أستاذ المادة : أ.م.د. آمال كاظم غضبان

الطرق التي تسلكها الاحياء المجهرية الصناعية
خلال ايض المركبات العضوية

إن الهدف الرئيسي من الفعالية الحيوية للكائن المجهري هو إنتاج كائن مجهري آخر، لذا يفضل المختص في مجال االتقانات الاحيائية هذا الاتجاه اذا كانت الغاية من عملية الانتاج هي الخلايا (الكتلة الحيوية)، أما إذا كانت الغاية هي إنتاج المنتوج المرغوب فإن المختص يحاول توجيه الكائن المجهري لانتاج المنتوجات المرغوبة، وإن عملية نمو الكائن المجهري وإنتاجه منتوجات مرغوبة ترتبط بعملية الأيض (الميتابولزم) Metabolism وهي عبارة عن فعاليتين متداخلتين ومختلفيتين هما عملية البناء Anabolism وعملية الهدم **Catabolism**. بالنسبة لعملية البناء لاتتضمن فقط بناء مكونات الخلية الرئيسية (البروتينات ،الكاربوهيدرات ،الدهون ،الاحماض النووية وغيرها) بل تتضمن بناء مركباتها التمهيدية الوسطية Intermediate precursors مثل الاحماض الامينية والبيورين والبرميدين والاجماض الدهنية والسكريات المختلفة وفوسفات السكر .إن هذه العمليات لاتحدث بصورة تلقائية بل تحتاج الى طاقة ، اماعمليات الهدم فهي تجهز الطاقة لأغلب الاحياء المجهرية وأبسط مثال لعمليات الهدم هو تحلل الكاربوهيدرات الى CO_2 وماء.

عملياً يوجد نوعين من الكائنات الحية أحدهما يقوم بعمليات الأيض هوائياً Aerobically باستخدام الاوكسجين والثاني يقوم بالأيض تحت الظروف غير الهوائية أي بغياب الاوكسجين Anaerobically.

إن تفاعل مركبات الكاربون المختزلة مع الاوكسجين لإعطاء CO_2 وماء يكون مصحوباً بإطلاق حرارة أو طاقة كبيرة exothermic وبذلك يتمكن الكائن الهوائي من الموازنة بين استخدام كمية قليلة نسبياً من المادة الخاضعة substrate لعملية الهدم والحفاظ على مستوى معين من البناء أي النمو. لاتتناسب عمليات تحويل المادة الخاضعة في الكائنات اللاهوائية مع الانتاج الواطئ نسبيا من الطاقة لذا يجب هدم نسبة كبيرة من المادة الخاضعة للحفاظ على مستوى معين من النمو. يمكن ملاحظة الفرق بشكل أكثر وضوحاً في الكائنات اللاهوائية اختيارياً Facultative anaerobic مثل خميرة الخبز *S. cerevisiae* اذ يمكنها العيش في كلا الظرفين اي تتمكن الخميرة في الظروف الهوائية من انتاج CO_2 وماء وانتاج عال نسبياً من الخلايا بينما في الظروف اللاهوائية يكون نموها اي انتاج الخلايا واطئاً نسبياً يرافقه تحويل عال من السكر الى كحول الايثانول وغاز CO_2.

الهدم والطاقة Catabolism and energy

إن الربط بين عملية الهدم والبناء يعتمد على جعل عمليات الهدم المختلفة تقود تخليق الى مواد التفاعل المختلفة العدد والتي تقود بالمقابل جميع تفاعلات البناء. ومن أهم هذه المركبات الوسطية مركب **ATP** (ثلاثي فوسفات الادينوسين) Adinosin triphosphate وهومركب عالي الطاقة والآصرة التي يحتويها هي لامائية وتستعمل الطاقة الكامنة الناتجة من التحلل المائي لتلك الاصرة استعمالاً مباشراً اوغير مباشر لسد احتياجات الطاقة اللازمة لتكوين الأواصر في عمليات البناء. لذلك عند استخدام مركب **ATP** من قبل الكائن في عمليات التخليق الحيوي فانه يتحول الى مركب **ADP** أو**AMP**. وقد يستعمل مركب **ADP** الذي لايزال يحتوي آصرة ذات طاقة عالية في إنتاج **ATP** بواسطة انزيم adenylate kinase.

تحدث تفاعلات الفسفرة التي تعتبر شائعة في الخلايا الحية بواسطة مركب **ATP** ويكون المركب المفسفر أكثر قابلية على التفاعل من المركب الاصلي.

مسارات الهدم Catabolic pathways

1- الكلوكوز والكاربوهيدرات الأخرى (مسار السكر السداسي ثنائي الفوسفات)

Hexose diphosphate pathway

يعد مسار السكر السداسي ثنائي الفوسفات hexose diphosphate pathway ومسار السكر السداسي احادي الفوسفات hexose monophosphate pathway من اهم المسارات في تمثيل السكر في معظم الخلايا وعادة تحدثان سوية مما يشكلان حلقة وصل مهمة في عمليات البناء .ويطلق على مسار سكرالكلوكوز ثنائي الفوسفات بطريق امبدن مايرهوف - Embden meyerhof أومسار تحلل الكلوكوز (الكلايكوليسيز) glycolysis pathway

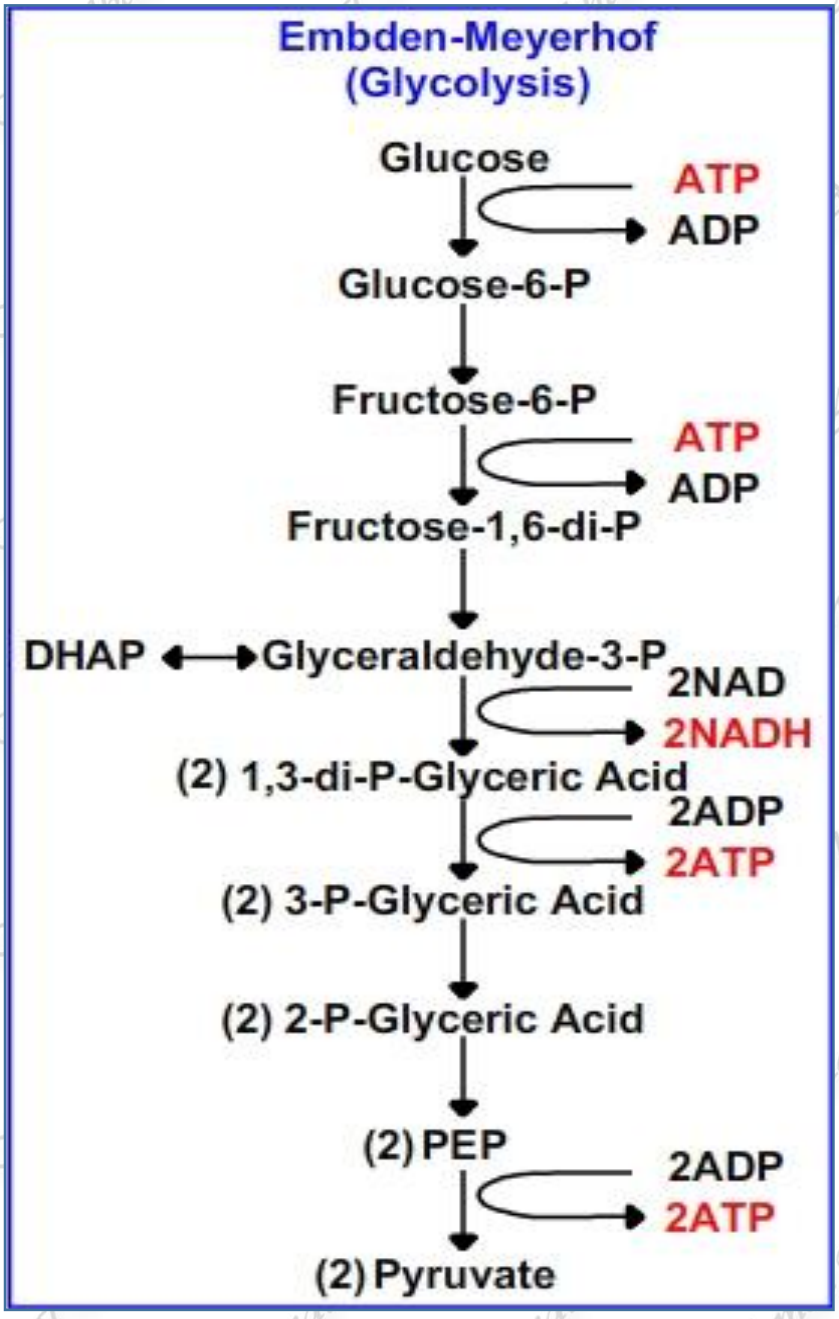
يتحول الكلوكوز في المسار الى البايروفيت دون ان يفقد كاربون ويختزل جزيئتين من المرافق الانزيمي نيكوتين آمايد أدنين ثنائي النيوكليوتيد Nicotinamide adenine dinucleotide **(NAD^+)** الى الصيغة المختزلة **NADH** ويحرر جزيئتين من **ATP.** ويعد البيروفيت pyruvate الناتج من هذا المسار بمثابة مصدر للمركبات التمهيدية التي تستعمل في عمليات البناء، كما يستعمل ايضاً مادة خاضعة لعملية الأكسدة في الكائنات الهوائية. اما في الكائنات غير الهوائية فيستعمل البايروفيت او منتجاته كعاملا لاعادة اكسدة re-oxidizing agent مركب **NADH .**

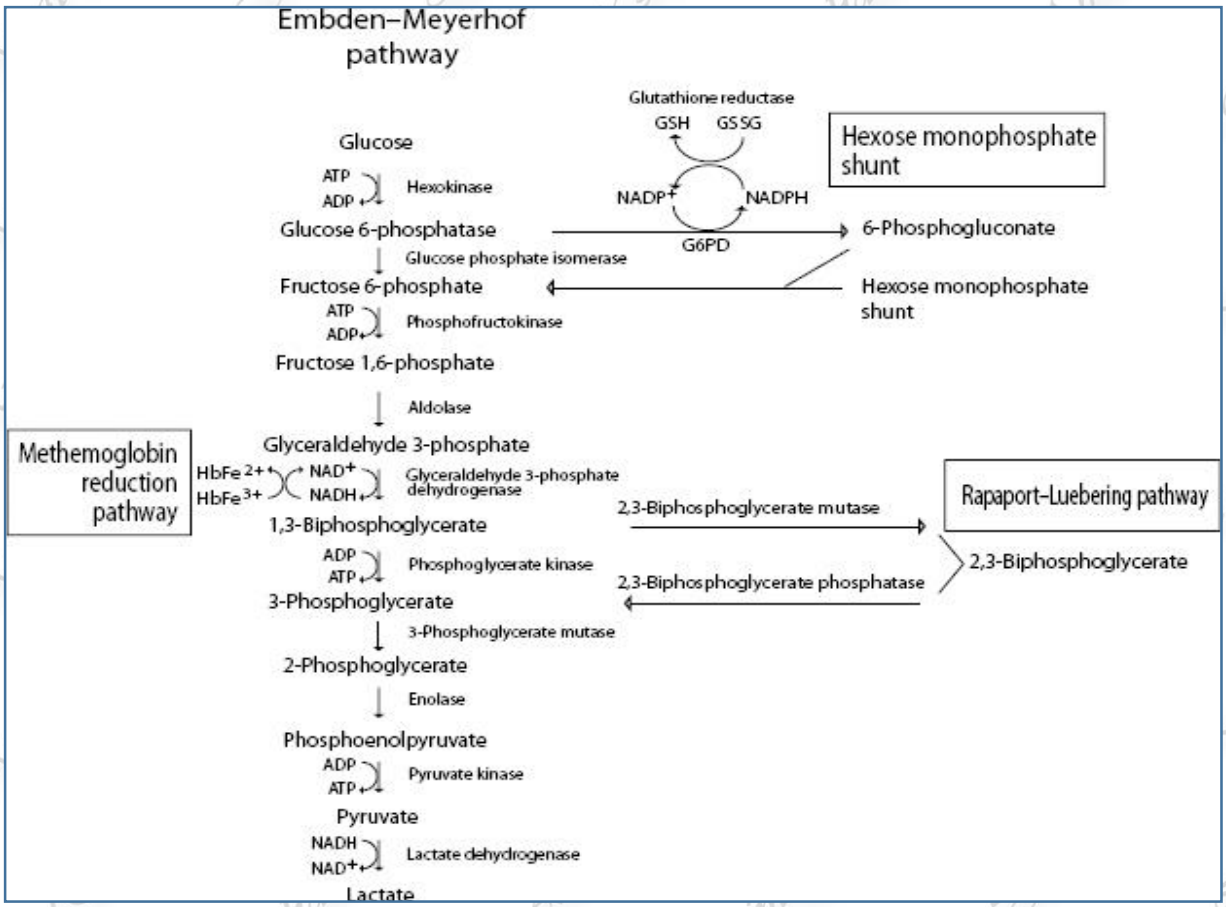
إن جميع تفاعلات مسار إمبدن – مايرهوف هي عكسية ماعدا تفاعل فسفرة الكلوكوزوفسفرة الفركتوز**6**-فوسفات fructo 6-phosphate وتحول فوسفوإينول بايروفيت إلى بايروفيت. ويلاحظ ان التحولات تشمل عمليات اكسدة يكون محرر الالكترونات ومستلمها مركب عضوي لذا نلاحظ ان العديد من المصادر تطلق على هذا المسار بتخمر الكلوكوز وقد تتاكسد كلياً جزيئتي البروفيت المتحررة الى CO_2 وماء.

ويؤيض حوالي **66-80%** من الكلوكوز من خلال مسار إمبدن مايرهوف أما الباقي فيؤيض عن طريق فوسفات السكر الخماسي .

إن الخطوة التي تسيطر على تحديد نسبة الكاربون التي تذهب الى كل طريق توجد عادة في مسار امبدن – مايرهوف عند فسفرة الفركتوز **6**-فوسفات الى فركتوز **6،1**ثنائي الفوسفات والتي تحفزبالانزيم (**PFK**) فوسفوفركتوكاينيز لكون البنية الجزيئية لهذا الانزيم على هيئة تسمح بتغير فعاليته التحفزية تبعاً للوضع الأيضي السائد في الخلية، اذ تزداد فعاليته عند حاجة الخلية الى مزيد من الطاقة وتقل فعاليته في حالة وجود كمية كافية من الطاقه أو من المنتجات الايضية ثلاثية الكاربون.

ويعد مسار امبدن مايرهوف الطريق الأساسي الذي تسلكه خميرة *S.cerevisiae* وبكتريا *Propionibacterium* ومجموعة البكتريا متجانسة التخمر Homofermentative .

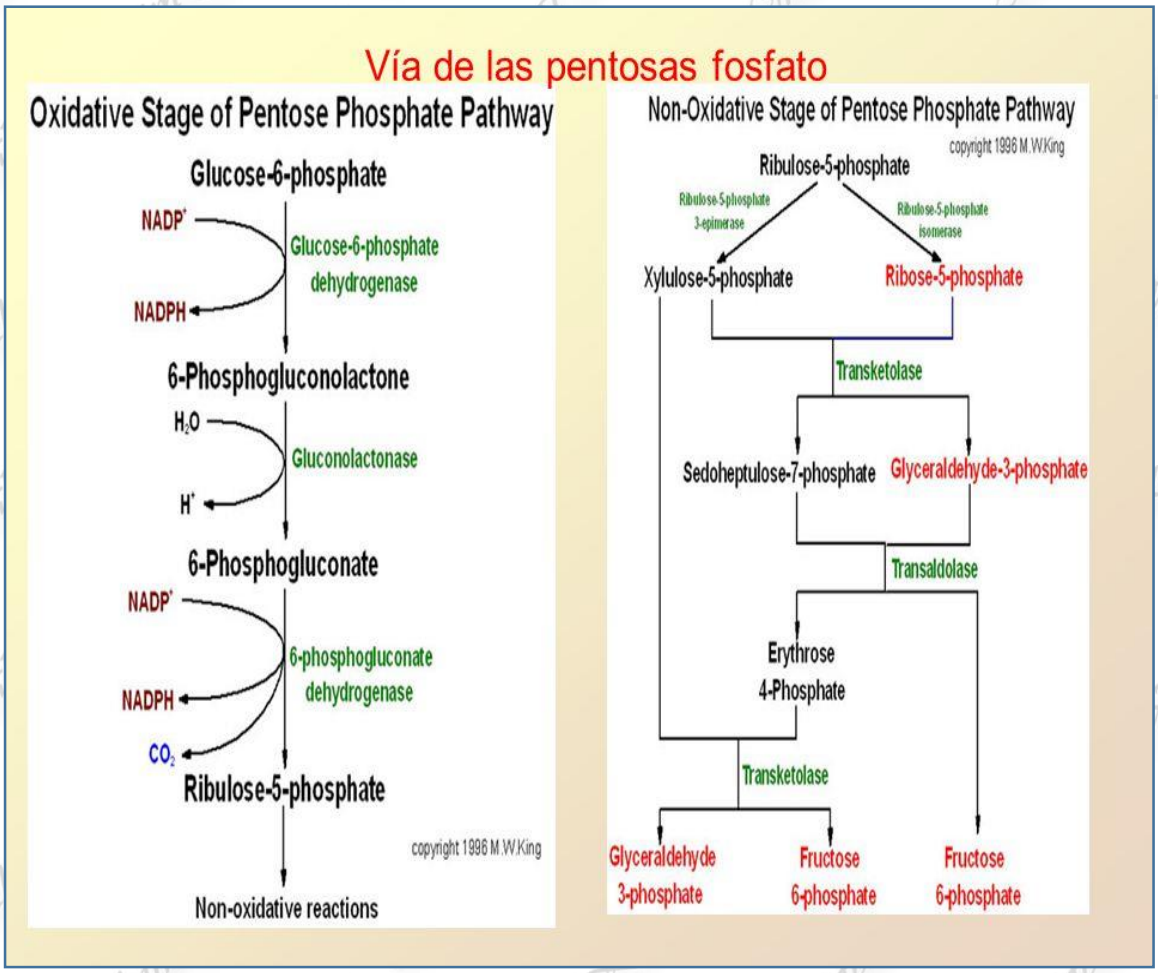




2-مسار فوسفات السكر الخماسي Hexose monophosphate (Pentose phosphate)

مسار السكر السداسي أحادي الفوسفات والذي يعرف أيضاً بمسار فوسفات السكر الخماسي Pentose phosphate هو عبارة عن أكسدة الكلوكوز إلى سكرخماسي وثنائي اوكسيد الكاربون وتختزل جزيئتين مفسفرة **($NADP^+$)** إلى **(NADPH)** . يختلف الدور الذي يقوم به كل من **$NADH/NAD^+$** و **$NADP^+$ / NADPH** ، إذ يقوم **NADH** بوظائف في تفاعلات جهد الاختزال redox التي لها علاقة بالطاقة . أما **NADPH** فإنه يستعمل استعمالاً رئيسياً في خطوات الاختزال لعمليات البناء.

تتوازن فوسفات السكر الخماسي بصورة حرة مع بقية فوسفات السكر الاخرى والتي تحتوي من **3-7** ذرات كاربون من خلال سلسلة من التحولات المتداخلة العكسية .كما تشابه فوسفات السكرالثلاثي triose p. تلك التي تكونت خلال تحلل السكر(الكلايكوليسيز) والتي يمكن ان تعيد تحرير السكر السداسي ثنائي الفوسفات من خلال قلب اوعكس خطوة الانشقاق cleavage في تلك السلسة المتعاقبة. ويعد فوسفات السكر الرباعي tetrose phosphate ذا اهمية بوصفه مادة بناء تمهيدية للاحماض الامينية الأروماتية، وتستخدم فوسفات السكر الخماسي في تخليق الاحماض النووية .



3-مسار الفوسفوكيتوليز

تعد الانزيمات الخاصة لمسار فوسفات السكر الخماسي ضرورية لهذا المساروذلك لانتاج السكريات الرباعية والخماسية. والانزيم المهم الاخر هو فوسفوكيتوليزالذي يعمل (قد يكون اكثر من انزيم)على فوسفات السكر الخماسي أوالسداسي لإنتاج فوسفات الأستيل مع إما الكليسرالديهايد الذي يحتوي على مجموعة فوسفات في الموقع الثالث (glyceradehyde 3-phosphate) أو أرثروز الحاوي على فوسفات في الموقع الرابع (erythrose 4-phosphate)، ويعتمد ذلك على استعمال سكر خماسي أو سداسي. هذه الانزيمات توجد أصلاً في بكتريا حامض اللاكتيك العصوية *Lactobacillus* غير متجانسة التخمر وبكتريا حامض الخليك *Acetobacter* ، اذ تقوم مقام مسار أمدن – مايرهوف وقد لاتتحول فوسفات الاستيل الناتجة الى خلات أو إيثانول . وقد وجد حديثاً أن أنزيم فوسفوكيتوليز يوجد بشكل أنزيم مستحث induced في أغلب الخمائر عندما تنمو هوائياً على الزايلوز اذا كان المصدر الوحيد للكاربون اذ يحول الزايلوز عن مسار الزايليتول

xylitol إلى زايلولوز الذي يدخل مسار الفوسفوكيتوليز على هيئة زايلولوز- **5** – فوسفات . ان مسار فوسفوكيتوليز السكر الخماسي لايحل محل مسار امدن – مايرهوف بل يعطي للكائن الحي مساراً كفوءاً لتحويل السكر الخماسي إلى وحدات كاربون ثنائية وثلاثية وذلك لتمثيلها الى مديات أبعد لذلك ينتشر هذا الانزيم بصورة واسعة في الاحياء المجهرية الأخرى وليس فقط في الخمائر عندما تنمو على الزايلوز أوالسكريات الخماسية الأخرى.

بالنسبة لمسار الفوسفوكيتوليز الذي تسلكه البكتريا غير متجانسة التخمر Heterofermentative فإن مركب زايلوز-**5**- فوسفيت المتكون في مسار فوسفات السكر الخماسي والذي تفترق عنده المسارات في مختلف الاحياء المجهرية، يلاحظ في بعض أنواع البكتريا مثل *Leuconostoc mesenteroides* فان هذا السكر المفسفر يكون منشطاً يمر في المسار الذي يولد نواتج أيضية هي الكحول الأثيلي واللاكتات lactate مع تحرير جزيئة CO_2 تمتاز هذه البكتريا بعدم قدرتها على تكوين أنزيم فوسفوفركتوكاينيز وأنزيم الألدوليز وأنزيم ترايوز-فوسفيت ايزوميريز لذلك تسلك مسار الفوسفوكيتوليز لأكسدة الزايلوز-5-فوسفيت إلى أستايل فوسفيت وكلسيرالدهايد -**3**-فوسفيت وكلا هذين المركبين يسلكان طريقاً معيناً، فالأول يتفاعل مع مركب CoA ليكون أستيل كوأي Acetyl CoA وهذا ينتج في النهاية الكحول الأثيلي Ethanol. أما المركب الثاني فيكون البايروفيت وهذا بدوره ينتج حامض اللاكتيك كناتج نهائي . وعند مرور سكرالكلوكوز في هذا المسار تتكون جزيئة **ATP** واحدة لذلك فهو أقل كفاءة من مسار امبدن- مايرهوف.

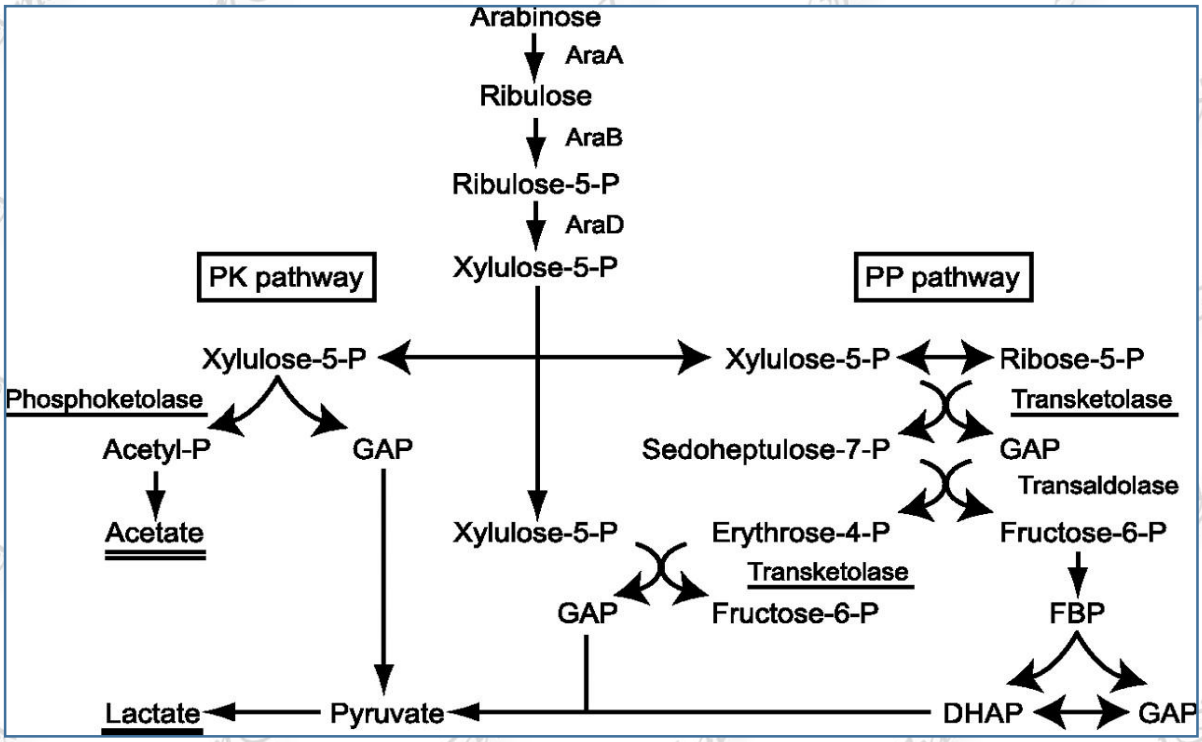
أما مسار الفوسفوكيتوليز في بكتريا *Lactomonas bifidus* فإنه يحرر مركبي الخلات acetate واللاكتات lactate كنواتج نهائية من اكسدة سكر الكلوكوز حيث يتكون مركب أرثروز-**4**-فوسفيت (سكر رباعي) الذي يفقد ذرة كاربون واحدة بصورة CO_2 ويتكون كليسيرالدهايد-**3**-فوسفيت وهذا بدوره ينتج حامض اللاكتيك كناتج نهائي اما المركب الثاني فهوأستايل فوسفيت (ثنائي الكاربون) الذي يتحول الى استيت (خلات) حيث يفقد جذر الفوسفات ليأخذها مركب **ADP** ويتحول إلى **ATP**. أو قد تسلك هذه البكتريا مسار فوسفات السكر الخماسي ويتكون زايلوز -**5**-فوسفيت الذي يتهدم الى مركبين هما الكليسرالدهايد – 3-فوسفيت والاخر ثنائي الكاربون (استايل فوسفيت)حيث ينتج من الاول حامض اللاكتيك والثاني ينتج كحول الايثانول .

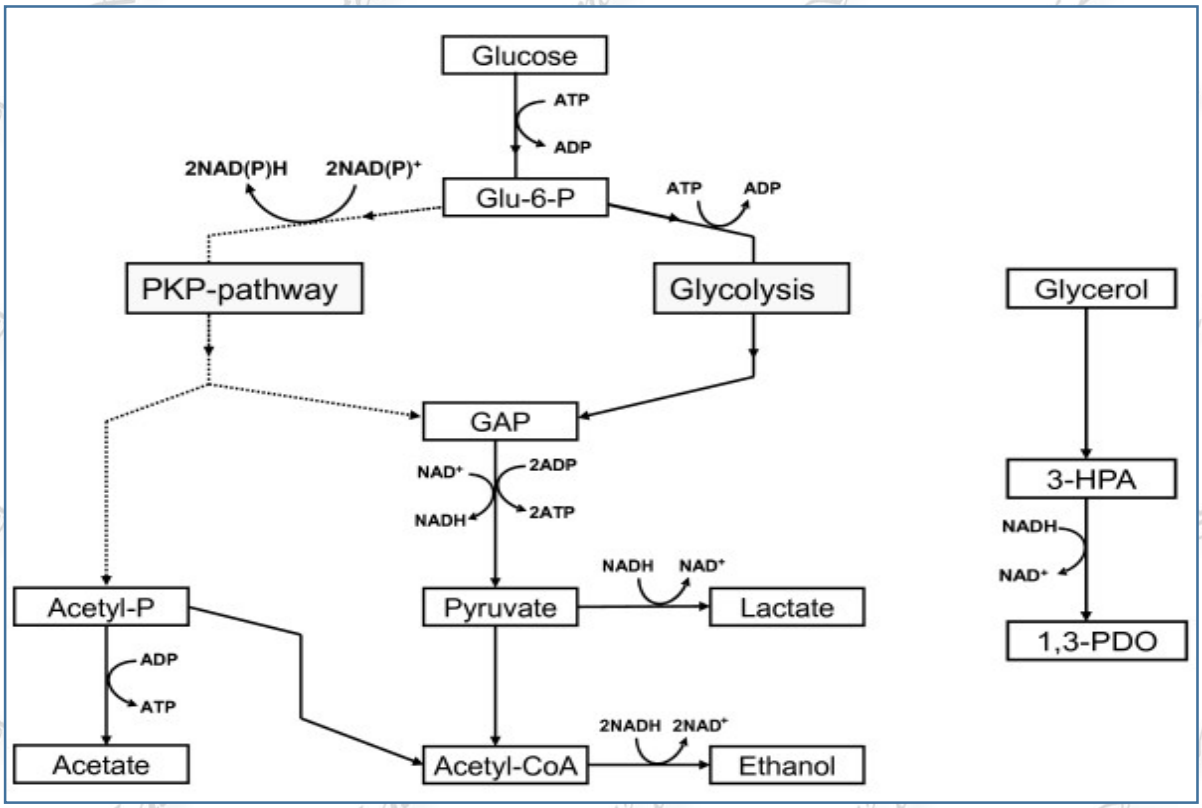
عند اكسدة الكلوكوز بهذا المسار فان جزيئات **ATP** المكتونة هي **5** جزيئات لكل جزيئتين كلوكوز يتضح مما تقدم أن جميع العمليات في هذا المسار هي من نوع التخمر إذ أن في جميع العمليات يكون مستلم الالكترونات مادة عضوية .

بكتريا حامض اللاكتيك غير متجانسة التخمر Heterofermentative lactic acid bacteria

مثل بعض أنواع *Lactobacillus* ، *Weissella* ، *oenococcus* ، *Leuconostoc*

أستاذ المادة : أ.م.د. آمال كاظم غضبان

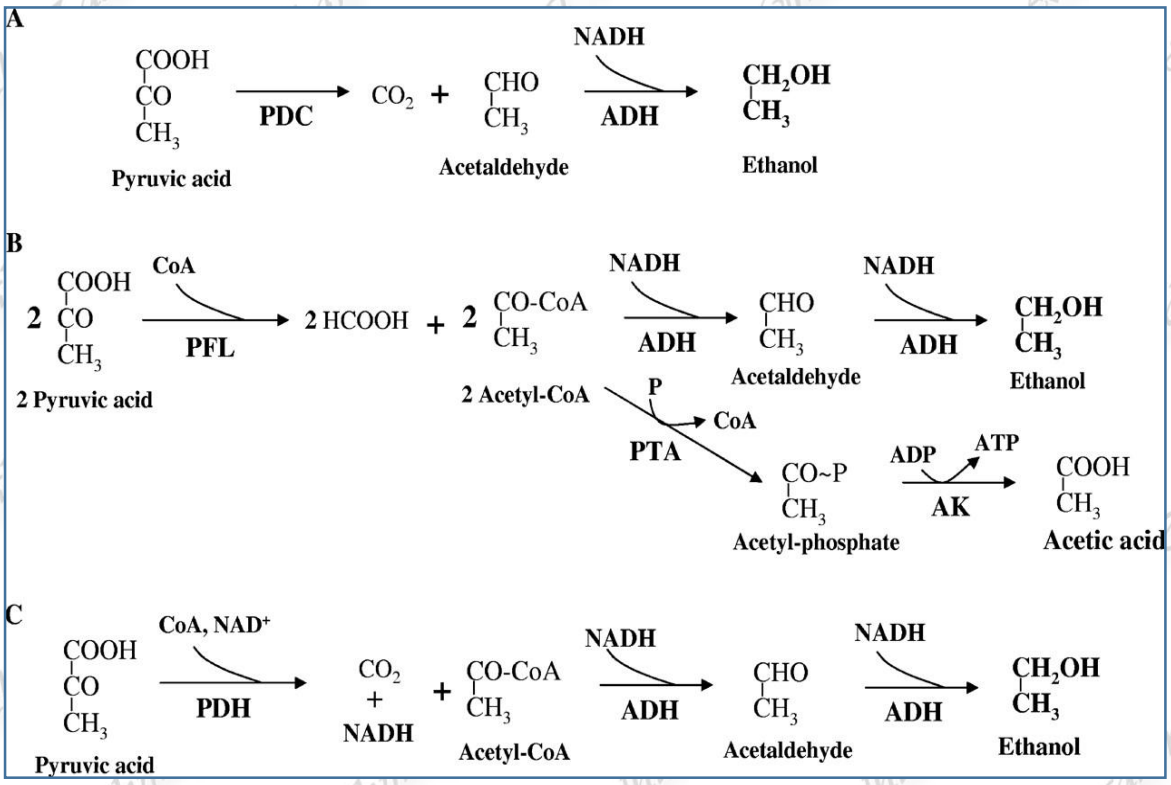


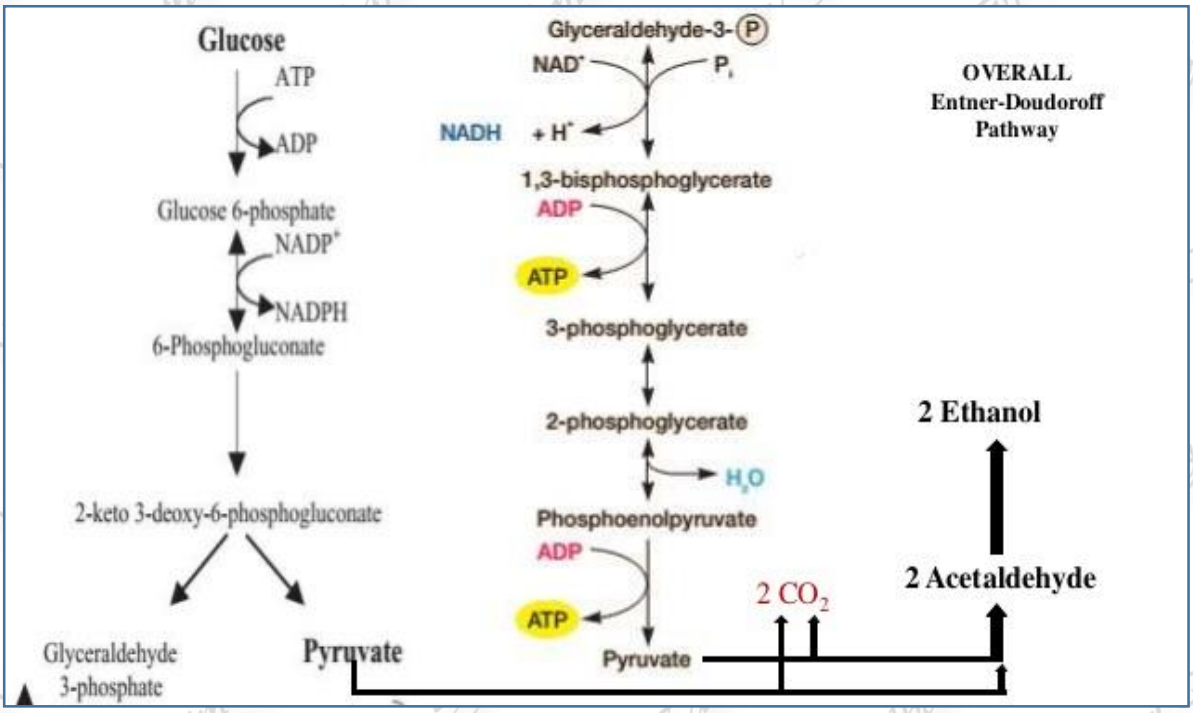


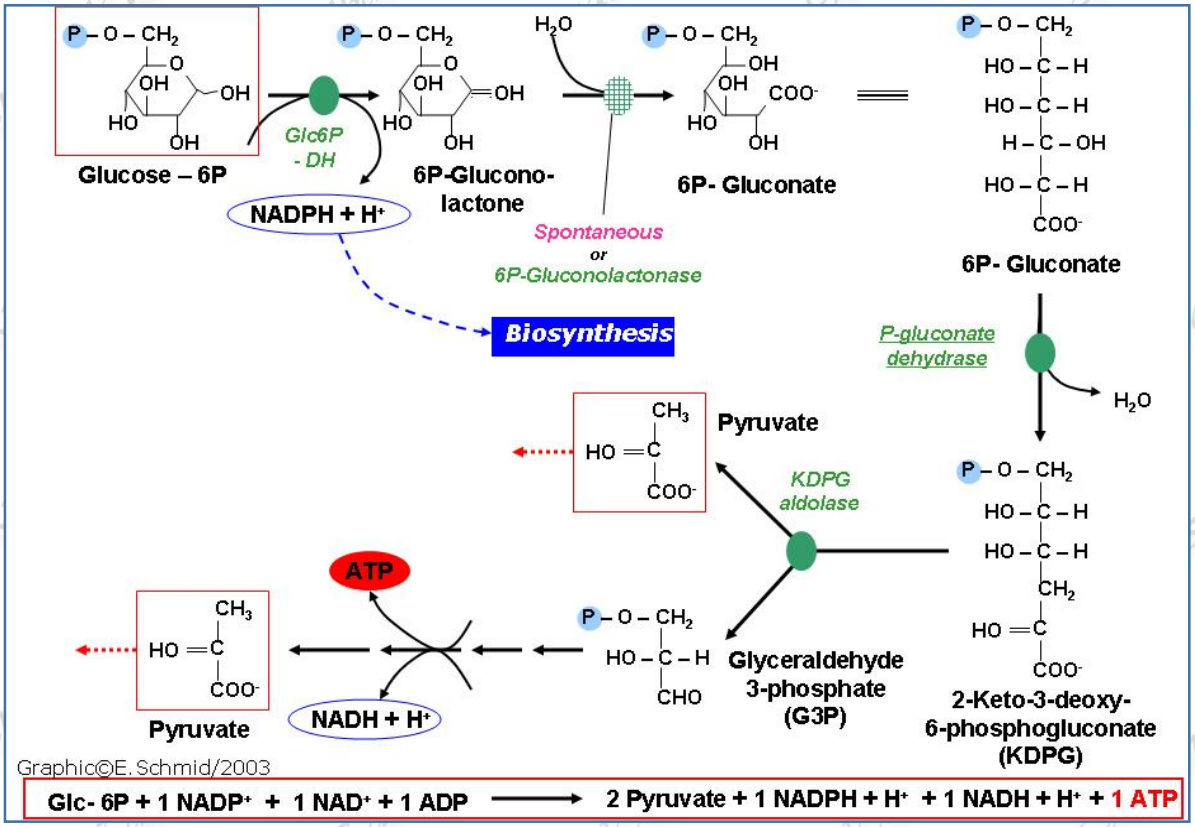
4-مسار انتردودوروف Entner Dudoroff

إن مسار امبدن – مايرهوف ومسار فوسفات السكر الخماسي ليسا المساران الوحيدان لتمثيل الكلوكوز على الرغم من كونهما المساران الأكثر شيوعاً.والمسار الرئيسي البديل لمسار امبدن – مايرهوف هومسار إنتنر- دودوروف والذي يوجد في أنواع عديدة من بكتريا *Pseudomonas* والبكتريا المشابهة لها .

يعد هذا المسار ممراً لأكسدة الكاربوهيدرات وتسلكه مجموعة من الأحياء المجهرية معظمها تنتمي لجنس بكتريا *Pseudomonas* وفي بعض أنواع البكتريا السالبة لصبغة كرام .إن أول خطوة في هذا المسار هي مشابهة للخطوات الأولى في المسارات الأخرى وهي فسفرة السكر إلا أن العامل المميز لهذا المسار هو أنزيم الألدوليز ، إذ تختلف ميكانيكيته عن ميكانيكية الأنواع الأخرى من الالدوليز ، وهذا الاختلاف هو أن ذرة الكاربون التي تقسم عندها جزيئة السكر السداسي لاتمتلك مجموعة (OH^-) والتي توجد في جميع المركبات التي تعمل عليها أنزيمات الألدوليز الأخرى. وعند تقسيم السكر السداسي إلى جزيئتين من مركب ثلاثي الكاربون (البايروفيت) تكون ذرة الكاربون الاولى في مجموعة الكاربوكسيل هي اصلها ذرة الكاربون الاولى في السكر السداسي أما ذرة الكاربون الأولى للجزيئة الثانية من المركب الثلاثي فأصلها ذرة الكاربون الرابعة للسكر السداسي . ويولد هذه المسار جزيئة **ATP** لكل جزيئة كلوكوز أي أن كمية الطاقة الناتجة تكون واطئة.



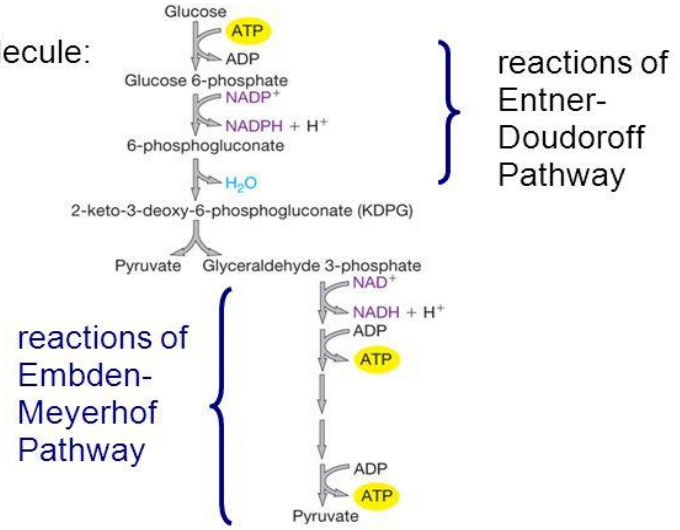

Glucose
ATP
ADP
Glucose 6-phosphate
NADP+
NADPH
6-Phosphogluconate
2-keto 3-deoxy-6-phosphogluconate
Glyceraldehyde 3-phosphate
Pyruvate
Glyceraldehyde-3-P
NAD+
Pi
NADH + H+
1,3-bisphosphoglycerate
ADP
ATP
3-phosphoglycerate
2-phosphoglycerate
H2O
Phosphoenolpyruvate
ADP
ATP
Pyruvate
2 CO2
OVERALL
Entner-Doudoroff
Pathway
2 Ethanol
2 Acetaldehyde


Glucose – 6P
Glc6P - DH
NADPH + H+
6P-Glucono-lactone
H2O
Spontaneous
or
6P-Gluconolactonase
6P- Gluconate
6P- Gluconate
Biosynthesis
P-gluconate dehydrase
H2O
Pyruvate
KDPG aldolase
2-Keto-3-deoxy-6-phosphogluconate (KDPG)
ATP
Pyruvate
NADH + H+
Glyceraldehyde 3-phosphate (G3P)
Graphic©E. Schmid/2003
Glc- 6P + 1 NADP+ + 1 NAD+ + 1 ADP → 2 Pyruvate + 1 NADPH + H+ + 1 NADH + H+ + 1 ATP

The Entner-Doudoroff Pathway

- used by soil bacteria and a few gram-negative bacteria
- replaces the first phase of the Embden-Meyerhof pathway

- yield per glucose molecule:
  - 1 ATP
  - 1 NADPH
  - 1 NADH



10

5-دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل (دورة كريب) Tricarboxylic acide cycle

تقود المسارات التي تكلمنا عنها سابقا إلى إنتاج مركبات خاصة ثنائية وثلاثية الكاربون وهي البايروفيت والخلات ،والخلات عبارة عن المرافق الانزيمي Acetyl CoA وهوعبارة عن ايستر مكبرت . ويتم تمثيل آخر للبايروفيت والمرافق الانزيمي Acetyl CoA عن طريق دورة تؤدي وظيفتين منفصلتين هما أنتاج مركبات وسطية تستخدم لاحقاً في التخليق الحيوي، أاكسدة المركبات التي تؤدي في النهاية إلى إنتاج CO_2 والماء والتي تقابل تفاعلات الأكسدة الخاصة بنقل الطاقة وتسمى هذه الدورة التي تقوم باكسدة المرافق الانزيمي Acetyl CoA والتي توجد في جميع الخلايا التي تعيش في ظروف هوائية دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل أو دورة حامض الستريك أو دورة كريب.

تحدث تفاعلات دورة كريب وتفاعلات انتاج الطاقة للكائنات الحقيقية النواة في المايتوكوندريا بينما تكون معظم الانزيمات المسؤولة عن انتاج الطاقة في البكتريا (بدائية النواة) موجودة في الغشاء السايتوبلازمي، تبداالعملية بانتقال الباروفيت إلى المايتوكوندريا وبذلك تكون المكان المناسب للتفاعل التي تربط البايروفيت بدورة كريب ،اذ يتحول إلى المرافق الانزيمي Acetyl CoA بواسطة أنزيم Pyruvate dehydrogenase

Pyruvate + COA+NAD^+ ⟶ CO_2 + NADH +Acetyl CoA

يتم التمثيل اللاحق للمرافق الانزيمي Acetyl CoA من خلال تفاعلات دورة كريب.

من وظائف هذه الدورة هي :

1- إنتاج مركبات وسطية يمكن أن تستعمل في تخليق مركبات أخرى

Oxoglutarate ⟶ glutamate ⟶ protein

Glutamin Folic acid

Succinate ⟶ porphyrins ⟶ heams ⟶ cytochroms

Oxaloacetate ⟶ aspartate ⟶ proteins

Lysine methionine therionine

تحتل التفاعلات التي تؤدي إلى إنتاج الاسبارتيت والكلوتاميت أهمية خاصة بكونها الطرق الرئيسية التي تتمكن الخلية بواسطتها تمثيل الامونيا .

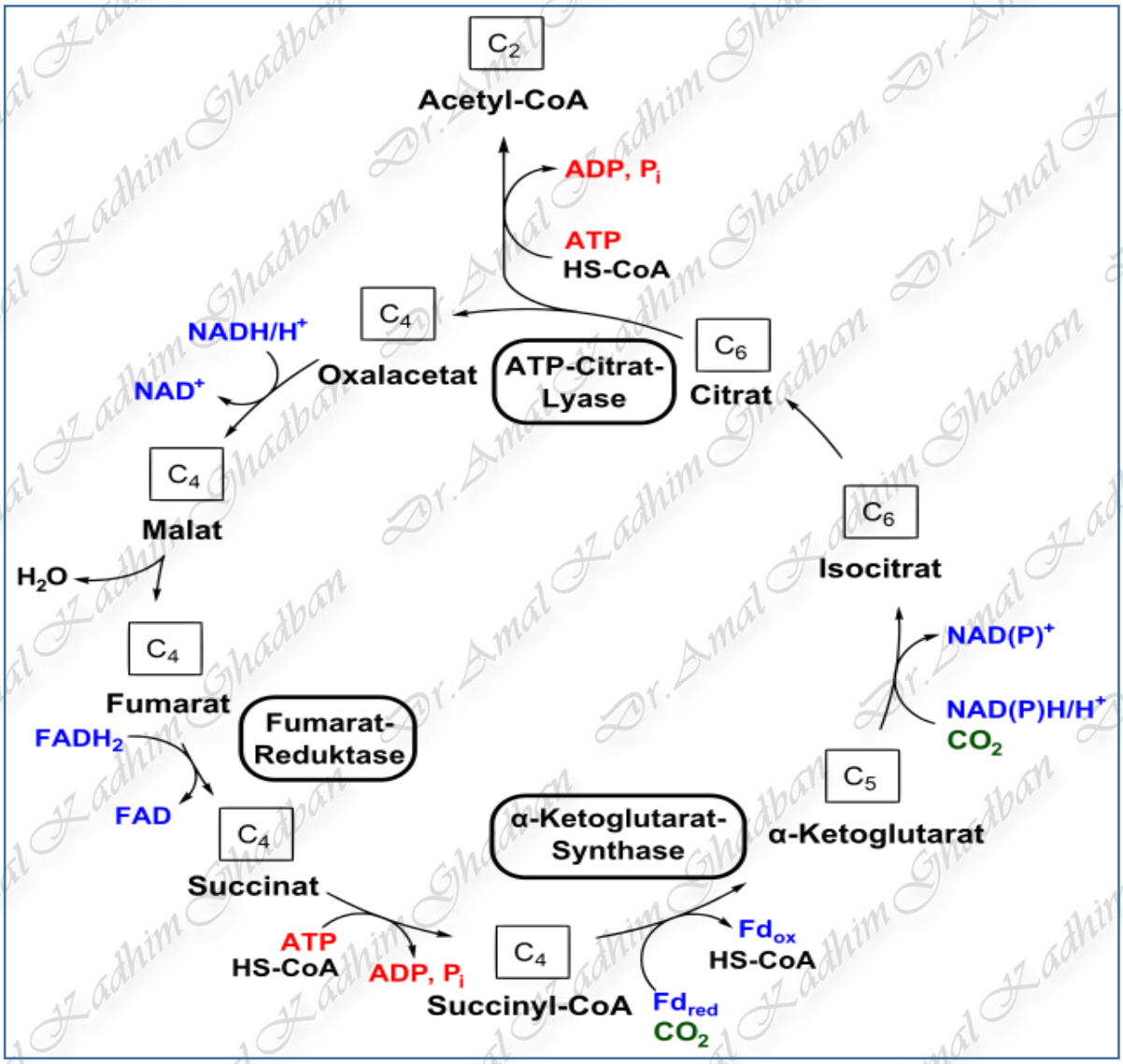
2- لاسترجاع الطاقة من تفاعلات الأكسدة حيث تحفز أنزيمات مثل سكسنيت ديهايدروجنيز وآيزوستريت ديهايدروجنيز و2-أوكسوكلوتاريت ديهايدروجنيز وماليت ديهايدروجنيز الاكسدة المتعاقبة للمركبات الوسطية والمصحوبة بتحويل المرافق الانزيمي NAD^+ وFAD الى NADH و$FADH_2$ على التوالي وتعاد اكسدتها الى صيغتها الاصلية بعملية الفسفرة المؤكسدة Phosphorylation. وينتج من ذلك 3 مول ATP من كل جزيئة NADH و 2مول ATP من إعادة اكسدة $FADH_2$.

وقد لاحظنا ان هذه الدورة يجب ان تعطي ايضا مركبات وسطية تستعمل في عمليات التخليق الحيوي وعندما يزال اي من هذه المركبات الوسطية من الدورة فان عملية تخليق خلات الاوكزال Oxaloacetate تتوقف كما تتوقف عملية اعادة تحوير السترات ، لذلك يجب تكوين خلات الاوكزال تكوينا مستقلاً ويحدث هذا حدوثاً رئيسياً نتيجة لإضافة الكاربوكسيل (Carboxylation) إلى البايروفيت .

Pyruvate + CO_2 +ATP ⟶ oxaloacetate + ADP +Pi

يتم هذا التفاعل بواسطة أنزيم بايروفيت كاربوكسيليز وبما ان خلات الاوكزال تنتج خلال هذه الدورة أيضاً لذا يجب تنظيم عملية إضافة الكاربووكسيل إلى البايروفيت لإنتاج كميات متساوية من

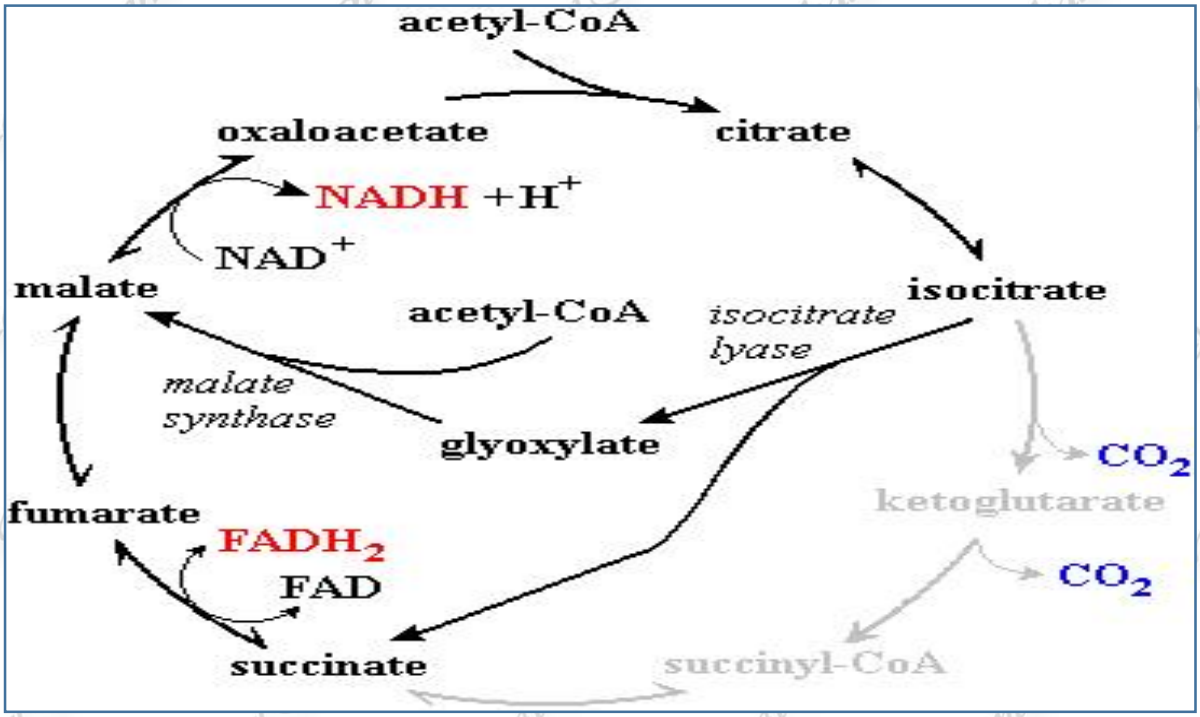
المرافق الأنزيمي Acetyl CoA وخلات الاوكزال دائماً . ويمكن الوصول الى هذه الحالة بجعل البايروفيت كاربوكسليز يعتمد على المرافق الانزيمي Acetyl CoA بوصفه عاملاً مؤثراً ايجابياً اذ يزيد فعالية الانزيم المذكور وكلما زادت كمية المرافق الانزيمي تزداد سرعة إنتاج خلات الاوكزال وعندما تزال كل من خلات الاوكزال والمرافق الانزيمي Acetyl CoA (وذلك لانتاج السترات) ينخفض تركيز المرافق وبذلك يبطأ فعل أنزيم البايروفيت كاربوكسليز. ولكن بقاء عمل أنزيم البايروفيت ديهايدروجنيز كما في السابق يؤدي إلى إنتاج كميات إضافية من المرافق الانزيمي وبذلك يستمر تخليق حامض الستريك وكذلك يستمر التوازن بين التفاعلين اللذين يقودان إلى تكوين المواد التمهيدية للسترات. توجد عوامل إضافية للسيطرة على تنظيم فعالية هذه الدورة إذ تثبط بعض أنزيماتها بفعل ATP ، وتعتمد أنزيمات أخرى في فعاليتها على وجود AMP . لذلك يمكن تنظيم الدورة بواسطة نسبة ATP: AMP ، ومن خلال كمية الشحنة energy charge في الخلية.



6-المسار الجانبي للكلايوكزالات (النمو على المركبات الحاوية على ذرتي كاربون)

Glyoxylate by Pass

تكون دورة الحامض الثلاثي الكاربوكسيل غير كافية لتفي باحتياجات الأيض للكائن المجهري عند نموه على المركبات الحاوية على ذرتي كاربون أو الاحماض الدهنية او الهيدروكاربونات التي تتكسر بصورة رئيسية الى وحدات تحتوي على ذرتي كاربون. وكما ذكرنا سابقاً فإن أي مركب يستعمل في عملية التخليق ويزال من دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل فإن إزالته توقف وبفعالية إعادة تحرير خلات الاوكزال. لايمكن ان تتحول المركبات الحاوية على ذرتي كاربون الى بايروفيت (اذ أن تفاعل بايروفيت ديهايدروجنيز غير عكسي) لذلك لايمكن انتاج خلات الاوكزال أو أي مركب آخر يحتوي على أربع ذرات كاربون من مركب يحتوي على ذرتي كاربون، ومن خلال التفاعلات التي ذكرت سابقاً يمكن ان يتحرر المرافق الانزيمي acetyl CoA مباشرة من الخلات في حالة استعمالها مصدرا للكاربون أو من مركب يحتوي على ذرتي كاربون ومختزل أكثر من الخلات مثل الأستالديهايد أو الإيثانول .ويدعى المسار الذي يستخدم في تحويل الخلات إلى مركبات تحتوي على ذرتي كاربون بالمسار الجانبي للكلايوكزالات والذي يحتاج إلى أنزيمين إضافيين هما ماليت سنثيز Malate synthase وآيزوستريت لايز isocitratelyase ، ويعدان من الأنزيمات المستحثة عند نمو الاحياء المجهرية على المركبات الحاوية على ذرتي كاربون . وهذا المسار الجانبي للكلايوكزالات لايحل محل دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل، فمثلاً يستمر إنتاج مركب 2-أوكزوكلوتاريت من الآيزوستريت لكي تجهز الكلوتاميت اللازم لتخليق البروتين والمركبات الأخرى .ويتم تمثيل السكسنيت وهو الناتج الآخر بفعل أنزيم آيزوستريت لايبيز إلى ماليت ومن ثم إلى خلات الاوكزال، وهكذا يمكن انتاج مركبات الكاربون ذات أربع ذرات من مركبات ذات ذرتي كاربون من خلال دورة الكلايوكزالات ثم تستخدم هذه المركبات في تخليق جميع المركبات الايضية للخلية .



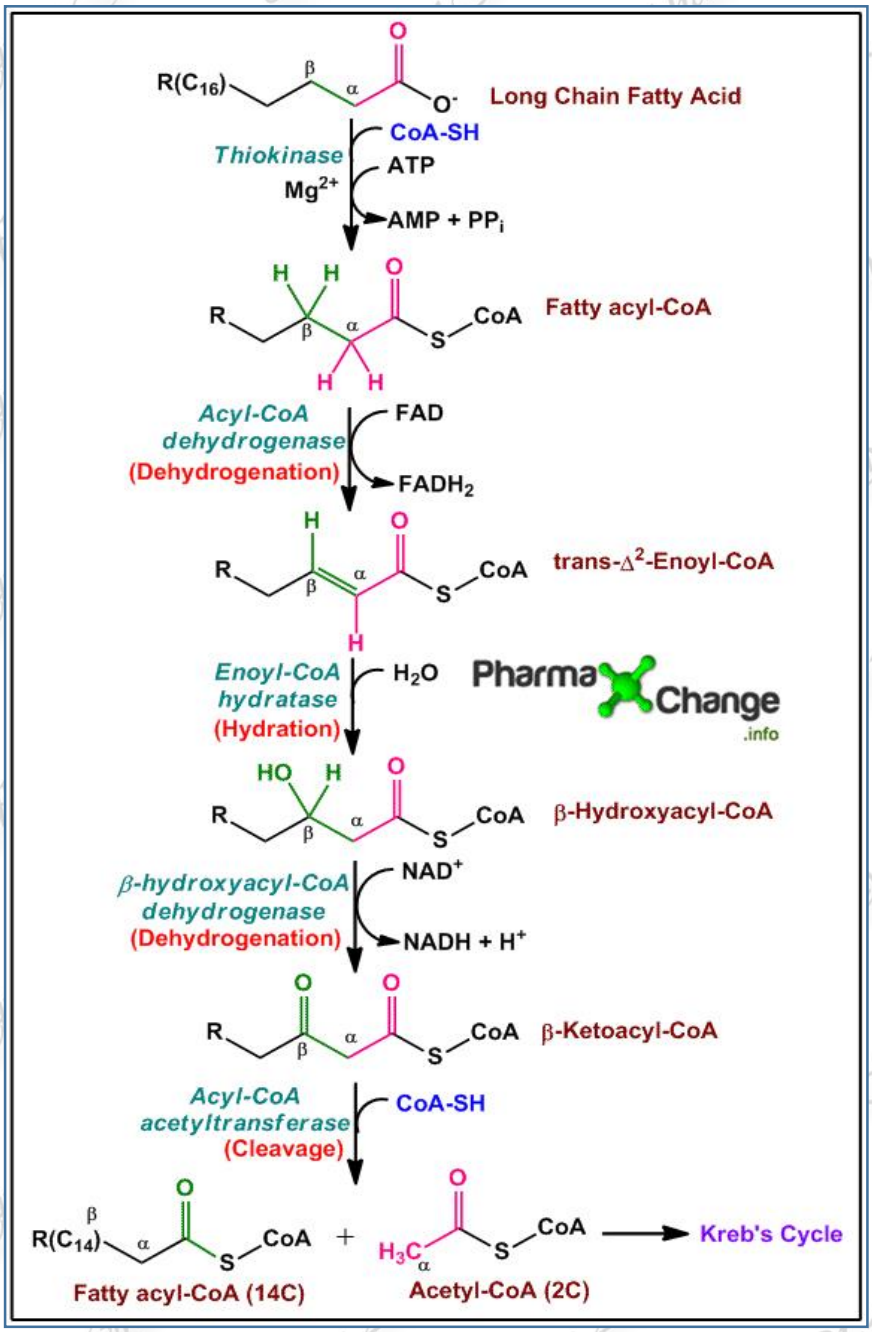
7-الاحماض الدهنية والهيدروكاربونات (أكسدة بيتا) β- Oxidation

إن نمو الاحياء المجهرية على الهيدروكاربونات من الظواهر واسعة الانتشار ماعدا أنواع قليلة من البكتريا والخمائر والاعفان، بينما استخدام الدهون والاحماض الدهنية هي أكثر شيوعاً من قبل الأحياء المجهرية . تستخدم الهيدروكاربونات كمصدرا وحيد للكاربون في إنتاج البروتين الأحادي الخلية وبعض المنتجات الأخرى كحامض الستريك ، وغالباً تضاف الاحماض الدهنية والزيوت النباتية كمواد خاضعة مساعدة في الوسط الغذائي الخاص بإنتاج المضادات الحيوية .

بداية يجب تحلل الزيوت والدهون Triglycerides مائياً بواسطة أنزيم اللايبيز وينتج 3مول من الاحماض الدهنية و1 مول من الكليسرول الذي يستعمل من خلال مسار إمبدن – مايرهوف ، كما تستطيع عدد من الأحياء المجهرية من استخدام الاحماض الدهنية الحرة وتعد هذه الاحماض سامة جداً (بسبب فعاليتها على السطح) سواء تم أخذها إلى داخل الخلية أم تكونت فيها. لذا يجب تحويلها إلى الأسترات المكبرتة للمرافق الانزيمي Coenzyme thioesters الخاصة بهذه الاحماض .

يتم تنشيط الاسترالمكبرت بطريقة مناسبة لأجل تكسير سلسلة الأستيل الدهني بعدد من التفاعلات الحلقية المتعاقبة، اذ ينتج عند كل خطوة مول واحد من المرافق الانزيمي Acetyl CoA ويصبح Fatty acyl- CoA ester أقصر بذرتي كاربون ثم تعاد دورة التأكسد مرة أخرى وتدعى هذه الدورة أكسدة بيتا β- oxidation وتستمر هذه الدورة حتى الحصول على مركب ذي أربع ذرات كاربون acetoacetate CoA والذي يعطي بعد ذلك **2**مول من المرافق الانزيمي Acetyl CoA واذا كان الحامض الدهني يحتوي على عدد زائد من ذرات كاربون فإن تحلله ينتهي بمركب ذي ثلاث ذرات كاربون والذي يتحول إلى البايروفيت وهي عكس سلسلة التفاعلات الخاصة بتخمر حامض البروبيونيك .

على الرغم من وجود نوع آخر من الأكسدة يسمى ∞ - oxidation في بعض الاحياء المجهرية والذي ينتج أحماضاً ثنائية الكاربوكسيل والتي بدورها تتكسر بواسطة دورة أكسدة بيتا تستخدم الاحماض الدهنية أيضاً بواسطة الخلية وذلك لانتاج الدهون الخاصة بالخلية



8-الميثان والميثانول

يستطيع عدد قليل من الأحياء المجهرية (كل من البكتريا والخمائر) إستعمال الميثان مصدراً وحيداً للكاربون، كما وجد عدد قليل من البكتريا لها القابلية على استعمال الميثانول وكذلك وجد عدد قليل من الأحياء المجهرية التي تستطيع استعمال الفورمات كمصدر للكاربون . وترتبط هذه المركبات الثلاث مع بعضها من الناحية الايضية وتؤكسد في النهاية الى تنائي أوكسيد الكاربون . وتختلف آلية اندمجها في مادة الخلية عن تلك الخاصة بتثبيت CO_2 والتي تقوم بها الكائنات ذاتية التغذية من خلال عملية التركيب الضوئي .

أستاذ المادة : أ.م.د. آمال كاظم غضبان

تكوين السكريات Gluconeogenesis

يبدأ الكائن الحي بتخليق سكريات مختلفة لتلبية احتياجاته الأيضية عندما ينمو على مركب يحتوي على ذرتين اوثلاث ذرات كاربون أو على مادة ينتج عن تمثيلها هذه المركبات وعند أو تحت المستوى الايضي للبايروفيت مثل الهيدروكاربونات الدهنية أو الخلات أو الإيثانول أو اللاكتات، وعلى الرغم من ان جميع تفاعلات طرق تحلل السكريات عكسية فان التفاعلات التي تحفز بواسطة البايروفيت كاينيز وفوسفوفركتوكاينيز غير عكسية ومن الضروري أن تتغلب على هذا التوقف .

وعموما لايتكون فوسفوإينول بايروفيت من البايروفيت وعلى الرغم من وجود انزيم فوسفوإينول بايروفيت سنثيتيزفي بعض الكائنات الحية والذي يحفز هذا التفاعل **Phosphoenol pyruvate synthetase**

Phosphoenol pyruvate synthetase

Pyruvate + ATP ⟹ Phosphoenol pyruvate + AMP + Pi

وتستعمل غالباً خلات الاوكزال كمركب تمهيدي ويحفز تفاعله بأنزيم فوسفوإينول بايروفيت كاربوكسي كاينيزوالذي يعد من الأنزيمات المهمة في عملية تكوين السكريات . ويمكن التغلب على التفاعل العكسي للفوسفوفركتوكاينيز (الذي ينتج مركب فركتو**6-1** ثنائي الفوسفات بفعل انزيم فركتوزباي فوسفاتيز

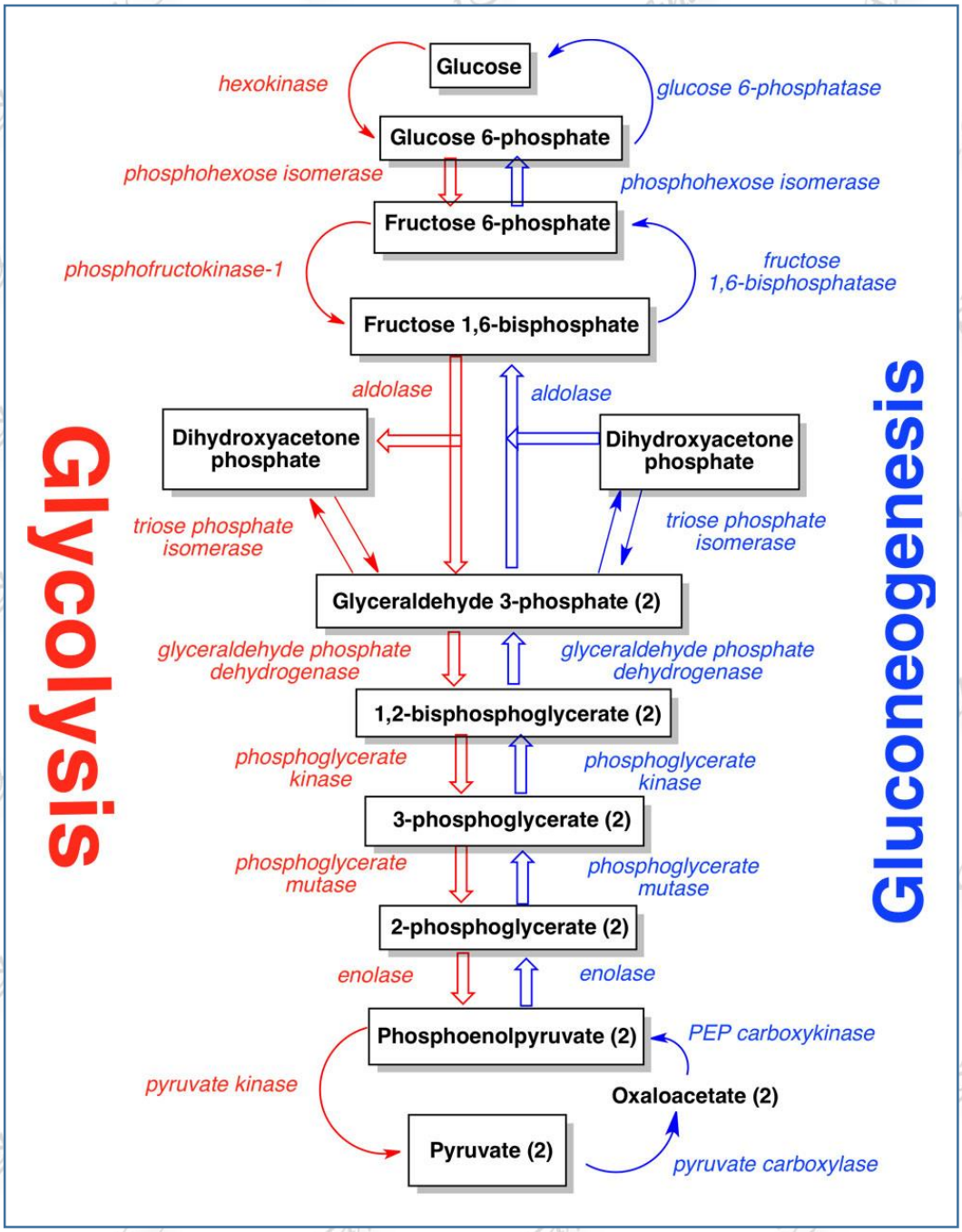
Phosphoenol pyruvate carboxykinase

Oxaloacetate + ATP ⟹ Phosphoenol pyruvate + CO_2 +ADP

Fructose biphosphatase

Fructose 1,6 biphosphate + H_2O ⟹ Fructose -6 Phosphate + Pi

يمكن ان تتكون السكريات السداسية عندهذه النقطة وذلك بعكس أو بقلب عملية تحلل السكريات ويمكن ان تتكون في هذه المرحلة السكريات الرباعية والخماسية عن طريق فوسفات السكرالخماسي . وليس الكلوكوز هوالمنتوج النهائي في عملية تكوين السكريات وإنما يستعمل الكلوكوز **6-** فوسفات في تخليق مكونات جدار الخلية وأنواع كثيرة من المركبات المتعددة السكريات الخارجية والمخزونة.



أيض الطاقة في الكائنات الحية تحت الظروف الهوائية Energy metabolism in anaerobic organisms

إن أكسدة المركبات الأيضية الوسطية المختلفة ترتبط باختزال عدد محدود من العوامل المرافقة (NAD , $NADP^+$, FAD)الى صيغتها المختزالة ($NADH$, $NADPH$, $FADH_2$). ان القدرة الاختزالية لهذه المنتجات تأتي بتفاعل معقد متعاقب والذي يوصل في نهاية الأمر إلى اختزال الاوكسجين الجوي O_2 في الكائنات الحية ويتحرر خلال هذه العملية ATP من (Pi+ADP) وعند

نقطتين أو أكثر من سلسلة نقل الالكترونات وهذا يعتمد على طبيعة العامل المختزل الأصلي .ويحدث انتاج الطاقة القابلة للاستعمال من الناحية البايلوجية على هيئة ATP إما في أغشية المايتوكوندريا في الكائنات الحقيقية النواة أو في الغشاء السايتوبلازمي للبكتريا وتتشابه كلا العمليتين تشابه عام مع وجود اختلافات في التفاصيل بين كائن حي وآخر .ان المكونات الرئيسية لسلسلة نقل الالكترون هي فلافوبروتينات وكوينونات وسايتوكرومات، وتمتاز بقابليتها على الإختزال باستقبالها لأيونات الهيدريد أو الالكترونات وتتاكسد بعد ذلك وتحرر الالكترونات إلى الحامل التالي وبطريقة كفوءة .

إنتاج الطاقة في الكائنات غير الهوائية Energy production in anaerobic organisms

تستطيع بعض الكائنات الحية استبدال الاوكسجين بالنترات والبعض الآخر بالكبريتات أو الحديديك ، وفي حالة كون هذه المركبات بكميات كافية في الوسط الغذائي فإن الكائن الحي يستطيع إنتاج ATP الذي يحتاجه وفي غياب الهواء حيث يتم استخدام حاملات نقل الالكترون وبذلك ينمو نمو لاهوائياً ، ولايستطيع الكائن الحي أن ينتج ATP بهذه الطريقة بدون أوكسجين في حالة عدم وجود بديل لمستقبل الالكترون أو إذا كان الكائن تنقصه هذه الصفة كمافي الغالبية العظمى من البكتريا . لذلك فان البكتريا التي تنمو لا هوائيا فانها تنتج مركب ATP من خلال ربط التفاعل بتفاعل منتج للطاقة والذي يسمى فسفرة عند مستوى المادة الخاضعة ويكون عدد التفاعلات الخاصة به محدوداً جداً ويجب ان يكون التغيرفي الطاقة الحرة للتفاعل كافيا لدفع فسفرة مركب ATP .

الأيض غير الهوائي Anaerobic metabolism

إن عملية اختيار المادة الخاضعة التي تجرى معها عملية أكسدة المواد المختزلة مثل ($FADH_2$, NADPH , NADH) واسعة جداً وينتج عنها منتجات نهائية مختلفة لذلك فإن وصف طرق الأيض اللاهوائي هوعبارة عن وصف للمنتجات النهائية التي يكونها كل كائن حي ولبعضها أهمية تجارية كبيرة . حتى تحت الظروف اللاهوائية يستمرتأييض الكلوكوز بإنتاج البايروفيت ولكن تؤخذ كمية قليلة من البايروفيت فقط إلى دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل لإنتاج مركبات وسطية تستخدم في عملية التخليق الحيوي للمادة الخلوية اللازمة لذلك فان دورة الحامض ثلاثي الكاربوكسيل تقوم بإنتاج المركبات الوسطية ولاتحررطاقة ، وغالبا لاتعمل الدورة بصورة كاملة خاصة بالنسبة لأنزيم 2- اوكزوكلوتاريت ديهايدروجنيز الذي قد يبطل مفعوله لذلك فإن الدورة تتحدد في توجيه خلات الاوكزال إلى السكسنيت وتحويل السترات الى 2-اوكزوكلوتاريت .

1- تخمر الايثانول Ethanol fermentation

إن العامل الذي تعاد أكسدته في خميرة *S.cerevisiae* هوالاستدليهايد ويتحول معظم البايروفيت المتحرر من الكلوكوز إلى الإيثانول

Pyruvate →2-hydroxyethyl → acetaldehyde → ethanol

Thiamin

pyrophosphate NADH NAD^+

بما أن كل مول من الكلوكوز يعطي 2مول من البايروفيت فإن إنتاج الايثانول يمكن أن يعيد أكسدة 2مول من NADH الناتجة من تفاعل ترايوز فوسفيت ديهايدروجنيز

Glucose + 2ATP + Pi → 2 ethanol + 2ATP

يجهز الانتاج الكلي لمركب ATP خلايا الخميرة بالطاقة اللازمة لنموها لكن وجد أن الناتج من كل مول كلوكوز يكون أقل من **5%** من الناتج تحت ظروف هوائية. بينما الكلوكوز الذي يؤيض ضمن مسار فوسفات السكر الخماسي لإنتاج السكريات الرباعية والخماسية الضرورية لايعطي إلا مول واحد من البايروفيت من كل مول كلوكوز مع تحرير **2** مول **NADPH** و **1**مول **NADH** ، لذا يجب إعادة أكسدة هذه المركبات المرافقة للتفاعلات. إلا ان كمية البايروفيت تكون غير كافية لإعادة أكسدتها، ولذلك فإنها ترتبط بتفاعلات أخرى ويعد تكوين الأحماض الدهنية التفاعل الرئيسي من بين هذه التفاعلات وهي عبارة عن مركبات مختزلة من الناحية الكيمائية ويلزم لتخليقها كمية مناسبة من المركبات المختزلة . تنتج بعض البكتريا والأعفان الإيثانول أيضاً إضافة إلى منتجات أيضية أخرى. وإذا كان الكائن المجهري يستطيع العيش في ظروف هوائية كما هو الحال في خميرة *S.cerevisiae* فإن إضافة الاوكسجين يؤدي إلى استعمال الايثانول المتجمع من قبل الخلية كمادة اساس(خاضعة) لنموها عن طريق حامض الخليك .

2- تخمر حامض اللاكتيك Lactic acid fermentation

تأتي تخمرات حامض اللاكتيك بالدرجة الثانية بعد تخمرات الكحول من الناحية التاريخية ومن حيث أهميتها في الصناعات الغذائية .

تنتج بكتريا حامض اللاكتيك غير متجانسة التخمر Hetero fermentative مركبات مختلفة متنوعة بالاضافة الى اللاكتات . تمتاز هذه البكتريا بأنها لاتحتوي على الانزيم المهم والمسؤول عن تحلل السكريات وهو أنزيم الألدوليز وتستخدم بدلاً عنه أنزيم الفوسفوكيتوليز الذي ينتج أستايل الفوسفات والذي يتحول تحت الظروف اللاهوائية إلى الإيثانول الذي يعيد تحرير NAD والى الخلات بواسطة التفاعل الذي يحرر ATP . المنتوج الآخر لأنزيم فوسفوكيتوليز هو كليسرالديهايد 3- فوسفات الذي يتحول إلى بايروفيت حسب مسار تحلل السكر ومن ثم إلى لاكتات بفعل أنزيم لاكتات ديهايدروجنيز

Pyruvate + NADH → Lactate + NAD

كذلك تستخدم بكتريا حامض اللاكتيك المتجانسة التخمر Homofermentative هذا التفاعل ولاتحتوي هذه البكتريا على انزيم فوسفوكيتوليز ولذلك تتكون اللاكتات فقط .ان بعض انواع بكتريا حامض اللاكتيك تنتج **D- lactate** وبعضها ينتج **L- lactate** وبعضها ينتج مزيجاً من الشكلين ويعود ذلك إلى الاختلافات بين أنواع أنزيم لاكتات ديهايدروجينيز.

3-تخمر حامض البروبيونيك Propionic acid fermentation
4- تخمر بيوتانيديول Butanediol fermentation
5-تخمرات حامض الفورميك Formic acid fermentations
6-تخمر حامض البيوتريك Butyric acid fermentation
7-تخمرات متفرقة