

الباب الخامس
تمثيل الكربوهيدرات

Carbohydrate metabolism

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 ابتداءً إلى البيروفات .

١٠٥ تحول الجلوكوز Glucose metabolism

يعتبر الجلوكوز المركب الكربوهيدراتى الرئيسى الذى يعمل كمصدر للكربون لخلايا البكتيريا وهو يتحول إلى البيروفات بواسطة أربع طرق رئيسية والتي سميت حسب أسماء الباحثين الذين اكتشفوها أو المركبات الرئيسة بها . وهذه الطرق هي :

- 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

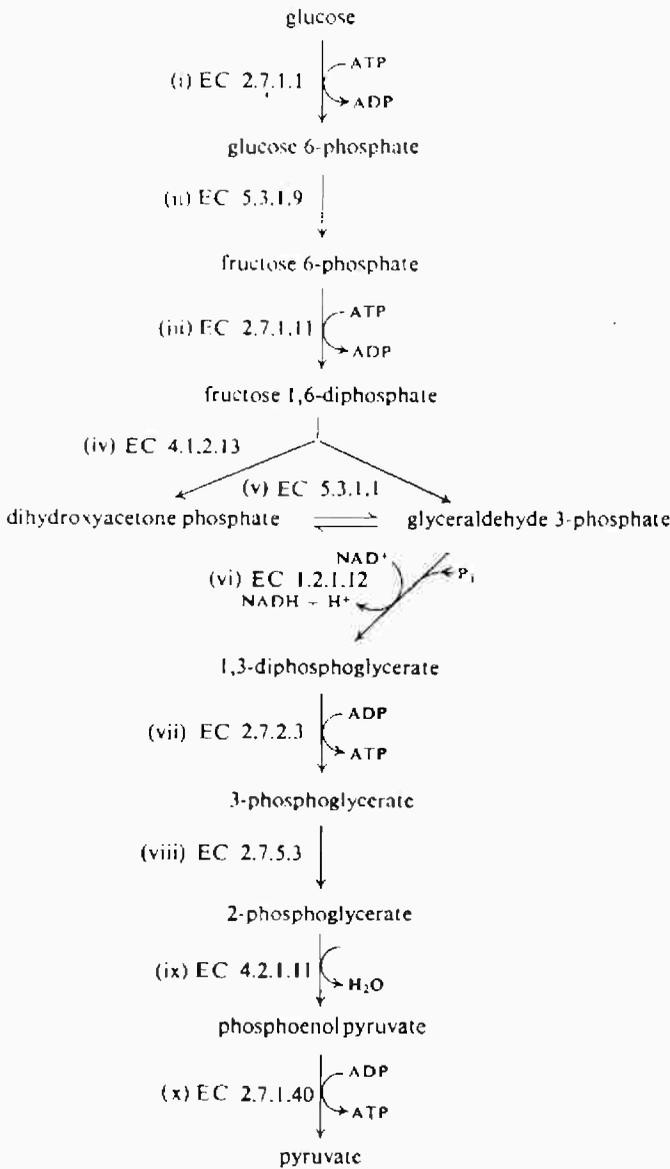
ويطلق عليها أيضاً دورة الفركتوز ارا بيوفوسفات (FBP) ، glycolytic ، glycolysis ، breakdown .

وينتشر حدوثها فى معظم البكتيريا ، (Enterobacteriaceae ، Saccharolytic Clostridia ، Lactobacillaceae) .

والمعادلة العامة لها :



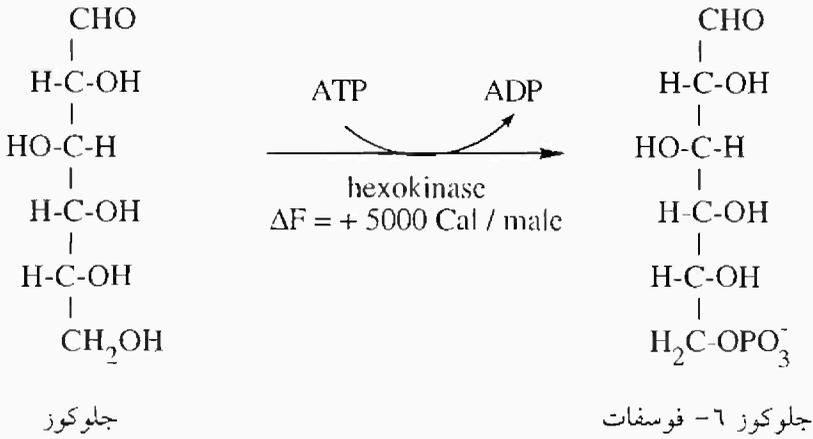
والتصور العام لها



شكل (١-٥) : دورة التحول الجلليكولي أو EMP - Pathway

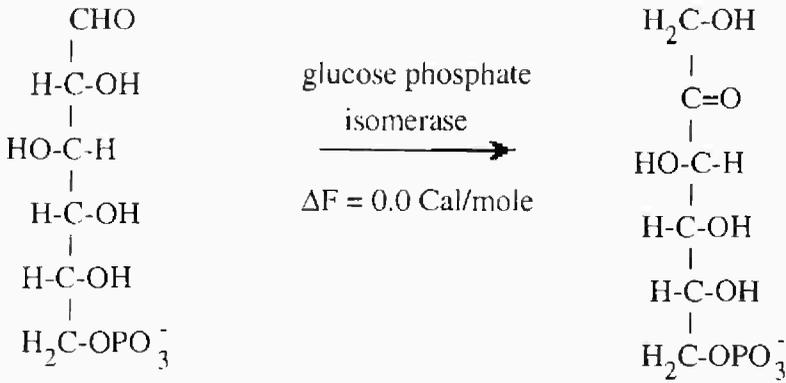
نقلًا عن Doelle سنة ١٩٧٥

- والخطوة الأولى (I) في هدم الجلوكوز هي خطوة فسفرة حيث تحتاج امول من ATP في وجود انزيم hexokinase (EC 2.7.1.1) واصطلاح Kinase يطلق على الانزيمات التي تلامس انتقال مجموعة الفوسفات الطرفية من ATP إلى أى مجموعة ايدروكسيل للسكريات السداسية والخماسية .



وتبدو انزيمات kinase ذات الأصل البكتري أنها أكثر تخصصاً لمادة التفاعل عن مثيلتها في الثدييات أو الخمائر ولذا فإن فسفرة السكريات السداسية والخماسية في البكتريا تتم بواسطة انزيم متخصص لكل سكر مثلاً الجلوكوز بواسطة glucokinase (EC 2.7.1.2) ، والفركتوز بواسطة ketohexokinase (EC 2.7.1.3) وهكذا . ومعدل استهلاك الجلوكوز في الخلايا يعتمد على خطوة hexokinase التي تثبط بقوة بتراكم الجلوكوز ٦ - فوسفات وهذا التثبيط يتنافس مع ATP في وجود Mg^{++} إضافي حيث يعوض الفوسفات المعدني هذا التأثير المثبط .

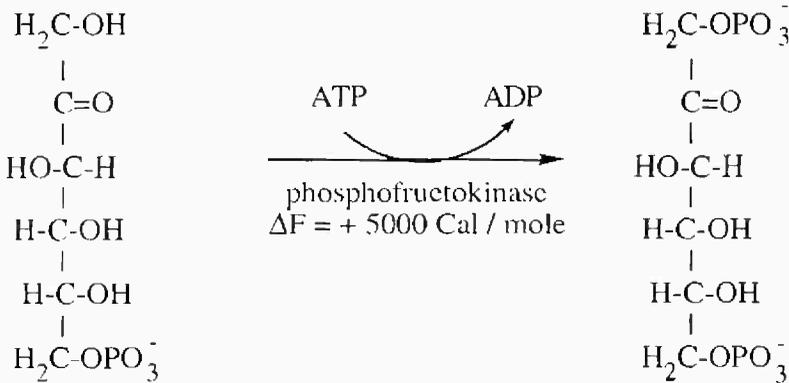
- أما الخطوة الثانية (II) فهي عملية isomerization لتحويل الجلوكوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات بواسطة انزيم جلوكوز فوسفات ايسوميريز (EC. 5.3.1.9) .



جلوكوز ٦ - فوسفات

فركتوز ٦ - فوسفات

الخطوة الثالثة (III) هي عملية فسفرة ثانية تحتاج لمول آخر من ATP وتلامس بواسطة انزيم هام في الدورة هو فوسفور فركتوكينيز (EC 2.7.1.11).



فركتوز ٦ - فوسفات

فركتوز ١,٦ - داي فوسفات

وهذا الانزيم ذو تركيب طبيعي ونظام حركي معقد جداً حيث يشبط بواسطة ATP والسترات وبدرجة أقل بواسطة Mg^{++} والعكس ينشط بواسطة NH_4^+ ، K^+ ، الفوسفات المعدني (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 في الاعتبار أن كل من ATP ، السترات في حالة تعاون Synergism حيث يقلل كل واحد منهما التأثير المثبط للآخر .

ويلعب الانزيم دوراً هاماً في دورة EMP حيث يمثل العامل المحدد لمعدلها. وهو يمتلك العديد من الخواص التي تعطى له القدرة على التكيف تنظيمياً regulatory adaption داخل الخلية ومن هذه الخواص .

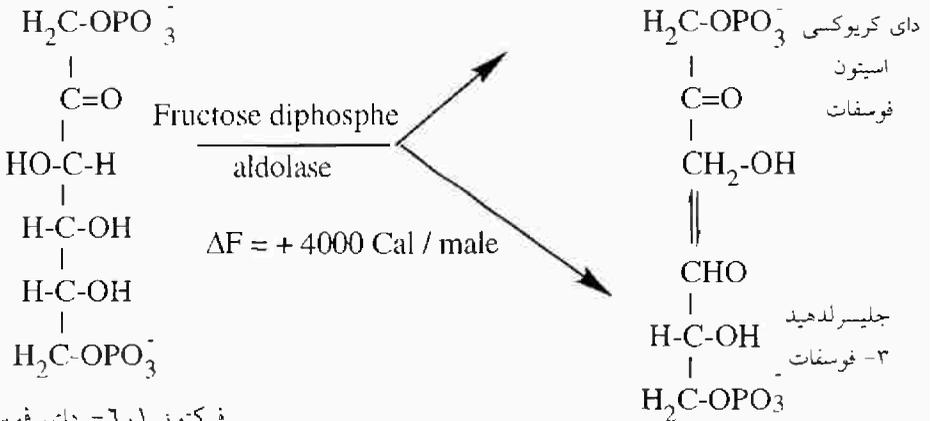
- التنقل العكسي من الحالة النشطة (∞) إلى الحالة الغير نشطة (B) .

- خواصه الكيموحركية (allostery) .

- التجمع في صورة monomer polymer في حالة التعادل .

- الخطوة الرابعة (IV) وهي انقسام الفركتوز ارا ٦اى فوسفات إلى ٢ مول من triose phosphate (مركب فوسفاتى ثلاثى الكربون) والانزيم الداخلى فى العملية هو Fructose-diphosphate aldolase (EC 4.1.2.13) وهو انزيم هام (Key) فى الدورة وأكثر انتشاراً فى أجناس البكتريا من الفوسفو فركتوكينيز السابق . وقد اكتشفه Meyerhof & Lohmann سنة ١٩٣٤ .

واقترحا المعادلة التالية :



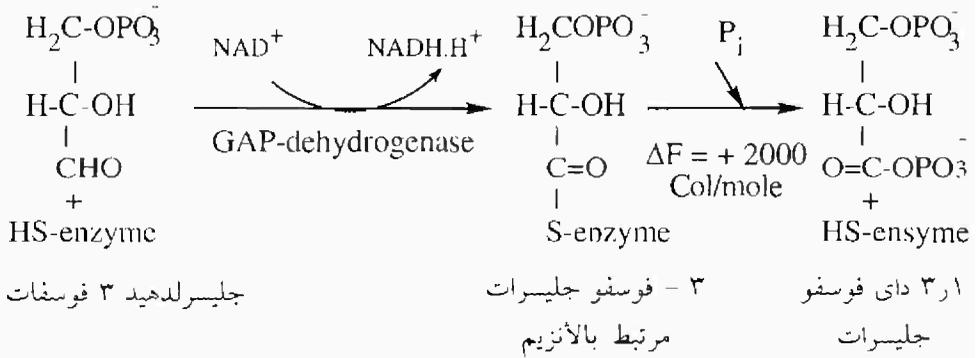
فركتوز ارا ٦- داي فوسفات

وأول من عزل انزيم aldolase بصورة نقيه هما Warburg & Christian سنة ١٩٤٣ من عضلات rats وأثبتوا وجود فروق واضحة بين aldolases فى الثدييات وفى الخمائر وثبت أن الالدوليز البكتري يشبط بالمركبات المخيلية (مثلاً EDTA) ويمكن تجنب هذا التثييط بواسطة الأيونات المعدنية مثل Fe^{2+} ، Ca^{2+} ، Mn^{2+} ، Zn^{2+} بعكس الالدوليز فى الثدييات فلا يشبط بالعوامل المخيلية وليس للأيونات المعدنية تأثير

على الانزيم ion independent والوزن الجزيئ له ضعف مثيله فى 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 بالمره فى محلول منظم يحتوى
mercaptoethanol بينما الثانى يعتمد على هذا المركب السلفوهيدريل فى نشاطه .

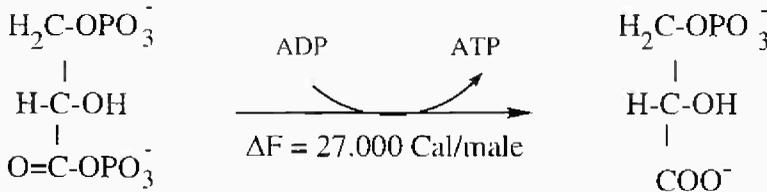
وانقسام مركب الفوكتوز ١٥ او ٦ داى فوسفات إلى مركبين Triose phosphate
يؤدى إلى تراكم أحدهما وذلك فى وجود انزيم
triose phosphate isomerase (EC 5.3.1.1) حيث يميل التوازن ناحية الجليسرلديهيد
٣- فوسفات طالما تسير دورة EMP فى طريقها السليم .

- الخطوة الخامسة (VI) هى خطوة أكسدة وفسفرة مركبة وذلك فى وجود انزيم
glyceraldehyde phosphate dehydrogenase (EC 1.2.1.12) .



والانزيم المستخدم السابق ذكره هو انزيم متميز حيث ينقل ايضاً مجاميع الاسيل
(acyl-) ويتكون من ٤ تحت وحدات متشابهة كيميائياً . كل واحدة لها القدرة على
ربط امول من NAD^+ وتحتوى أيضاً ٤ مجاميع ثيول (SH) واحدة منهما تدخل فى
التفاعل الانزيمى . وترجع أهمية المرافق الانزيمى NAD^+ إلى تنشيط مجموعة الثيول .
ويشط الانزيم بقوة بواسطة ATP وبعض المواد المتفاعلة مثل L-serine ويتحمل الانزيم
الحرارة كما فى ميكروب *B. stearotherophilus* .

- الخطوة السادسة (VII) يفقد المركب الغنى بالطاقة ٣ر١ داى فوسفوجليسيرات مجموعة فوسفاتية واحدة لتكوين امول من ATP فى وجود انزيم Phosphoglycerate Kinase (EC 2.7.2.3) .

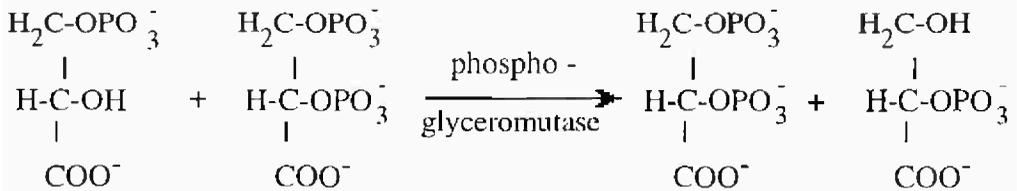


٣ر١ داى فوسفوجليسيرات

٣ - فوسفوجليسيرات

- وحيث أن ATP الغنى بالطاقة يتكون عند مستوى مادة التفاعل لذا يعتبر الفسفرة من النوع Substrate level phosphorylation .

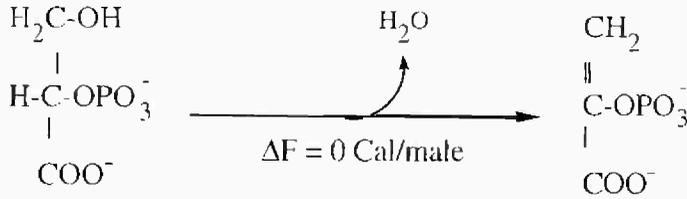
- الخطوة السابعة (VIII) تتحول فيها مجموعة الفوسفات فى المركب ٣- فوسفوجليسيرات من الوضع ٣ إلى الوضع ٢ فى وجود انزيم phosphoglycerate mutase (EC 2.7.2.3) وأيضاً فى وجود مركب ٣ر٢ داى فوسفوجليسيرات الذى يخلق أثناء التفاعل كمركب وسطى كما يلى :



٣ - فوسفوجليسيرات

٢ - فوسفور جليسيرات

- الخطوة قبل الأخيرة (IX) هى تكوين فوسفواينول بيروفات (PEP) بتأثير انزيم enolase (EC 4.2.1.11) .

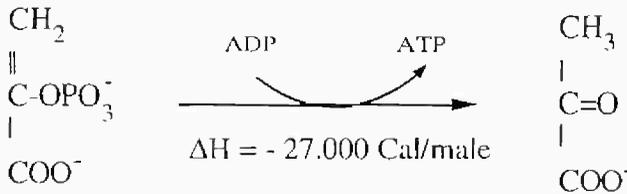


٢ - فوسفوجليسيرات

فوسفواينول بيروفات

وهذا التفاعل الاختزالي يسبب تجمع الكترولنى حول ذرة الكربون رقم ٢ فى فوسفواينول بيروفات . وهذا التجمع مع تكوين الرابطة الثنائية يودى إلى تقارب (Closer Contact) بين مجموعة الفوسفات والكربوكسيل السالبى الشحنة وبالتالي زيادة جهد الطاقة الداخلى للجزئ . وهذا هو السبب أن البيروفات فوسفواينول بيروفات أكثر طاقة من ٣- فوسفوجليسيرات .

- الخطوة الأخيرة (X) تنتقل مجموعة الفوسفات فى فوسفواينول بيروفات إلى ADP بمساعدة انزيم Pyruvate Kinase (EC 2.7.1.40) ويتكون البيروفات وجزئ ATP آخر .



فوسفواينول بيروفات

البيروفات

ونظراً للموقع المحورى لمركب فوسفواينول بيروفات فإن انزيم البيروفات كينيز يخضع لبعض المحددات . ويحتاج الانزيم إلى Mg^{2+} ، ADP ، ويشبط بواسطة ATP وهو الانزيم الثانى فى الدورة ذو خاصية allosteric ولا يلعب أى دور فى تخليق الجلوكوز (gluconeogenesis) مثل التفاعل العكسى من البيروفات إلى فوسفواينول بيروفات .

وهكذا فإن دورة EMP تنتج ٢ مول ATP ، ٢ مول $NADH.H^+$ التي تستخدم في التخليق الحيوي وكمعظيات للأيدروجين على الترتيب في خطوات الهدم التالية للبيروفات . وتتكون الـ ٢ مول $NADH.H^+$ من إنتاج ٢ مول بيروفات من امول جلوكوز عند مستوى 1.3 diphosphoglycerate وتتم هذه الدورة في أغلب الميكروبات اللاهوائية مثل بكتريا التخمر حيث لا ضرورة لوجود الأكسجين .

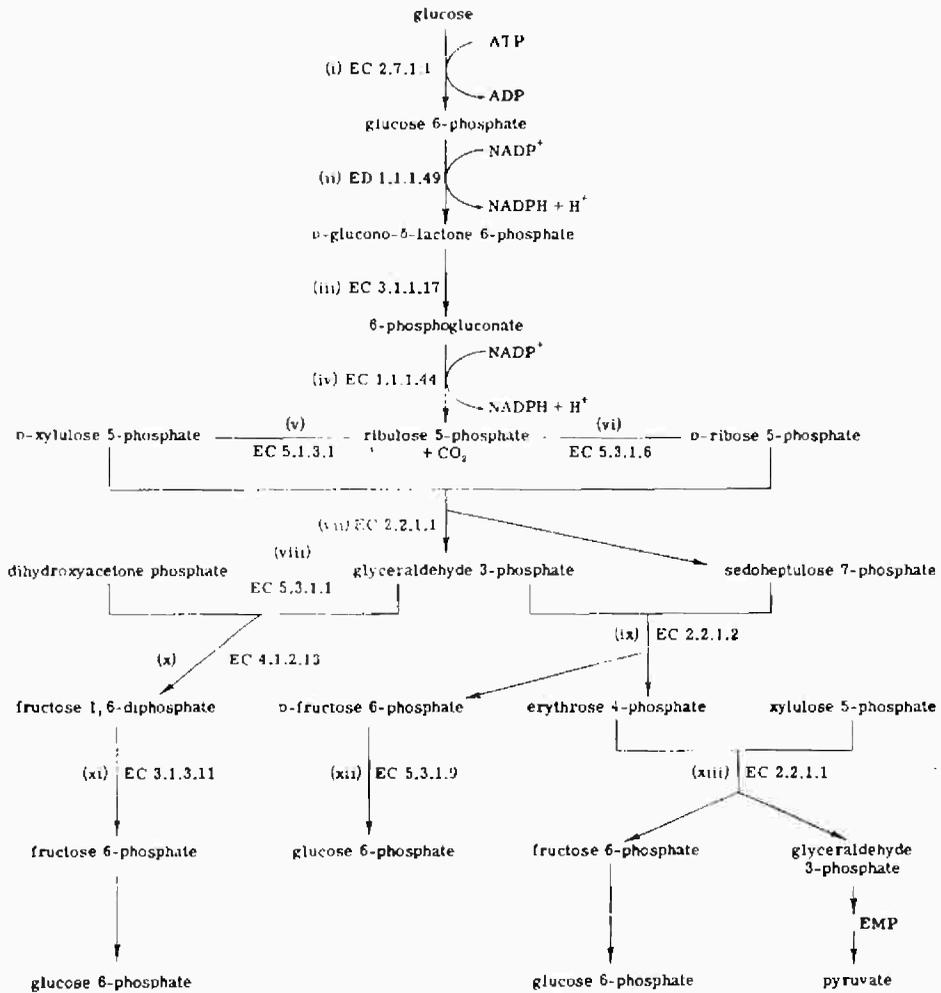
٢٠١٠٥ دورة Hexose monophosphate (HMP)

وهي تحمل عدد من الأسماء الأخرى مثل Pentose Shunt ، Warbury - Dickens- ، Oxidative pentose phosphate cycle ، Horecker Pathway .

عبارة عن سلسلة من التفاعلات الانزيمية لتحويل الجلوكوز وتتم بواسطة الكثير من الميكروبات التي تستطيع القيام بدورات EMP ، ED مثل *E. coli* الذي يستخدم دورة EMP (التحلل الجليكولي) غالباً أثناء تحولات الجلوكوز اللاهوائية ولكنه يستخدم (pentose HMP) Shunt) في تحويل ٢٠ - ٣٠ ٪ من الجلوكوز .

وأيضاً ميكروب *Agrobacterim* الذي يستخدم كلا الدورتين HMP ، ED بنسبة

. 55:44

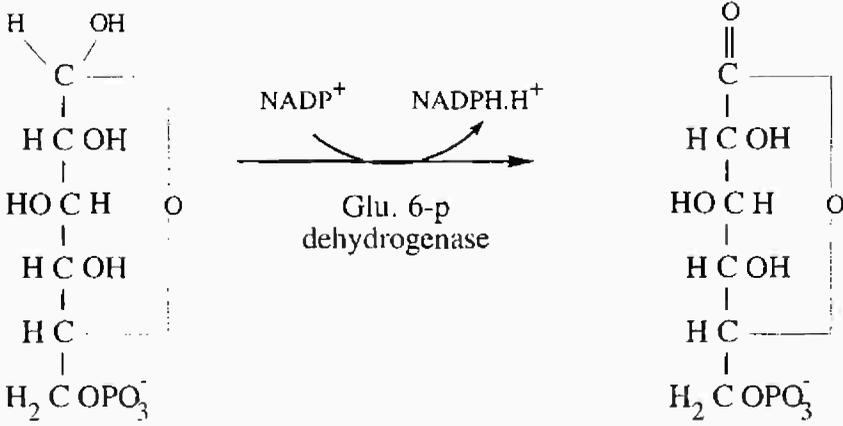


شكل (٥-٢) : دورة Hexose monophosphate (HMP) لتحويلات الجلوكوز

نقلاً عن Doelle سنة ١٩٧٥

- الخطوة الأولى هي تحول الجلوكوز إلى جلوكوز 6- فوسفات تشبه تماماً مثلتها في دورة EMP وتستهلك ATP ويمكن بعد ذلك تفصل الدورتين تماماً .

- الخطوة الثانية أكسدة جلوكوز 6- فوسفات في وجود انزيم glucose 6- phosphate dehydrogenase (EC. 1.1.1.49) المرتبط بالمرافق الانزيمي $NADP^+$ مكوناً glucono-lactone 6-phosphate .

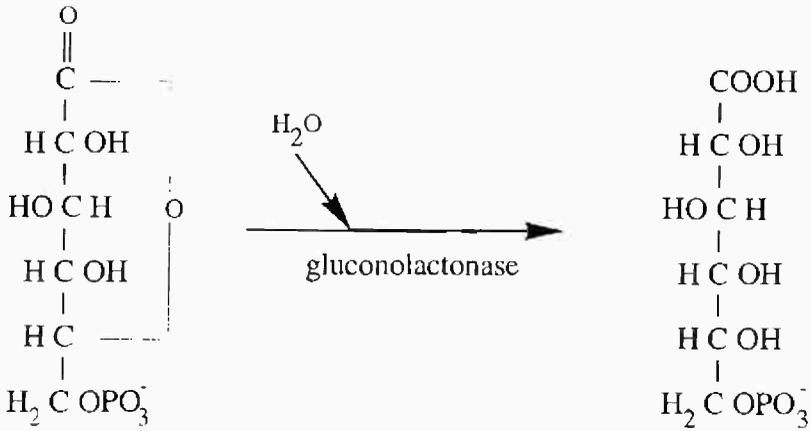


جلوكوز 6 - فوسفات

جلوكونولاكتون 6 - فوسفات

وانزيم الديهيدروجينير المذكور ذو دور تنظيمي هام وهو يُنَبِّط بواسطة $NADH.H^+$ في حالة *E. coli* ، وبواسطة ATP في حالة *pseudomonads* . وهو ينظم عملية تثبيت كأم أوتوتروفيا أو هيتروتروفيا بواسطة البكتريا *mixotrophic* . ويمكنه أحياناً استخدام NAD^+ كمرافق بينما في الغالب يستخدم $NADP^+$. وينتشر في عدد كبير من الميكروبات مثل *E. coli* ، *Bacillus sp.* ، *Pseudomonas* ، *Zymomonus* ، *Louconostic* والطحالب الخضراء والخضراء المزرقّة والحمرء والنباتات الراقية . وهو يوجد عادة في السائل الخلوي .

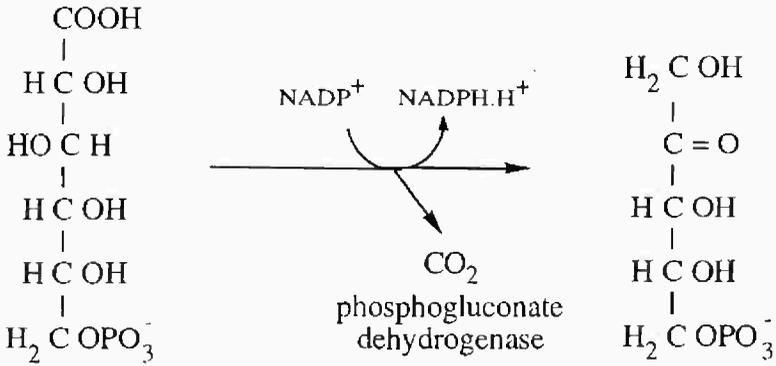
- الخطوة الثالثة : يحدث تحلل مائى Hydrolysis للمركب جلوكونولاكتون 6 - فوسفات إلى 6- فوسفو جلوكونات بواسطة انزيم gluconolactonase (EC 3.1.1.17) والمعروف عن هذا الانزيم من معلومات قليل بسبب تأثيره اللسمى السريع .



جلوكونو لاكتون 6 فوسفات

6 فوسفوجلوكونات

- الخطوة الرابعة : يحدث أكسدة ثانية مع نزع مجموعة الكربوكسيل فى وجود انزيم phosphogluconate dehydrogenase (EC 1.1.1.44) وينتج مركب الريبولوز - 5 فوسفات .



6 فوسفوجلوكونات

ريبولوز 5 - فوسفات

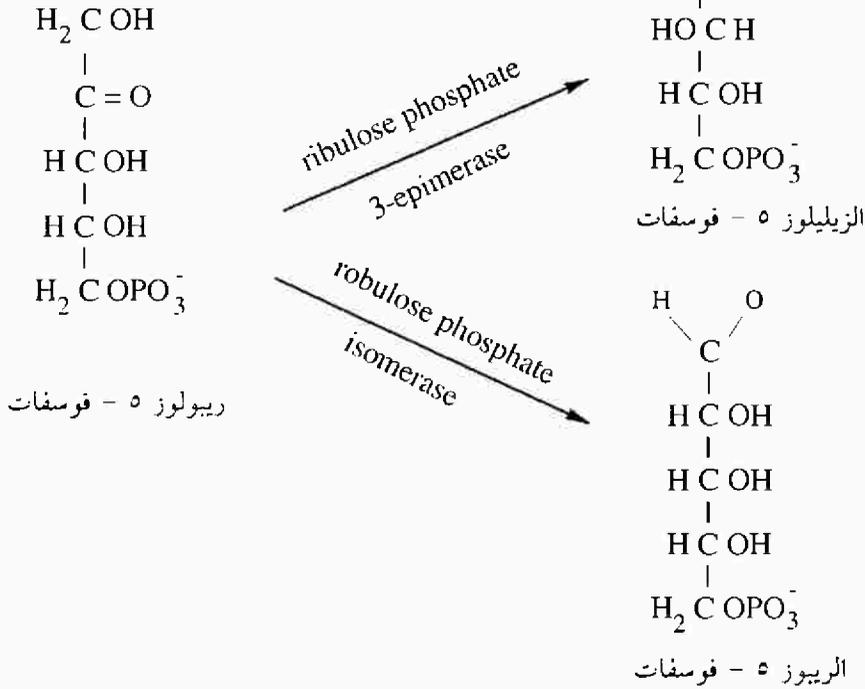
ورغم أن أكسدة 6 - فوسفوجلوكونات تحفز نزع ك أم بالأكسدة oxidative decarboxylation ، فإن التفاعل عكسى كما ثبت بالتثبيث الانزيمى للمركب $^{14}\text{CO}_2$ على ذرة الكربون رقم 1 أو بواسطة إضافة ك أم بالاختزال reductive carboxylation لمركب الريبولوز 5 - فوسفات فى وجود NADPH.H^+ ، ك أم .

ويتركز انزيم 6-phosphogluconate DH فى السائل الخلوى ولكن هناك بعض الدلائل على وجوده فى المكونات الفعلية فى الخلية كما فى ميكروب *Pseudomonas fluorescens* .

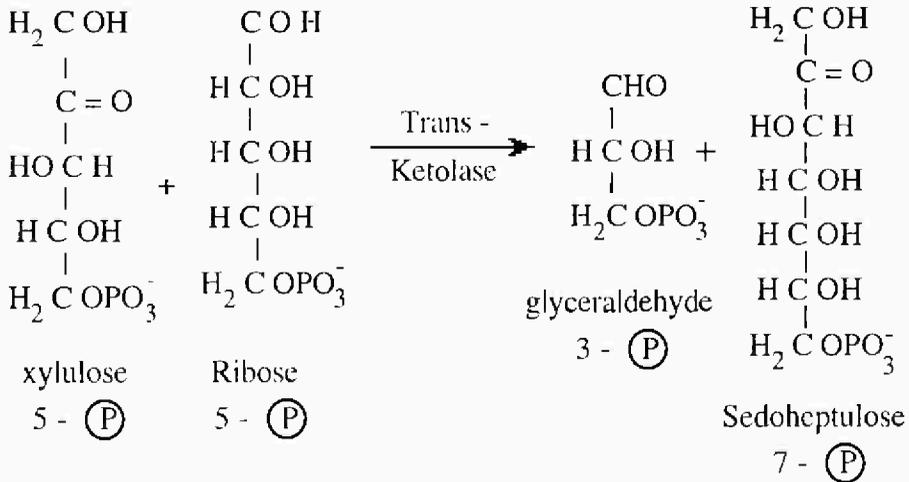
ويتشتر الانزيم فى كثير من أجناس البكتريا والطحالب والخمائر ويتخصص الانزيم فى الثدييات والخمائر مع المرافق $NADP^+$ ولكن فى *Leconostoc mesenteroides* يفضل استخدام NAD^+ ، وفى بعض أنواع *Apergillus* يمكن استخدام كل من NAD^+ ، $NADP^+$. والانزيم يلعب دوراً تنظيمياً هاماً حيث يُبَطِّئ بواسطة الفركتوز ١٦ داي فوسفات ، ATP ، $NADPH.H^+$ حسب نوع الكائن ولذا يلعب دوراً هاماً فى تأثير باستير Pasteur effect كما سيرد ذكره فيما بعد .

والخطوة التالية (الخامسة) خطوة مركبه حيث يرتبط الريبولوز ٥ - فوسفات جزئياً يانزيمين مختلفين أحدهما (EC 5. 1. 3.1) ribulose phosphate 3- epimerase محولة إياه إلى Xylulose-5-P (تفاعل V بالدورة) .

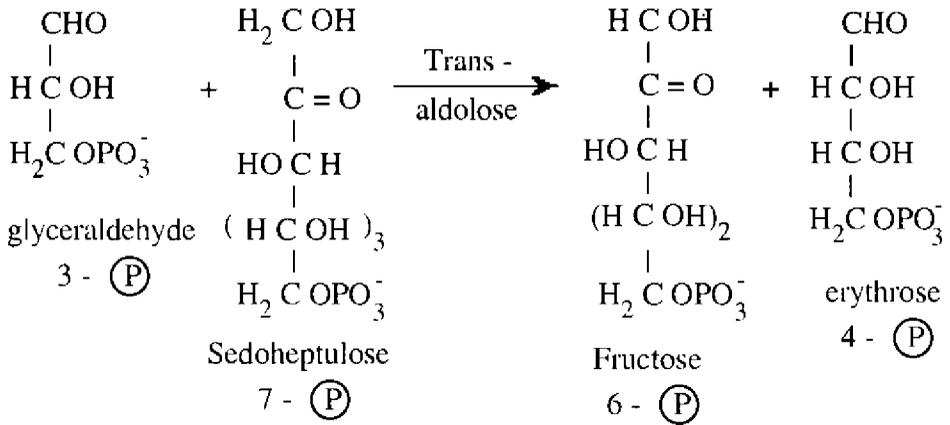
والانزيم الآخر هو (EC 2.3.1.6) ribulose phosphate isomerase وهو مسئول عن تكون ribose 5-phosphate (تفاعل VI) الذى يدخل فى تكوين الأحماض النووية DNA ، RNA .



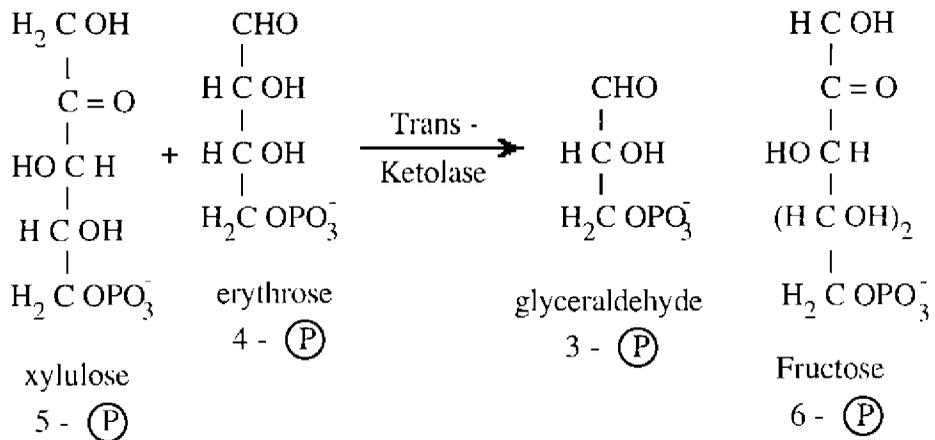
وكل من المركبين الناتجين الزليلوز والريبوز يدخلان في تفاعل انشقاقي Cleavage reaction لتكوين جلسرلدهيد ٣ - فوسفات & Sedoheptulose 7-P, بمساعدة انزيم transketolase (EC 2.2.1.1) كما في تفاعل VII بالدورة .



والمركبان الناتجان من التفاعل السابق (الثلاثى والسباعى الكربون) يتحدان ثم ينشقا لتكوين الفركتوز ٦- فوسفات & erythrose 4-phosphate فى وجود انزيم Transaldolase (EC 2.2.1.2) كما فى تفاعل (IX) بالدورة .

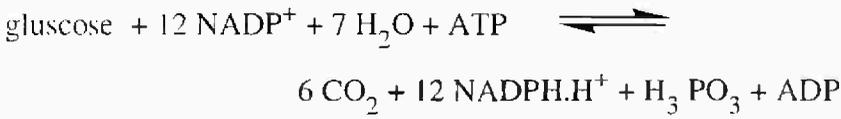


والتفاعل الانشقاقى الثالث (XIII) ينتج عن اتحاد المركبين erythrose 4-P ، و xylulose 5-P وانشقاقهما إلى المركبين جليسرلدهيد ٣ - فوسفات وفركتوز ٦ - فوسفات .

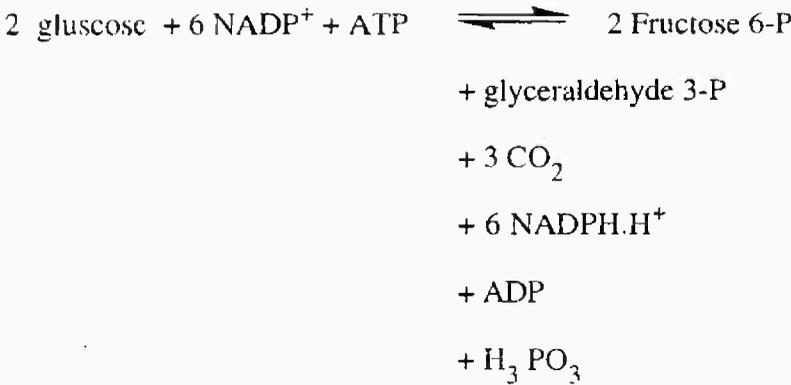


ومركب الجليسرلدهيد ٣- فوسفات يدخل في دورة EMP وينتهي بالبيروفات أما مركب الفركتوز ٦- فوسفات تتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات بعملية isomerisation الذى يدخل في دورة EMP أو يدخل مره أخرى في دورة HMP . أى أنه بهذه التفاعلات الانشاقية والمركبات الناتجة منها يمكن ربط دورة HMP بدورة EMP كما في الرسم (٥-٢) .

والمعادلة العامة للدورة الكاملة يمكن إجمالها كالتالى :



والميكروبات المؤكسدة يمكنها تكوين البيروفات من الجليسرلدهيد ٣- فوسفات مستخدماً نفس انزيمات EMP . فإذا حسبنا المعادلة العامة للدورة غير الكاملة (بفرض توقفها عن الجليسرلدهيد ٣ فوسفات) فإنها تكون كالتالى :

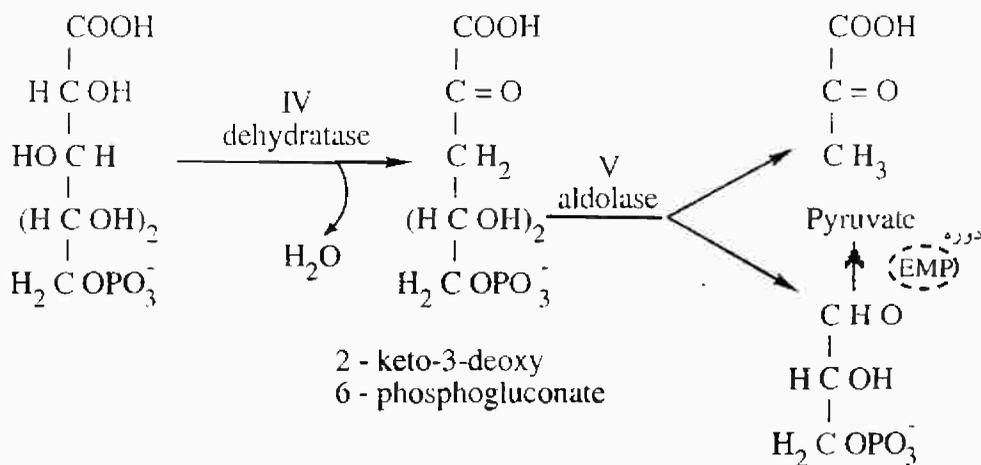


ودورة HMP هامة جداً للميكروبات الاتوتروفية (الضوئية والكيميائية) لأن كل الكربون الداخلى فى بناء الخلايا مشتق من تثبيت ك أم مع الريبولوز ا ٥ داي فوسفات المشتق من الريبولوز ٥ - فوسفات .

Entner-Douderoff (ED) Pathway دورة ٢٠١٠٥

اكتشفت بواسطة العالمين Entner & Douderoff, 1952 أثناء دراسة التحولات الابيضية في *Pseudomonas saccharophila* ثم اكتشفت بعد ذلك في العديد من الميكروبات وتعرف أيضاً باسم KDPG-pathway نسبة للمركب الوسيطى فيها . 2Keto-3deoxy phosphogluconate

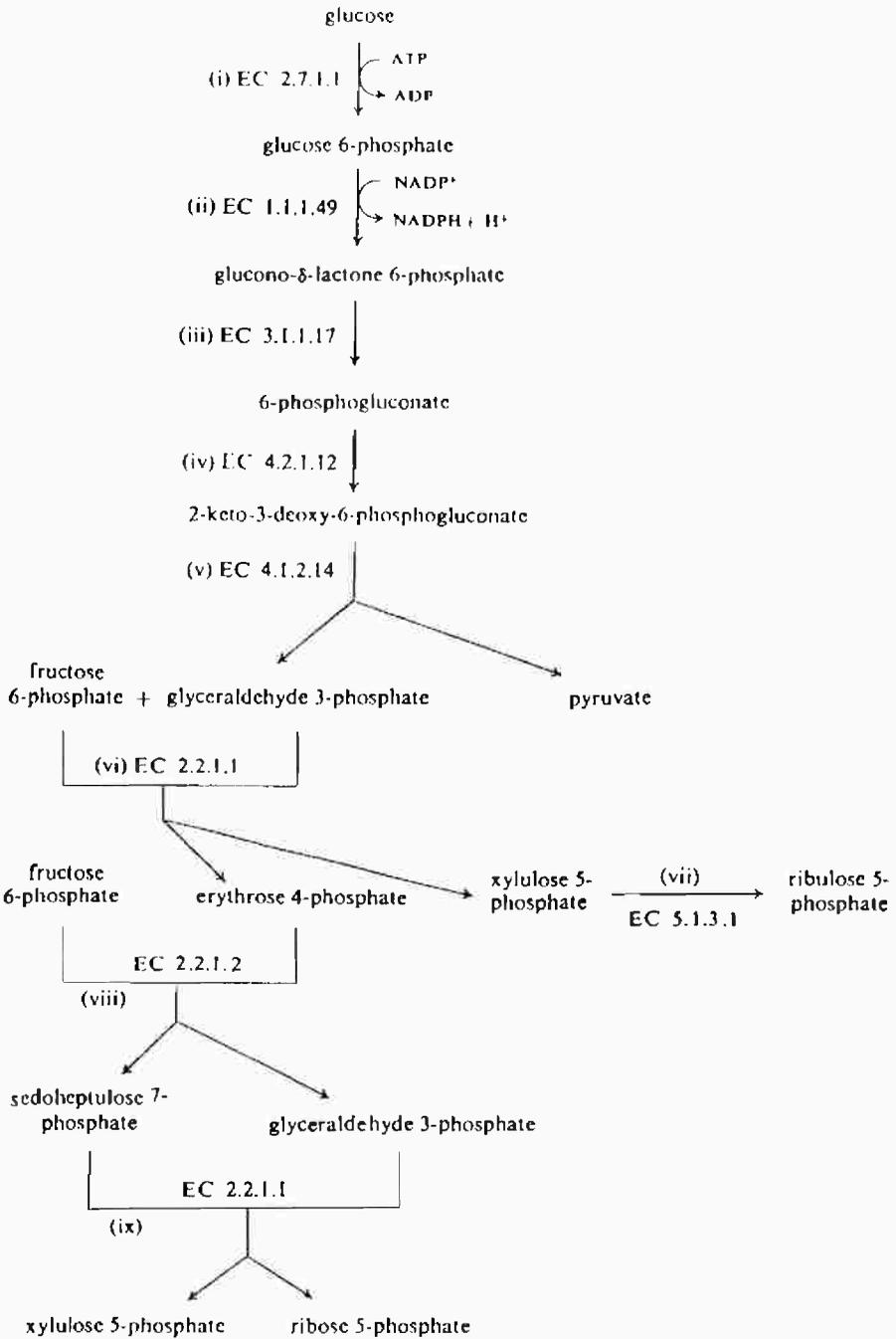
والتفاعل الأول والثانى والثالث يشبه أقرانهم فى دورة HMP بالرغم من أنه لم يثبت بعد إذا كانت الانزيمات لها نفس الخواص الحركية Kinetic . والفرق الواضح المميز لهذه الدورة هو نزع جزئى ماء dehydration من المركب ٦- فوسفوجلوكونات (تفاعل IV) لتكون المركب ٢-كيتو-٣- دى اوكسى -٦- فوسفو جلوكونات (KDPG) فى وجود انزيم Phosphogluconate dehydratase (EC 4.2.1.12) .



٦ - فوسفو جلوكونات

جليسرلدهيد
٣- فوسفات

ثم يحدث تفاعل انشقاقي (V) فى وجود انزيم KDPG-aldolase (EC 4.1.2.14) ينتج عنه البيروفات ، الجليسرلدهيد ٣-فوسفات وهو يشبه تفاعل فركتوز ١,٦ داي فوسفات الدوليز فى دورة EMP كما أن انزيم KDPG - aldolase يلامس عملية enolization للبيروفات .



شكل (٣-٥) : دورة Entner & Doudoroff لتحولات الجلوكوز

نقلًا عنهما (١٩٥٢)

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 الخلقية 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 Transketolase

الثانى (تفاعل IX) .

ويلاحظ أن الدورات الثلاث الرئيسية السابقة كل منها يخدم بعض أغراض التحول الأيضي . فدورة EMP تمد الخلية بالكمية الأكبر من ATP ولكن لا تنتج السكريات الهامة (الريبوز ٥ - فوسفات ، Erythrose 4-P) اللازمة للاتحاد مع القواعد البيورينية والبيريميدينية لتكوين الأحماض النووية . وعموماً فإن الميكروبات التي تنمو على البيئات المعتدلة فقط مثل البيئات المحتوية على مستخلص اللحم ومستخلص الخميرة يمكنها استخدام هذه الدورة (EMP) .

أما دورة HMP - فعلى العكس - حيث تنتج السكريات الهامة ولكن لا تنتج إلا نصف كمية ATP . وأيضاً لا تنتج البيروفات مباشرة ولذا فالكائن لا بد أن يمتلك - على الأقل - جزء من EMP ابتداء من الجليسرلدهيد ٣- فوسفات حتى البيروفات .

ولذا لا غرابة في احتمال وجود الدورتين في الكائنات التي تقوم بدوره HMP . ونسبة استخدام الدورتين EMP ، HMP تعتمد على الظروف البيئية المحيطة .

أما دورة ED فعلى الجانب الآخر من HMP حيث تكوين البيروفات المباشر يجعلها غير معتمدة على الدورتين الأخرتين . وإنتاج ATP وكل السكريات الخماسية الضرورية يجعلها أشبه بدورة HMP وخاصة لتماثل عدد من الانزيمات فيهما . ويمكن لبعض المجاميع البكتيرية وبالذات السالبة لجرام ذات % G+C في DNA بين ٥٢-٧٠ % استخدام هذه الدورة فقط .

ويشير الجدول التالي إلى نسب توزيع هذه الدورات الثلاث في بعض الميكروبات . أما أسباب اختيار الدورات المفردة فلم تعرف بعد .

Microorganisms	EMP	HMP	ED
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	88	12	--
<i>Candida utilis</i>	66 - 81	19 - 34	--
<i>Streptomyces griseus</i>	97	3	
<i>Penicillium chrysogenum</i>	77	23	
<i>Escherichia coli</i>	72	28	
<i>Sarcina lutea</i>	70	30	
<i>Bacillus subtilis</i>	74	26	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	--	29	71
<i>Acelomonas oxydans</i>	--	100	--
<i>Zymomonas mobilis</i>	--	--	100

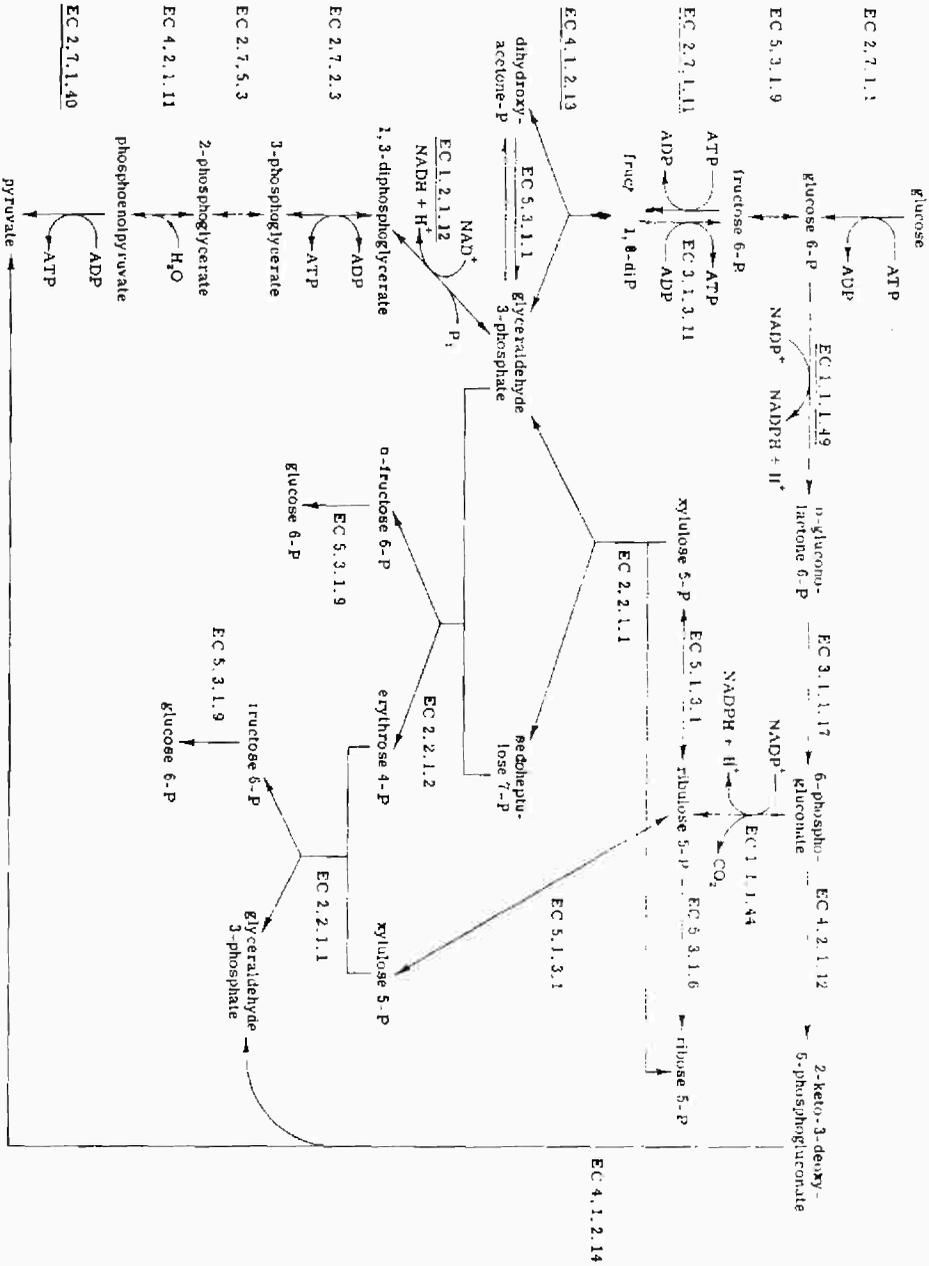
جدول (٥-١) : تقدير نسب الدورات الرئيسية لهدم الجلوكوز في بعض الميكروبات

نقلاً عن Gheldelin, 1961

ويعتقد أن الأكسجين يلعب دوراً في اختيار الدورة المستخدمة حيث أن أغلب البكتريا اللاهوائية تحتوي EMP مثل Clostridia ، Enterobacteria ، Spirochetes .

أما البكتريا الاختيارية فتحتوي على خليط من EMP ، HMP مثل *E. coli* أما الهوائية الختمية 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 الأكسجين هذا محل شك .

ويعكس تعقد عملية التحول الأيضى للجلوكوز من خلال الدورات الثلاث EMP ، HMP ، ED مدى تداخل الدورات الثلاث معاً كما بالرسم التالى :



شكل (٤-٥) : التداخل بين الدورات الرئيسية الثلاث EMP ، HMP ، ED

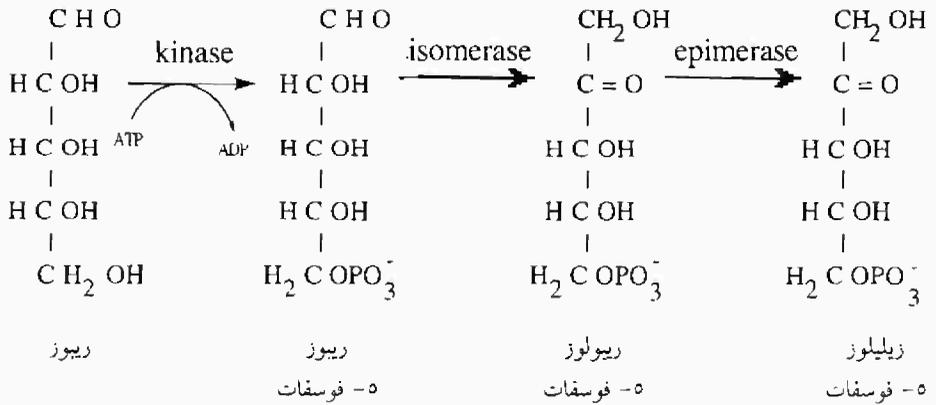
نقلا عن Doelle سنة ١٩٧٥

٤٠١٠٥ دورة (PK) Phosphoketolase

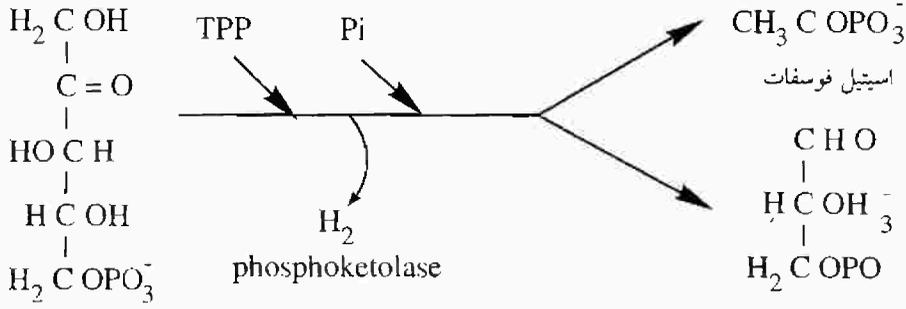
وهي توجد في عدد قليل من البكتريا وبالذات بكتريا حمض اللاكتيك hetero-Fermentative lactobacilli وينظر إليها كفرع من دورة (HMP) Pentose Shunt لأن جزء من كل منهما متطابقان وهي تقسم حسب السكر الداخلة فيها إلى :

a) Pentose phosphoketolase (PPK) pathway

حيث تعمل السكريات الخماسية (الريبوز - ٥ فوسفات ، الزيليلوز ٥ - فوسفات) المتكونة في دورة HMP كمصدر للكربون . والبكتريا التي 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 . والذي 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 .



وهذا المركب (زيليلوز ٥ - فوسفات) يلعب الدور الوسطى (Key) في هذه الدورة - حيث يتحول إليه السكريات الخماسية الأخرى مثل الارابينوز ، الزيلوز - لأن الانزيم الرئيسي في هذه الدورة phosphoketolase (EC 4.1.2.9) يتفاعل فقط مع هذا المركب ويشطره إلى أسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد ٣ - فوسفات في وجود ثيامين بيروفوسفات وكذا Pi المعدني كمايلي :

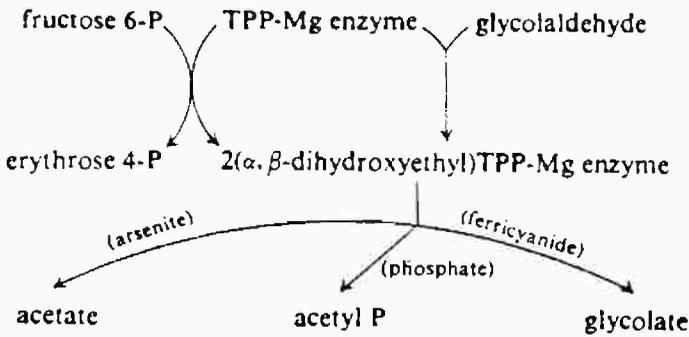


xylulose 5 - P

جليسرالدهيد 3- فوسفات

- وقد وجد أن التفاعل الملاحظ في *lactobacillus plantarum* مطابق للموجود في *Leuconostoc mesenteroides* حيث يغيب في هذه الميكروبات الدورات المعتادة ED ، HMP ، EMP ويتكون انزيم Phosphoketolase بواسطة الميكروب الأول إذا نمت على الريبلوز (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» وتحويل الطاقة يحدث عند ذرة الكربون الأكثر أكسدة .

هناك تفاعل آخر يدخل Phosphoketolase في ملامسته كما في الرسم التالي :

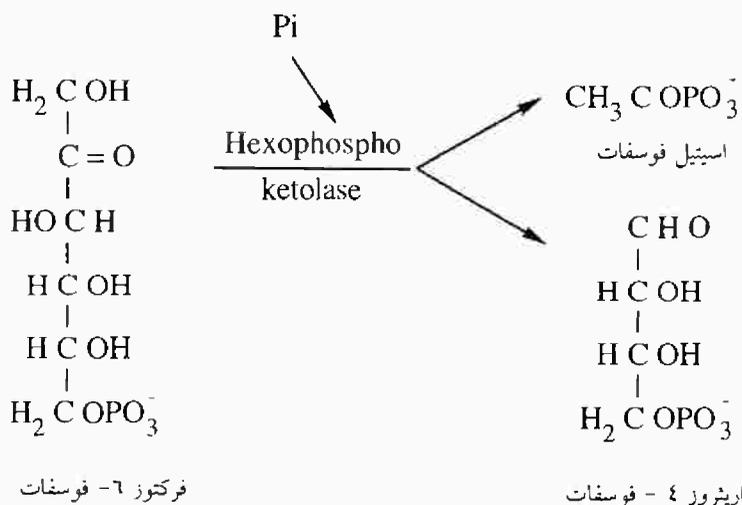


شكل (5-5) : دورة Phosphoketolase (PK)

والخطوة الأولى هو تكوين المركب الوسطى المسمى (α, β dihydroxyethyl) - 2 - TPP-Mg⁺⁺ - enzyme ويتبع ذلك تفاعل نشط ينتج عنه الاسيتات مع الارسينات arsenite أو اسيتيل الفوسفات فى وجود Pi المعدنى أو الجليكولات فى وجود الفروسيانيد .

b) Hexose Phosphoketolase Pathway

يفتقد ميكروب *Lactobacillus bifidus* القدرة على تكوين انزيم الفركتورز داي فوسفات الدوليز وكذا انزيم الجلوكوز 6- فوسفات ديهيدروجينيز . ولذا تخمر الجلوكوز عبر دورة تختلف عن الموجودة فى hemo-and Hetero-Fermentative Lactic acid bacteria وذلك يعنى عدم حدوث أى من الدورات EMP ، HMP ، ED ، PPK . والتفاعل الرئيسى (Key) لتخمير الجلوكوز بواسطة هذه المجموعة من البكتريا يبدو فى انقسام الفركتورز 6- فوسفات إلى اسيتيل فوسفات ، اريثروز - 4 فوسفات بملامسة انزيم Hexophosphoketolase .

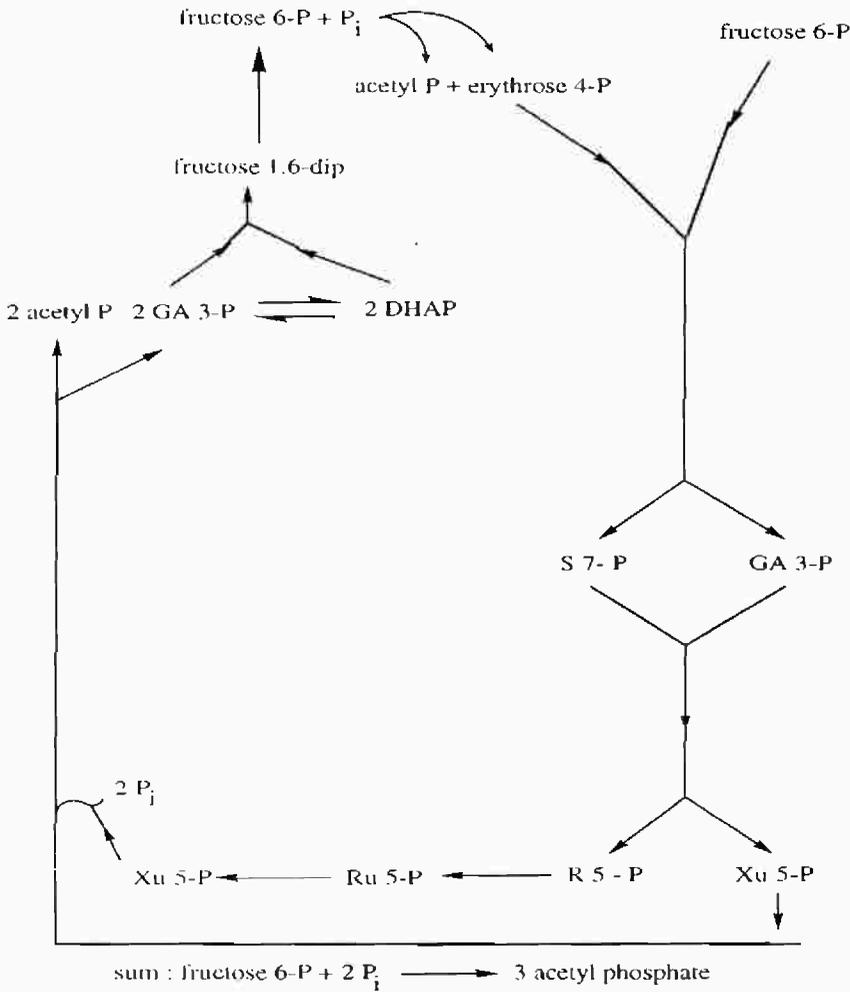


وتتكون السكريات الخماسية بتفاعل عكس دورة HMP بتأثير :

(EC 2.2.1.2) Transaldolase , (EC 2.2.1.1) Transketolase

والنتائج هو الزيليلوز 5 - فوسفات الذى ينقسم إلى اسيتيل فوسفات والجليسرلدهيد 3 - فوسفات كما سبق ذكره . ويمكن إجمالى تفاعلات هذه الدورة كما فى الرسم التالى

وحيث أن التفاعلات حلقية (بمعنى أن المركبات الناتجة تدخل مرة أخرى في الدورة) لذا يطلق عليها PK-Shunt .



شكل (٥-٦) : Phosphoketolase Shunt in *Acetobacter xylinum*

والمعلومات المتاحة حالياً لاستخدام الدورات المختلفة لا تقطع بتحديد أحدهم تحت الظروف الهوائية أو اللاهوائية إلا أن المؤكد أن أحدهم تسود تحت ظروف بيئية معينة ولذا لاستخدام الجلوكوز بأكثر كفاءة ممكنة يجب توفير هذه الظروف مع دراسة ميكانيكية انتقال الجلوكوز من البيئة المحيطة .

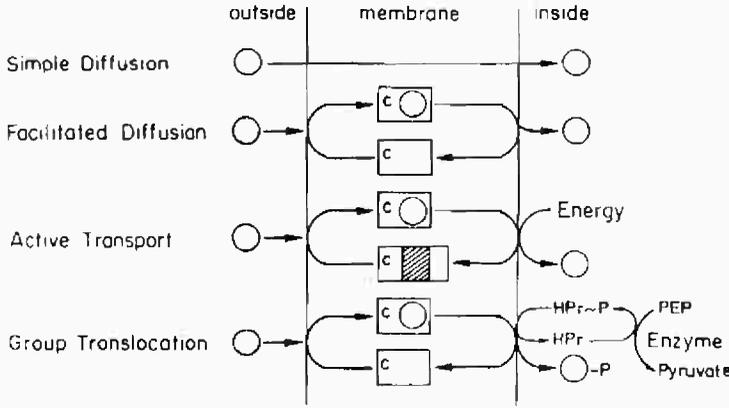
٥٠١٠٥ ميكانيكية انتقال الجلوكوز Glucose Transport mechanism

يجب أن يمر الجلوكوز المضاف للبيئة أولاً خلال غشاء الخلية ليحدث له التحولات الأيضية المذكورة سابقاً . والغشاء الخلوي نفسه ذو نفاذية اختيارية للمركبات العضوية والغير عضوية . وتوجد ٤ عمليات أساسية - معروفة للآن - مسؤولة عن انتقال الجزيئات عبر الغشاء الخلوي .

(١) الانتشار البسيط Simple diffusion : يمر المحلول عبر غشاء الخلية بدون أى مساعدة Catalysis من الغشاء أو أحد مكوناته . والطاقة اللازمة لهذا الانتشار تشتق من الاهتزاز الحرارى للجزيئ thermal agitation وتعتمد العملية أساساً على وجود تدرج كهروكيميائى 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 للجزيئات وتحتاج أيضاً التدرج الكهروكيميائى عبر الغشاء والاختلاف يرجع إلى تفاعل أحد مكونات الغشاء الخلوي (C) كعامل لمسى Catalyst كما يظهر فى الرسم الساتلى (شكل ٥ - ٨) والذى يودى 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 لمسى Carrier ولكن مع الاحتياج لطاقة إضافية ويستطيع الجزيئات فى هذه العملية الحركة عبر الغشاء ضد تدرج التركيز . ولقد درس هذا الانتقال النشط بعناية كبيرة وبالذات مع انزيمات Permeases المتصلة بانزيم galactosidase . 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 لمسى لانزيم B-galactosidase فإنه يعتقد أن Permease يمكن أن تُكوّن ATPase galactoside مرتبط بالغشاء وترجع أهمية هذا النوع من الانتقال إلى ارتباطه بنقل الكاتيونات .



شكل (٧-٥) : ميكانيكيات انتقال الجلوكوز الأربع خلال الغشاء

O مادة التفاعل المنقولة
C حامل منشط بالطاقة (مظلل)
permease Carrier C
بروتين ثابت للحرارة HPr

(٤) group translocation وهو الميكانيكية المفضلة لنقل السكريات عبر الغشاء البكتيري . وأساس هذه العملية هو تفاعل كيميائي عبر الغشاء يؤدي 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 وبالتالي دخول جلوكوز ٦ - فوسفات إلى الخلية . ويتكون هذا النظام من ٤ مكونات بروتينية هي :

- أ - بروتين منخفض الوزن الجزيئي يحتوي على الهستيدين وثابت للحرارة (HPr) .
- ب - انزيم بروتيني ذاتي (E_I) .
- ج - انزيم بروتيني مرتبط بالغشاء (E_{II}) وهو متخصص للسكر .
- د - مكون بروتيني إضافي يسمى Factor_{III} متخصص لفسفرة السكر .

وافترضت الميكانيكية كالتالى :



ويوجد انزيم PEP-transferase ليس فقط في البكتريا الموجبة جرام وإنما أيضاً في السالبة جرام مثل *E. coli* والفرق بينهما أن السالبة 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) فثبتت عدم قدرتها على نقل أى كربوهيدرات مما يدل على أن انزيم E_I هو المسئول عن انتقال السكر عموماً .

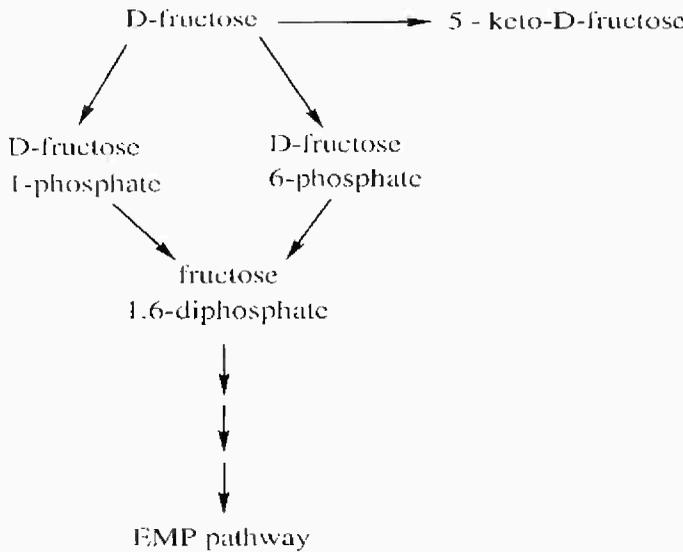
ولكن هناك تساؤل لماذا بعض البكتريا مثل *E. coli* تملك كلا النظامين Permease and PEP Phosphotransferase? والإجابة تمت بعمل حصر لتوزيع وانتشار PEP - Transferase والذي أظهر أنه يوجد أساساً في البكتريا الاختيارية اللاهوائية ولا يلعب أى دور فى انتقال السكر فى البكتريا الهوائية الحتمية حيث أن الاختيارية تستخدم كمية سكر أكبر تحت الظروف اللاهوائية لتحصل على الطاقة اللازمة للتخليق الحيوى منها تحت الظروف الهوائية (تأثير باستير) وهذا الانتقال الأسرع يتم بمساعدة PEP - Transferase وعموماً فإن وصول المواد لداخل الخلية يتضمن عمليات معقدة جداً ومازالت معلوماتنا محدودة بهذا الشأن .

٢٠٥ تحولات الفركتوز Fructose metabolism

يمثل الفركتوز بواسطة بعض الأجناس مثل : *Aerobacter* ، *Acetobacter* ، *Alcaligenes* ووجد أيضاً في *E. coli* ، *Zymomonas mobilis* ، *Clostridium acet-* ، *Cl. thermoscellum* ، *icaum* ، وتعتمد دورة التحول على ما إذا كان السكر السداسى

سيضاف للبيئة خارجياً وكيفية مروره خلال الغشاء الخلوي أو موجود داخلياً بالفعل كنتاج وسطي لتحويل الكربوهيدرات .

- والفركتوز المضاف خارجياً يمر عبر الغشاء بواسطة انزيم phosphoenolpyruvate: Fructose phosphotransferase (EC 2.7.1.3) والذي يدخل الخلية كفركتوز ١ - فوسفات ثم يحدث له فسفرة ثانية بواسطة Fructose 1-P Kinase إلى فركتوز ١ر٦ داي فوسفات وهذا الانزيم nonallosteric وينشط بواسطة K^+ ، NH_4^+ .
- أما السكر الموجود داخلياً فسرعان ما يتحول إلى الفركتوز ٦- فوسفات بملاسة انزيم phosphofructokinase (EC 2.3.1.4) ثم تحدث له عملية فسفرة ثانية إلى فركتوز ١ر٦ داي فوسفات الذي يدخل دورة EMP .
- وهناك إمكانية (طريق) ثالث يتم بواسطة ميكروب *Acetobacter Cerinus* وهو ميكروب هوائي حتمي 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 .

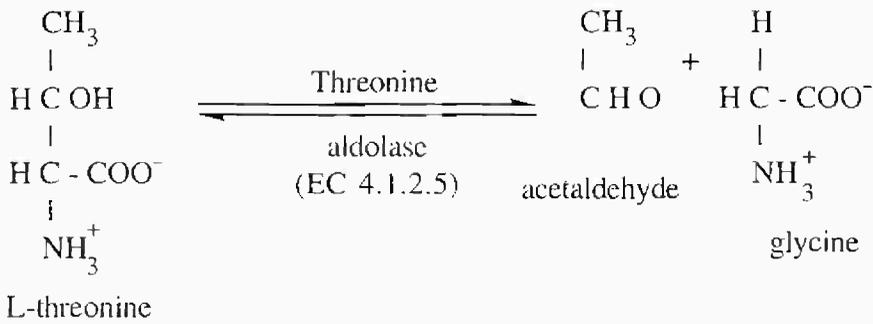


شكل (٥-٨) : الطرق المختلفة لتحويلات الفركتوز الأيضية

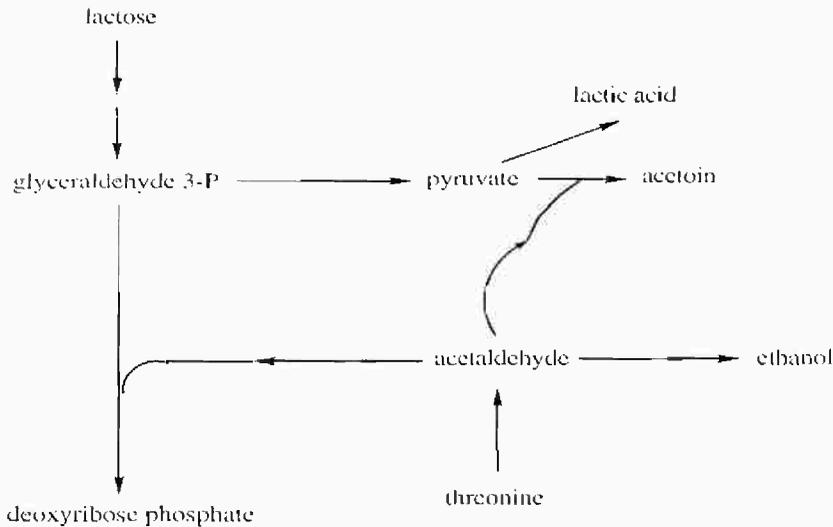
٣٠٥ تحولات اللاكتوز Lactose metabolism

يتحول اللاكتوز بواسطة *Streptococci* ، *Enterobacteriaceae* إلى الجلاكتوز ، الجلوكوز ويعتبر أحد الصفات التقسيمية الهامة لهم ثم يكمل الجلوكوز تحوله من خلال دورة EMP .

ويختلف استخدام اللاكتوز بواسطة *Streptococci* عنه مع *Enterobacteria* من حيث قدرتها على النمو على اللاكتوز والكازين الممتئ وتستخدم *threonine* أيضاً لتكوين الاستيالدهيد والجليسين .



ويمكن إجمالى ميكانيكات تحول اللاكتوز كما بالرسم التالى :

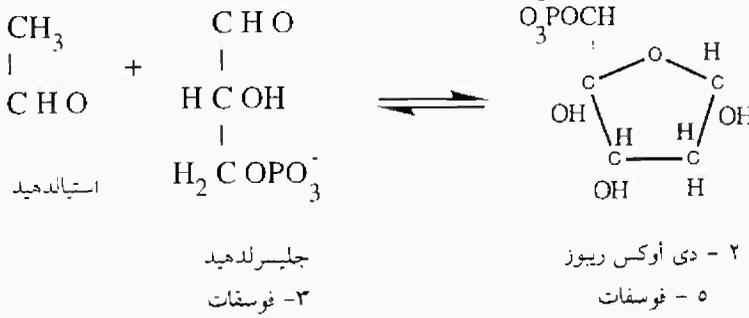


شكل (٥-٩) : تحولات اللاكتوز فى *Streptococci*

والاستيالددهيد المتكون يمكن أن يتحول عبر ٣ طرق مختلفة تبعاً لتيسر وجود أحد ثلاث

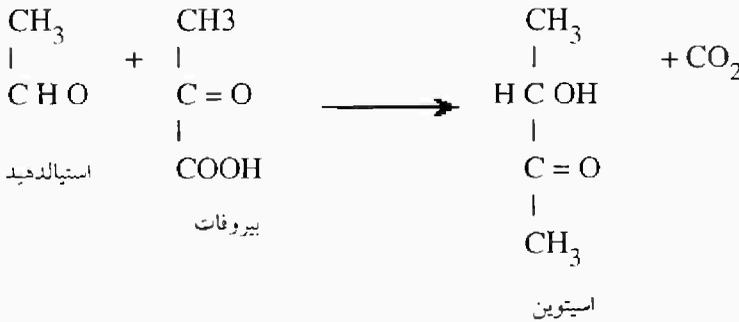
أنزيمات :

(١) انزيم (EC 4.1.2.4) deoxyribose aldolase :



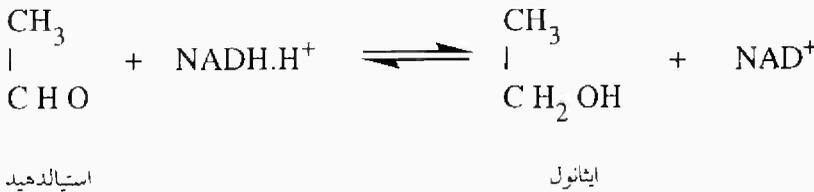
(٢) انزيم acetoin Synthetase الذي يلامس انشقاق البيروفات مع الاستيالددهيد إلى

الاستيوتين ، ك أ٢ .



(٣) انزيم (EC 1.1.1.1) alcohol dehydrogenase الذي يحول الاستيالددهيد إلى

ايتانول :

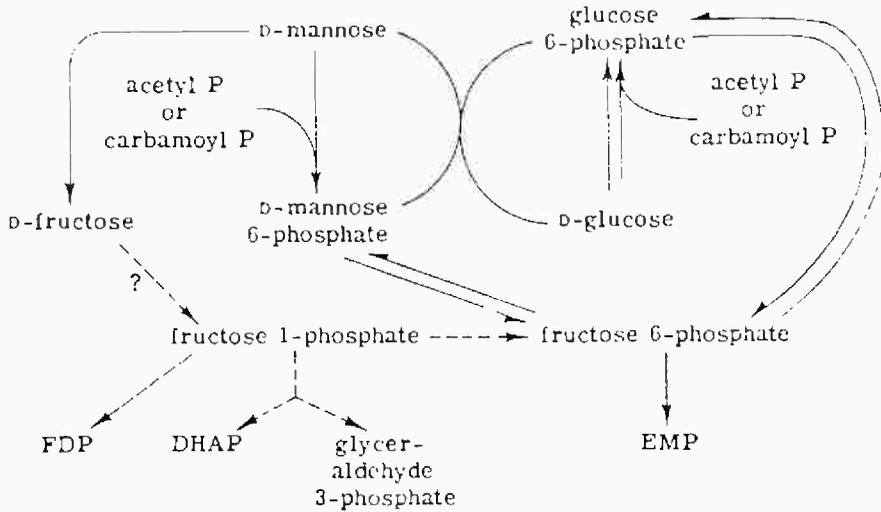


وبالطبع فإن هناك بعض Streptococci التي لاتتبع هذا التحول مثل *Streptococcus*

cremoris الذي يحتاج الجليسين ولا يستطيع تكوين Threonine aldolase .

٤٠٥ تحول المانوز Mannose metabolism

يتبع هدم المانوز طريقتين مختلفتين (١) الميكانيكية الحلقية . (٢) الميكانيكية الغير حلقية .



شكل (٥-١) : تحولات المانوز في *Aerobacter aerogenes*

يستطيع ميكروب *Aerobacter aerogenes* فسفرة المانوز بواسطة الجلوكوز ٦- فوسفات وفي 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 .

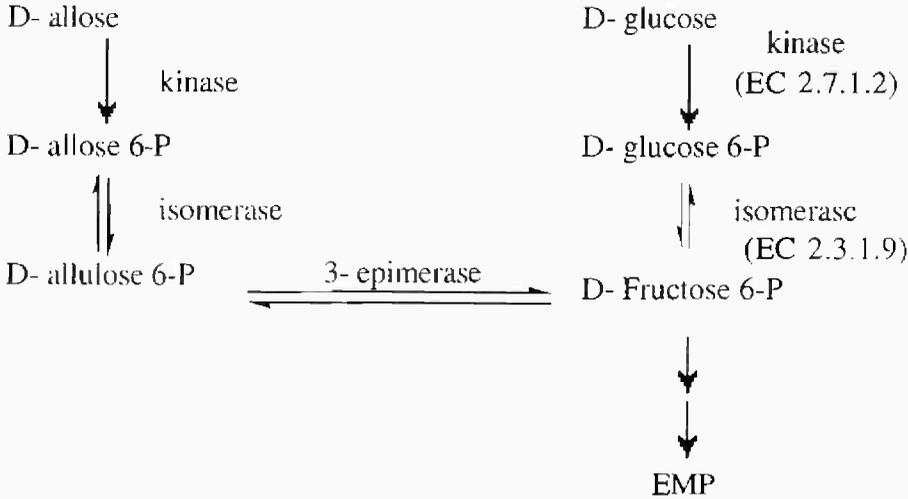
وبواسطة انزيم mannophosphate isomerase (EC 5.3.1.8) يمكن تحويل المانوز ٦- فوسفات إلى فركتوز ٦- فوسفات الذي اما يتحول إلى الجلوكوز ٦- فوسفات من جديد بواسطة Glucose-6P isomerase (EC 5.3.1.9) أو يكمل تحوله عبر دورة EMP .

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 فهي تحول المانوز إلى الفركتوز بواسطة isomerase منشط بالكوبلت ثم تحدث فسفرة عند C_1 بواسطة ATP في وجود kinase لتكوين الفركتوز ١- فوسفات والذي ينشق إلى دي هيدروكسي اسيتون فوسفات والجليسرلدهيد ٣- فوسفات أو يتحول إلى فركتوز ٦- فوسفات ويكمل دورته عبر EMP-pathway .

٥٠٥ تحولات الألووز Allose metabolism

يتبع هدم الجلوكوز والألووز طرق منفصلة متوازية حتى يتحدا ويتصلا بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦- فوسفات .



تحويلات الألووز

ويقوم ميكروب *Aerobacter aerogenes* بتحويل الألووز تحت الظروف الهوائية واللاهوائية . حيث يفسر الألووز أولاً بواسطة *allosekinase* إلى الألووز ٦- فوسفات الذي يتحول في وجود *allose 6-P Ketol - isomerase* إلى *allulose - 6 - P* والذي يحدث له عملية *cpimerization* ويتحول إلى فركتوز ٦ - فوسفات والذي يكمل تحوله عبر دورة EMP .

وميكروب *A. aerogenes* يستطيع تحويل الجلوكوز أيضا لأنه يمتلك انزيمي *glucokinase* (EC 7.7.1.2) ، *glucose phosphate isomerase* (EC 2.3.1.9) كما بالرسم السابق .

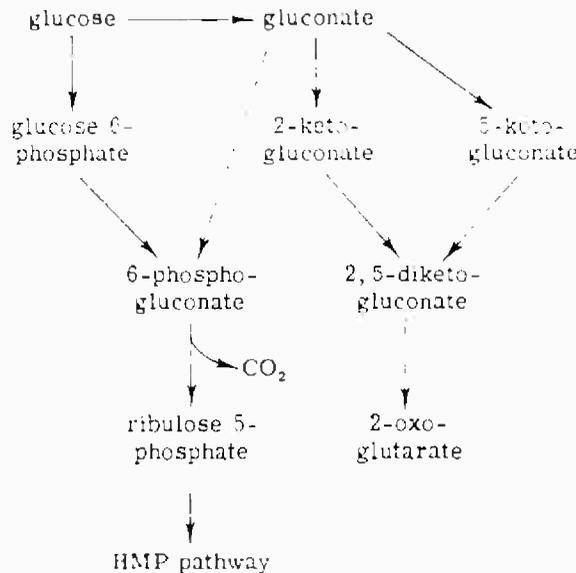
٦٠٥ تحولات الجلوكونات Gluconate metabolism

لا يستطيع عدد من الميكروبات فسفرة الجلوكوز حيث تفتقد نظام *hexokinase* أو نظام *PEP-transferase* وقد وجد في مستخلص الخلايا لميكروب

Acetomonas Suboxydans أنه يمتلك نوعين من الجلوكوز ديهدروجينير **الاول** مرتبط بالداى كلورواندوفينول (DPI) وهو مطابق لانزيم الجلوكوز أو كسيديز (EC 1.1.3.4) **والثاني** مرتبط بالمراقق $NADP^+$. ووجود انزيم gluconokinase (EC 2.7.1.12) مع انزيم 6- phosphogluconate DH (EC 1.1.1.44) يربط تحول الجلوكونات بدورة HMP فى بكتريا حمض الخليك . كما يمتلك *Acetomonas Suboxydans* ميكانيكية ثانية لتحويل الجلوكونات فى وجوده 5-ketogluconate reductase (EC 1.1.1. gr) وينتج ٥ - كيتوجلوكونات ودرجة الحموضة pH الأمثل هذا التفاعل 7.5 بينما السقلوية الزائدة pH 9.5 يشجع التفاعل العكسى .

أما *Acetobacter melangogenum* برغم أنه لا يمتلك انزيم glucono kinase ولا يستطيع تكوين ٦- فوسفو جلوكونات فإنه يؤكسد ٢ - كيتوجلوكونات إلى ٢٥ داي كيتوجلوكونات بواسطة Ketogluconate dchydregenase (EC 1.1.99.4) وهذا المركب غير ثابت وبالذات عند pH أعلى من 4.5 ويتأكسد سريعاً عبر سلسلة من المركبات الوسيطة 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

والمحصلة النهائية لكلا التفاعلين عند جمعها :



وهذه العملية مقصورة على *St. faecalis* والذي يعتبر ميكروب Homo fermentative أما ميكروبي *Enterobacter Cloacae* ، *Pseudomonas fluorescens* فتحدث فسفرة أولا للمركب ٢ - كيتو جلوكونات يتبعها اختزال للمركب ٦ - فوسفو جلوكونات الذي يكمل تحولاته كما سبق أو بطريقة Heterofermentative .

وعموماً فإن التحول من استخدام الجلوكوز إلى الجلوكونات يحدث بسبب نقص glucokinase الذي يفسفر الجلوكوز أو phosphogluco isomerase الذي يحول جلوكوز ٦ - فوسفات إلى فركتوز ٦ - فوسفات وبكتريا حمض الخليك وبكتريا اللاكتيك تستخدم الجلوكونات فقط عبر دورة HMP بينما Pseudomonads تفضل استخدام دورة ED .

٧٠٥ تحولات المانيتول Mannitol metabolism

تقسم بعض أنواع البكتريا إلى مجموعتين حسب قدرتها على هدم المانيتول هما :

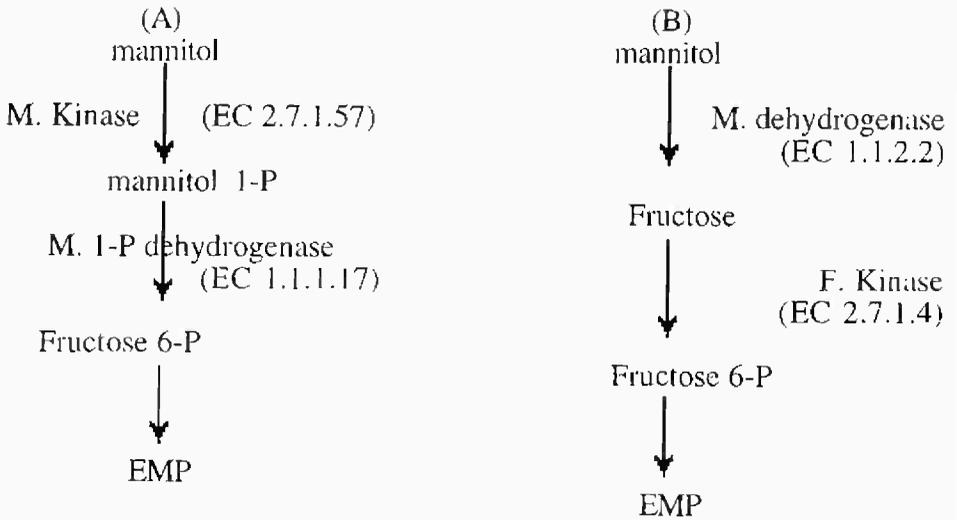
(أ) مجموعة تبدأ عملية التحول بالفسفرة .

(ب) مجموعة تبدأ عملية التحول بالأكسدة dehydrogenation .

وفي كلا الحالتين يتصل هدم المانيتول بدورة EMP عند مستوى الفركتوز ٦ - فوسفات .

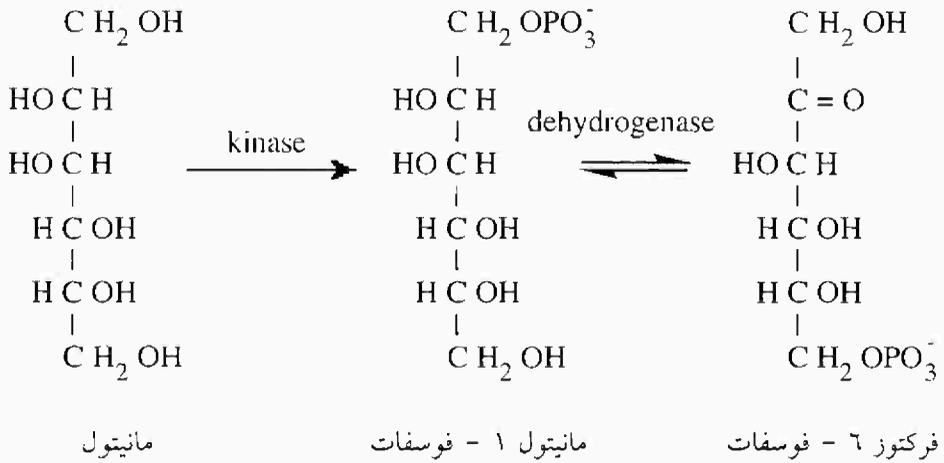
وتم التقسيم لهاتين المجموعتين على أساس قدرة الميكروبات على تكوين mannitol 1-P dehydrogenase (EC 1.1.1.17) المرتبط بالمرافق NAD^+ .

- كيفية حدوث التحول في المجموعتين يبدو كالتالى :

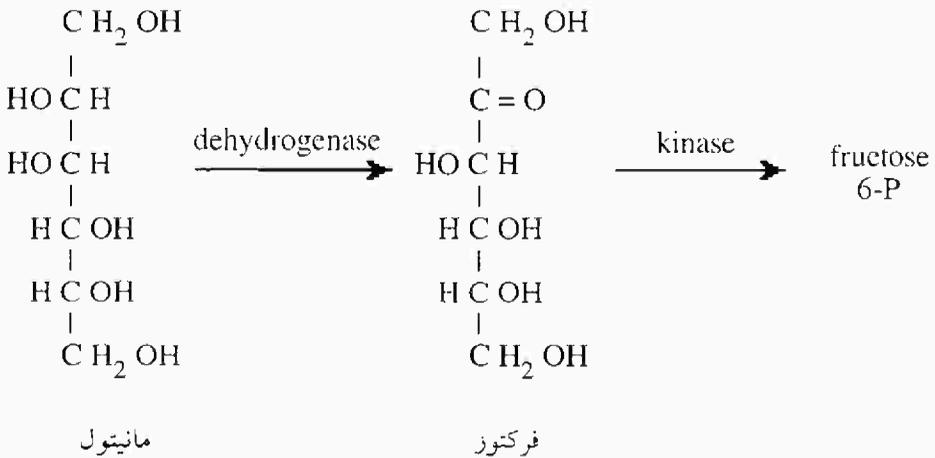


وتتبع ميكروبات *Salmonella* ، *Bacillus subtilis* ، *Aerobacter aerogenes* المجموعة الأولى (A) بينما تتبع ميكروبات *Lactob. plantarum* ، *E. coli* ، *Staph. aureus* ، *typhimurum* ، *Azobacter* ، *Acetobacter suboxydans* المجموعة الثانية (B) . *Pseudomonas fluorescens* ، *agilis* .

والخطوة الأولى فى تفاعلات المجموعة (A) هى فسفرة المانيتول بواسطة Mannitol Kinase الذى يعتمد على فوسفواينون بيروفات (PEP) ثم يتحول إلى الفركتوز ٦ - فوسفات (المركب المفتاحى لدورة EMP) وذلك فى وجود انزيم المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجينيز المرتبط بالمرافق الانزيمى NAD^+ .



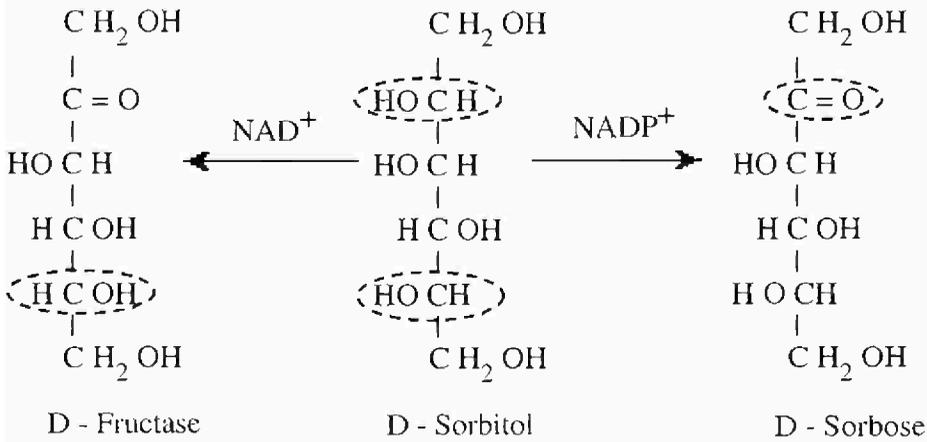
أما ميكروبات المجموعة (B) فتقوم بعملية أكسدة اولاً في وجود انزيم مانيتول ديهيدروجيناز المرتبط بـ NAD^+ ثم عملية فسفرة في وجود kinase .



٨٠٥ تحولات السوربيتول Sorbitol metabolism

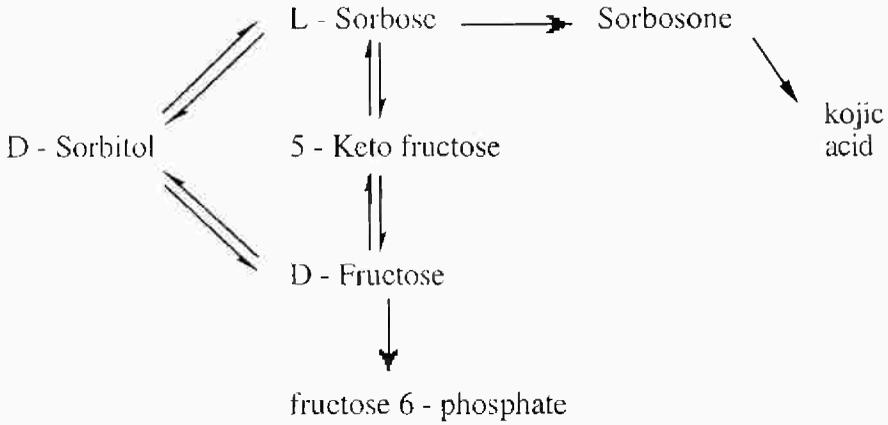
تتطابق تحولات السوربيتول تقريباً مع المانيتوز والفرق الوحيد بينهما يلاحظ في عملية فسفرة السوربيتول بواسطة الكينيز إلى سوربيتول ٦- فوسفات والذي يتحول في وجود Sorbitol 6-P dehydrogenase (EC 1.1.1.140) المرتبط بـ NAD^+ إلى فركتوز ٦ - فوسفات .

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 في ميكروب *Clostridium pasterianum* والسوربيتول ذو تأثير مشجع لتكوين المانيتول ١ - فوسفات ديهيدروجينيز في *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 في وجود NAD^+ وأيضاً تنتج السوربيوز في وجود NADP^+ .



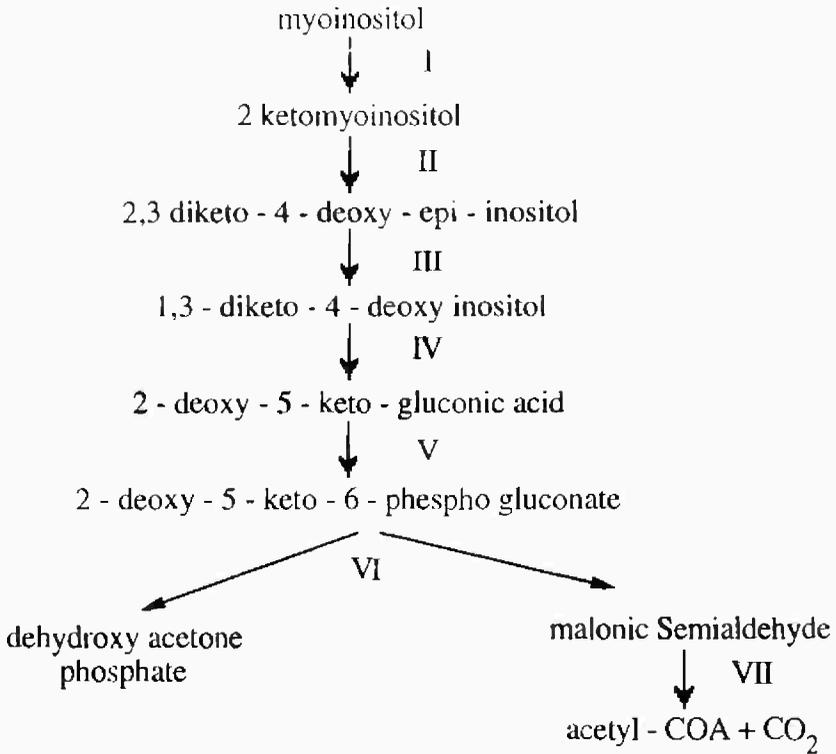
وحيث أن سوربيتول ويهيدروجينيز المرتبط بـ NADP^+ غير ثابت فيظهر تكوين الفركتوز أكثر حدوثاً ثم يحدث فسفرة للفركتوز إلى فركتوز ٦ - فوسفات ويكمل تحوله عبر دورة HMP .

وتستطيع بعض بكتريا الخليك أكسدة سوربيوز Sorbose سريعاً منتجاً ٥ - كيتوفركتوز الذى يعتبر مركباً وسطى فى تكوين Kojic acid .



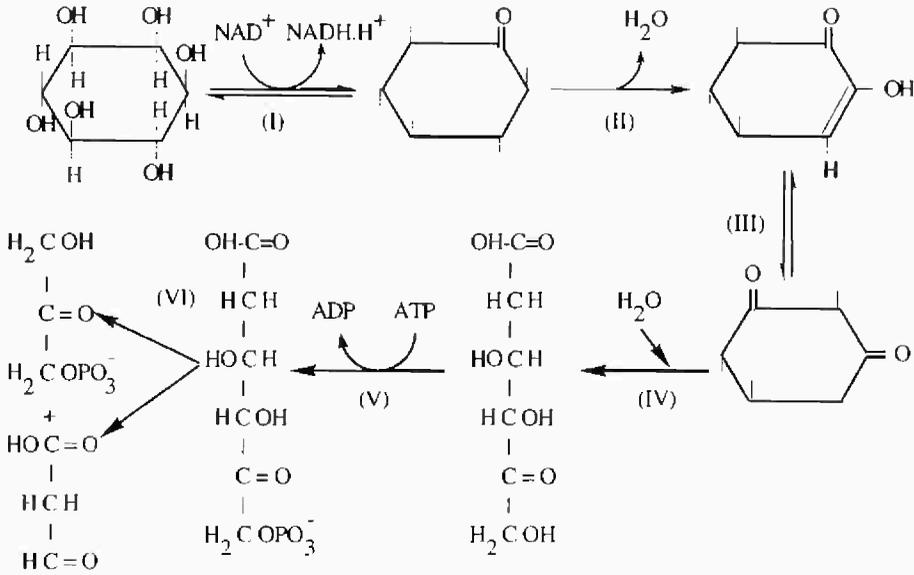
٩٠٥ تحولات الاينوسيتول Inositol metabolism

يمكن توضيح طريقة هدم myoinocitol في ميكروب *Aerobceter aerogenes* كما بالرسم كما وصفها (Anderson & Magasanik, 1971).

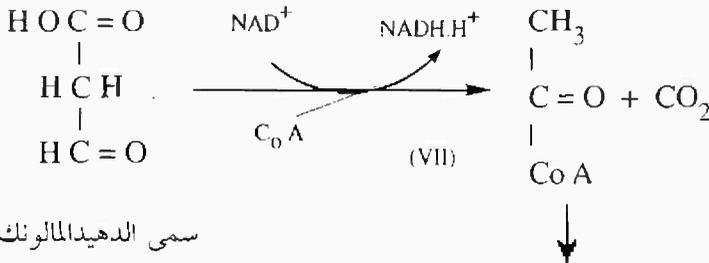


شكل (٥-١٢) : تحولات myoinositol

حيث يؤكسد الميكروب ميوانويسيتول بواسطة ديهيدروجينيز مرتبط بـ NAD^+ وتتم الأكسدة على ذرة الكربون رقم ٢ ويتكون كيتوميوانويسيتول . والخطوة الثانية عملية نزع جزئ ماء dehydration بواسطة انزيم كيتو اينوسيتول ديهيدريز ويتبعها في خطوة ثالثة epimerization ينتج عنها ٣ اى 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 الدوليزية ينتج عنها مركبين هما دى هيدروكسى اسيتون فوسفات وسمى الدهيدالمالونيك كما هو موضح بالرسم التالى :



والمركب الأخير يحدث له عملية نزع ك أ_٢ بالأكسدة oxidative decarboxylation فى وجود Coenzyme A ويتكون اسيتيل كو انزيم A .

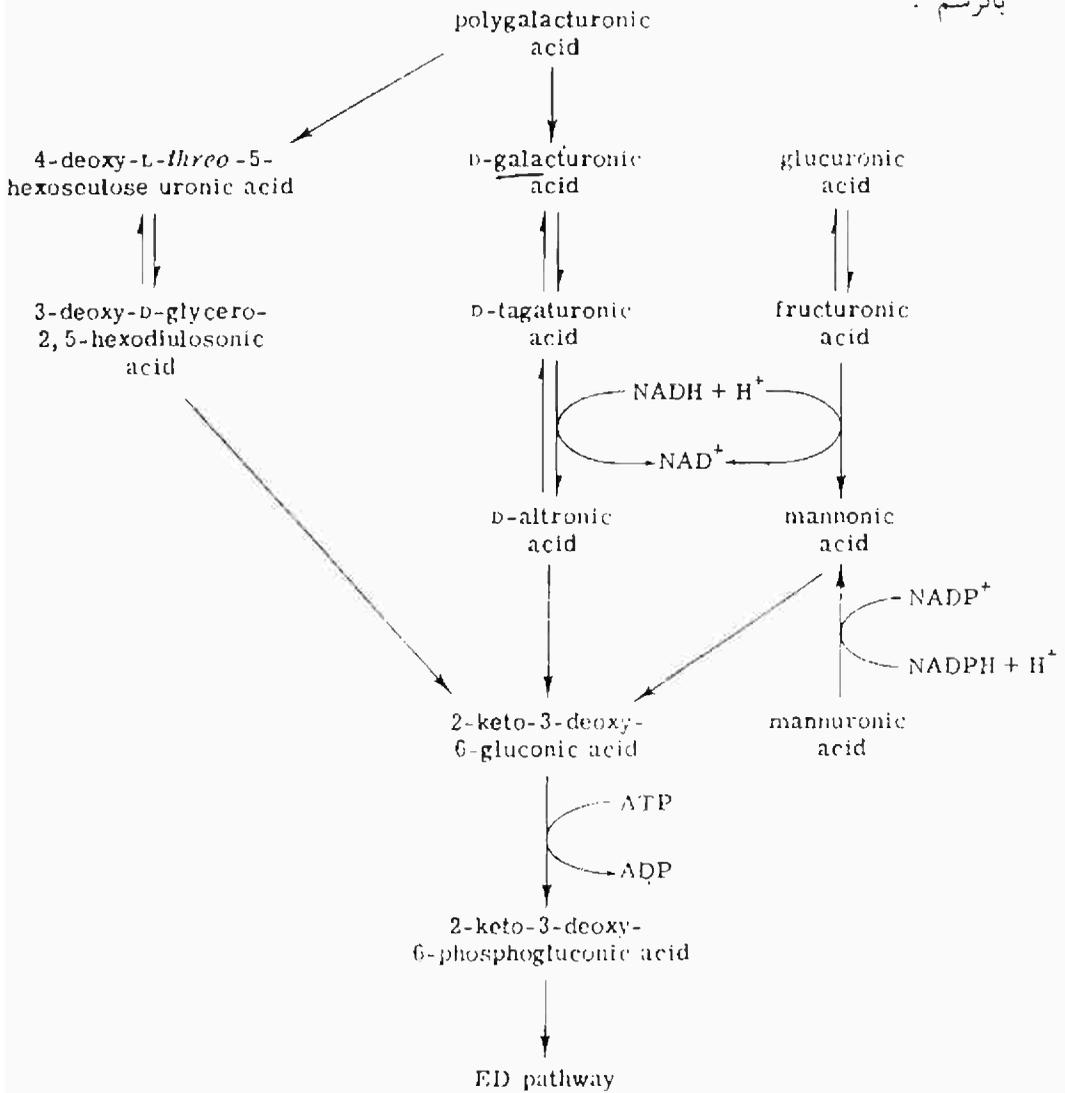


سمى الدهيدالمالونك

يدخل دورة TCA تحت الظروف الهوائية

١٠-٥ تحولات الأحماض الهكسويورينه Hexuronic metabatism

تحويل الأحماض الهكسويورينه مثل الجلوكويورنيك ، الجلاكتويورنيك ، المانويورنيك ، البولي جلاكتورونيك بواسطة بعض الميكروبات من اجناس *Agrobacterium* ، *Aeromonas* ، *Pseudomonas* . وذلك عبر دورة ED كما بالرسم .

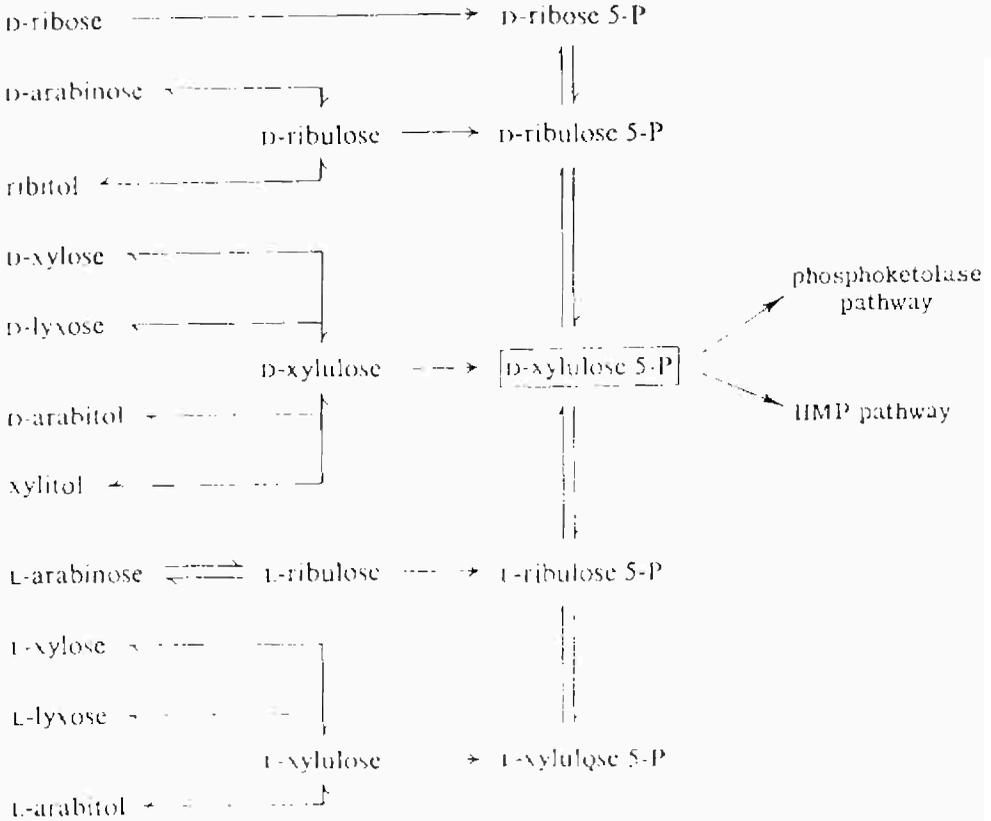


شكل (١٣-٥) : تحولات الأحماض الهكسويورينية

نقلا عن Chang & Feingold , 1969

١١٠٥ تحولات البنتوز والبنتيتول Pentose & pentitol metabolism

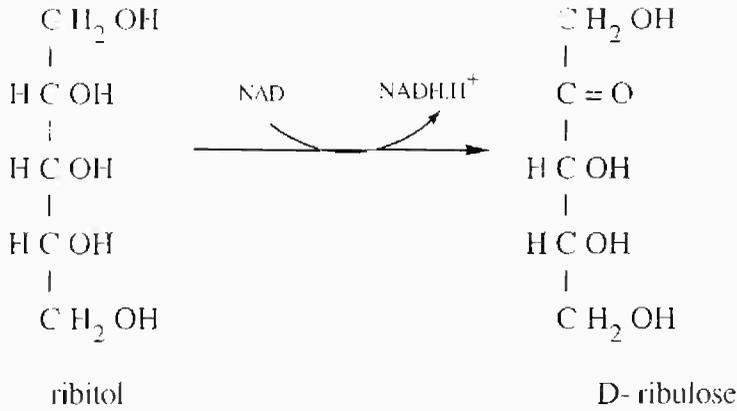
درست تحولات هذه المركبات الخماسية بعناية في عائلات Enterobacteriaceae & Lactobacillaceae والمركب الوسطى فيها هو Xylulose 5-phosphate والذي يتحول عبر دورة PK أو دورة HMP . والتصور النهائي لعملية الهدم يمكن تلخيصه كما يلي :



شكل (٥-١٤) : تصور عام لتحولات البنتوز والبنتيتول

ولقد سبق وصف كيفية تحولات الريبوز والريبولوز والزيلوز والزليلوز والارابينوز والانزيمات المشاركة فيها في دورة phosphoketolase (راجع رسم رقم ٥ - ٧) .

أما مركبات البنتيتول Pentitol مثل الريبيتول Ribitol فتحتاج إلى انزيم متخصص الريبولوز D-ribose في الريبولوز (EC 1.1.1.56) الذي يحوله إلى الريبولوز D-ribose في حين يتحول الاربابيتول D-arabitol إلى D-xylulose .



وانزيمى الريبستول ديهيدروجينيز والريبولوز كينيز يحفزان إنتاج بعضهما فى *Aerobacter aerogenes* ولكن ذلك لا يحدث فى حالة الارابيتول ديهيدروجينيز والزيلولوز كينيز .

أما تحولات Xylitol فيان D-Xylulose وليس L-Xylulose يمكن تحديده كنتاج التفاعل لانزيم NAD^+ -dehydrogenase . والمركب الوسطى لتحولات البنتيتولات (الكحولات العضوية الخماسية) هو D-Xylulose الذى يكمل تحووله عبر دورة HMP لإنتاج الفركتوز ٦ - فوسفات .

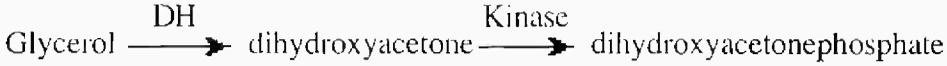
١٢٠٥ تحولات الجليسرول Glycerol metabolism

لوحظ حدوثها فى عائلات بكتيرية عديدة مثل Enterobacteriaceae ، lactobacillaceae ، acetic acid bacteria وكذا *Clostridium butyricum* .

وبكتريا Enterobacteriaceae 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 فى باب التخمرات (التاسع) .

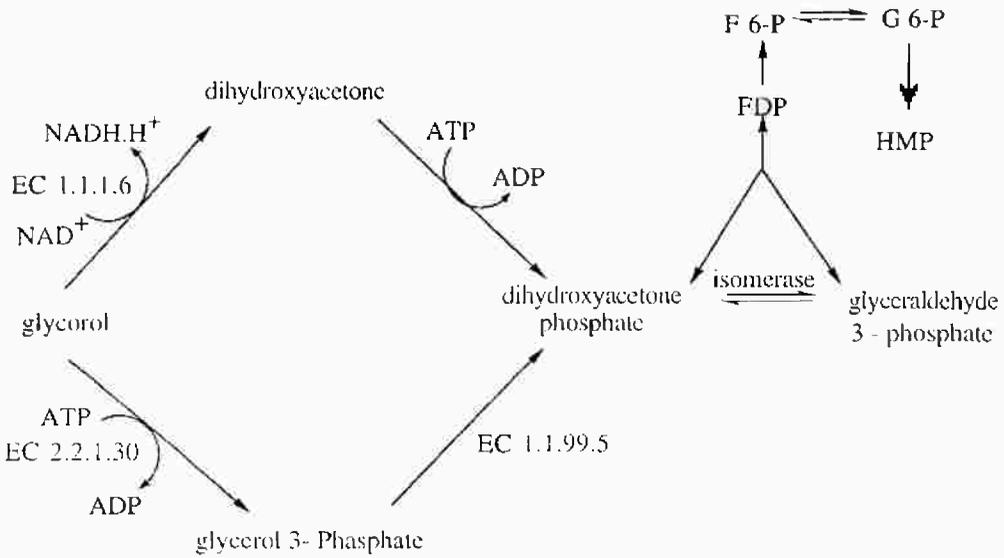
أما ميكروب *Acetomonas suboxydans* الذى لا يستطيع استخدام دورة TCA يمكنه أن ينمو مستخدماً الجليسرول وذلك عبر طريقتين :

(١) أكسدة الجليسرول إلى دى هيدروكسى اسيتون بدون الاعتماد على ATP . ويلاص هذا التفاعل بواسطة انزيم glycerol dehydrogenase (EC 1.1.1.6) . ثم تحدث فسفرة بواسطة الكينيز للمركب الأخير وهذا التفاعل يحتاج ATP وكذلك Mg^{++} .



(٢) فسفرة الجليسرول أولاً بواسطة glycerol kinase (EC 2.7.1.30) إلى جليسرول ٣ - فوسفات والذي يتحول في النهاية إلى دي هيدروكسي أسيتون فوسفات في وجود glycerol phosphate DH (EC 1.1.99.5) .

والتصور العام لتحويل الجليسرول في بكتريا حمض الخليك كما يلي :



ومركب دي هيدروكسي أسيتون فوسفات (Key) يتحول في وجود isomerase (EC 5.3.1.1) إلى الجليسرالدهيد ٣ - فوسفات وهذان المركبان يوجدان في حالة توازن مع الفركتوز ١,٦ داي فوسفات (FDP) في وجود انزيم الالدوليز (EC 4.1.2.13) . وبمساعدة انزيمي hexodiphosphatase (EC 3.1.3.11) ، Glucose 6-P isomerase (EC 5.3.1.9) يتكون الجلوكوز ٦ - فوسفات (G-6P) كما بالشكل . وبأكسده إلى ٦ - فوسفو جلوكونات ثم إلى الريبوز ٦ - فوسفات يكتمل تحول الجليسرول في بكتريا حمض الخليك عبر دورة HMP .

أما بكتريا حمض اللاكتيك (Homofermentative) فتحول الجليسرول عبر المانوز فوسفات إلى حمض البيروفيك في 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 لتحويلات الجليسرول عن طريق انزيم ذائب هو α . glycerophosphate DH المرتبط ب FAD وذلك تحت الظروف اللاهوائية وهو يشبه الموجود في *Aerobacter aerogenes* ويتبع الميكانيكية رقم (١) السابقة .

١٣٠٥ تحولات الجليكول Glycol metabolism

يعمل الجليكول كمحفز inducer لتكوين glycol dehydrogenases في الخلايا النامية أصلاً على الجلوكوز أو اللاكتات برغم احتياج الميكروبات لمصدر نيتروجين ، مصدر طاقة أيضاً في البيئة .

وأكسدة الجليكول بواسطة اجناس *Acetobacter* ، *Acetomonas* يتضمن ٣ انزيمات أساسية :

(١) Primary alcohol dehydrogenase مرتبط ب $-NAD^+$ ولا يتفاعل مع $-NADP^+$ ولكنه يحتاج لمجموعة $>CH - CH_2OH$ والنتاج هو الالدهيد المقابل للكحول .

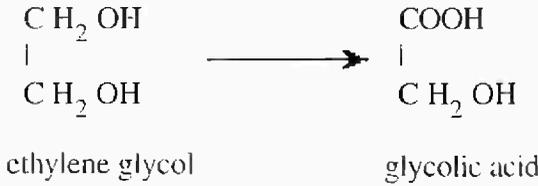
(٢) Secondary alcohol dehydrogenase مرتبط ب NAD^+ ويقوم بمهاجمة الجليكول عند مجموعة (OH -) الثانوية وهو أقل تخصصاً والنتاج النهائي يبدو أنه الكينون المقابل للكحول (أو الالدهيد) . ووجود مجموعة OH - ثالثة أو مجموعة $C = O$ ، $COOH$ - يقلل النشاط الانزيمي له .

(٣) نظام أكسدة خاص لأكسدة الجليكول بواسطة الاكسجين وهو يشبه نظام الانتقال الالكتروني عبر السيوكروم . 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 مجموعتي CH_2OH الطرفيتين . في السلاسل القصيرة مثل 1,2 ethanediol فقط يمكن أكسدة واحدة منهما ومجموعة الكربوكسيل الناتجة توقف أي تفاعل انزيمي آخر . أما مع السلاسل الطويلة

(الجزيئات الكبيرة) فإن التأثير السلبي لمجموعة الكربوكسيل يقل . ويبدو أن سيتوكروم C₅₅₃ مرتبط بقوة بالانزيم ولا يوجد دليل على وجود المرافقات الانزيمية NAD ، ، FAD ، NADP ، UQ ، المعادن الثقيلة في هذا النظام .

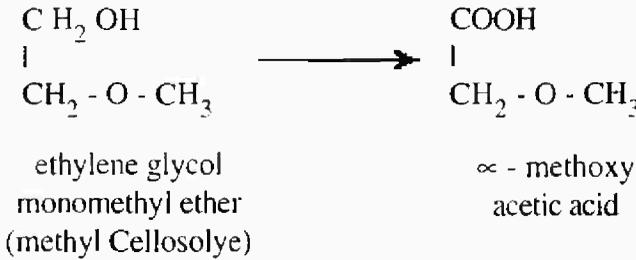
١٠١٣٠٥ أكسدة الكحولات الأولية

يستطيع *Acetobacter sp.* ، وبعض *Acetomonas sp.* أكسدة جليكول الايثيلين إلى حمض جليكوليك .

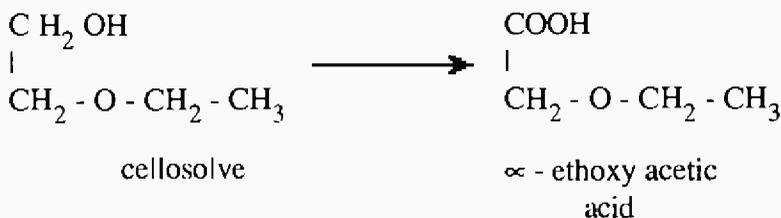


وما زالت ميكانيكية تحول هذه المادة ثنائية الكربون إلى مادة الخلية غير مفهومة .

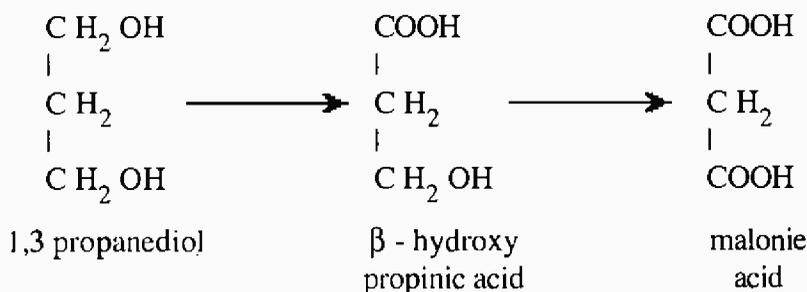
- مركب مونو ميثيل ايثر جليكول الايثيلين يتأكسد سريعاً بواسطة *Acetomonas suboxydans* مع استهلاك امول أكسجين لكل مول من مادة التفاعل مع إمكانية تكوين حمض ميثوكسي اسيتيك .



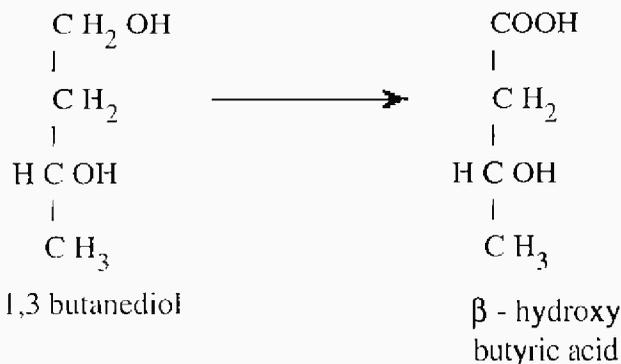
أما مركب مونوايثيل ايثر جليكول الايثيلين (Cellosolve) فيتأكسد ببطء شديد ولهذا لا تكتمل الأكسدة اطلاقاً في وجود المزرعة الميكروبية السابقة كما يتضح من المعادلة التالية :



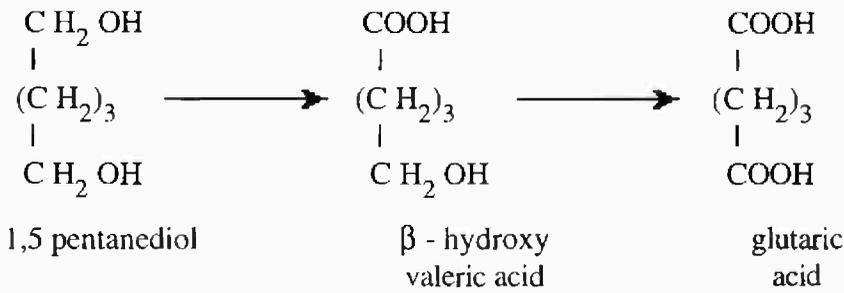
● ميكروب *Acetomonas melanogenum* ينمو سريعاً على الميثيل الثلاثي للجليكول (1,3 propanediol) ويؤكسده إلى المالمونيك .



أما 1,3-Butanediol فيبدو كمادة جيدة لكل بكتريا حمض الخليك لقدرة كل سلالاتها على أكسدته إلى هيدروكسي حمض البيوتيريك .

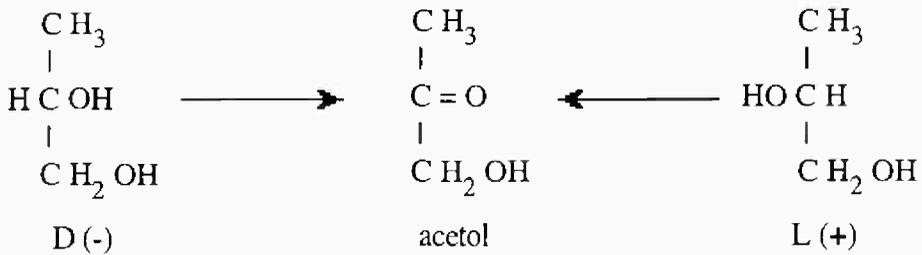


أما 1,5 pentanediol فيتأكسد في خطوتين مكوناً الجلوتوناريك بواسطة *Acetomonas suboxydans* كما يتضح من المعادلة التالية :

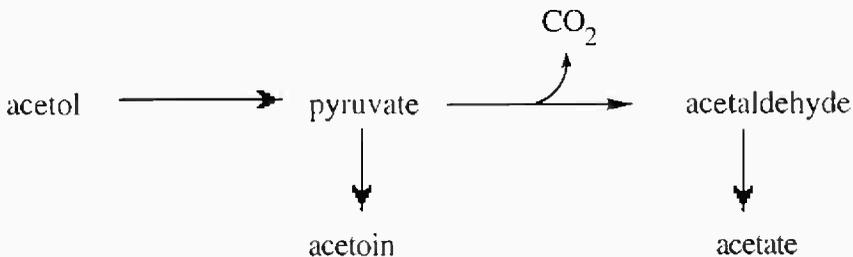


٢٠١٣٠٥) أكسدة الكحولات الثانوية

أكدت التجارب أن نوع التأثير على مجاميع الكحولات الثانوية يعتمد على المسافة بين المجاميع الأولية والثانوية في الجزيء . فعندما تكون متقاربة مثل 1,2 propanediol فإن المجاميع الثانوية هي التي تتأكسد .

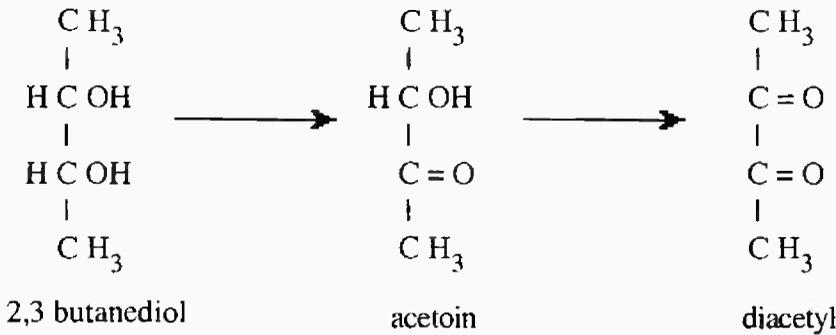


وعند تفصل المجاميع بواسطة CH_2 - كما في 1,3 butanediol فإن العكس يحدث أى تتأكسد المجاميع الأولية ومثال ذلك قدره *Acetobacter raucis* على مهاجمة وأكسدة acetol إلى الاسيتوين والاسيتات .

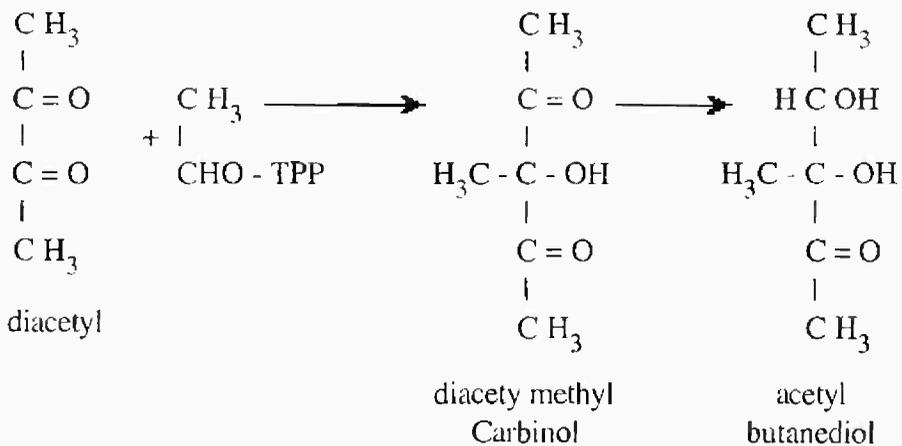


١٤٠٥ تحولات 2.3 Butanediol

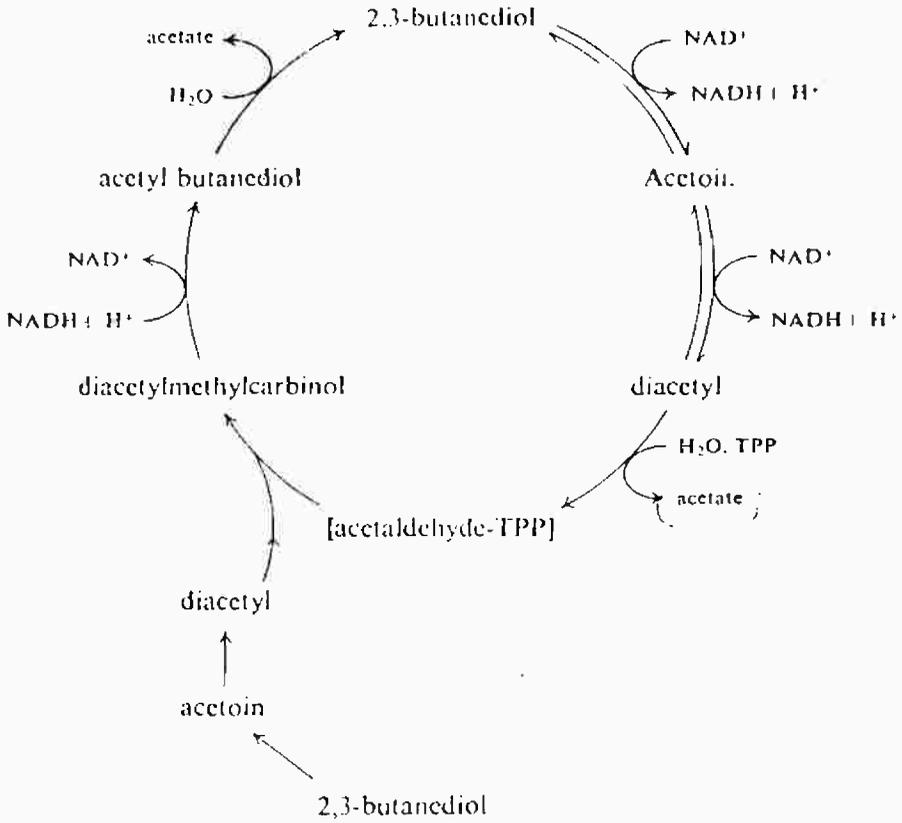
يعتبر ٣٢ بيوتانديول الناتج النهائي الشائع في تخمر الكربوهيدرات في اجناس *Bacillus* ، *Acetobacter* ويمكن تكسيرة هوائياً بواسطة *Pseudomonads* ولكن تقريباً كل عمليات أكسدة البيوتانديول تجرى لاهوائياً . ويلاصق انزيم 2,3 butanediol dehydrogenase (EC 1.1.1.4) أكسدة البيوتانديول إلى اسيتوين ويتبع ذلك أكسدة ثانية في وجود (EC 1.1.1.5) acetoin dehydrogenase .



ويتحد مركب diacetyl مع الاستيالدهيد المرتبط على الثيمين بيروفوسفات (TPP) مكوناً داي اسيتيل ميثيل كربينول والذي يختزل في وجود انزيم diacetyl methyl Carbinol reductase وهو يشبه (EC 1.1.1.4) السابق . والمركب الناتج هو اسيتيل بيوتانديول والذي يحدث له عملية تحلل مائي ويتكون الاسيتات والبيوتانديول .



ومن هذه الدورة الخلقية فإن ٢ جزئى اسيتات يتكونان من ٢ جزئى بيوتانديول .
والاسيتات الناتج يدخل فى تخليق مادة الخلية فى عملية تتضمن دورات TCA ،
glyoxylate كما يتضح من الرسم التالى :



شكل (٥-١٥) : تحولات ٣,٢ بيوتانديول بواسطة *Aerobacter* sp.

أسئلة للمراجعة

- ١ - أذكر المحصلة النهائية للطاقة الناتجة من دورات تحول الجلوكوز الرئيسية (EMP ، HMP ، ED ، PK) .
- ٢ - لماذا تستخدم بعض الميكروبات أكثر من دورة في تحولات الجلوكوز في نفس الوقت ؟ وما دور الظروف البيئية في ذلك ؟
- ٣ - ما هي الانزيمات التي تلعب دوراً رئيسياً في الدورات السابقة ؟
- ٤ - ناقش العمليات الأساسية الأربع انتقال الجلوكوز عبر الغشاء .
- ٥ - ما هو الفرق بين PEP - phosphotransferase ، Permease في عملية الانتقال ؟
- ٦ - اشرح الميكانيكية الحلقية والغير حلقية لتحولات المانوز بواسطة *Aerobacter aerogenes* .
- ٧ - ما هو الفرق في تحولات الجلوكونات بين بكتريا حمض الخليك ، Pseudomonads ؟
- ٨ - لماذا تقسم بعض أجناس البكتريا إلى مجموعتين حسب طريقة هدم المانيتول ؟
- ٩ - ما هي أهم الفروق بين Enterobacteriaceae & lactobacillaceae بالنسبة لتحولات البنتوز والبتيتول ؟
- ١٠ - ما أهمية تحولات ٣ر٢ بيوتاندول ؟

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.

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 O₂ 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.