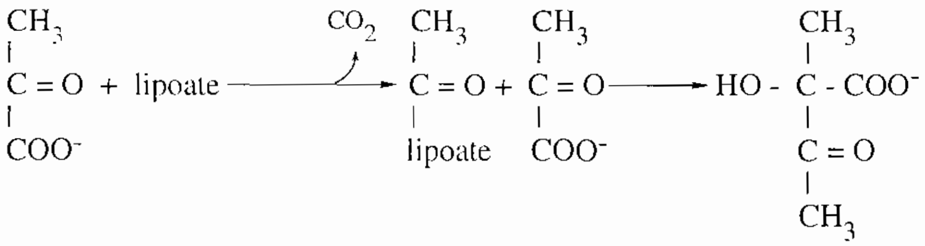
$$2 \text{ pyruvate} \xrightarrow[Mn^{2+}]{TPP} \propto (+) \text{ acetolactate} + 2\, CO_2$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي



شكل (٩ . ١١) : التصورات الثلاث لتكوين الأسيتوين من البيروفات

وتفسير ذلك هو تكوين acetyl lipoate وينطلق ك أ٢ من البيروفات بواسطة pyruvate DH (EC 1.2.4.1) . وهذا «الأسيتات المنشط» يتحد مع جزئ ثان من البيروفات لتكوين الأسيتولاكتات .

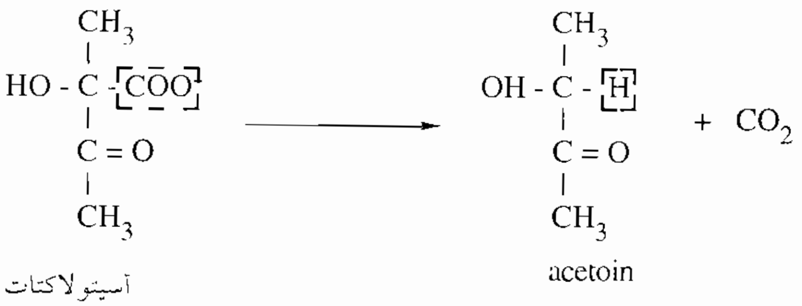


بيروفات أسيتيل ليبوثات بيروفات أسيتولاكتات

ثم يقوم إنزيم acetolactate DH (EC 4.1.1.5) بنزع ك أ٢ من الأسيتولاكتات

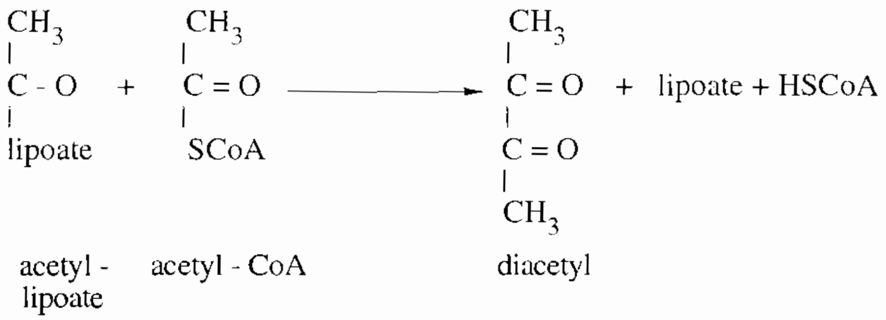
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مكونا الأسيتوين acetoin .

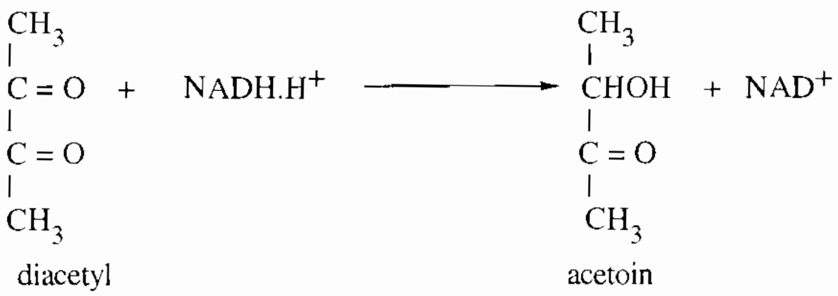


** تكوين الأسيتوين من داى أسيتيل Diacetyl

كما سبق شرحه يُكَـــون الكائــــن أسيتيـــل ليبونات بمساعدة pyruvate DH (EC 1.2.4.1) . وفى نفس الوقت يُكَون أسيتيل كوانزيم A بطريقة phosphoroclastic (or thioclastic) split يتحد كلا الأسيتات المنشطة ويكونا diacetyl .



ثم يقوم إنزيم Acetoin dehydrogenase (EC 1.1.1.5) باختزال داى آسيتيل إلى أسيتوين .

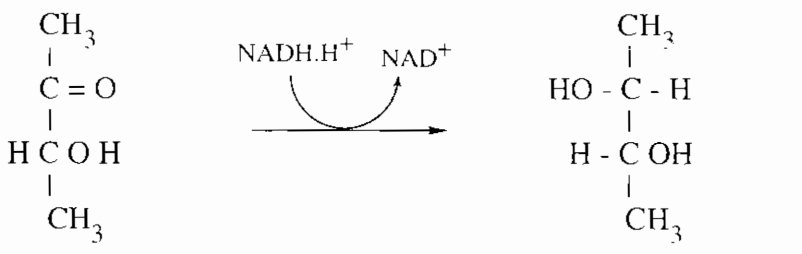


والتفاعل الأخير أكثر اقتصـادًا لأن الكائن يستعمل الإنزيمات الموجودة لتـكوين أسيتيل كوانزيم A .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢.٢.٤.٩ تكوين البيوتاندول من الاسيتوين

يقـــوم إنزيـــم butanediol DH (EC 1.1.1.4) باختزال الأسيتوين ســـواء كـــان (+) L أ، (-) D إلى البيوتاندول .



D (-) acetoin   D (-) 2.3 - butanediol

ولقد ثبــت وجود عدد من butanediol dehydrogenases متخصصة حسب الصورة الأيزوميترية التى تحولها فمثلاً ميكروب *B. polymyxa* يكّون 2,3 butanediol DH من النوع (-) D أما *A. aerogenes* ، *Ps. hydrophila* يحتويان عــلى النوع (+) L أما ميكروب *B. subtilis* فيحتوى كليهما (-) D ، (+) L . ويزيد ميكروب *Ps. hydrophila* بأحتوائه على acetoin racemase (EC 5.1.2.4) الذى يحول صور الأسيتون الأيزوميترية بعضهــا إلى بعض وهذا يشــرح وجود الصور الأيزوميــترية الثلاث للــبيوتاندول فى تــخمر الكربوهيدرات وعمومًا المعادلة العامة لتكون البيوتاندول من البيروفات هى :

$$2\ \text{pyruvate} \xrightarrow{4\,[H^+]} 2\ C_2O\ +\ 2.3\ \text{butanediol}$$

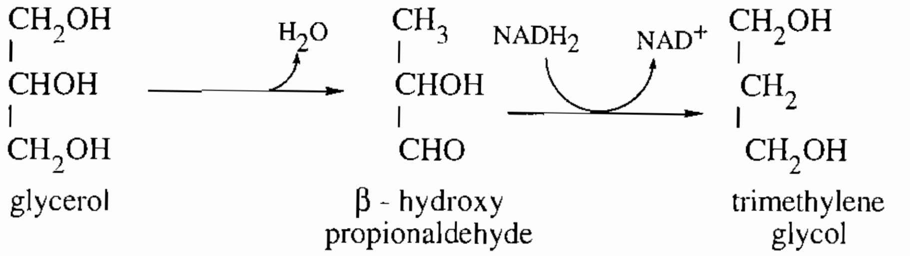
ويبدو أن تكــون البيوتاندول يعتــمد على pH حتمًا فإذا ارتــفع فوق 6.3 فإن حمض الأسيتيك وحمض الـفورميك يتراكمان بينما يــتوقف تكوين ك أ٢ ، يــد ٢ ، أسيتــوين ، البيوتاندول . أما إذا قَل عن pH 6.3 يتحول النظام لانتاج الأسيتون والبيوتاندول .

ومن البكتريا التى تقوم بإنتاج البيوتاندول *A. aerogenes* ، *Serratia mercescens* ، *Erwinia Carotovora* ، *Ps. hydrophila* ، *B. subtilis* كما أن إنتاج الأسيتوين يستخدم فى التشخيص الـبيوكيمياوى لأفراد جنس *Neisseria* حيث يُنتَج بواســطة بعض أنواعها مثل *N. flara* ، *N. denitrificans* ، *N. mucosa* بينما لا ينتج بواسطة البعض الآخر مثل *N. animalis* ، *N. Cinera* .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣.٤.٩ الميكروبات المنتجة للجليكول ثلاثى الميثيلين Trimethylene glycol

يستطيع بعض أعضاء Enterobacteraceae تحويل الجليسرول إلى جليكول ثلاثى الميثيلين أو إلى جليسرلدهيد ٣- فوسفات مثل ميكروبى *Citobacter freundii* ، *Aero-bacter aerogenes* .



وهذه العملية تبدو غير مرتبطة بتحولات الكربوهيدرات ولكن تلاحظ فقط فى وجود الجليسرول .

وبعض الميكروبات مثل *E. coli* ، *Acetobacter suboxydans* يستطيع أكسدة الجليسرول إلى دى هيدروكسى أسيتون فوسفات كما شرح فى الباب الخامس ويشير هذا التفاعل الأيضى إلى العلاقة القوية بين *E. coli* ، acetic acid bacteria .

٤.٤.٩ تنظيم تحولات الكربوهيدرات فى الميكروبات اللاهوائية

Pasteur and Carbtree effect

يستطيع عدد كبير من البكتريا اللاهوائية الاختيارية القيام أما بالتنفس الهوائى أو التخمر وهذا التغير من الظروف الهوائية إلى اللاهوائية يؤدى لاختزال كمية الخلايا، يقلل معدل استهلاك الجلوكوز، يؤثر على نوع الناتج النهائى المتكون بالتخمر وهذه الظاهرة تعرف بتأثير الأكسجين "oxygen" or "Pasteur" effect .

فتحت الظروف الهوائية تقوم الميكروبات بأكسدة الجلوكوز كاملاً إلى ك أ٢ ، يد٢ أ وتغطى فرق جهد الأكسدة والاختزال (- 0.3 to + 0.8 V) باستخدام سلسلة انتقال الالكترونات المرتبطة بانتاج الطاقة وأغلب الإنزيمات التنفسية مرتبطة بالغشاء. أما أثناء التخمر اللاهوائى فإن الميكروبات تستخدم المركبات العضوية كمستقبل للالكترون ولا تملك نظام سلسلة انتقال الالكترون وإنما انطلاق ٢ جزئ ATP فى خطوة تحول جليسرلدهيد ٣-

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

فوسفات إلى البيروفات تمثل أهم التفاعلات المنتجة للطاقة فى الميكروبات اللاهوائية وهذه الطاقة تكونت عند مستوى مادة التفاعل مما تعرف بنظام substrate level phosphorylation .

ومن المعروف أن الأكسجين يتحكم فى حياة الميكروبات عن طريق تأثيره على تحفيز أو تثبيط إنزيماته الحيوية مثل إنزيمات دورة TCA أو سلسلة أنتقال الألكترون. وعلى سبيل المثال إنزيم 2 oxoglutarate dehydrogenase يتفاوت تأثره بالأكسجين. وبدونه (ظروف لا هوائية) يستخدم *E. coli* طريق الهدم الاختزالى لتكوين السكسينات ثم الأكسوجلوتارات حيث تشجع الميكروب تكوين Fumarate reductase (EC 1.3.1.6) لتكوين السكسينات. أما فى حالة وجود O_2 فإن الميكروب ينمو مستخدمًا دورة TCA .

ويبدو أنه تحت الظروف الهوائية فإن دورة TCA تسلك سلوكًا حلقيًا بينما تحت الظروف اللاهوائية تتعدل لتأخذ الشكل المتفرع الغير حلقى الذى يؤدى لتكوين السكسينات. وبعكس الميكروبات اللاهوائية الحتمية حيث يُختزل نشاط إنزيمات TCA وإنزيمات السيتوكروم المرتبطة بالغشاء فإن الميكروبات الاختيارية مثل *E. coli* تحتفظ بنشاط كثير من الإنزيمات المرتبط بالغشاء تحت الظروف اللاهوائية وقد ثبت أثناء دراسة مستويات إنزيمات دورة TCA فى *E. Coli* النامية أما هوائيًا أو لاهوائيا تحت ظروف غذائية مختلفة وجود ٣ عوامل تؤثر على تخليقها الحيوى :

أ - وجود أو غياب الأكسجين Parteur effect .

ب- التأثير السلبى للجلوكوز Carbtree effect .

جـ- التوازن بين احتياجات الهدم والبناء .

وأكثرهم تأثيراً كان تأثير الجلوكوز الذى يُثبط بوضوح تكوين إنزيمات دورة TCA وتعرف هذه الظاهرة «بتأثير الجلوكوز» "glucose" or "Crabtree" effect والتفرقة بينه وبين تأثر باستير صعبًا ولكنه ليس مستحيلاً .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٥.٩ تخمرات بكتريا حمض اللاكتيك Fermentation of Lactobacillaceae

تتبع بكتريا حمض اللاكتيك عائلة Lactobacillaceae وهى عضويات طويلة أو قصيرة وكذا كرويات موجبة لجرام غير متجرثمة ومعظمها غير متحركة وتعتمد على تخمر الكربوهيدرات منتجة حمض اللاكتيك أى مخمّرة حتمية (بعكس Enterobacteriaceae التى تنتج اللاكتيك) ولا تحتوى خلاياها على الهيمين - السيتوكروم والكتاليز - وبالرغم من ذلك تستطيع النمو فى وجود الهواء أو الأكسجين وهى لذلك aerotolerant .

ومن الصفات المميزة لهذه العائلة احتياجها إلى عوامل نمو إضافية مثل الفيتامينات (لاكتوفلافين ، ثيمين ، حمض الفوليك ، بيوتين ، حمض النيكوتينك) والأحماض الأمينية والقواعد النيتروجينية ولهذا تنمى غالبًا على بيئات معقدة تحتوى على مستخلص الخميرة ومستخلص الطماطم وحديثًا جدًا ثبت أنها تكون السيتوكروم أثناء النمو على بيئة الدم وبالتالى يمكنها القيام بعملية الفسفرة المرتبطة بالسلسلة التنفسية وهى لا تستطيع تخليق -pro phyrin وتتميز بخاصية قدرتها على تمثيل سكر اللاكتوز . وأماكن أنتشارها فى الطبيعة : فى المياة والأراضى وأساسًا فى الألبان ومنتجاتها وفى معدة وأمعاء الإنسان والحيوان .

ونظرًا لإنتاجها كميات كبيرة من حمض اللاكتك لابد من إضافة منظم buffers لبيئة النمو عادة كربونات الكالسيوم فتظهر مستعمراتها محاطة بهالات رائقة (شفافة) على سطح الآجار . وهى سهلة العزل على البيئات المتخصصة . كما يمكن اعتبار كثير من منتجات الألبان «كمزارع نقية طبيعية» مثل اللبن الحامضى، العجين الحامضى (acid dough) ، sauer kraut ، السيلاج .

١.٥.٩ تخمر الجلوكوز

تقسم lactobocillaceae تبعًا لقدرتها على تخمير الجلوكوز إلى لاكتات ٩٠ ٪ (أى ١,٨ مول لاكتيك لكل ١ مول جلوكوز) وتعرف بـ homofermentative أو إلى نواتج أخرى بجانب اللاكتات وتعرف Heterofermentative كما بالجدول التالى :

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

Cocci	Rods
Homofermentative $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2\ CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH$	
Streptococcus lactis *Streptococcus faecalis* *Streptococcus salivarius* *Streptococcus pyogenes* *Streptococcus cremoris* *Streptococcus thermophilus* *Streptococcus diacetilactis* *Pediococcus cerevisiae*	Thermobacteria (opt. temp. 40 °C; do not grow at 15 °C) *Lactobacillus lactis* *Lactobacillus helveticus* *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus bulgaricus* *Lactobacillus delbrückii* Streptobacteria (opt. temp. 30–37 °C; always grow at 15 °C) *Lactobacillus casei* *Lactobacillus plantarum* *Sporolactobacillus inulinus*
Heterofermentative. $C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3\text{-}CHOH\text{-}COOH + CH_3\text{-}CH_2OH + CO_2$ (or $CH_3\text{-}COOH$)	
Leuconostoc mesenteroides (= *Betacoccus*) *Leuconostoc cremoris*	Betabacteria: *Lactobacillus brevis* *Lactobacillus fermentum* *Lactobacillus viridescens* *Bifidobacterium bifidum*

جدول (٩ . ٢) : تقسيم بكتريا حمض اللاكتيك حسب الشكل ونوع التخمر

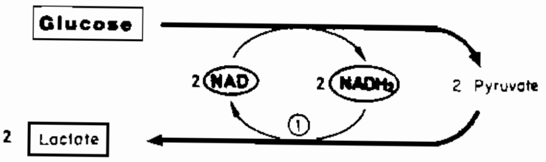
Homofermentative Lactobacteria ١.١.٥.٩

وهى تحول الجلوكوز عبر دورة EMP حيث تحتوى على جميع إنزيماتها بما فيها aldolase وتستخدم H_2 الناتج من تحول جليسرلدهيد ٣ - فوسفات إلى ١ ,٣ داى فوسفو جليسرات لاختزال البيروفات إلى لاكتات كما هو مبين فى شكل (٩-١٢) .

ويحدد التخصص النوعى sterospecificity لإنزيم لاكتات ديهيدروجينيز وكذا وجود أو غياب إنزيم Lactate racemase نوع الآيزومير الناتج إذا كان (-) D أ، (+) L آ، DL .

ويمكن فقط لجزء ضئيل من البيروفات أن تحدث له عملية نزع ك أ$_2$ decarboxylation ويتحول إلى الأسيتات والإيثانول ، ك أ$_2$ وربما الأسيتون وهذا يتوقف على تركيز الأكسجين .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٩ . ١٢) : تكوين اللاكتات من الجلوكوز بواسطة Homofermentation

٩.٥.١.٢ Heterofermentative Lactobacteria

وهى تخمر الجلوكوز منتجة أقل من ١,٨ مول لاكتات لكل ١ مول جلوكوز (أقل من ٩٠ ٪) وبالإضافة لذلك يتكون الإيثانول ، أسيات جليسرول، مانيتول ، ك أ٢ كما هو موضح فى الشكل (٩-١٣) وتوجد عدة أنواع من تقنيات التخمر (نوع - Hetero) :

١ - *Leuconostoc* type - حيث يتكون ٨, مول من اللاكتيك ، ١, - ٢, مول أسيتات ، ٩, مول ك أ٢ ، ٨, مول إيثانول ، ٢, - ٤, مول جليسرول والأخير يتكون تحت ظروف خاصة .

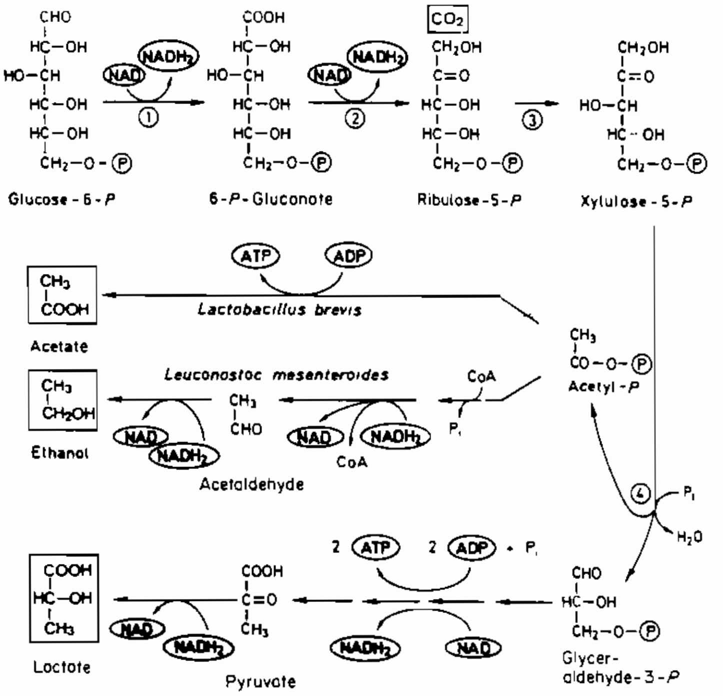
٢ - *Peptostreptococcus* type - حيث ينتج اللاكتيك ، بروبيونيك فقط .

٣ - Butaric producer type - وتشمل كل البكتريا التى تنتج اللاكتيك والبيوتاريك كناتج نهائى لتخمر الجلوكوز .

وتفتقد Heterolactobacteria انتاج إنزيمات دورة EMP وبالذات aldolase (EC 4.1.2.13) ، triose phosphate isomerase ولذا فالتحلل الأولى للجلوكوز يتم بواسطة دورة البنتوزفوسفات (HMP) عبر الجلوكوز ٦ - فوسفات ، ٦ - فوسفو جلوكونات ، ريبولوز ٥ - فوسفات والأخير يتحول إلى الزيليلوز ٥ - فوسفات بواسطة epimerase .

ويتبع ذلك تفاعل أنشقاقى فى وجود إنزيم phosphoketolase والثيمين بيروفوسفات مكونًا فوسفوأسيتيل والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات . ويتحول الاسيتيل فوسفات إلى الاستيات بواسطة acetate kinase مع فسفرة ADP كما فى ميكروب *L. brevis* أو يختزل إلى الإيثانول عبر اسيتيل كوانزيم A والأسيتالدهيد كما فى ميكروب *Leuconostoc* sp. .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



Enzymes: (1) glucose-6-phosphate dehydrogenase; (2) phosphogluconate dehydrogenase; (3) epimerase; (4) phosphoketolase. Acetylphosphate is either converted to acetate by acetate kinase with phosphorylation of ADP (*L. brevis*) or reduced to ethanol (*L. mesenteroides*). Oxidation of glyceraldehyde phosphate is by the usual fructose-bisphosphate pathway.

شكل (١٣.٩) : التخمر بواسطة Herofermentative lactobacteria

(*Lactobacellus brevis* ، *Leuconostoc mesenteroids*)

أما الجليسرلدهيد ٣- فوسفات فيتأكسد إلى البيروفات مستخدمًا دورة EMP المعروفة ثم يختزل إلى اللاكتيك في وجود Lactate dehydrogenase (EC 1.1.1.28) . والمحصلة النهائية للتفاعل هو تحول الجلوكوز إلى لاكتات ، إيثانول (أو أسيتات) ، CO_2 مع تكون ٣ مول من ATP لكل ١ مول جلوكوز وهذا يمثل نصف الطاقة المنتجة بواسطة Homofermentats ويعبر عن المعادلة الإجمالية للتفاعل كما يلي :

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow CH_3-CHOH-COOH + CH_3-CH_2OH$$
$$(\text{or } CH_3-COOH) + CO_2 + 3\ ATP$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وهناك تقسيم آخر وضعه Buyze et al, 1959 حسب الإنزيمات ولا يعتمد على الناتج النهائى كالتالى :

١ - obligate homofermenters تحتـوى fructose diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) ولا تحتوى جلوكوز ٦ - فوسفـات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.49) ولا فوسفو جلوكونات ديهيدروجينيز (EC 1.1.1.43) .

٢ - Obligate Heterofermenters وتحتوى إنزيمات الـديهيدروجينيز الـسابقة ولكن لا تحتوى FDP - alddase .

٣ - Facultative Homofermenters. تحتوى الثلاث إنزيمات معًا وتستطيع استخدام كلا النظامين .

ويتحكم فى نوع التخمر اللاكتيكى عوامل عديدة :

١ - الظروف البيئية مثل الحرارة ، pH .

٢ - المرافقات الإنـزيمية المصاحبـة لإنزيمات الدهيدروجـينيز الداخلـة فى العمليـة من حيث استخدام NAD أ، FAD .

٣ - المركب الوسـطى فركتوز داى فوسفـات حيث يؤثر مبـاشرة على Lactate DH بصفة خاصة فى Streptococci .

٤ - تأثير الأكسجين على معدل تحول الجلوكوز إلى اللاكتيك وعلى نوع الأيسومر الناتج .

٢.٥.٩ تخمر الفركتوز

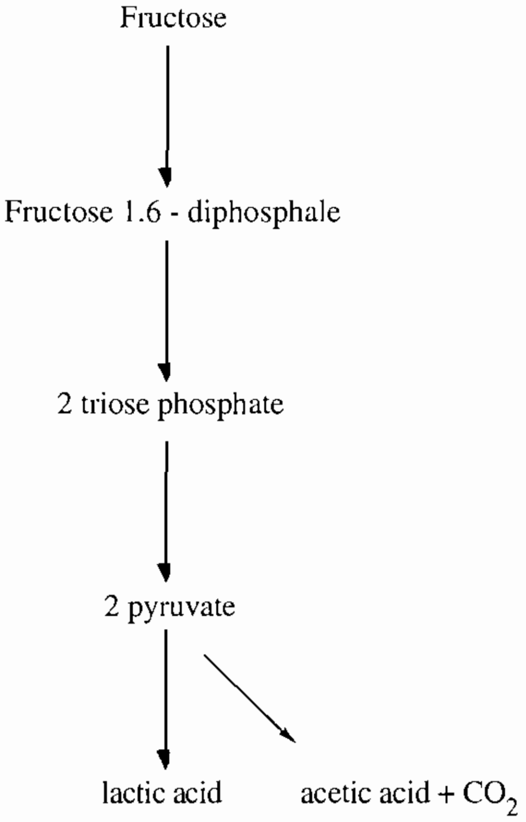
يسلك ميكروبى *Lactobacillus plantarum* ، *L. pentoaceticum* نفس الأسلوب فى تخـمير الجلوكـوز والبنتوزات ولـكن يختلـف الحال عند تـخمير الفـركتوز حيث يـنتج الميكروب الثانى المانيـتول بالإضافة إلى حمض اللاكتيك وحمض الأسيتـيك بينما الميكروب الأول لا ينتج المانيتول وينتج اللاكتيك والأسيتيك فقط كما هو موضح فى شكل (٩-١٤) .

ويعمل الفركتوز فى ميكروب *L. pentoaceticum* كمستقبل للبروتونات الزائدة .

$$2 - \text{fructese} \xrightarrow{+ 4H^+} 2\ \text{manitol}$$

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويلامس هذا التفاعل إنزيم manitol DH (EC 1.1.1.67) المرتبط بـ $NADH_2$.
ويغيب هذا الإنــزيم فى ميكروب *L. plantarum* فلا يكون المانيتول ويــستخدم ذلك كصفة تقسيمية للتفرقة بين الميكروبين .



شكل (٩ . ١٤) : تخمرات الفركتوز بواسطة بكتريا حمض اللاكتيك

وبدلاً من استخدام ٣ مول فركتوز كمصدر للكــربون يمكن استخدام الجلوكوز والفركتوز بنسبة ١ : ٢ لتوفير الفركتوز وتكوين المانيتول .

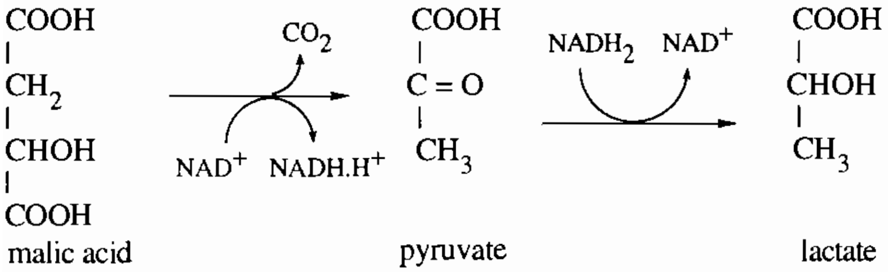
$$\text{1 Glucase + 2 Fructose} \longrightarrow \text{1 Lactate + 1 acetate + 2 manitol + 1 } CO_2$$

٣.٥.٩ تخمر المالات

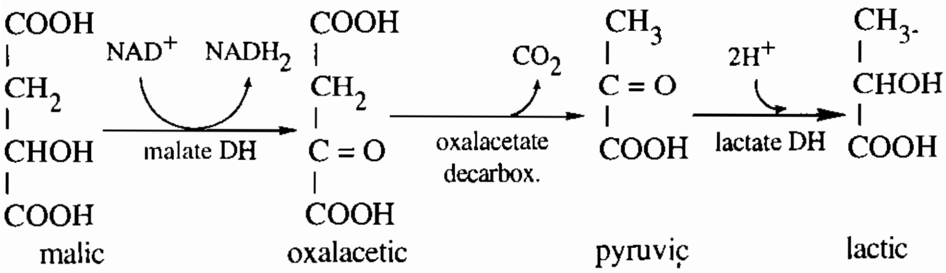
يستطيع عــدد ضخم من بكتريا حمض الــلاكتيك تحويل حمض الماليــك إلى اللاكتيك وهذا ذو أهــمية تجاريــة كبيــرة فى صنــاعة النبيــذ ويعــرف بـ malolactic fermentation

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

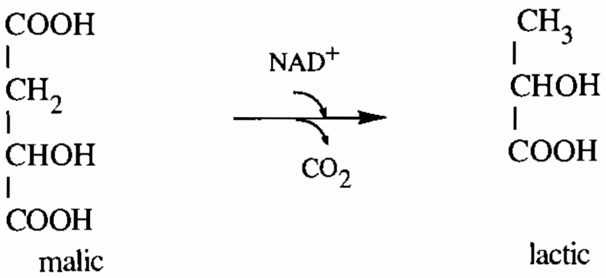
والميكانيكية الحقيقية لتحول الماليك مازالت غير مستقرة فكان يعتقد لمدة طويلة أن الماليك تحدث له عملية نزع ك أ$_2$ إلى البيروفات مصحوبة بنزع الايدروچين بواسطة malic DH مرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.38) ويعقبه اختزال البيروفات إلى اللاكتات بواسطة lactate dehydrogenase كما بالمعادلة :



وهناك ميكانيكية أخرى وهي تتضمن خطوة dehydrogenation يعقبها خطوة decarboxylation ويتكون الاكسال أسيتات كمركب وسطى بين الماليك والبيروفات وقد عزل الأكسال أسيتات فعلا من *L. plantarum* ويلامس هذه العملية إنزيمى malate DH ، oxalacetate decarboxylase .



وتوجد ميكانيكية ثالثة عبارة عن decarboxylation مباشرة لحمضية الماليك فيتحول إلى حمض اللاكتيك بدون تكوين الأكسال أسيتات أو البيروفات وعندئذ ليس هناك حاجه لوجود lactate DH .



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

ويلاقى التصور الأخير تأييدًا متزايدًا حيث أظهرت دراسة الإنزيمات وتنقيتها إن lactate DH المرتبط بـ NAD^+ غير موجود فى تخمر مالولاكتيك بواسطة *L. plantarum* .

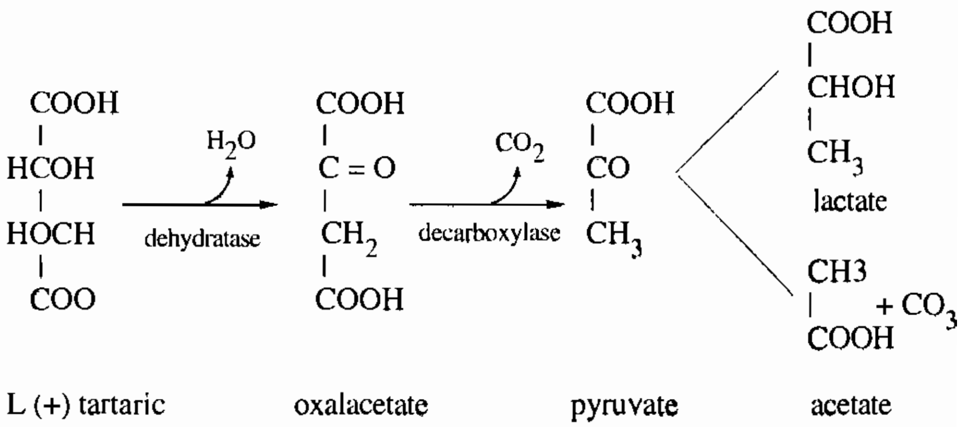
وهناك اعتقاد أن بعض الميكروبات تمتلك أكثر من ميكانيكية واحدة فى نفس الوقت .

٤.٥.٩ تخمر الطرطريك Tartrate

أظهرت دراسة على ٧٨ سلسلة من أجناس *pediococcus* ، *Leuconostoc* ، *lactobacillus* أن ميكروبى *L. brevis* ، *L. Plantarum* فقط قادرة على تحويل حمض الطرطريك .

وقد وجد فى مستخلص الخلايا لميكروب *L. plantarum* أن ١ مول طرطريك يتحول إلى ١,٥ مول ك أ٢ ، ٥, مول حمض الأسيتيك ، ٥, حمض اللاكتيك . أما فى حالة ميكروب *L. brevis* فيتكون ١,٣٣ مول ك آ٢ ، ٦٧, مول أسيتيك ، ٣, مول سكسينات .

وكما تشير النواتج النهائية فإن الطرطريك يهدم بطرق مختلفة معتمدًا على نوع السلالة تحت الدراسة فميكروب *L. plantarum* يحول الطرطريك أولاً إلى أكسال أسيتات فى وجود tartrate dehydratase (EC 4.1.1.32) ثم تحدث عملية نزع ك أ٢ بملامسة إنزيم oxalacetate,decarboxylase ينتج عنها البيروفات والذى يتعرض لتأثير إنزيمين مختلفين احدهما lactate DH المستوى عن تكوين اللاكتيك والآخر pyruvate DH system المسئول عن تكوين ك أ٢ ، حمض الأسيتيك كما بالمعادلة التالية :



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

وقد ثبت أن نسبة NAD^+ / $NADH.H^+$ بالوسط النامى فيه الميكروب هى التى تحدد الناتج النهائى. ففى حالة وجود كمية عالية من $NADH.H^+$ يميل التفاعل إلى تكوين الأسيتيك ، ك أ٢ على حساب اللاكتيك والعكس إذا كانت نسبة NAD^+ عالية فإن التفاعل يميل تجاه تكوين اللاكتيك .

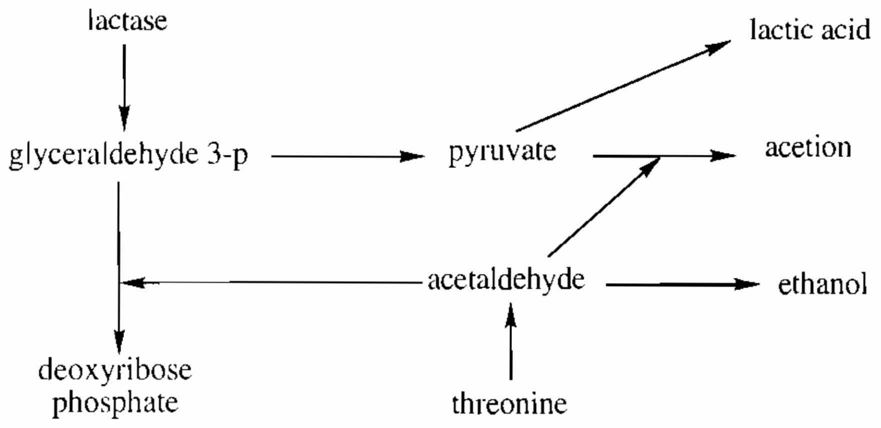
أما بالنسبة لميكروب *L. brevis* فيحول الطرطريك إلى بيروفات ثم إلى أسيتيك ، ك أ٢ ولا تسلك الطريقة الآخر لتكوين اللاكتيك برغم أنه يملك كلا الإنزيمين L (+) D (-) lactate DH ، ولا يوجد تفسير لذلك ولقد ثبت أن إضافة الجلوكوز تؤثر على تحول الطرطريك بواسطة *L. plantarum* فقط ولا تؤثر بالنسبة لميكروب *L. brevis* وعلى أى حال فإن الجلوكوز يتحول قبل الطرطرات .

٥.٥.٩ تخمر اللاكتوز بواسطة N - streptococci

لوحظ أن مجموعة البكتريا المسماة *Streptococcus lactis* ، *S. diacetilactis* ، *S. exemoris* تستطيع تخمير اللاكتوز فى اللبن إلى اللاكتيك .

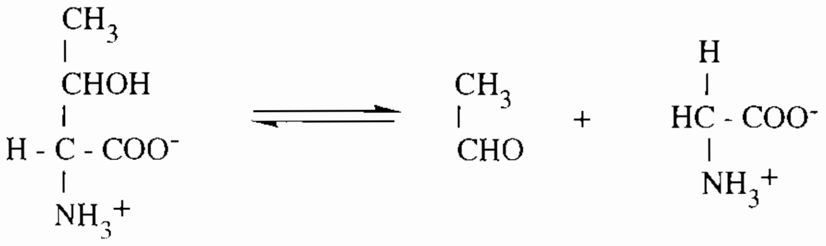
ويقوم إنزيم PEP - phosphotransferase بنقل اللاكتوز إلى داخل الخلية البكتيرية وهو يحتوى Foctor III ولذا يشبه نظام Staphylococci (لاحظ ميكانيكية أنتقال الجلوكوز - الباب الخامس) .

وبعد دخول اللاكتوز للخلية فإن هذه الميكروبات تحوله فى وجود الثريونين وتكون الجليسين والأسيتالدهيد .



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والإنزيم الذى يلامس تحول الـثريونين هو Serine hydroxy methyl transferase (EC 2.1.2.1) فى وجـود pyridoxal phosphate كمرافق ويـتكون الأسيتالـدهيد ، والجليسين .



threonine أسيتالدهيد جليسين

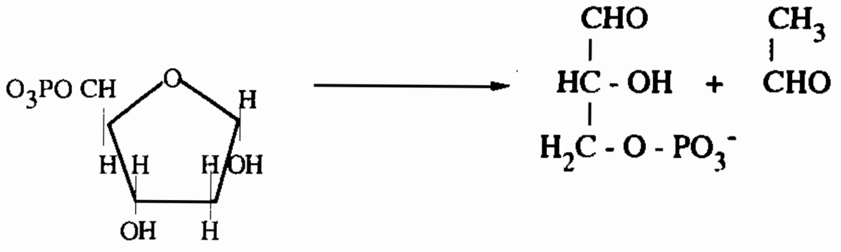
ولقد ذكر سابـقًا فى فقرة (٣٠٥) طرق تحـول الأسيتالدهيـد الثلاث معتمـدًا على نوع الإنزيم المتوافر .

ودورة اللاكتوز الأساسية تـتم بمشاركة مع دورة EMP فتحت الظروف اللاهوائية يعتبر البيروفات هو مستقبـل الأيدروجين الأساسى ويتخمر ٩٦ ٪ من الجلوكوز إلى الـلاكتيك أما تحت الظروف الهوائية فلا يوجد تغيير فى الدورات المستخدمة ولكن يشارك جزئ الأكسجين وأيضًا البيروكسيد فـى التفاعل ويتكون H_2O_2 بملامسة إنزيم ديهيدروجيـنيز حيث يتأكسد $NADH.H^+$ بواسطة O_2 ويؤدى تراكم H_2O_2 بكميات كبيرة إلى تثـبيط النمو ويتفاوت نشاط الإنزيمين من سلالة إلى أخرى .

٦.٥.٩ تخمر ديزوكسى ريبوز Deoxyribose

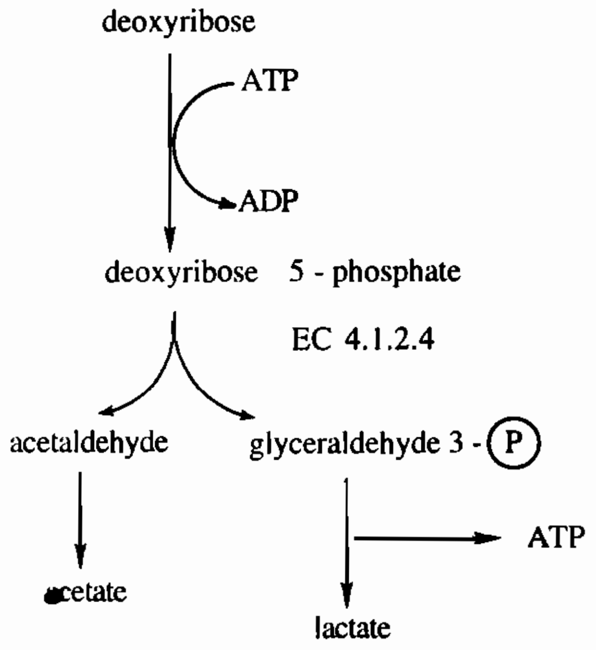
لا يحدث تحول لهـذا السكر فى الخلايا النامـية على الجلوكوز أو الأرابيـنوز أو الزيلوز ولكن يحفـز هدمه فى *L. plantarum* فى وجود خلـيط من الجلوكوز والديزوكـسى ريبوز؛ حيث يحدث النمو على حساب الجلوكوز والإنزيم المسئول عن ذلك هو deoxyribo aldolase (EC 4.1.2.4) الذى يلامس تفاعل تحول ديزوكسى ريبوز ٥ - فوسفات إلى جليسرلدهيد ٣ - فوسفات والأسيتالدهيد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



ديزوكس ريبوز ٥-فوسفات جليسرلدهيد ٣-فوسفات أسيتالدهيد

والجليسرلدهيد يتحول إلى اللاكتيك لأن *L. plantarum* يمتلك كل إنزيمات دورة EMP بينما يتحول الأسيتالدهيد إلى الأسيتات والطاقة الناتجة هى ١ مول ATP لكل مول ديزوكسى ريبوز متخمر .



٧.٥.٩ تحول البيوتين Biotin degradation

يستطيع ميكروب *L. plantarum* هدم البيوتين إلى vitamers وكذا تحول أوكسى بيوتين ، دى ثيوبيوتين إلى نواتج غير قابلة للاستخدام بواسطة *Saccharomyces cerevisiae* . ويبدو أن الميكروب السابق ليس فريدًا من نوعه ولكن يمتلك ميكروب *L. casei* أيضًا نفس النظام .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٦.٩ الفسفرة ونظام انتقال الالكترونات فى بكتريا حمض اللاكتيك

Phosphorylation and electron transport system

تتميز عائلة Lactobacillaceae بخواصها التخمرية ويحتمل أحتوائها على سيتوكرومات ولكن لا تستخدمها لأن نظام تنفسها يعتمد أساسًا على الفلافوبروتينات .

$$\text{Substrate} \longrightarrow (2H) \longrightarrow FP \longrightarrow H_2O \text{ or } H_2O_2$$

$$\downarrow$$

$$\text{Substrate}$$

تحت الظروف اللاهوائية يستخدم مادة تفاعل (Substrate) اخرى كمستقبل للأيدروجين أما تحت الظروف الهوائية فيمر الالكترون إلى الفلافوبروتين الذى يتفاعل بدوره مع الأكسجين مكونًا الماء أو بيروكسيد الهيدروجين .

$$FPH.H^+ + O_2 \longrightarrow FP^+ + H_2O_2 \ (2e^- \text{ - transfer})$$

$$2\,FPH.H^+ + O_2 \longrightarrow 2\,FP^+ + \ + 2\,H_2O \ (4\,e^- \text{ - transfer})$$

- ويشاهد نظام انتقال (2e-) غالبًا أثناء أكسدة الجلوكوز فى معلق الخلايا لميكروب *L. delbruckii* أو *L- acidophilus* حيث لوحظ نسبة ١ : ١ بين استهلاك الأكسجين وإنتاج بيروكسيد الهيدروجين .
- ويتعرض بيروكسيد الهيدروجين للتحلل بواسطة إنزيم NAD - linked peroxidase (EC 1.11.1.1) مكونًا الماء .

$$NADH.H^+ + H_2O_2 \longrightarrow NAD^+ + 2H_2O$$

- وتستطيع ميكروبات أخرى من Streptococci ، lactobacilli اختزال البيروكسيد فى وجود مادة معطية للالكترون بملامسة إنزيمات لا تحتوى عناصر ثقيلة كعوامل لمسيه ويعرف ذلك بـ Atypical peroxidases (بيروكسيديز غير نمطى) .
- والتأثير الموحد لإنزيمى FP-NAD peroxidase & FP - NAD dehydrogenase ينتج الأربعة الكترونات اللازمة فى خطوة اختزال الأكسجين إلى الماء .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

$$NADH.H^+ + O_2 \longrightarrow NAD^+ + H_2O_2 \quad \text{reaction (A)}$$

$$NADH.H^+ + H_2O_2 \longrightarrow NAD^+ + 2H_2O \quad \text{reaction (B)}$$

$$2\,(NADH.H^+) + O_2 \longrightarrow 2\,NAD^+ + 2H_2O$$

- ولهذا تستخدم بكتريا حمض اللاكتيك diaphoroses لتحولاتها اللاهوائية بينما تستخدم oxidases and / or peroxidases لتحولاتها الهوائية .

* **Diaphorases** : وهى إنزيمات تربط أكسدة $NADH.H^+$ (المختزَل) باختزال مستقبل الكترون صناعى .

$$NADH.H^+ + A \longrightarrow NAD^+ + AH_2$$

حيث (A) معظمها فلافوبروتينات .

* **Flavoprotein linked oxidases** : تم عزل ٤ فلافوبروتينات تلامس أكسدة $NADH_2$ من ميكروب *Streptococcus faecalis* (تفاعل A) وهم :

١ - FD - oxidase .

٢ - Cyt. C reductase (EC 1.6.99.3) .

٣ - diaphorase التى تستعمل ٢,٦ داى كلوروفينول أندوفينول (2,6 DCIP) ، فروسيانيد $(Fe\ CN_6)^{2-}$ ، سلسلة من الكيتونات كمواد مؤكسدة oxidants .

٤ - menadione reductase (EC 1.6.99.2) .

وهذه الإنزيمات الأربعة يمكن فصلها من بعضها وهى غير ثابتة أثناء العزل ولكن يمكن إعادة تنشيطها بواسطة مجموعة الثيول (- SH) .

* **Flavoprotein linked peroxidases** : وهى تقسم إلى قسمين :

١ - - atypical peroxidase : بعض أفراد بكتريا حمض اللاكتيك مثل *S. faecalis* ، *Lactobacillus brevis* ، *Leuconostic mesenteroides* هى كائنات حية خالية من السيتوكروم والكتاليز ولكن تستطيع ملامسة اختزال هيدروجين بيروكسيد إلى الماء فى وجود مواد مؤكسدة كمعطى للألكترون (تفاعل B) ومن أمثلتها الكحولات ، الجلوكوز ، الجليسرول ، اللاكتات ، الفركتوز .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

٢ - - typtical peroxidase : تم عزل إنزيـــــم FP - NAD - peroxidase (EC 1.11.1.1) من *S. faecales* والمرافق الإنـزيمى المرتبط به يـحتوى FAD ولا يوجد هيــم أو معادن metals وهو متخصــص فقط لـ $NADH_2$ وربما يتداخــل معه الكتاليز أو سيتوكروم C بيروكسيديز .

* **Direct FP - oxidases** : يشير غياب oxidases للمرافق الإنزيمى $NADH_2$ فى ميكروب *L. delbruckii* إلى أن هذا الميكروب يستخدم Substrate oxidases مباشرة كالتالى :

أ) أكسدة البيروفات حيث يتبع هذا الميكروب النظام التالى :

$$\text{pyruvate} + \text{Pi} + O_2 \xrightarrow{\text{FAD}} \text{acetyl. P} + CO_2 + H_2O_2$$

$$\text{pyruvate} + H_2O_2 \xrightarrow[\text{spontoneous}]{\text{TPP}} \text{acetate} + CO_2 + H_2O$$

$$2\,\text{pyruvate} + \text{Pi} + O_2 \longrightarrow \text{acetyl - P} + \text{acetate} + 2CO_2 + H_2O$$

حيث يتكون أسيتيل فوسفات باستخدام الأكســجين أو الفروسيانيد كمستقبل للالكترون وهذه الميكانيكية غير مستقرة حتى الآن ولــكنها تختلف عن النظام المرتبط بـ NAD على أية حال . ويلاحظ أن المركبات الغنية بالطاقة تتكون عند مستوى الفلافوبروتين .

ب) Pyruvate dismutation حيــث لوحظ تحول الـبيروفــات فى *L. delbruckii* إلى اللاكــتات ، الاسيــتات ، ك أ٢ ويشارك إنــزيمين فى هذه العمــلية **أولهما** pyruvate oxidase (EC 1.2.3.3) وهو عبارة عن ثـيمين بيروفوسفات فلافــوبروتين ويلامس تفاعلى (I) ، (II) **والثانى** lactate oxidase (EC 1.1.3.2) ويلامس تفاعلى (III) ، (IV) كما هو مبين فى المعادلات التالية :

$$\text{(I)}\quad \text{Pyruvate} + \text{Pi} + \text{FAD} \longrightarrow \text{acetyl - P} + CO_2 + FADH_2$$

$$\text{(II)}\quad FADH_2 + \text{riboflavin} \longrightarrow FAD^+ + \text{Riboflavin.}H_2$$

$$\text{(III)}\quad \text{Riboflavin.}H_2 + FAD^+ \longrightarrow \text{riboflavin} + FADH_2$$

$$\text{(IV)}\quad FADH_2 + \text{pyruvate} \longrightarrow \text{FAD} + \text{lactate}$$

$$2\,\text{pyruvate} + \text{Pi} \longrightarrow \text{lactate} + \text{acetyl - P} + CO_2$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

ويعتبر هذا التفاعل نموذجًا لانتقال الالكترون لاهوائيًا بين الفلافوبروتينات .

* **Dehydrogenase activity** : ذكر سابقًا أن *S. faecatis* ، *L. casei* ، تقوم بتحويل البيروفات في وجود lipoic acid تحت الظروف الهوائية فيما يعرف pyruvate dehydrogenase complex system كما وصف في دورة TCA . أما ميكروب *Leucenostoc mesenteriodes* فيمتلك lipoamide dehydrogenase (EC 1.6.4.3) الذى يلامس التفاعل العكسى وهذا الإنزيم عبارة عن فلافوبروتين .

$$\text{Lipoate - SH}_2 + \text{NAD}^+ \rightleftharpoons \text{lipoate} + \text{NADH}_2$$

أيضًا *S. faecalis* يحتاج حمض الليبوثيك لاختزال diacetyl والذى يتضمن acetyl - CoA كما سبق ذكره فى فقرة ١٠١٠٧ .

Flavoprotein respiration

ترتبط عمليات التخمر بحدوث الفسفرة عند مستوى مادة التفاعل substrate level phosphorylation . وعلى سبيل المثال بكتريا حمض اللاكتيك تستطيع تحويل الجليسرول فقط تحت الظروف الهوائية بينما تحت الظروف اللاهوائية لا يتم ذلك بدون مستقبل للأيدروجين خارجى . وفى بكتريا *Pediococcus* تعتمد آكسدة الجليسرول على إنتاج الكتاليز فكلما زاد محتوى الخلايا من الكتاليز كلما زاد النمو على الجليسرول. ويلاحظ وجود نوعين من الكتاليز فى lactobacilli .

أ - Classical catalase (EC 1.11.1.6) الذى يكسر (يشق) هيدروجين بيروكسيد وهو حساس لـ azide وغير حساس لـ pH الحامضى كما يلاحظ فى بعض أنواع *Pedioceccus* ، *Leuconostoc* عند تنميتها فقط على بيئة محتوية على الهيم (بيئة الدم) .

ب- Pseudocatalase ولا يحتوى على الهيم كمجموعة مرافقة prosthetic group وعادة حساس للحموضة ويلاحظ فى سلالات *Leuconestoc* ، *Pediococcus* ، *L. plantarum* فقط ويعجز عن شق H_2O_2 فى اختبار الكتاليز العادى .

ويمكن أن يوجد كلا نوعى الكتاليز فى نفس الميكروب ويستطيع ميكروب *S. faecalis*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

تكوين $Cyt. b_2$ عند تنميته على بيئة مضاف إليها الهيم وثبت فعلاً حدوث فسفرة مؤكسدة كاملة وزيادة نشاط إنزيم nitrate reductase وأيضًا زيادة تكوين الكتاليز إلى المستوى الموجود فى المزارع النامية هوائيًا .

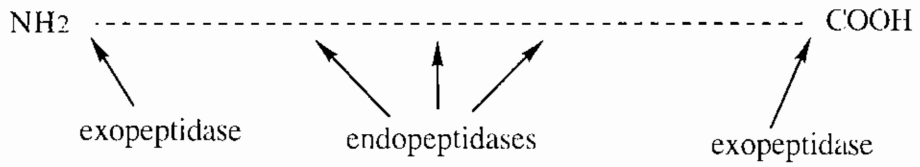
وبناء على تفاعل الكتاليز يمكن تقسيم Heterofermentative bacteric إلى مجموعتين **الأولى** موجبة للكتاليز على الآجار العادى وآجار الدم **والثانية** موجبة لاختيار الكتاليز فقط على بيئة الدم .

٧.٩ تخمرات بكتريا الكلوستيريديم المحلله للبروتينات Proteolytic clostridia

تتفاوت مقدرة الميكروبات على هدم البروتينات إلى بيتونات، بولى ببتيدات ، أحماض أمينية. وحيث أن أغلب هذه المواد النيتروجينية العضوية ذات مستوى أكسدة بين الكربوهيدرات والدهون لذا فهى مفيدة كمصدر للكربون والنتروجين والطاقة لكل من الميكروبات الهوائية واللاهوائية .

واجزيئات البروتينية الضخمة عادة موجودة خارج الخلية وميكانيكية مرورها عبر الغشاء الخلوى لا تعتمد فقط على الحجم - برغم أنه عامل مهم - ولكن أيضًا على مقدرة الخلايا على أفراز إنزيمات خارجية exoenzymes لتفتيت هذه الجزيئات خارجيًا قبل دخولها بمساعدة permeases ثم أفراز الإنزيمات الداخلية عليها endoenzymes واستخدامها كوحدات بناء أو مواد للتخمر وتعرف الإنزيمات الخارجية التى تفرزها البكتريا ذات المقدرة على هدم البروتين بـ proteolytic enzymes لتحويل هذه المركبات (polymeric) إلى مكوناتها (monomeric) قبل دخولها الخلية .

وتقسم هذه الإنزيمات إلى قسمين endopeptidases ، exopeptidases طبقًا لنوع تأثيرها على السلسلة الببتيدية (طرفيًا أو داخليًا) .



salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

وعلى سبيل المثال إنزيم pepsin (EC 3.4.23.1) يعتبر endopeptidases أما إنزيم serine dehydratase فهو exopeptidase حيث ينزع مجموعة الأمينو ويحول السيرين إلى بيروفات .

وتقسم exopeptidases إلى :

أ - amino peptidases التى تعمل على النهاية الطرفية ذات مجموعة الأمينو ($-NH_2$) وتعتمد على تنشيطها بالأيونات المعدنية مثل Fe^{2+} ، Mn^{2+} ، Mg^{2+} .

ب- Carboxy peptidases التى تحلل الببتيدات من ناحية مجموعة الكربوكسيل الطرفية ($-COOH$) .

وتعمل proteolytic enzymes على تكسير جزئ البروتين خارجيًا إلى البولى ببتيدات ، الأليجو ببتيدات ، الأحماض الأمينية ثم تقوم بهدم الأحماض الأمينية داخليًا بإحدى طريقين deamination أو decarboxylation . ونظراً لأنطلاق الأمونيا فإن عملية هدم المواد العضوية النيتروجينية (البروتين) يطلق عليها معدنه النيتروجين mineralization أو ammonification .

وتستطيع كثير من الميكروبا اللاهوائية أو الاختيارية هدم الأحماض الأمينية مفردة أو فى أزواج أو مرتبطة بمركبات أخرى غير نيتروجينية .

١.٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية المفردة Single amino acid metabolism

تتم عملية نزع مجموعة الأمين deamination فى البكتريا بعدة طرق تختلف حسب الإنزيمات التى يفرزها الميكروب والظروف البيئية .

١ - نزع الأمونيا بالأكسدة oxidative deamination والناتج أحماض كيتونية .

$$R-\overset{\overset{\large H}{|}}{\underset{\underset{\large NH_2}{|}}{C}}-COOH + {}^{1}/_{2}\,O_2 \rightleftharpoons R-\overset{\overset{\large O}{\|}}{C}-COOH + NH_3$$

أحماض كيتونية

فلو كان الحمض الأمينى هو الآنين فإن الناتج هو تراكم البيروفات .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢ - عدم التشبع desaturation deamination والناتج هو أحماض دهنية غير مشبعة .

$$R-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH \rightleftharpoons R-CH=CH-COOH+NH_3$$

أحماض غير مشبعة

٣ - نزع الأمونيا بالاختزال reductive deamination والناتج هو الأحماض الدهنية المشبعة ويقوم بهذا التفاعل الميكروبات اللاهوائية الحتمية والاختيارية فى وجود dehydrogenases .

$$R-CH_2-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH+2H^+ \rightleftharpoons R-CH_2-CH_2-COOH+NH_3$$

أحماض مشبعة

٤ - نزع الأمونيا بالتحلل المائى hydrolysis والناتج هو أحماض كحولية .

$$R-\overset{\displaystyle H}{\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{C}}}-COOH+H_2O \longrightarrow R-CHOH-COOH+NH_3$$

أحماض كحولية

٥ - تفاعل أستكلاند Stickland reaction ويشمل تفاعلى أكسدة واختزال لحمضين أمينين فى وقت واحد مع تكوين ٢ جزئ أمونيا .

$$R-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH+R-\underset{\displaystyle NH_2}{\underset{|}{CH}}-COOH \xrightleftharpoons{H_2O} R-CO-COOH+R-CH_2-CH_2-COOH+2\,NH_3$$

وقد أثبت ستكلاند سنة ١٩٣٥ التفاعلات والنواتج التالية :

alanine $\longrightarrow$ acetic acid + NH_3 + CO_2

glycine $\longrightarrow$ acetic acid + NH_3

proline $\longrightarrow$ α - amino valeric acid

كما أضاف Cohen - Bazine et al (1948) التفاعلات والنواتج النهائية التالية فى مثل *Cl. caproicum* ، *Cl. valerianum* .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

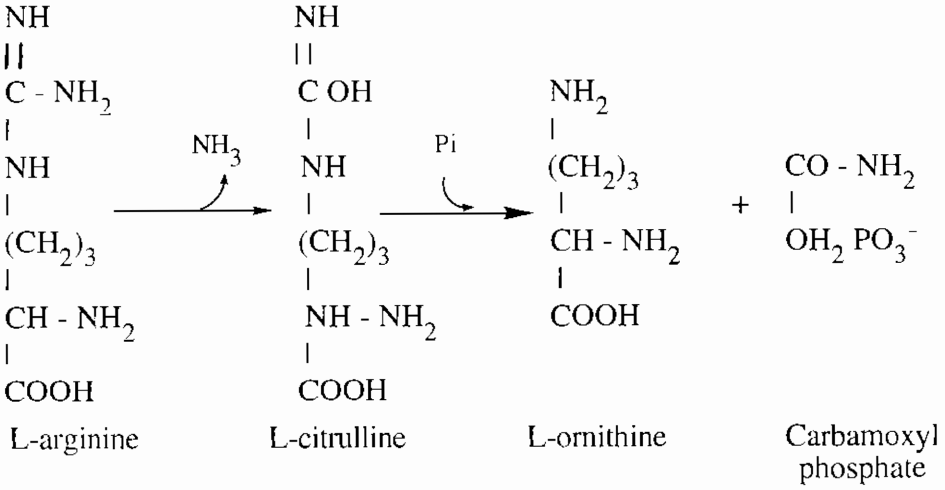
$$\text{valine} \longrightarrow \text{isobutyric acid} + CO_2$$

$$\text{leucine} \longrightarrow \text{isovaleric acid} + CO_2$$

$$\text{isoleucine} \longrightarrow \text{valeric acid} + CO_2$$

٩.٧.١.١ تحولات الأرجينين Arginine metabolism

حيث تحدث عملية نــــزع الأمونيا أولاً بواسطــــة إنزيــــم arginine deiminase (EC 3.5.3.6) ويتبعه تفاعل transferase فيتحول سترولين إلى أورنيثين والكربموكسيل فوسفات والإنزيم الذى يلامس هذا التفاعل هو ornithine carbamoyl transferase (EC 2.1.3.3) .



ويتبــع ذلك تفاعــل منتج لــلطاقة فــى وجود Carbamate kinase (EC 2.7.2.2) ويتكون ATP .

$$\begin{matrix} CO - NH_2 \\ | \\ OH_2\,PO_3 \end{matrix} + ADP \rightleftharpoons NH_3 + CO_2 + ATP$$

ومن الميكروبات التى تقوم بتحول الأرجينين *Cl. botulinum* ، *Halobacterium Salinarum* .

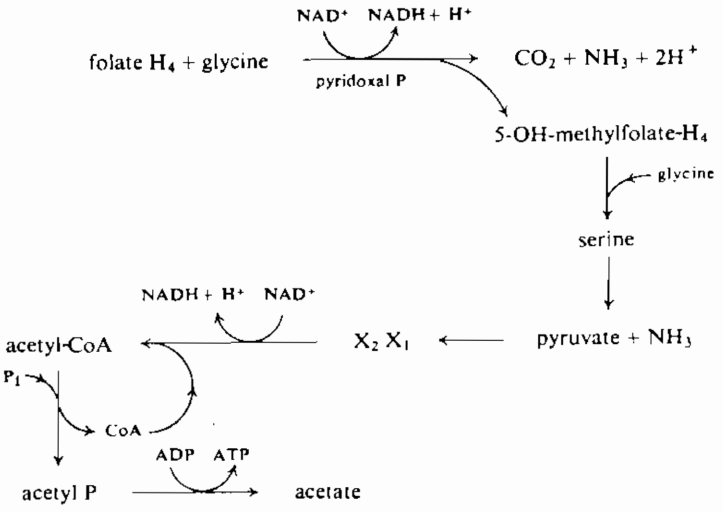
٩.٧.١.٢ تحولات الجليسين Glycine

الميكروبات اللاهوائية القادرة على تحويل الجليـــين هى *Diplococcus glycinophilus* ، *M. variabilis* ، *Micrococcus anaerobius* والمعادلة العامة للتحلل :

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

$$4\ Glycine + 2\ H_2O \longrightarrow 4\ NH_3 + 2\ CO_2 + 3\ CH_3 - COOH$$

ويحتوى metabolic pathway للجليسين فى ميكروب *Diplococcus* مركبات تراهيدروفلولات THF ، بيردوكسال فوسفات ، NAD+ ، الأسيتات والخطوة الأولى هى تفاعل أكسدة - اختزال حيث يتكون CO_3، NH_3 ، H_2 يعقبها دخول جزئ جليسين ثان.



شكل (١٥.٩) : تحولات الجليسين بواسطة الميكروبات اللاهوائية

ويتكون السيرين ثم يلى ذلك عملية نزع مجموعة الأمين deamination لتحويل السيرين إلى البيروفات .

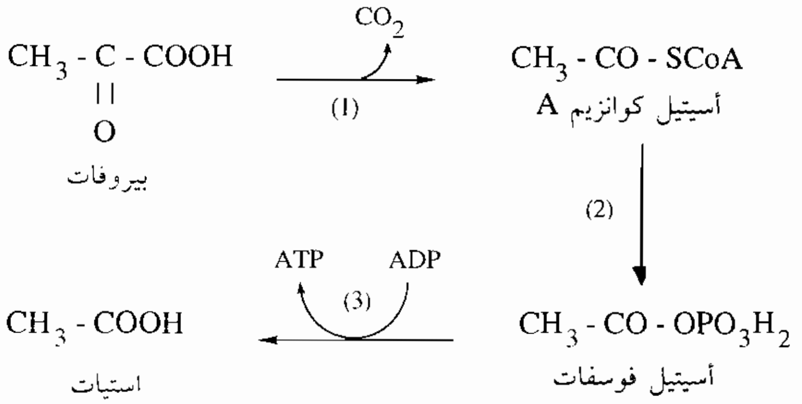
$$\underset{\text{serine}}{\begin{array}{l} CH_2 - CH - COOH \\ |\qquad\ \ | \\ OH\quad NH_2 \end{array}} \longrightarrow \underset{\text{puruvate}}{\begin{array}{c} CH_3 - C - COOH \\ \| \\ O \end{array}}$$

ويلى ذلك اختزال البيروفات إلى الأسيتات متضمنة Phosphoroclastic split مع تكوين أسيتيل كوانزيم A كمركب وسطى كما هو مبين بالمعادلات التالية :

والإنزيمات المشاركة هى حسب أرقامها :

1 - Carboxylase.
2 - Phosphate acetyl transferase (EC 2.3.1.8).
3 - acetate kinase (EC 2.7.2.1).

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



٣.١.٧.٩ تحولات السيرين Serine

' السـيرين إلى البيروفات بواسـطة البكتريا اللاهوائـية وذلك فى وجود Serine dehydratase (E‌‌‌ ..1.13) وهو متخصص للأيسومر L-serine ولكن يتفاعل أيضًا مع L-threonine .

$$CH_2OH - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH \longrightarrow CH_3 - CO - COOH + NH_3$$

سيرين   بيروفات

وفى هذه الحالة لابد من وجود إنزيم آخر لتحويل D-serine ، D-threonine .

٤.١.٧.٩ تحولات الثريونين Threonine

تقوم ميكروبـــــــات *Cl. propionicum* ، *M. aerogenes* ، *M. lactilyticus* ، *Cl. tetanomorphum* فى وجـود إنزيم threonine dehydratase (EC 4.2.1.16) بتحويل الثريونين وانتاج الفا أوكسو بيوترات مع أنطلاق الأمونيا .

$$CH_3 - CHOH - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH \longrightarrow CH_3 - CH_2 - CO - COOH + NH_3$$

ثريونين   (∝ - oxobutrate)

بينما يكـمل ميكروب *M. aerogenes* خطوة أخرى لتـكوين حمض البيوتـيريك فى وجود dehydrogenase .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

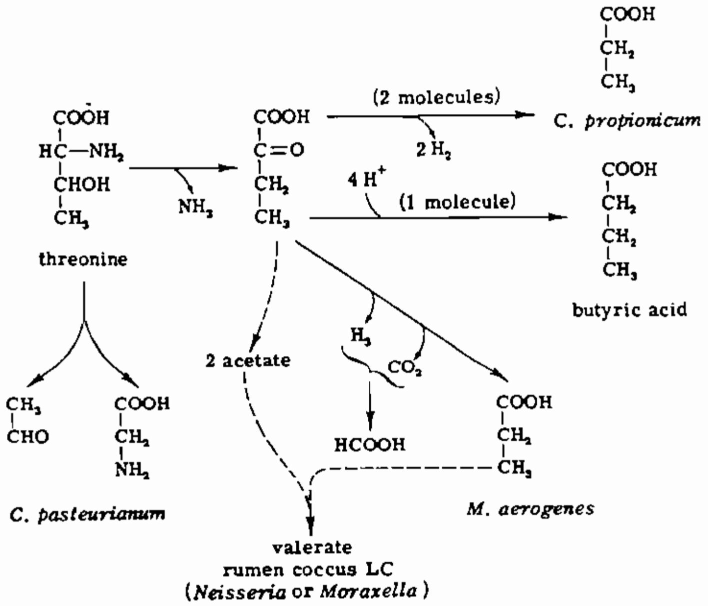
$$CH_3 - CH_2 - CO - COOH \xrightarrow{4H} CH_3 - CH_2 - CH_2 - COOH$$

∝- أكسو بيوترات   بيوتيريك

أما ميكروب *Cl. pasterianum* يستخدم إنزيم serine hydroxy methyl transferase (EC 2.1.2.1) لكي يشق الثريونين إلى جليسين والأسيتالدهيد .

$$\underset{\text{ثريونين}}{CH_3 - CHOH - \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH} - COOH} \longrightarrow CH_3 - CHO \text{ (أسيتالدهيد)} + \underset{\underset{NH_2}{|}}{CH_2} - COOH \text{ (جليسين)}$$

ويمكن إجمالى كل تفاعلات تحول الثريونين فى الرسم التالى :

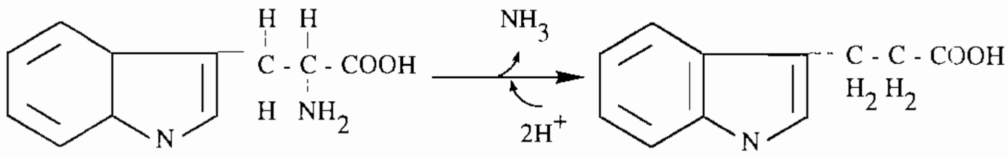


شكل (٩ . ١٦) : تصور عام لتفاعلات الثريونين بواسطة الميكروبات اللاهوائية

٥.١.٧.٩ تحولات التربتوفان Tryptophan

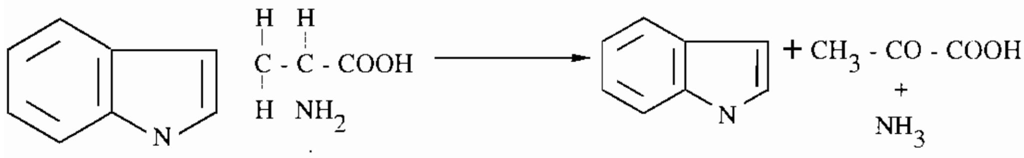
يستطيع ميكروب *Cl. sporogenes* تخمير التربتوفان ببطء مع تكوين أندول بروبيونيك والأمونيا .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



تربتوفان   حمض أندول بروبيونيك

وهذا التفاعل يلعب دوراً هاماً فى تقسيم بكتريا القولون وعدد من البكتريا يستطيع أفراز Tryptophanase (EC 4.1.99.1) الذى يكون البيروفات والأندول وتنطلق الأمونيا .



تربتوفان   أندول

٦.١.٧.٩ تحولات الليسين Lysine

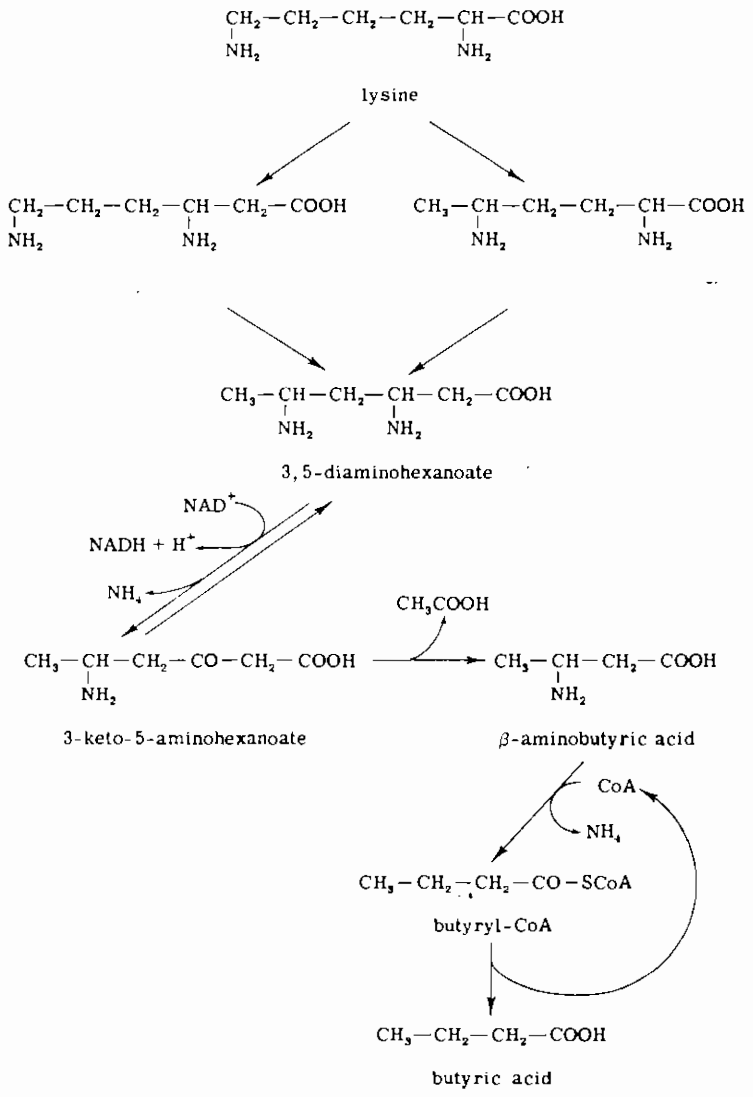
يستطيع ميكروب *Cl. sticklandii* استخدام الليسين كمصدر وحيد للكربون والطاقة .

والخطوة الأولى لمهاجمة اللسين هو تفاعل يعتمد على Cabamide حيث يحرّك مجموعة الأمين أما مـــن ذرة الكربون رقم ٦ إلى ٥ معطيًا 2,5 diaminohexanoate أو من الوضع ٢ إلى ٣ مـكونًا β - lysine مـستخدمًا الفاكـيتو جلوتاريك كعامل مساعـد (كما بالشكل ٩-١٧) .

ثم يتحول كـلا المركبين إلى 3,5 diamino hexanoate وتحدث عمليـة نزع الأمونيا بالأكسدة مكونًا ٣- كيتو -٥- أمينو هكسانوات فى وجود NAD^+ .

ويعقب ذلك thiolytic cleavage لتكوين الأسيتات وبيتا أمـينو جلوتارات ثم عملية deamination ثانـية فـى وجود CoA تؤدى لـتكـوين Butyryl-CoA وأخيراً عمـلية deacylation ينتج عنها حمض البيوتيريك كناتج نهائى مع تكوين ١ مول ATP .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

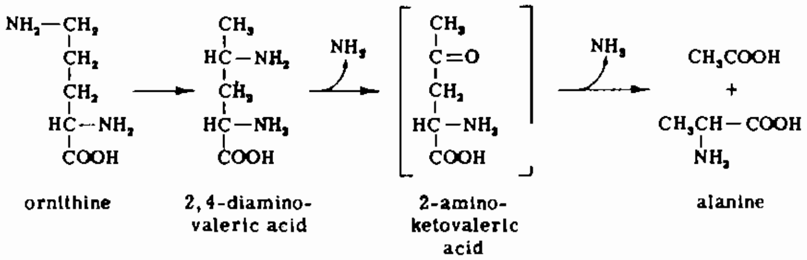


شكل (٩ . ١٧) : تحولات الليسين فى *Cl. sticklandii*

٧.١.٧.٩ تحولات الاورنيثين Ornithine

وهو يشبـــــه تحول الليســـين من حيث أن خطوة التفــاعل الأولى عبارة عن أنشقاق يعتمــــد على Cabamide بين ذرة الكربــــون رقم ٣ ، ٤ فى *Cl. sticklandii* ويتكون 2,4 diaminovalerate ثم يأخذ التفاعل مساره كما بالرسم ٩-١٨ .

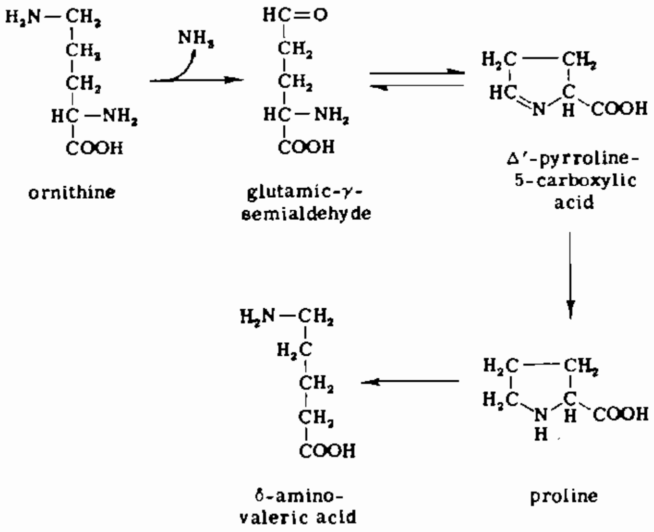
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



شكل (٩.١٨) : تحولات ornithine فى *Cl. sticklandii*

أما ميكروب *Cl. botulinum* فإن تفاعلات تحوله تختلف تمامًا عن سابقه حيث يتكون البرولين ، الفاءمينو فاليرات كمركبات وسطية .

ويتحول الأورنيثين أولاً إلى جلوتاميك سمى الدهيد الذى يكون فى حالة توازن مع Δ- pyrroline - 5- Carboxylic acid ويلامس هذا التفاعل إنزيم ornithine - δ - transaminase (EC 2.6.1.13) . والمركب الأخير يختزل إلى البرولين مع استخدام $NADH_2$ كمعطى للأيدروجين ثم يحدث كسر لحلقة البرولين يؤدى لتكوين أمينو فاليرات .



شكل (٩.١٩) : تحول الأورنيثين بواسطة *Cl. botulinum*

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٢.٧.٩ تحولات زوج من الاحماض الامينية Pairs of amino acids

تستطيع كثير من Clostridia النامية علـى خليط من الأحماض الأمينيـة إجراء تفاعل أكسدة – اختزال بين الأحماض الأمينية المناسبة أو أحماض أمينية مع مركبات غير نيتروجينية مناسبة ويعـرف هذا بتفاعل "Stickland" حيث لا يستـطيع حمض أميني بمـفردة التحول ولكن وجود زوج من الأحماض أحدهما يختزل والآخر يتأكسد فيحدث التحول سريعًا.

والبكتريا التـى تستخدم هذا النوع من التفاعل أغـلبها يتبع proteolytic clostridia مثل *Cl. acetobutylicum* ، *Cl. aerofoetidum* ، Cl. botulinum ، *Cl. butyricum* ، *Cl. caproicum* ، *Cl. sporogenes* ، *Cl. histolyticum* ، *Cl. sticklandii* .

وتختـلف ميكانيكية الـتفاعل طبقًا للأحـماض المشاركة فيه فـمثلاً الآنين يتأكسد بـينما الجليسين يختزل بينما فى تفاعل آخر قـد يختزل الآنين. ولذا تقسم الاحماض الأمينية إلى ٣ مجاميع حسب مستوى آكسدة واختزال الأحماض الكيتونية المقابلة لها .

١ – الأحماض الأمينية الأليفـاتية الأكثر اختزالاً من keto acids - ∝ (الآنين – ليوسين – أيزوليوسين – فالين) .

٢ – الأحماض الأمينـية الأليفاتية ذات مستـوى أكسدة مماثل keto acids - ∝ (سيرين ، ثريونين ، سيستين ، ميثونين ، ارجينيين ، سترولين ، اورنيثين) .

٣ – الأحماض الأمينية الأخرى ذات مستوى آكسدة أقل من keto acids - ∝ (هستدتين ، فينيل الآنين ، تربتوفان ، ثريوسين ، أسبارات ، جلوتاميك) .

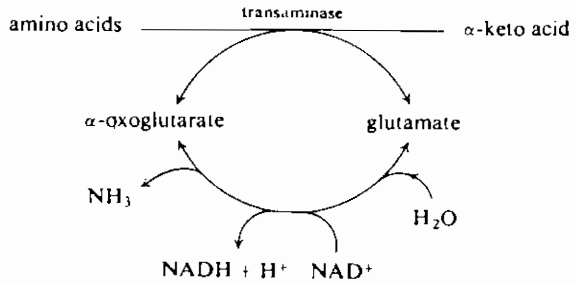
ويتم أكسدة الأحماض الأمنية عبر الأحماض الكـيتونية التى تحدث لها عملية نزع ك أ٢ decarboxylation بعد ذلك .

$$\underset{\text{amino acid}}{R-\underset{|}{\overset{}{CH}}(NH_2)-COOH} \longrightarrow NH_3 + \underset{\text{keto acid}}{R-\overset{}{C}(=O)-COOH} \longrightarrow CO_2 + R-COOH$$

وأصعب التفاعلات والتى لم تفسر تقنياتها بعد هى التى يشارك فيها أحماض المجموعة الأولى فـهى أما تـفاعلات نـزع الأمين بالأكـسدة oxidative deamination مباشرة مثل glutamic dehydrogenation أو نقل مجموعة الأمين transamination يعقبها نزع مجموعة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

الأمين بالأكسدة للحمض المتكون ويلامس هذا التفاعل glutamic dehydrogenase (EC 1.4.1.2) . أما فى ميكروب *Cl. saccharobutyricum* فإن أكسدة الآنين ، الفالين ، الليوسين لا تتم على حساب حمض أمينى آخر ولكن على حساب أوكسوجلوتارات (حمض غير نيتروجينى) .



شكل (٩ . ٢٠) : تفاعلات de- and transamination فى الميكروبات اللاهوائية

وقد وجد stickland سنه (1935) فى مستخلص خلايا *Cl. sporogenes* التفاعل بين الجليسين - الآنين ، البرولين - الآنين واستنتج المعادلة العامة التالية :

$$R - \underset{\underset{NH_3^+}{|}}{CH} - COO^- + 2\,R' - \underset{\underset{NH_3^+}{|}}{CH} - COO^- \longrightarrow$$

$$R - COO^- + CO_2 + 2R' - CH_2 - COOH + 3NH_4^+$$

وتشير الأبحاث الحالية أن تفاعل ستكلاند يتكون من عدد من الخطوات أولها تتضمن NAD^+ كمستقبل ايدروچين أولى فى وجود dehydrogenase المناسب وثانيها تتضمن إعادة أكسدة $NADH_2$ فى وجود حمض أمينى كمستقبل للألكترون بملامسة إنزيم reductase .

$$R - \underset{\underset{NH_3^+}{|}}{CH} - COOH + NAD^+ + H_2O \longrightarrow R - \underset{\underset{O}{||}}{C} - COO^- + NH_4^+ + NADH.H^+$$

$$R' - \underset{\underset{NH_3^+}{|}}{CH} - COO^- + NADH.H^+ \longrightarrow NAD^+ + R - CH_2 - COO^- + NH_4^+$$

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

والخطوة الأخيرة يمكن أن تكون مستقلة تمامًا عن خطوة الأكسدة الأولى. أما خطوة الأكسدة فعلى العكس فهى تستخدم multi enzyme system كما فى شكل ٩ - ٢١ الذى يوضح الميكانيكية العامة لتفاعل ستكلاند .

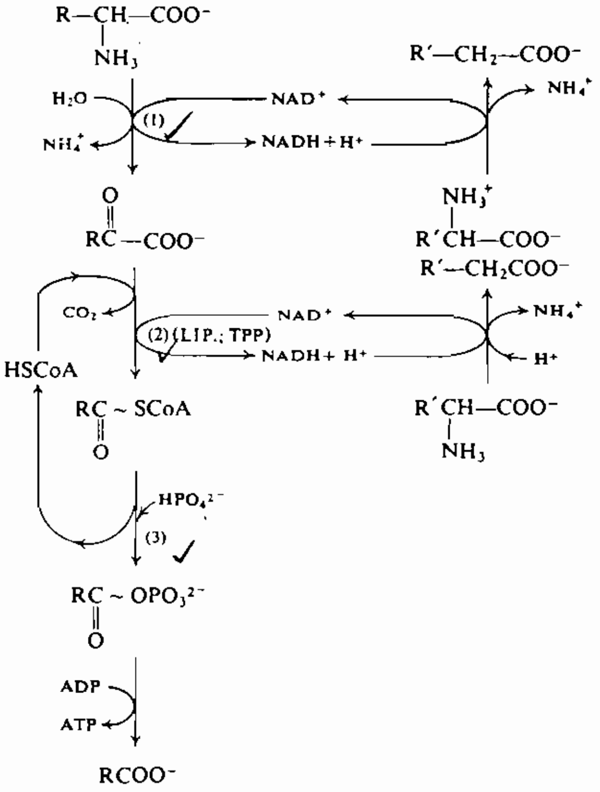
علمًا بأن الإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فى تفاعل ستكلاند هم :

١ - amino acid dehydrogenase system .

٢ - ∝ - Keto acid dehydrogenase system فى وجود lipoamide ، TPP ، HSCoA كعوامل مساعدة .

٣ - amino acid neductase system .

وتنتج الطاقة من تفاعلات phospho transferase عند مستوى مادة التفاعل مثل phosphcacetyl ⟵ acetate .



شكل (٩ . ٢١) : تفاعل ستكلاند Stickland والإنزيمات الرئيسية الثلاث المشاركة فيه

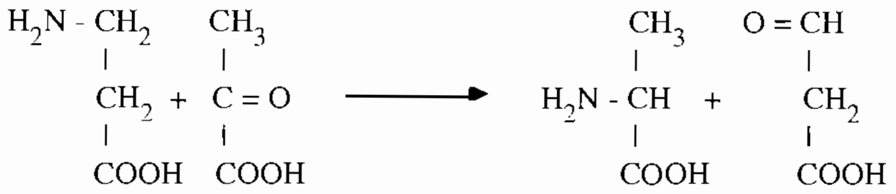
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

٣.٧.٩ تحولات الأحماض الأمينية مع أحماض كيتونية

١.٣.٧.٩ تحول الالآنين alanine

يستطيع ميكروب *Cl. propionicum* تحويل الالآنين إلى البروبيونيك مستخدمًا تفاعل ستكلاند وتلعب البيروفات دورًا وسطيًا هامًا فى دورة الهدم كما يلى :

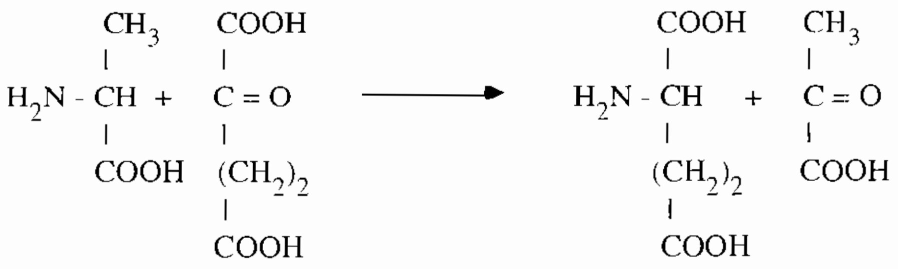
١ - نقل مجمـوعة الأمين لحمض β - alanine إلى البيروفـات لتكوين ∝ - alanine ، مالونات سمى الدهيد فى وجود إنزيم amino transferase (EC 2.6.1.18) .



β-alanine pyruvate ∝-alanine malonate semialdehyde

ويمكن استعادة مادتى التفاعل الأولتين بواسطة نظامين مختلفين كما هو مبين بشكل ٩-٢٢ :

٢- استعادة البيـروفات وذلك بعملية نقل مجموعة الأمـينو من الألفا الآنين إلى ٢- أوكسو جلوتارات لتكوين البيروفات والجلوتاميك .



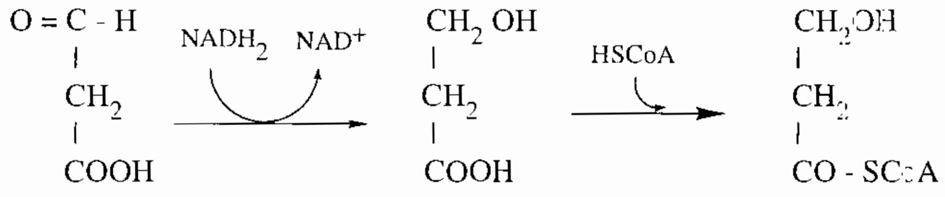
∝-alanine 2 oxoglutaric glutamat pyruvate

ثم أخيرًا وفـى وجود إنزيم glutamate DH (EC 1.4.1.2) تتأكـد الجلوتامات إلى أوكسوجـلوتارات على حسـاب اختزال NAD^+ إلى $NADH.H^+$ وبذلك تكـتمل الدورة الأولى من دورتى تحول β-alanine .

٣- استعادة β-alanine وتكوين حمض البروبيـونيك حيث تختزل $NADH.H^+$ الناتجة

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

من التفاعل السابق مركب «المالونات سمى الدهيد» إلى بيتا - هيدروكسى- بروبيونات
و لإنزيم المسئول هو (EC 1.1.1.59) hydroxy propionate dehydrogenase
والمركب الأخير يتحول فى وجود CoA إلى هيدروكسى بروبيونيل كوانزيم A .



مالونات سمى الدهيد — بيتا هيدروكسى بروبيونات — بيتا هيدروكسى بروبيونيل كوانزيم A

ويلاحظ أن CoA المطلوب لهذا التفاعل يأتى من تحلل البيروفات إلى أسيتات بواسطة هذا الكائن .

$$CH_3 - CO - COOH \xrightarrow{CO_2 \quad 2H^+} CH_3 - CO{\sim}SCoA \xrightarrow{CoA} CH_3 - COOH$$

ويستخدم $2H^+$ (من التفاعل السابق) فى اختزال هيدروكسى بروبيونيل كوانزيم A إلى أكريليل كوانزيم A والذى يسير فى اتجاهين مختلفين .

أ - تكوين بيتا - الآنيل كوانزيم A (β-alanyl CoA) بمساعدة إنزيم aminase (EC 4.3.1.6) ومنه يستعاد β-alanine بواسطة عملية acylation (تكوين الأسيتيل إنزيم A) بملامسة إنزيم CoA - transferase .

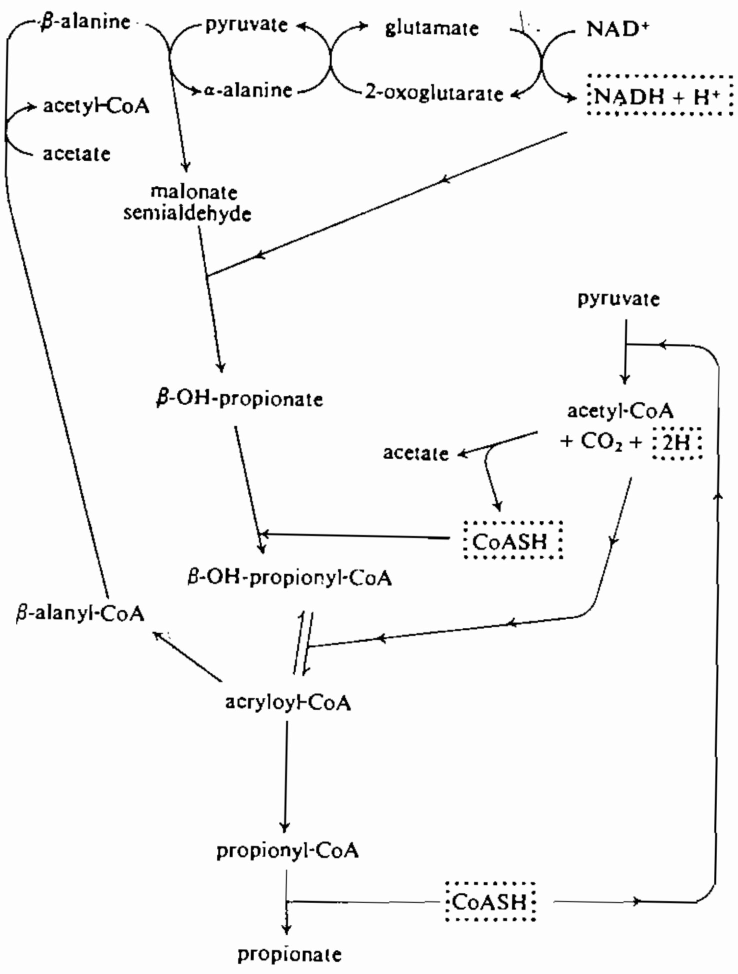
ب- يتحول إلى بروبيونيل كوانزيم A ثم البروبيونيك وهو يشبه التفاعل الذى تقوم به بكتريا حمض البروبيونيك propionibacteria .

وأهمية البيروفات فى سلسلة التفاعلات هذه تبرز فى الآتى :

١ - نزع مجموعة الأمينو من b-alanine بعملية transamination .

٢ - هدم dissimilation هيدروكسى بيوتيرات .

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

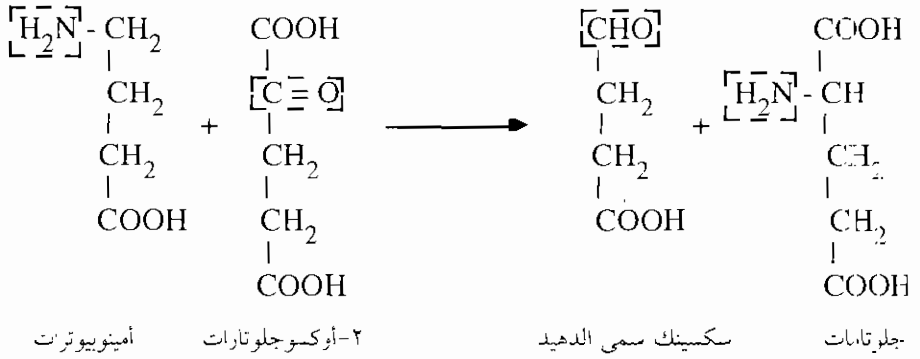


شكل (٩ . ٢٢) : تحولات الآنين بواسطة *Cl. propionicum*

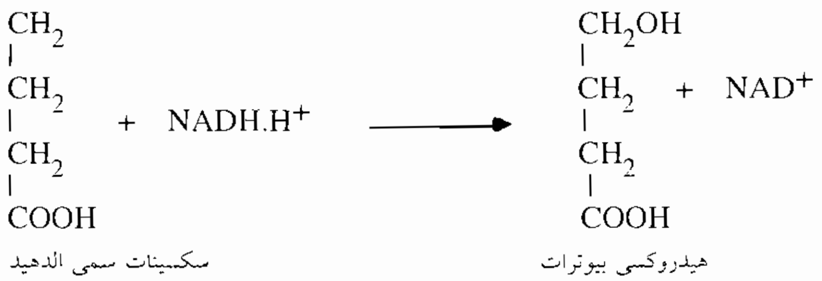
٢.٣.٧.٩ تحولات امينو بيوتيرات aminobutyrate metabolism

ويتميز ميكروب *Cl. aminobutyricum* بالقيام بذلك والخطوة الأولى عبارة عن تفاعل ستكلاند (أكسدة - اختزال) حيث يتحول أمينو بيوتيريك إلى سكسينك سمى الدهيد بملامسة إنزيم aminobutyrate aminotransferase (EC 2.6.1.19) كما يتضح من المعادلات التالية :

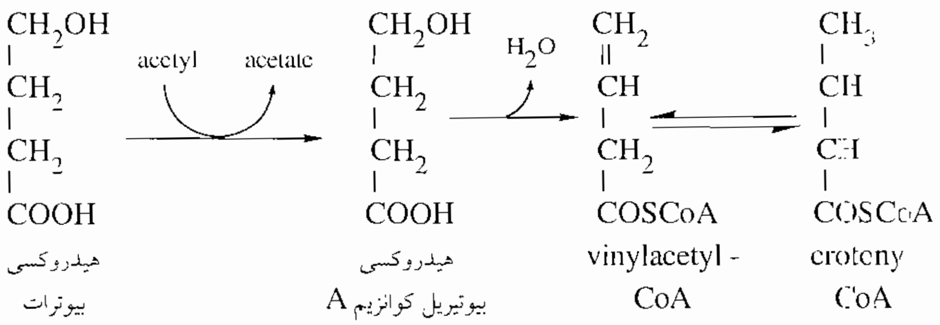
مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com



ثم يختزل السكسينات سمي الدهيد إلى هيدروكسي بيوتيرات بواسطة إنزيم Hydroxy butyrate DH في وجود $NADH.H^+$.



أما الجزء الثاني من التفاعل فيبدأ بتفاعل CoA transferase حيث يتحول هيدروكسي بيوترات إلى هيدروكسي بيوتيريل كوانزيم A وأسيتيل كوانزيم A إلى آسيتات .

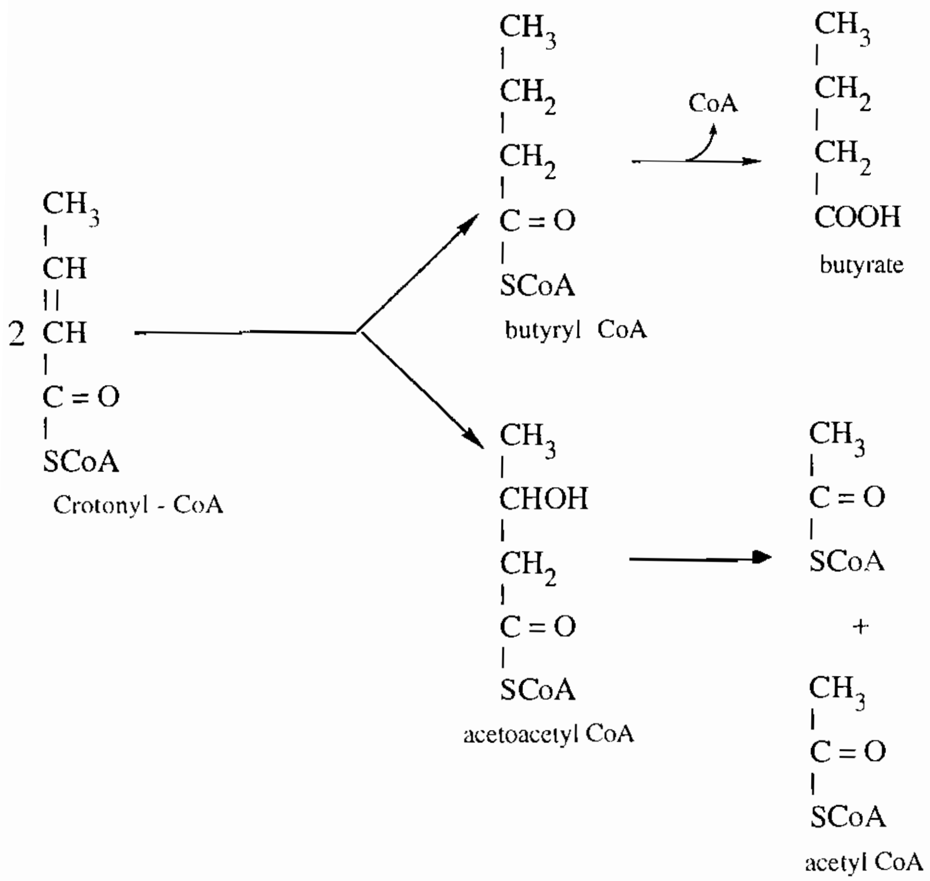


ثم يتكون المركب الغير مشبع فينيل أسيتيل كوانزيم A بتأثير إنزيم dehydrase وهو يوجد في توازن مع كروتونيل كوانزيم A بملامسة isomerases .

والمركب الوسطي Crotonyl - CoA تحدث له عملية dismutation حيث يختزل ١ مول إلى بيوتيريل كوانزيم A بينما يتأكسد مول آخر إلى آسيتو أسيتيل كوانزيم A

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

والإنزيم المسئول عن الاختزال هو butyryl - CoA DH (EC 1.3.99.2) والذى يتحول إلى الناتج النهائى (حمض البيوتيريك) بينما ينفصل الأسيتو أسيتيل كوانزيم A إلى ٢ مول أسيتيل كوانزيم A فى وجود acetyl - CoA transferase (EC 2.3.1.9) ويعاد دخول أسيتيل كوانزيم فى الدورة فى خطوة (CoA transferase) السابقة والطاقة الكلية الناتجة هى ١ مول ATP لكل ٢ مول أحماض أمينية تم تخمرها ومول آخر من تحول Crotonyl - CoA إلى butyryl - CoA .



مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين عويد الهلالي

https://scholar.google.com/citations?user=t1aAacgAAAAJ&hl=en

salamalhelali@yahoo.com

https://www.facebook.com/salam.alhelali

https://www.facebook.com/groups/Biothesis/

https://www.researchgate.net/profile/Salam_Ewaid

07807137614

أسئلة للمراجعة

١ - ما المقصود باصطلاح «التخمر» Fermentation ؟

٢ - أشرح كيفية تكون حمض البروبيونيك بواسطة جنس *Propionibocterium* .

٣ - ماهى أهمية تفاعل transcarboxylation المكتشف بواسطة Swick & Wood, 1961 ؟

٤ - أشرح الأنواع المختلفة لتحلل البيروفات تحت الظروف اللاهوائية .

٥ - ما لفرق بين التحول المباشر والغير مباشر لـ ك أ إلى الأسيتات ؟

٦ - أشرح الأسباب الأساسية فى تقسيم Enterabactericeae إلى ٣ مجاميع رئيسية تبعًا لتفاعلات الإيضية ونواتج التفاعل .

٧ - أشرح phosphoroclastic split للبيروفات .

٨ - أشرح نوعية التفاعل formic hydrogenlyase وأهميته فى تقسيم البكتريا .

٩ - ماهو الفرق بين تكوين السكسينات لاهوائيًا بواسطة *Cl. kluyveri* ، ومجموعة Enterobacteria ؟

١٠- ماهو تفاعل Voges - Proskauer ؟

١١ - أشرح الطرق المختلفة المؤدية لتكوين البيروفات من الأسيتوين .

١٢- ما المقصود بـ Pasteur effect ، Cabtree effect وماهو الفرق بينهما ؟

١٣ - ما الفرق بين Homo - and Heterofermentation فى بكتريا حمض اللاكتيك ؟

١٤ - أشرح تخمر malolactic .

١٥- ما هو الفرق بين نظام انتقال الالكترون فى lactic bacteria ، *E. coli* ؟

١٦- أشرح الفروق الأساسية بين التحولات الهوائية والتخمر للأحماض الأمينية .

١٧- أشرح تفاعل ستكلاند ودور الإنزيمات الثلاث الرئيسية فيه ؟

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

١٨- ما المقصود بعملية dismutation للمركب الوسطى Crotonyl - CoA ؟

١٩- قارن فى جدول بين الميكروبات والإنزيمات المشاركة فى التفاعلات ونواتج التحول لكل من الارچينين - جليسين - السيرين - الثريونين - الليسين .

٢٠- أذكر مثالاً لتحول زوج من الآحماض الامينية وآخر لتحول أحد الأحماض الامينية المفردة مع حمض كيتونى مع ذكر الميكروبات التى تقوم بالتفاعل والإنزيمات المشاركة فيه .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

المراجع

1 - Allen, S.H.G., Kellermeyer, R.W., Stjernholm, R. and Wood, H. G. (1964). Purification and properties of enzymes involved in the propionic acid fermentation. J. Bacteriol. 87 : 171.

2 - Barker, H. A. (1956). "Bacterial Fermentation" CIBA lectures in Microbial chemistry. Wiley, New York.

3 - Barker, H. A (1961). Fermentation of nitrogenous organic compounds in "The bacteria" (I.C Gunsalus and R. Y. Stanir, eds) Vol. 2 : 151. Academic Press, New York.

4 - Beck, W. S. and Ochoa, S. (1958). Metabolism of propionic acid in animal tissues. J. Biol. Chem. 232 : 931.

5 - Buckel, W. and Barker, H. A (1974). Two pathways of glutamate fermentation by anaerbic bacteria. J. Bacteriol. 117 : 1248.

6 - Chase, T. Jr., and Rabinowitz, J.C. (1968) Role of pyruvate anc S - adenosyl methionine in activating the pyruvate - formate lyase of *E. coli*. J. Bacteriol. 96 : 1065.

7 - Collins, E. B., and Bruhn, J. C. (1970). Roles of acetate and pyruvate in the metabolism of *strepococcus diacetilactis*. J. bacteriol. 103 : 541.

8 - Dainty, R. H. and Peel, T. L. (1970). Biosynthesis of amino acids in *Cl. pasterianum*. Bioehem. J. 117 : 573.

9 - Davis, T. G. (1960). The lactobacilli. Progr. Ind. Microbiol. 2 : 3.

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

10- Doelle, H. W. (1975). "Bacterial metabolism" 2nd Ed. Academic press. New York.

11- Dolin, M. (1961) Survey of microbial electron transport system. In "The bacteria" (I. C. Gunsalus and R. Y. Stainer, eds). Vol. 2 : 319. Academic press, New York.

12- Dyer, T. K and Costilow, R. N (1968) Fermentation of ornithine by *Cl. stricklandii*. J. Bacteriol. 96 : 1617.

13 - Faust, P. J. and Vandemart, P. J. (1970) phosphorylation coupled to $NADH_2$ oxidation with fumarate in *Streptococus faecalis*. Arch. Biochem. Biophys. 137 : 392.

14- Flesch, P. (1968). Morphologie, Stoffwechelphysiologie und Characterisierung der Malic - Enzym - Aktiviat L-Äpfelsäure - abhanender Bakterien . Arch. Mikrobiol. 60 : 285.

15- Garive, E. I. (1969). Lactic dehydrogenase of strains of genus Leuconostoc. T. Gen. Microbiol. 58 : 85.

16- Goldfine, H. and Stadtman, E. R. (1960) propionic acid metabolism. J. Biol. chem. 235 : 2238.

17- Gunsalus, I. C., Horecker, B. L. and Wood W.A (1955). Pathways of carbohydrate metabolism in microorganisms. Bacteriol. Rev. 19 : 79.

18- Hardman, J. K and Stadtman, T. C. (196?) Metabolism of ω - amino acids III. Mechanism of conversion of amino butyrate to hydroxy butyrate by *Cl.aminobutyricum*.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

19- Hartman, R. E. (1970) CO_2 fixation by extracts of *streptococcus faecalis* var. Liquefaciens. J. Bacteriol. 102 : 341.

20- Hetland, P., Bryn, K. and Stormer, F. C. (1971). Diacetyl (acetoin) reductase from *Aerobacter aerogenes*. Evidence for multuple forms of the enzyme. Eur. J. Biochem. 20 : 206.

21- Johns, A.T. (1951) The mechanism of propionic acid forrmation by propionobacteria. J. Gen. Microbiol. 5 : 337.

22- Klein, S. M. and sagers, R. D. (1966) Glycine metabolism. J. Biol. Chem. 241 : 206.

23- Krebs, H.A. and Eggleston, L. V. (1941) Biological synthesis of oxaloacetate from pyruvate and CO_2. Biochem. J. 35 : 676.

24- Lamanna, C. and Mallett, M.F. (1965) "Basic Microbiology - its biological and chemical background". Williams & Wilkins Baltimone, Maryland.

24- Mitruka, B. M. and Costilow, R.N (1967) Arginine and ornithine catabolism by *Cl. botulinum*. J. Bacteriol. 93 : 295.

25- Peynond, E., Lafon. Lafourcude, S. and Guimberteau, G. (1956) - L (+) - lactic acid and D (-) lactic acid in wines. Amer. J. Enol. Viticult 17 : 302.

26- Poston, T. M. kuratomi, k and stadtman, E. R. (1966). The conversion of CO_2 to acetate. J. Biol. chem. 241 : 4209.

27- Rainbow, C. and Rose, A. H. (1963). "Biochemistry of industrial microorganisms. Academic Press. New York.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

28- Schlegel, H. G. (1986) : General Microbiology 6 th Ed. Cambridge Univ.. Press. Cambridge, London.

29- Stadtman, E. R. (1953). The CoA - transferase system in *Cl. kluyveri*. J. Biol. chem. 203 : 501.

30- Stickland, L. H (1935). The oxdation of alanine by *Cl. sporogenes*. Biochem. J. 29 : 288.

31-Stickland, L. H. (1935). The reduction of glycine by *Cl. sporogenes*. Biochem J. 29 : 896.

32- Swick, R.W. and Wood, H. G. (1960) the role of transcarboxylation in propionic acid fermentation. Proc. Nat. Acad. Sci. 46 : 28.

33- Thauer, R. K. (1971). CO_2 - reduction to formate in *Cl. acidi - urici*. J. Bacteriol. 114 : 443.

34- Wood, W. A (1961). Fermentation of carbohydrates and related compounds. In "The bacteria". (I. C. Gunsalus and R. Y. Stanier, eds) vol. 2 : 59. Academic press. New York.

salamalhelali@yahoo.com مع تحيات د. سلام حسين الهلالي

نبذة عن المؤلف

* من مواليد القاهرة فى ١٩٥٢/٨/١ .
* حصل على بكالوريوس العلوم الزراعية - تخصص اراضى - بمرتبة الشرف من كلية الزراعة - جامعة عين شمس - فى يونيو ١٩٧٤ .
* حصل على ماجستير العلوم الزراعية - تخصص ميكروبيولوچيا زراعية - من جامعة عين شمس فى يوليو ١٩٧٨ .
* حصل على دكتوراه العلوم البيولوچية - تخصص ميكروبيولوچيا اراضى من جامعة هوهنهايم - شتوتجارت - المانيا فى يوليو ١٩٨٦ .
* تدرج فى وظائف هيئة التدريس بقسم الميكروبيولوچيا بكلية زراعة عين شمس : معيدا (أكتوبر ١٩٧٤) - مدرس مساعدا (اكتوبر ٧٨) مدرسا (سبتمبر ١٩٨٦) استاذا مساعدا (يناير ١٩٩٢) .
* مبعوث للحصول على الدكتوراه من المانيا الغربية فى الفترة من اغسطس ١٩٨١ إلى أغسطس ١٩٨٦ .
* باحث زائر بمعهد معالجة مياه الصرف والمجارى بجامعة شتوتجارت فى الفترة من مارس ١٩٨٧ - فبراير ١٩٨٨ ومن يوليو - سبتمبر ١٩٩٠ بمنحة من هيئة التبادل العلمى الالمانية (DAAD) .
* باحث زائر بالمعمل القومى لابحاث التربة بولاية ايوا الامريكية فى الفترة من نوفمبر ١٩٩١ - ابريل ١٩٩٢ بمنحة امريكية .
* عضو بجمعية الميكروبيولوچيا الأمريكية برقم عضوية ٥٥٠٣٨٠٦١ .
* عضو بجمعية الميكروبيولوچيا التطبيقية المصرية .
* مستشار محافظة القليوبية للبيئة (قرار وزارى رقم ٥٨٢ لسنة ١٩٩١) .
* عضو بلجنة التعليم والبحث العلمى بالأمانة العامة للحزب الوطنى .
* شارك فى العديد من المؤتمرات الدولية والمحلية بابحاث منشورة وله ابحاث عديدة منشورة فى العديد من المجلات العلمية العالمية والمحلية .
* متزوج وله بنتان وولد .

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

رقم الأيداع : ١٤٣٢٥ / ٩٧

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com

عــربيــة للطباعة والنشر

7 & 10 شارع السلام أرض اللواء المهندسين

تليفون : 3256098 - 3251043

مع تحيات د. سلام حسين الهلالي salamalhelali@yahoo.com