

الباب السابع

التنفس الهوائي

Chemoorganotrophic bacteria

يحصل عدد كبير من الميكروبات وخلايا حية أخرى على طاقتها من أكسدة المركبات العضوية بواسطة جزئى الأكسجين وذلك فى سلسلة من التفاعلات التى تلامسها مجموعة متخصصة من الإنزيمات. ونتاج الأكسدة الكاملة هو ك₂، و CO₂. والالكترونات المنطلقة من مادة التفاعل أثناء هذه الأكسدة تنساب خلال حوامل خاصة متدرجة الجهد وفى النهاية إلى الأكسجين كمستقبل نهائى. وأثناء ذلك يتكون ATP اللازم لعملية التخليق الحيوى. ولقد ذكرت سابقاً العمليات (الدورات) التى تؤدى لتكوين البيروفات من السكريات السداسية والخماسية والثلاثية أما أكسدة البيروفات الكاملة إلى ك₂، و CO₂، يبدأ فتلاحظ من خلال ما يسمى دورة الأحماض ثلاثية الكربوكسيل TCA أو دورة كريس (نسبة لمكتشفها) أو دورة حمض الستريك (مفتاح الدورة).

١٠٧ دورة حمض الستريك (TCA) Tricarboxylic acids cycle

● بالإضافة لدورها فى أكسدة الأحماض العضوية وتكوين الطاقة فإنها تلعب دوراً هاماً فى عملية التخليق الحيوى لمادة الخلية حيث ينتج عنها ٢ - أوكسوجلوتارات التى تعتبر بادرة تكوين حمض الجلوتاميك الذى يعتبر مفتاح تكوين الأحماض الأمينية والبروتين أو الأوكسالو اسيتات وما يتبعها من تكوين حمض الأسبارتيك وبقية الأحماض الأمينية.

١٠١٧ تكوين أسيتيل كوايزيم A :

- تستقبل دورة حمض الستريك حمض الأسيتيك فى صورة أسيتيل كوايزيم A حيث ينزع ك₂ من حمض البيروفيك ويتكون حمض ثنائى الكربون منشط . وخطوة تكوين أسيتيل كوايزيم A يشارك فيها ٣ إنزيمات مختلفة بالإضافة إلى المرافقات الإنزيمية التالية:

الثيمين بيروفوسفات (TPP) ، حمض الليبوثيك ، NAD^+ .

أما الإنزيمات الثلاث فهم :

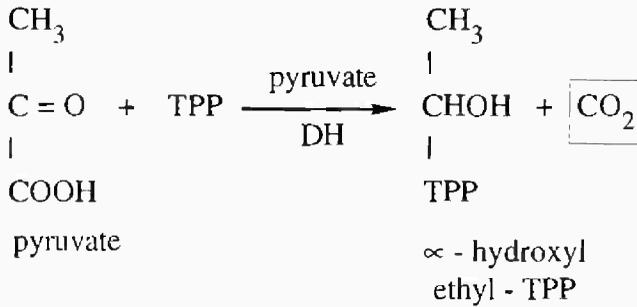
a) Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.4.1)

b) Lipoate acetyl transferase (EC 2.3.1.12)

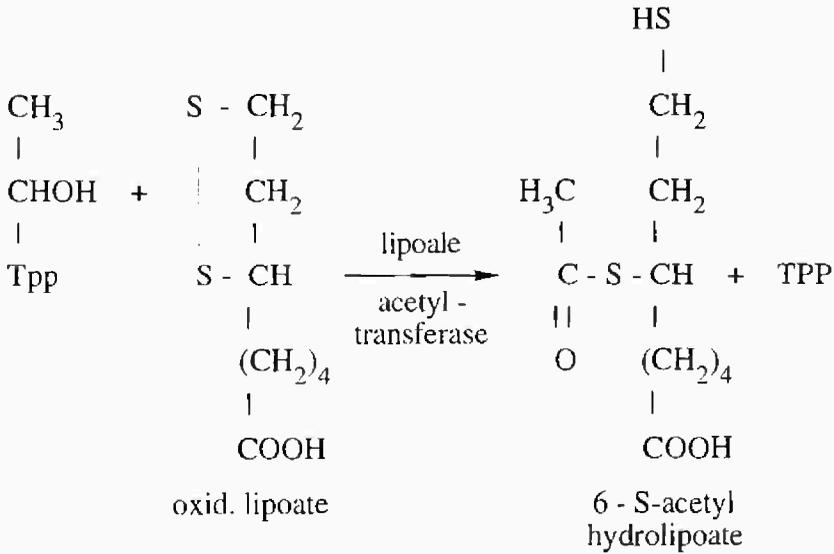
c) Lipoamide dehydrogenase (EC 1.6.4.3)

وتسلسل خطوات تكوين أسيتيل كوايزيم A كالتالى :

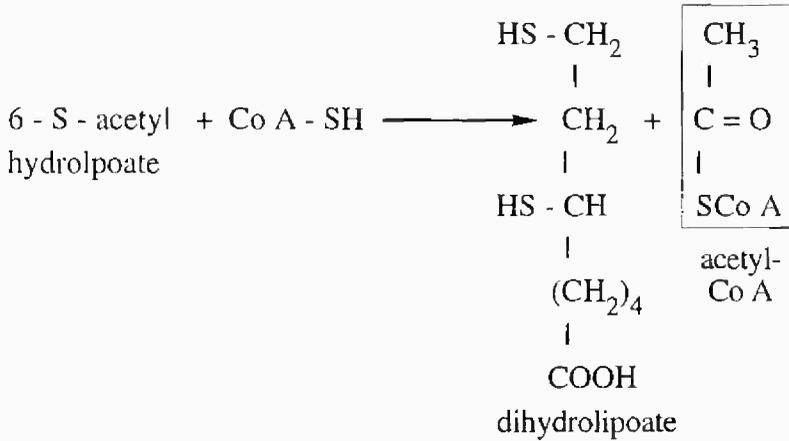
خطوة (١) : دخول البيروفات في Carbanion للثيمين فوسفات وحدوث عملية نزع ك أ، وتكوين الهيدروكسيل إيثيل ثيمين فوسفات ويلاصها إنزيم (a) .



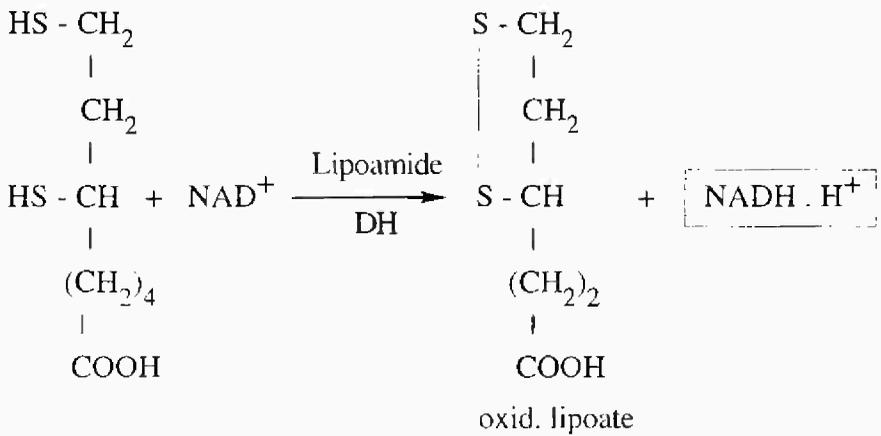
خطوة (٢) : نقل مجموعة الهيدروكسيل إيثيل إلى حمض الليبويك مع حدوث أكسدة لها أثناء النقل لتتحول إلى مجموعة أسيتيل ويكون المركب 6 - S - acetyl hydroliipoate ويلاصها إنزيم (b) .



ويعقب ذلك نقل مجموعة الأسيتيل إلى مجموعة الثيول (ذرة الكبريت) للمرافق CoA ويتبقى دي هيدروليبونات .



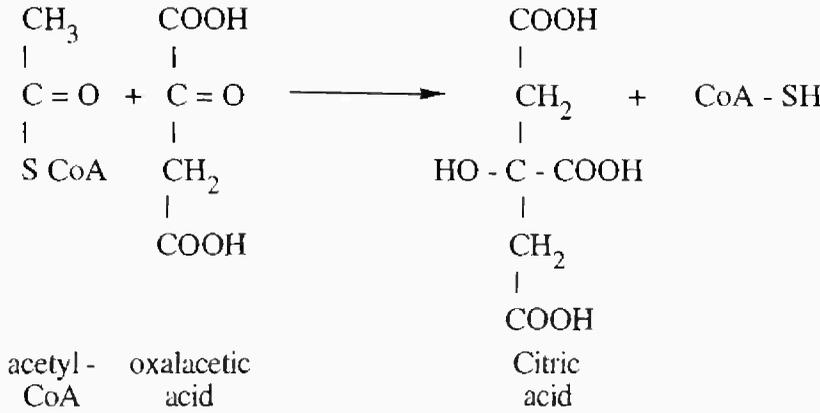
خطوة (٣) : ويلامسها إنزيم (C) وهي أكسدة الدهيدروليبوات إلى ليبوات مع اختزال NAD^+ .



أما دور CoA فينظر له كحامل لمجاميع الأستيل مثل ATP حامل لمجاميع الفوسفات، NAD^+ حامل للإلكترونات في الخلية . والطاقة الناتجة عن تحلل hydrolysis مركب أستيل كوازيم A حوالي $\Delta F = - 8800 \text{ cal/mole}$ وهي أعلى من الطاقة الحرة الناتجة من تحلل ATP وتعتبر مجموعة الأستيل هي الوقود المحرك لدورة TCA .

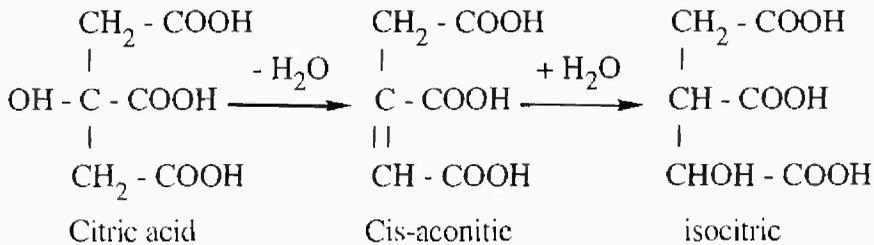
٢.١.٧ خطوات دورة TCA :

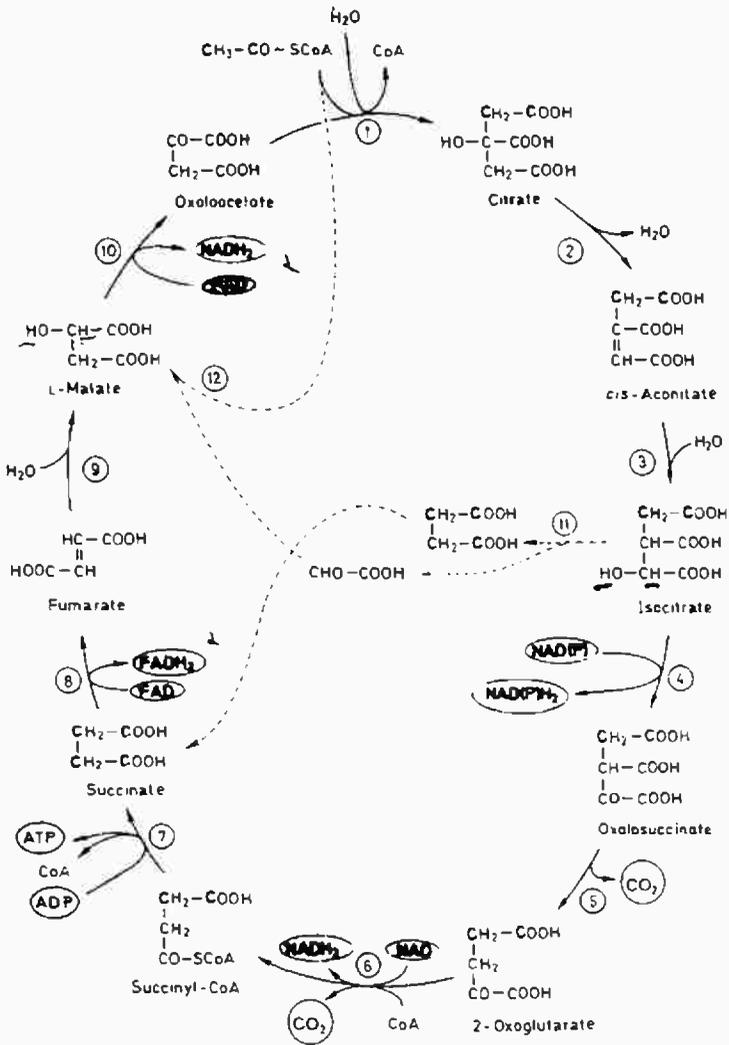
وأولى خطوات دورة TCA هو إعطاء (نقل) مجموعة الأسيتيل المرتبطة مع كواتزيم A إلى حمض رباعي الكربون ثنائي الكربوكسيل هو أوكسالواسيتات لتكوين حمض الستريك الثلاثي الكربوكسيل (مفتاح الدورة) ويتحرر CoA الذي يعاود الدخول في تكوين أسيتيل كواتزيم جديد .



ويلاصق هذا التفاعل إنزيم Citrate synthase (EC 4.1.3.7) ويعرف أيضاً باسم Citrogenase وأيضاً oxalacetate transacetase ويُنَبَّط بواسطة $\text{NADH} \cdot \text{H}^+$ أحد نواتج الدورة فيما يعرف بـ "allosteric effect" ولم يلاحظ هذا التثبيط في الثدييات أو الخمائر ولكنه يبدو متخصصاً جداً للميكروبات . وأظهرت تنقية الإنزيم بواسطة أعمدة الفصل الكروماتوجرافي وجود نوعين من Citrate synthase . أحدهما ذو حجم كبير وهو حساس لـ $\text{NADH} \cdot \text{H}^+$. والآخر ذو حجم جزئى صغير . وكذلك يُنَبَّط الإنزيم بواسطة أوكسوجلوتارات بنفس الطريقة السابقة "allosteric inhibition" .

الخطوة الثانية : هى تكوين Cis - aconitate ثم isocitrate فى وجود إنزيم aconitate hydratase (EC 4.2.1.3) الذى يلاصق كلا التفاعلين .

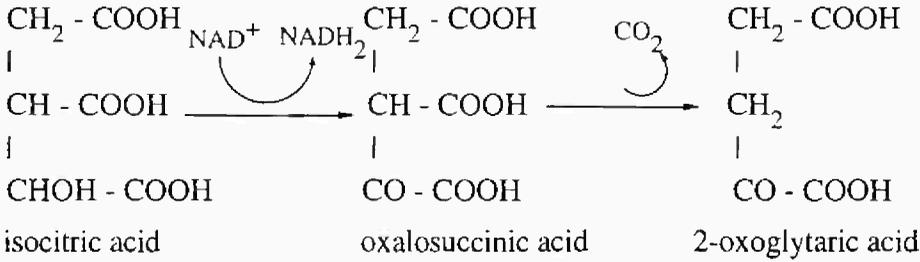




شكل (١.٧) : دورة حمض الستريك (TCA) ، تفرعه glyoxylate في التنفس الهوائي
 نقلاً عن شليجل ١٩٨٦ .

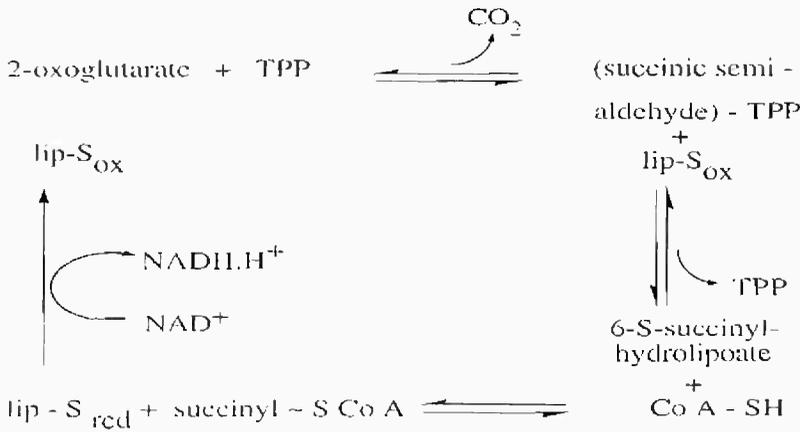
والأحماض الثلاثة توجد في حالة توازن معاً أو بمعنى آخر تكون خليطاً متوازناً .

الخطوة الثالثة : تحول أيسوستريك إلى أوكسالوسكسينات في وجود إنزيم (EC 1.1.1.4) isocitrate dehydrogenase ومنتجا $\text{NADH} \cdot \text{H}^+$ وبنفس الإنزيم يلاص تحول أوكسالوسكسينات إلى أوكسو جلوتارات وينطلق ك H^+ وهو أحد جزئين ينطلقان من الأستيل الذي غذيت به الدورة .



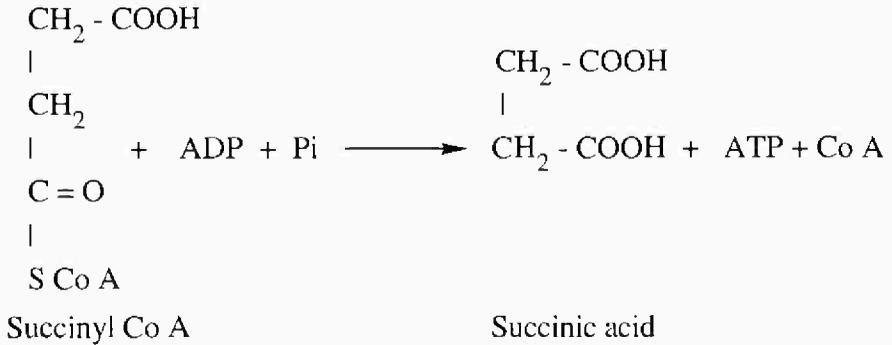
ويعتبر isocitrate نقطة التفرع لدورة glyoxylate وجدير بالذكر أن البكتريا تفضل استخدام المرافق الإنزيمي NADP^+ مع إنزيم isocitrate DH بينما الفطريات والخمائر متخصصة للمرافق NAD^+ .

الخطوة الرابعة : هي تحول أوكسو جلوتارات إلى سكسيل كواتزيم A وينطلق ك H^+ (الجزئى الثانى) وذلك في وجود إنزيم 2-oxoglutarate DH (EC 1.2.4.2) إنزيمى يحتاج وجود الثيمين بيروفوسفات (TPP) ، حمض اللبوثيك ، Co A ، Mg^{++} ، NAD^+ مثل البيروفات ديهيدروجينيز السابقة شرحه . ويتأكسد NADH_2 المتكون من خلال سلسلة انتقال الالكترون .

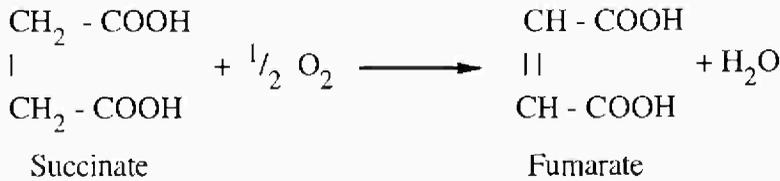


ويلعب معقد الأكسوجانوتارات ديهيدروجينيز دوراً تنظيمياً هاماً في البكتريا اللاهوائية الاختيارية وهو حساس جداً لنقص الأكسجين .

الخطوة الخامسة : ينحول سكسينيل كوانزيم A إلى حمض السكسينيك بلامسة إنزيم Succinyl- Co A Synthetase (EC 6.2.1.5) مع تحرير Co A وتكوين جزئ ATP .

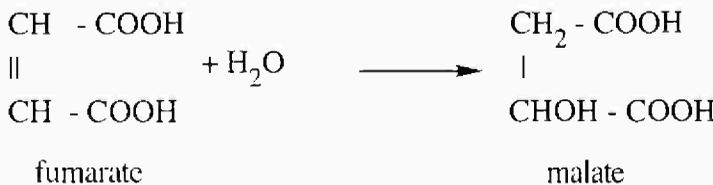


الخطوة السادسة : هي أكسدة السكسينات إلى الفيومارات بواسطة إنزيم Succinate dehydrogenase (EC 1.3.99.1) .

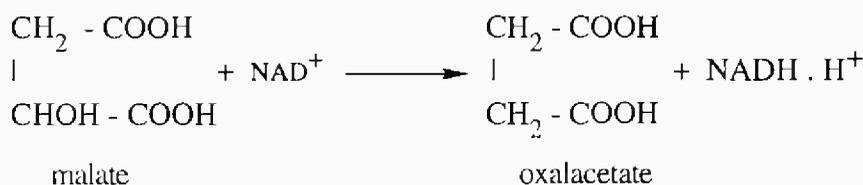


وثبت أن إنزيم السكسينات ويهدروجينز مرتبط بقوة بسلسلة انتقال الإلكترون وتدخل الإلكترونات عند مستوى الفلافوبروتين حيث يتكون FADH_2 . ويثبط هذا الانزيم بقوة بواسطة الأكسالواسيتات .

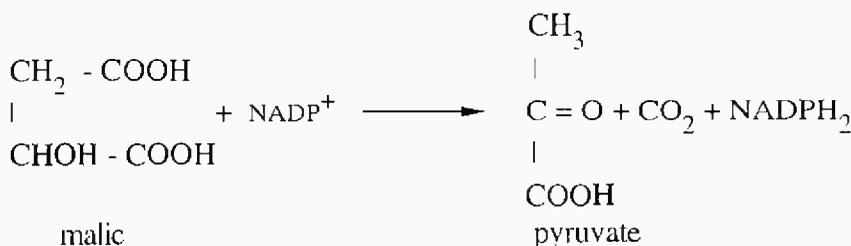
الخطوة السابعة : عبارة عن عملية هدرجة للفيومارات عند الرابطة المزدوجة لتكوين المالات في وجود إنزيم Fumarate hydratase أو ما يسمى Fumarase (EC 4.2.1.2) .



الخطوة الثامنة (الآخيرة) : هى أكسدة المالات إلى أوكسالواسيتات بتأثير إنزيم malate dehydrogenase (EC 1.1.1.37) ويتكون NADH.H^+ .



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 الجزيئى 60.000 وتستطيع *E. coli* استخدام NADP^+ كمرافق للإنزيم (Malic DH) بدلاً من NAD^+ . وهناك فرق جوهري 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 المالك إلى البيروفات كما فى التفاعل :



ويختلف نشاط صورتى الإنزيم باختلاف تركيب بيئته النمو . فإنزيم malic DH المرتبط بـ NADP^+ يشبط بقوة بواسطة أكسالواسيتات بينما المرتبط بـ NAD^+ يتأثر تأثيراً 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 جزيئ اسيتيل كوانزيم A وجزيئ أكسالواسيتات قد دخلا وأنه نتج ٢ جزيئ ك أم وجزيئ أكسالواسيتات بالإضافة إلى الطاقة ويمكن التعبير عن ذلك بالمعادلة :



ويخصم أو كسألو استينات من طرفى المعادلة فإنها تأخذ الشكل النهائى :



أى أن جزئى الجلوكوز يتأكسد من خلال دورة EMP إلى ٢ بيروفات والذى يتأكسد كل جزئى منه بواسطة Pyruvate dehydrogenase إلى أسيتيل كوانزيم A + ك أ٦ ثم تتأكسد الأسيتات من خلال دورة TCA إلى ٢ ك أ٦ فيكون الناتج ٦ ك أ٦ .

أما حسابات الطاقة بالنسبة لجزئى جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة عبر دورة EMP ، ثم دورة TCA وكل الأيدروجين تم أكسدته إلى H₂O من خلال السلسلة التنفسية كالتالى :

- ٢ جزئى NADH₂ من دورة EMP .

- ٢ جزئى NADH₂ من Pyruvate DH (خطوة تكون اسيتيل كوانزيم A)

- ٢ × ٣ جزئى NADH₂ من دورة TCA .

- ٢ جزئى FADH₂ من دورة TCA .

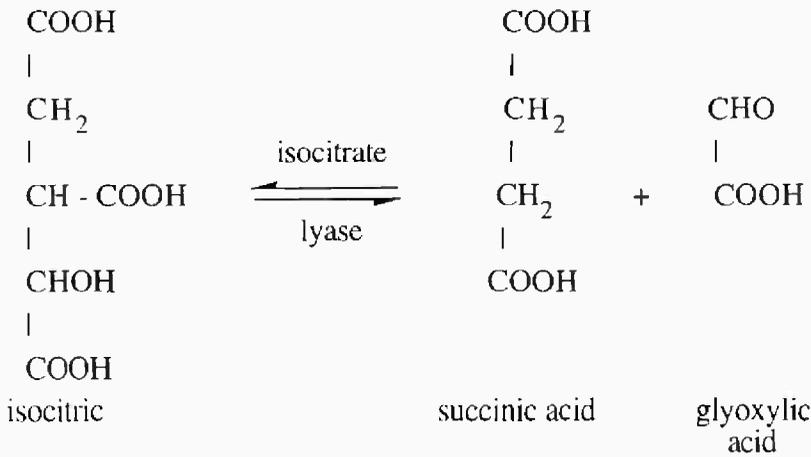
المجموع ١٠ جزئيات NADH₂ + ٢ جزئى FADH₂ واعتبار P/O ratio = ٣ ، ٢ على الترتيب . فالناتج هو (٣ × ١٠) + (٢ × ٢) = ٣٤ جزئى ATP بالإضافة إلى ٢ مول ATP من دورة EMP - ٢ مول ATP من خطوة سكسينيل كوانزيم A فى دورة TCA . فيكون الناتج النهائى هو ٣٨ جزئى ATP لكل ١ جزئى جلوكوز تم أكسدته أكسدة كاملة .



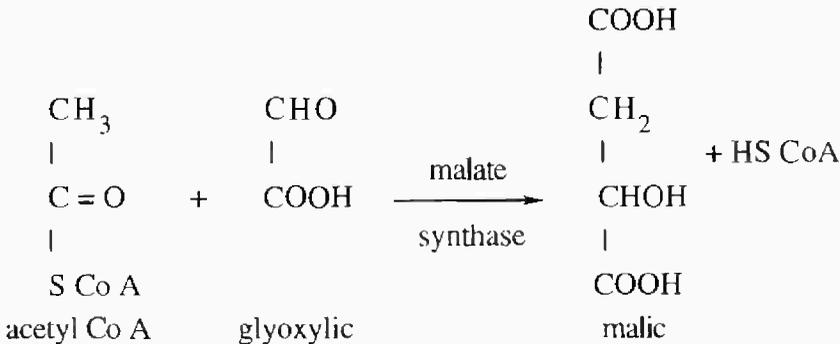
وهذه الحسابات تسرى على معظم البكتريا وفى الميتاكوندريا للكائنات الأرقى . ولكن هناك عدد من البكتريا يوجد بها ٢ نقطة فسفرة فقط لانتقال الالكترتون من NADH₂ أى أن النسبة P / O هى ٢ فقط وفى هذه الحالة - كما فى *E. coli* مثلاً - فإن أكسدة الجلوكوز هوائياً تنتج فقط ٢٦ جزئى ATP .

٢.٧ دورة Glyoxylate (DCA)

وتعرف بدورة الأحماض ثنائية الكربوكسيل (DCA) أو دورة Krebs - Kornberg . حيث قاد اكتشاف الإنزيم isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) ، malate synthase ، (EC 4.1.3.2) إلى وجود ميكانيكية حلقة لإعادة تكوين الأحماض رباعية الكربون ثنائية الكربوكسيل داخل دورة TCA . وهي ذات أهمية كبيرة في تحولات الأحماض الدهنية قصيرة السلسلة وتسمى بدورة glyoxylate . وفيها ينشق الأيسوسترات إلى سكسينات ، جليوكسالات بمساعدة إنزيم isocitrate lyase .



والخطوة الثانية في هذه التفريعة تتضمن اتحاد اسيثيل كوانزيم A مع الجليوكسالات مكونًا المالات في وجود إنزيم malate synthase .



ولا يحدث هدم للأسيئات مع انطلاق طاقة ولكن تتكون أحماض رباعية الكربون ثنائية

الكربوكسيل. والتحولات التالية لهذه الأحماض تعطى البادئات لأغلب مكونات الخلية مثل الأوكسال أسيتات الذى يشتق منه الأسبارتيك وغيره من الأحماض الأمينية .

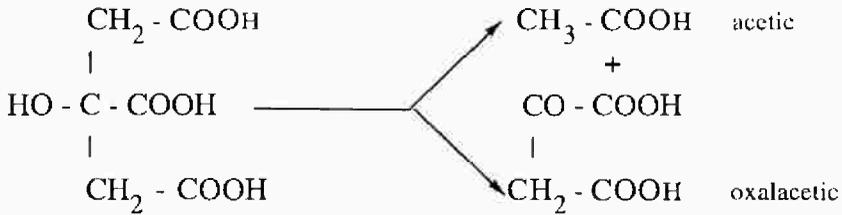
٣.٧ تحولات الأحماض الكربوكسيلية Carboxylic acid metabolism

١.٣.٧ تحولات السترات Citrate metabolism

تستخدم الكائنات نظام نفاذية خاص مرتبط بالطاقة يتمكن من نقل السترات وتمثيلها أيضاً 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⁺ منه بملامسة إنزيم (EC 4.1.1.3) oxalacetate decarboxylase 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 أحياناً فيبدأ بتفاعل أنقسامى للسترات إلى الأسيتات والأكسال اسيتات بملامسة إنزيم Citrate lyase (EC 4.1.3.6) .



ثم يحدث نزع لجزئى ك⁺ 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 مطلقاً بطريقة التخمر. وقد وجدت بعض الميكروبات مثل *Salmonella typhimurium* ، *Aerobacter aerogenes* تستطيع استعمال السترات هوائياً فى بيئة الصوديوم بطريقة التخمر .

وقد اكتشف Sachan & stern سنة ١٩٧١ وظيفة أخرى للإنزيم oxalacetate decarboxylase حيث يعمل كحامل بروتيني في عملية انتقال السترات إلى داخل الخلية. وهذا الإنزيم المنشط بالصدوديوم يُحفز induced بوجود السترات وربما يُفسر وضعه كأحد مكونات نظام الانتقال في الغشاء سبب تمثيل السترات العالي تحت الظروف الهوائية.

والفرق الرئيسي 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 هوائياً أو لاهوائياً .

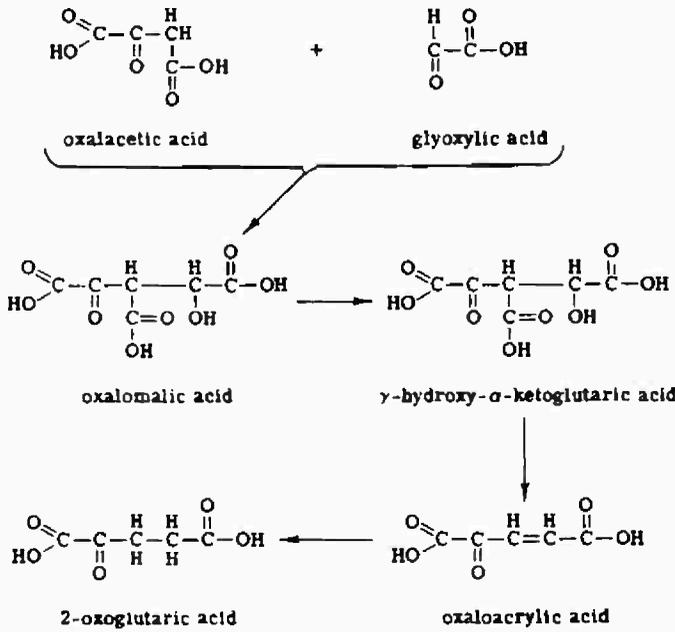
٢.٣.٧ تحولات المالات Malate metabolism

درست تحولات المالات تحت الظروف الهوائية بواسطة *Azotobacter vinelandii* ، Pseudomonads وبينما يؤكد *A. vinelandii* المالات بواسطة مالات ديهيدروجينز مرتبط ب FAD فإن Pseudomonads تستخدم مالات ديهيدروجينز مرتبط ب $NADP^{+}$ (EC 1.1.1.40) لأكسدة المالات إلى أوكسال أسيتات .

ويستطيع ميكروب *Acetobacter xylinum* تكوين الأوكسال أسيتات إذا نعى على المالات ولكن بميكانيكية أخرى . حيث تختلف عن malic - NAD^{+} dehydrogenase (Ec 1.1.1. 38) لانه ثبت أن حتى في وجود هذا الإنزيم لا يتراكم الأوكسال أسيتات .

يبدو أن الميكروب لا يؤكد المالات في خطوة واحدة ولكن يحتاج لخطوتين : الأولى مع NAD^{+} malate DH (EC 1.1.1.37) لتكوين الأوكسال أسيتات ثم oxalacetate de carboxylase لتتبع ك أم 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 ٢,٥ داي كيتو جلوكونات أو يستعمل طريق آخر كما بالتفاعل التالي :



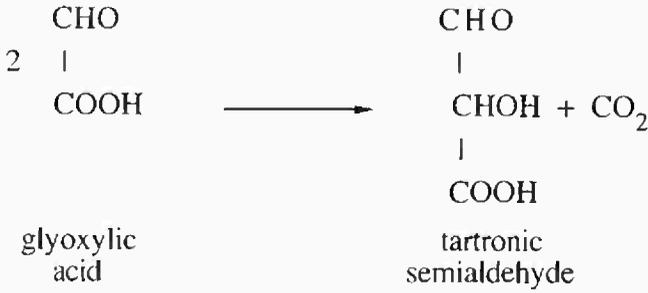
شكل (٢.٧) : تكوين أوكسوجلوتارات بواسطة *Acetomonas suboxydans*

٢.٢.٧ تحولات الجليكولات Glycolate metabolism

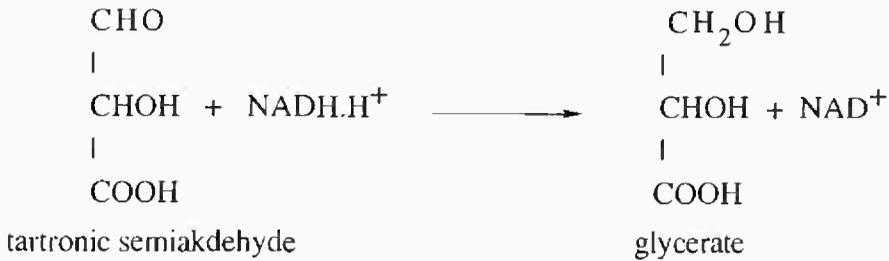
يتطلب نمو الميكروبات على المركبات ثنائية الكربون كمصدر وحيد للكربون ولتكوين مادة الخلية الدخول في بعض التفاعلات الأولية لتكوين مركب وسطي ذو مستوى أكسدة أعلى من الأسيئات حتى يستطيع الدخول في دورة TCA أو دورة glyoxylate . وتتأكسد الجليكولات إلى الجليوكسالات glyoxylate بواسطة إنزيم غير معروف يشبه - FAD glycolate oxidase (EC 1.1.3.1) في النباتات وهذا التفاعل يحتاج جزئ أكسجين وينتج طاقة $\Delta F = - 41 \text{ Kcal / mole}$ عند $\text{pH} = 8.0$.



وبتأثير Carboligase (EC 4.1.1.47) يتكثف ٢ جزئ glyoxylate معاً لتكوين المركب الوسطي المطلوب tartronic semialdehyde وينطلق ك^٢ .



ويختزل إنزيم tartronic semialdehyde reductase (EC 1.1.1.60) المركب الوسيطى إلى جليسرال فى وجود NADH.H^+ .

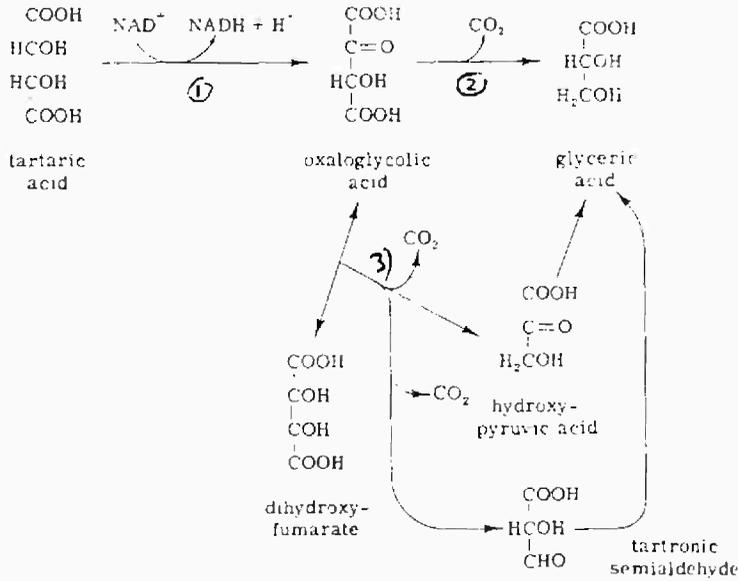


ثم تحدث عملية فسفرة للجليسرال بواسطة glycerate kinase (EC 2.7.1.31) ويتكون ٣ - فوسفو جليسرال والذى يتحول إلى البيرفات عبر فوسفات أينول بيروفات. ويدل النشاط العالى لإنزيمى isocitrate lyase ، malate synthase على استخدام دورة glyoxylate فى الأكسدة الكاملة للجليكولات إلى ك. أ. .

كما أن بعض pseudomonads يستطيع اختزال glyoxylate إلى glycolate بلامسة إنزيم glyoxylate reductase (EC 1.1.1.26) .

٤.٣.٧ تحولات الطرطرات Tartrate metabolism

يستطيع ميكروبى *Pseudomonas putida* ، *Ps. acidovorans* تكوين حمض الجليسيريك من L (+) - or meso-tartaric acid كما بالرسم التالى :



شكل (٣.٧) : تحولات الطرطرات

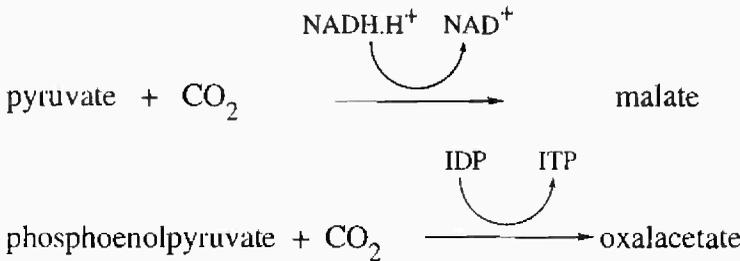
ويلامس التفاعل (١) إنزيم tartarate dehydrogenase (EC 1.1.1.93) وهو متخصص للطرطرات ولا يهاجم L (-) or D (+) malic acid .

أما التفاعل (٢) فيلامسه إنزيم oxalloglycolic reductase (EC 1.1.1.92) مع حدوث نزع لجزئ ك أ هـ .

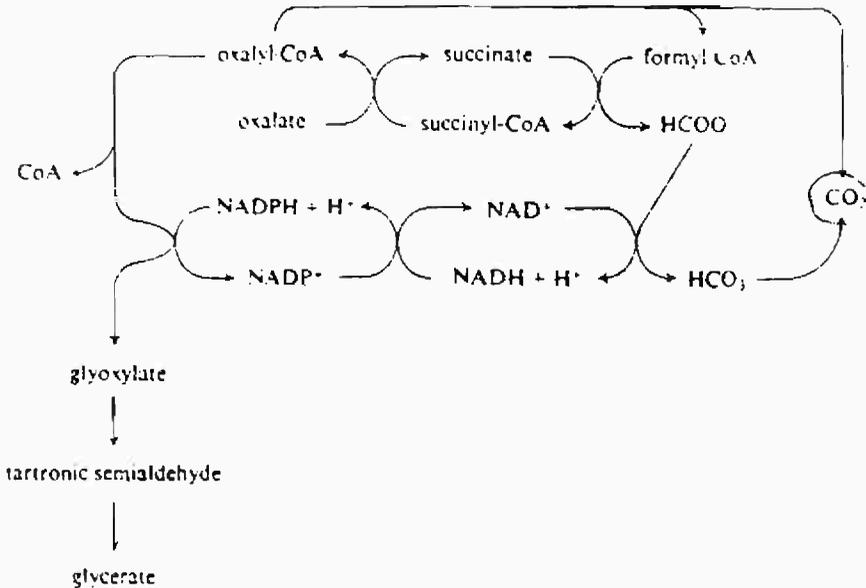
أما تفاعل (٣) فهو تفاعل غير إنزيمي ويلامسه كاتيون Mg⁺⁺ ويتم فيه نزع ك أ هـ من oxalloglycolic لتكوين هيدروكسي بيروفات أو طرطرات سمي الدهيد وكلاهما سهل التحول إلى الجليسيرات بواسطة hydroxy pyruvate reductase (Ec 1.1.1.29) ويرافقه NAD (P) H. H⁺ الذي يتأكسد إلى NAD (P)⁺ للمركب الأول أو إنزيم tartronic semi aldehyde reductase (EC 1.1.1.60) المرتبط بـ NAD⁺ الذي يختزل إلى NADH₂ ويحتمل أن تحدث فسفرة لحمض الجليسيريك مكوناً ٣ - فوسفو جليسيرات والذي يدخل دورة EMP مكوناً البيروفات والذي يدخل بدوره في TCA وتحدث الأكسدة الكاملة حتى ك أ هـ ، يد أ .

5.3.7 Oxalate & Formate metabolism **تحويلات الأوكسالات والفورمات**

يستطيع ميكروب *Pseudomonas oxalaticus* النمو على الفورمات أو الأوكسالات كمصدر وحيد للكربون. حيث يؤكسد الفورمات بواسطة Formate dehydrogenase (EC 1.2.2.1) وينتج ك⁺ أم الذي يثبت بواسطة ميكانيكية تشبه دورة كالفن حيث يدخل ك⁺ أم عند مستوى فوسفو جليسررات أو المالات. ويمكنه تثبيت ك⁺ أم أيضاً عند مستوى البيروفات أو الفوسفواينول بيروفات



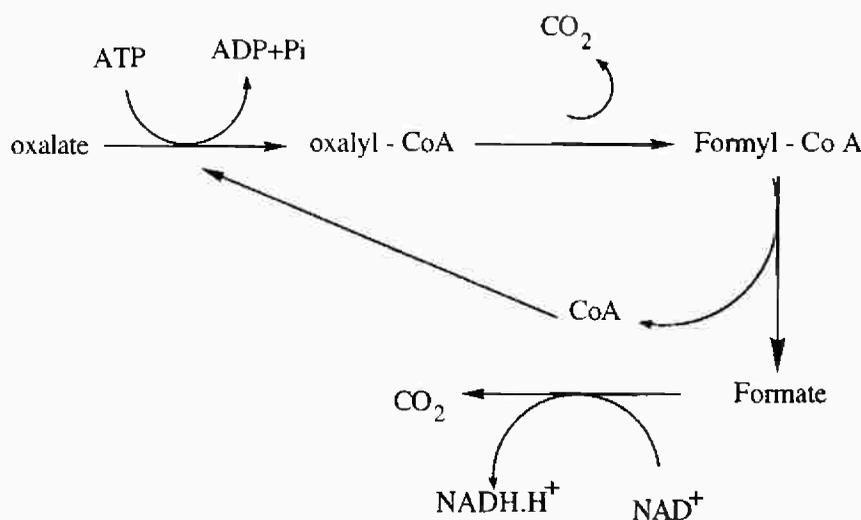
أما إذا نعى *Ps oxalaticus* على الأوكسالات فإن إنزيم - ريبيلوز دي فوسفات كربوكسيليز (EC 4.1.1.39) يغيب ولهذا تنعطل دورة كالفن. وقد اقترح Kornberg سنة 1959 الدورة التالية :



شكل (٤.٧) : تحولات الأوكسالات والفورمات في *Ps. oxalaticus*

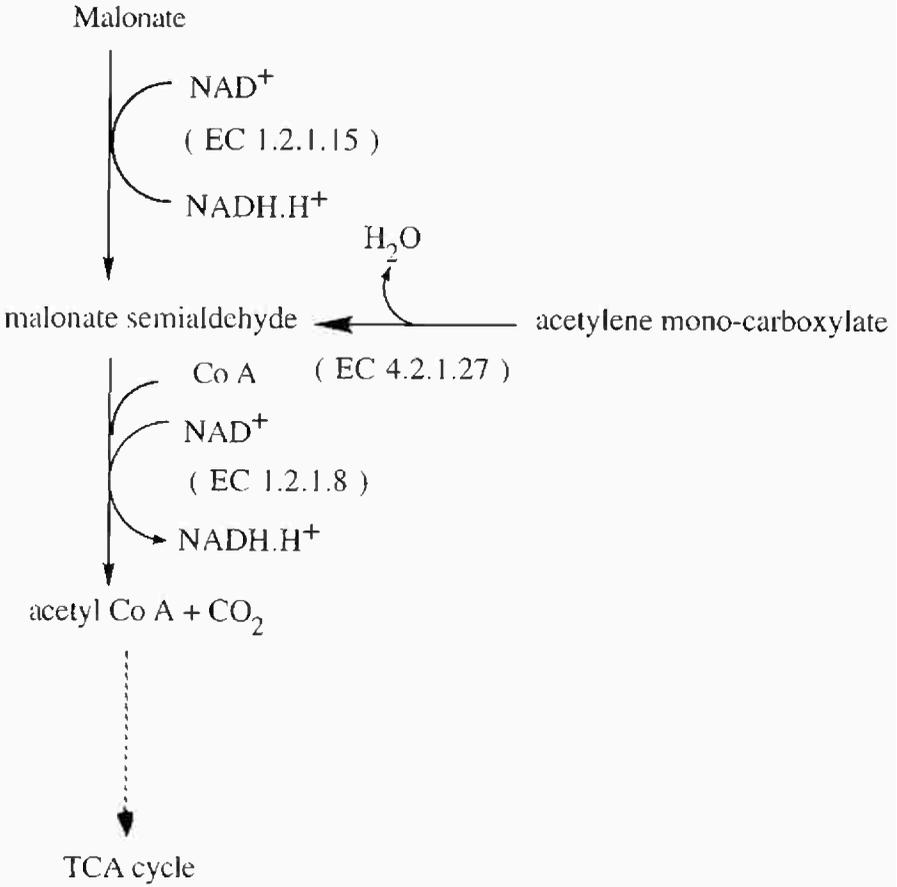
حيث تتأكسد الأوكسالات إلى glyoxylate . ولكي تعمل دورة TCA ، ودورة glyoxylate لابد من تكون أسيتيل كوانزيم A وذلك عن طريق بعض المركبات الوسيطة والبيروفات كما أن أسيتيل كوانزيم A مع glyoxylate يتحدان ويكونا المالات بمساعدة malate synthase وبذلك تكتمل دورة glyoxylate . ويبدو أنها تستخدم أساساً لبناء مادة الخلية من بولي - β - هيدروكسي بيوتيرات أما دورة TCA فتستخدم في إنتاج الطاقة .

وتلأمس عملية نزع ك أ₁ من oxalyl - Co A لتكوين Formyl - Co A بواسطة إنزيم oxalyl - Co A dehydrogenase (EC 4.1.1.8) وهذا التفاعل يحتاج نسيمن بيروفوسفات (TPP) كمرافق ويحفز بواسطة الكاتيونات Mg^{++} ، Mn^{++} .



٦.٣.٧ تحولات المألونات Malonate metabolism

المألونات مثبط معروف لإنزيم Succinic dehydrogenase (EC 1.3.99.1) . ونستطيع ميكروبات عديدة من أفراد Pseudomonads أكسدته أكسدة شبه كاملة حيث تتأكسد المألونات أولاً إلى مألونات سيمى الدهيد بواسطة malonate semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.15) ويتكون هذا المركب أيضاً بنزع جزئ ماء hydration من حمض أسيتلين مونو كربوكسيليك في وجود إنزيم Ma. semialdehyde dehydratase (EC 4.2.1.27) كما بالرسم :



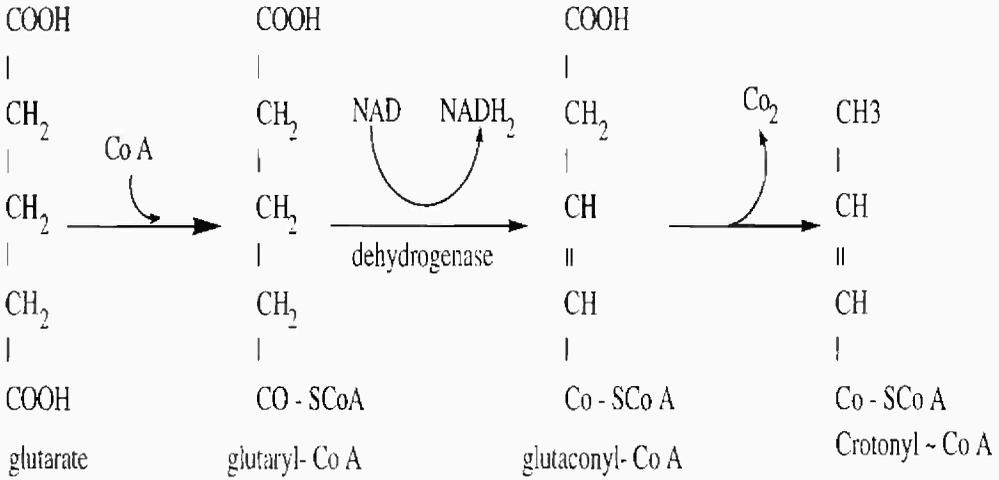
شكل (٥.٧) : تحول المألونات في *Pseudomonas fluorescens*

والخطوة التالية هي نزع ك أ من المألونات سمي الدهيد والذي يحتاج TPP ، Co A ،
 Mg^{++} ويتكون أسيتيل كوانزيم A الذي يدخل دورة TCA . والإنزيم المسئول عن هذه
 الخطوة هو Malonate semialdehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.8) وهو معقد
 إنزيمي (راجع بند ١٠١٠٧) .

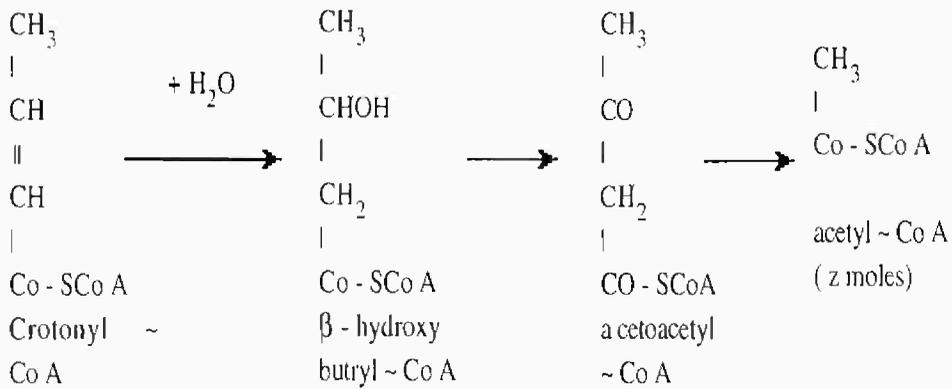
٧.٣.٧ تحولات الجلوتارات Glutarate metabolism

يستطيع *Ps. fluorescens* تحويل الجلوتارات إلى ك أ وأسيتيل كوانزيم A بطريقة
 مشابهة لما يحدث في أنسجة الحيوان . حيث تُنشَط الجلوتارات أولاً بواسطة Co A ويتكون
 glutaryl - Co A حيث لا يمكن تمثيل الجلوتارات كحمض حر .

- ثم تحدث عملية أكسدة للمركب glutaryl - Co A ينتج عنها glutaconyl - Co A والذي يتبعه مباشرة نزع مجموعة ك أ، ويتكون Crotonyl - Co A والإنزيم المسئول هو glutaryl - Co A dehydrogenase (EC 1.3.99.7) المرتبط بـ FAD .



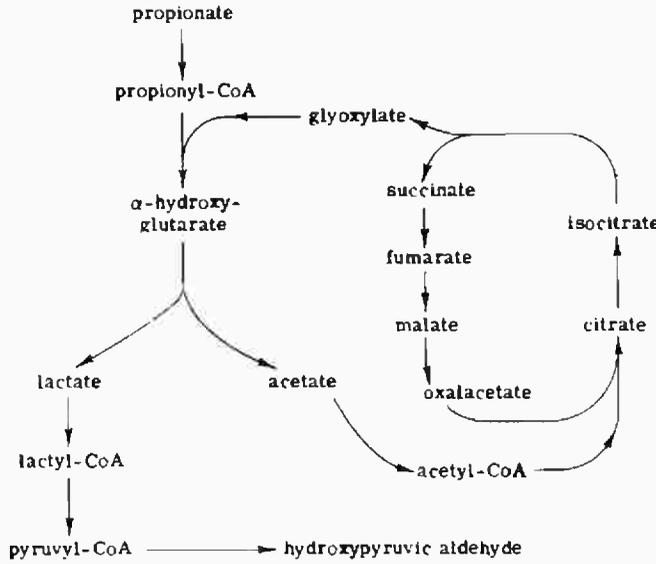
- ثم تحدث عملية إضافة جزئ ماء (hydration) للمركب Crotonyl - Co A في وجود إنزيم crotonase (EC 4.2.1.17) ينتج عنها بيتا - هيدروكسي بيوتريل - كوانزيم A والذي يتحول إلى أستيوأستيل كوانزيم A والذي يتكون عنه ٢ مول أستيل كوانزيم A الذي يدخل دورة TCA .



٨.٣.٧ تحولات البروبيونات Propionate metabolism

يستطيع *Esherichia coli* تمثيل البروبيونات هوائياً خلال دورة glyoxylate والمركب

النهائي لم يعرف بعد .



شكل (٦.٧) : تحولات البروبيونات في *E. coli*

حيث نشط البروبيونات أولاً بواسطة Co A ويتكون بروبيونيل كوانزيم A الذي يتحد مع glyoxylate في وجود إنزيم hydroxyglutarate synthase (EC 4.1.3.9) ليكون هيدروكسي جلوتارات ثم يحدث تفاعل انشقاقي cleavage reaction ليتكون اللاكتات والأسيتات وتدخل الأسيتات عبر أسيتيل كوانزيم A إلى دورة TCA / and دورة glyoxylate . أما اللاكتات فتُنشَّط في وجود إنزيم Lactyl - Co A synthetase ويتكون لاكتيل كوانزيم A الذي يتحول إلى بيروفيل كوانزيم A ومنه يتكون هيدروكسي بيروفات الدهيد وأي تحولات أخرى لهذا المركب غير معروفة .

وأثبتت الدراسات على طفرات عديدة من *E. coli* أن تركيز مادة التفاعل النامي عليها الميكروب - إذا كان عالياً - يؤثر على تحول البروبيونات إلى أسيتات وفي هذه الحالة ينشط isocitrate lyase ويزداد معدل دورة glyoxylate أما التركيزات المنخفضة فتؤدي إلى تحول البروبيونات إلى أحماض رباعية الكربون غير معلومة ويحتمل استعمال دورة اللاكتات في هذا الغرض .

٩.٣.٧ تحولات اللاكتات Lactate metabolism

تشابه الميكانيكية الإنزيمية لهدم اللاكتات هوائياً في *Acetobacter* ، *Acetomonas* والإنزيم المسئول هو lactate oxidase (EC 1.13.12. gr) وهو لا يحتاج لمرافقات إنزيمية ويعتقد أنه monooxygenases وأن مادة التفاعل تستخدم كمعطي الكترولون داخلي .



والبيروفات نفسها يمكن تمثيلها عندئذ بثلاث طرق مختلفة بواسطة بكتريا حمض الخليك .

١ - Pyruvate decarboxylase (EC 4.1.1.1) الذي يلامس تكون الأسيتالدهيد + ك أ_٤ وتلاحظ هذه الميكانيكية في *Acetobacter* ، *Acetomonas suboxydans* ، *peroxydans* .

٢ - Pyruvate oxidase وهو يحتاج الثيمين بيروفوسفات (TPP) ويوجد في *Aceto-* *bacter pastenrianum* ، *A. Liquefaciens* والناجح هو الأسيتات .

٣ - خليط من الإنزيم السابق (١) أى Pyruvate decarboxylase ونظام السيوكروم ولا يحتاج لمرافقات ويعمل O₂ كمستقبل للكترولون وهو يشبه Pyruvate dehydrogenase (EC 1.2.2.2) والناجح هو الأسيتات .

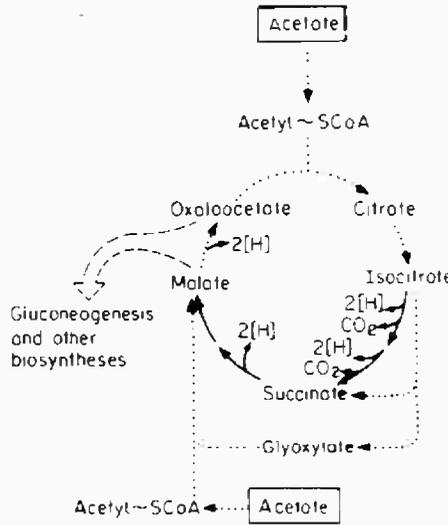
٤.٧ تنظيم تحولات الأحماض الكربوكسيلية

Regulation of Carboxylic acid metabolism

هناك علاقة متينة بين تفاعلات الهدم Catabolic والبناء anabolic . فتحت الظروف الهوائية هناك دورة TCA التي 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 وإنتاج الطاقة من ناحية وللخليق الحيوى للخلية من ناحية أخرى .

وأحد الإنزيمات anaplerotic سبق ذكره أثناء مناقشة دورة glyoxylate وهو isocitrate lyase (EC 4.1.3.1) الذي يلامس أنشقاق أيسوسترات إلى حمض رباعي

الكربون (السكسينات) ، مركب ثنائي الكربون (glyoxylate). والإنزيم الثاني هو glyoxylate malate synthase (EC 4.1.3.2) الذي 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 كبدئات بناء فى تكوين الأحماض الأمينية والدهنية وتخليق مادة الخلية عبر ما يسمى gluconeogenesis .

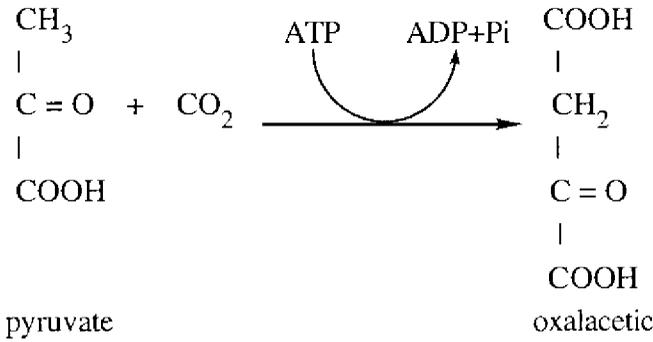


شكل (٧.٧) : التفاعلات الأيضية التى تمد الخلية بالطاقة والكربون أثناء النمو على الأسيتات نقلأ عن schlegel سنة ١٩٨٦ (تفاعلات البناء

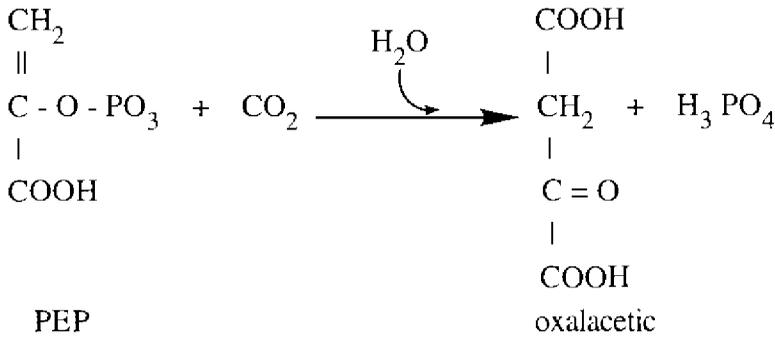
« دوره glyoxylate » ، « تفاعلات الهدم « دوره TCA »)

بالإضافة إلى دورة glyoxylate التى تقوم بتزويد الخلية بالأحماض C₄ فإنه يلزم لبدء دورة TCA ضرورة الحصول على مركبات C₄ (وبالتحديد الأوكسال أسيتات) وهذا يحدث بثبيت ك أ_١ . وقد وجد فى عالم البكتريا ٥ انزيمات مستولة عن آلية تثبيت ك أ_١ كالتالى :

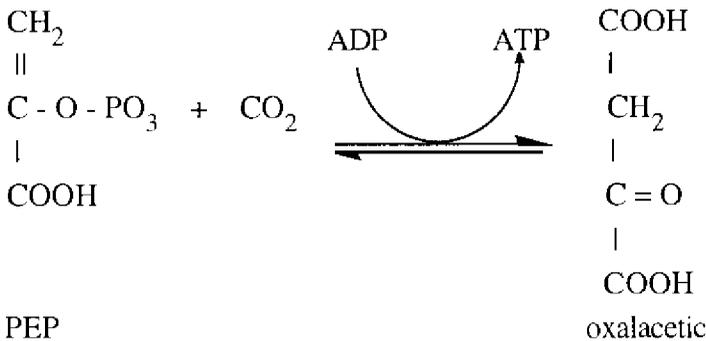
١ - Pyruvate carboxylase (Pyr-Cx) المرتبط بالبيوتين (EC 6.4.1.1) وهو ينتج حمض أوكسال أسيتيك من البيروفات (وهو يختلف عن الإنزيم الموجود فى الثدييات الذى يحتاج acetyl Co A بدلاً من البيوتين) .



٢ - Phosphoenolpyruvate carboxylase (EC 4.1.1.31) (PEP-Cx) الذي يلامس تحول الفوسفوانيونول بيروفات إلى الأوكسال أسيتات. وتنطلق مجموعة الفوسفات الغير عضوية حرة .



٣ - phosphoenolpyruvate carboxykinase (EC 4.1.1.49) (PEP-CK) الذي ينتج الأوكسال أسيتات من الفوسفو أيونول بيروفات ولكن يحتاج لمساعدة من ADP الذي يستقبل مجموعة الفوسفات الغير عضوية مكوناً ATP .

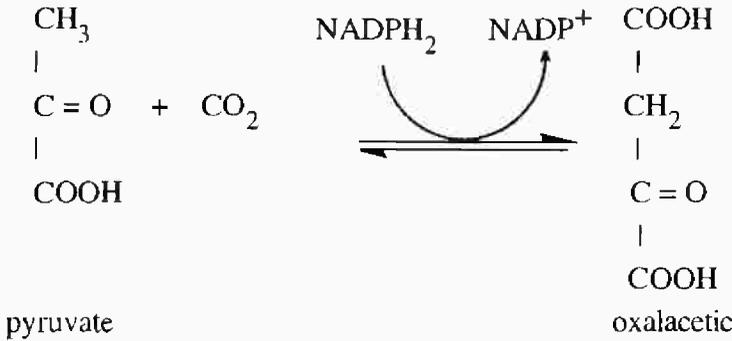


4 - Phosphoenolpyruvate carboxytransphosphorylase (EC 4.1.1.32) - ٤

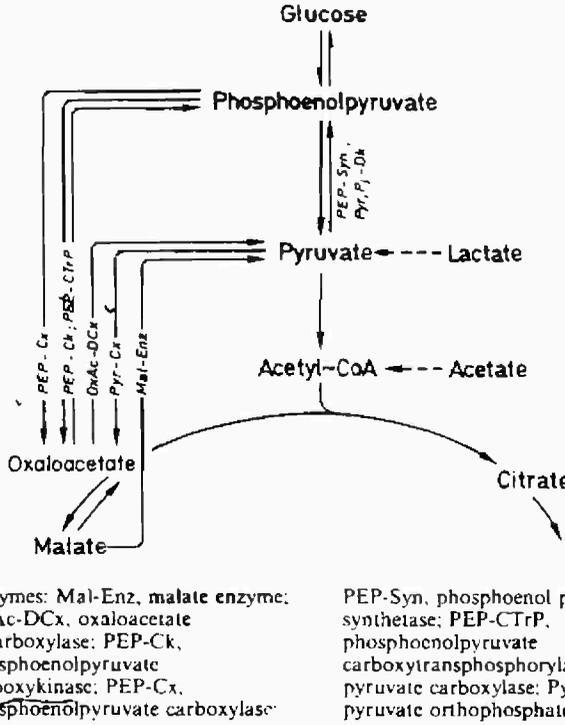
(PEP-CtrP) وهو يلامس تفاعل شبيه بالتفاعل السابق ولكن يحتاج البيكربونات والفوسفات الغير عضوى الذى يتحول إلى البيروفوسفات .

5 - malic enzyme (EC 1.1.1.40) الذى يلامس reductive carboxylation

للبيروفات مكونًا المالات مع أكسدة $NADPH.H^+$ إلى $NADP^+$.



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 . ففي *Enterobacteria* يبدو أن PEP - carboxylase هو الإنزيم الأساسى وأما باقى الإنزيمات فتعمل - فى حالة وجود مركبات C_4 فعلاً - فى نزع ك أ decarboxylation . فمثلاً إنزيم المالك يمكنه استعادة البيروفات لتخليق الأئين ، 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 للتحويلات الأيضية ؛ وهذا التأثير التنافسى يغيب فى الخلايا النامية على الجلوكوز وينشط جداً فى الخلايا النامية على المركبات ذات الوزن الجزئى المنخفض مثل الأسيتات . ويمكن تلخيص التفاعلات anaplerotic الرئيسية الداخلة فى تحولات الكربون هوائياً كما بالرسم التالى :

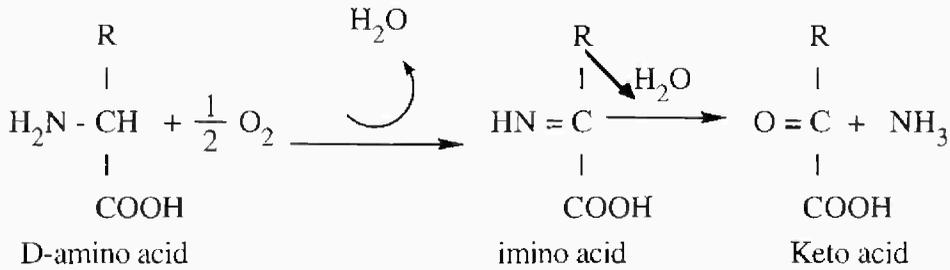


شكل (٨.٧) : كيفية الحصول على مركبات C_4 (المالات، الأكسال أسيتات) من المركبات C_3 (البيروفات، فوسفو إينول بيروفات) نقلا عن شليجل سنة ١٩٨٦

٥.٧ تحولات الأحماض الأمينية Amino acids metabolism

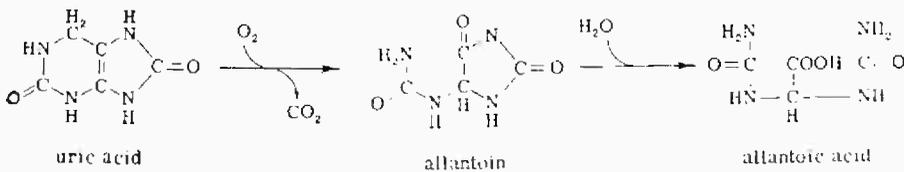
تستطيع البكتريا الهوائية والاختيارية مثل التابعة لعائلات Enterobacteriaceae ، Pseudomonadaceae أكسدة البروتين والأحماض الأمينية تحت الظروف الهوائية واستعمال هذه المركبات كمصدر وحيد للكربون والنتروجين والطاقة .

إنزيمات أكسدة الأحماض الأمينية ذات طبيعة فلافوروتينية وذات جهد أكسدة واختزال حوالي 4 mV - وعادة تتأكسد الأحماض الأمينية D-amino acids إلى imino acids يتبعها تحلل مائي إلى الحمض الكيتونى المقابل. أما الأحماض الأمينية من النوع (L-) فيحدث لها عملية نقل مجموعة الأmino Transamination أولاً قبل أى تحللات أخرى .

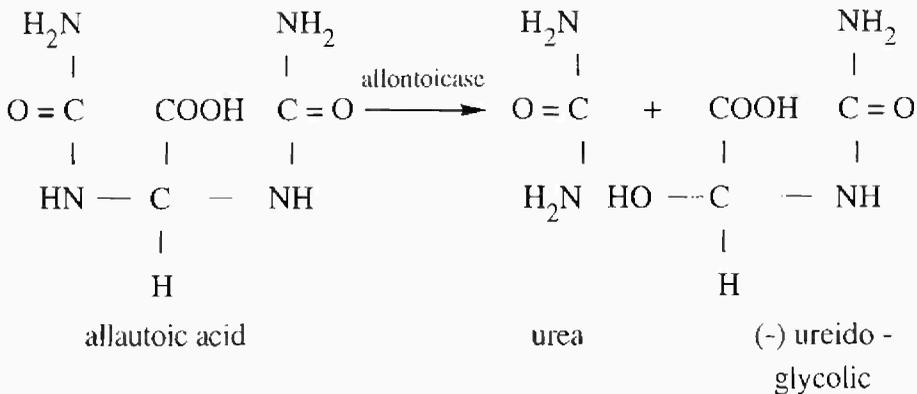


١.٥.٧ تحول حمض اليوريك والالنتوين Uric acid and allantoin

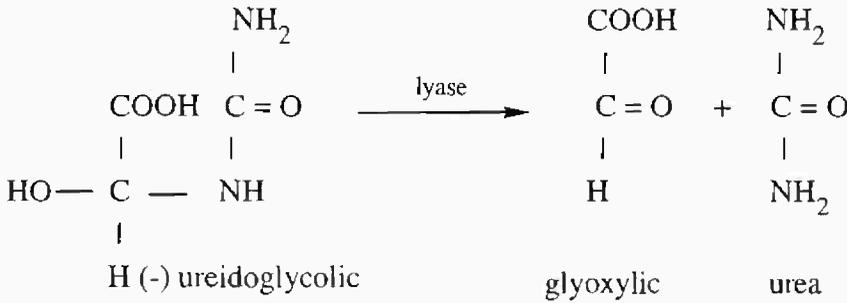
يتم تحليل الألتوين من خلال ٣ طرق مختلفة معتمداً على تخصص الإنزيم المشارك. وأكثر الطرق شيوعاً المستخدمة بواسطة *Pseudomonas aeruginosa* ، *Ps. fluorescens* حيث يتأكسد أولاً حمض اليوريك إلى الألتوين بمساعدة إنزيم urate oxidase (EC 1.7.3.3) وينطلق ك_٢ ثم يعقب ذلك إضافة جزيء ماء hydration بملاصة إنزيم allantoinase (EC 3.5.2.5) الذي ينتج حمض الألتويك .



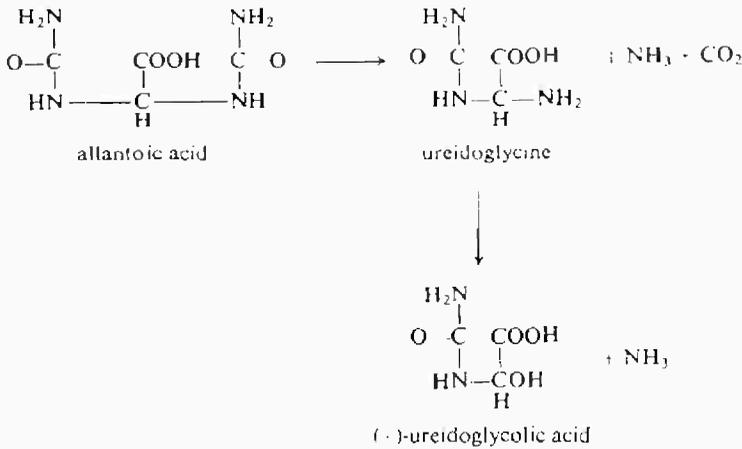
وعند هذا المستوى تشعب الدورة. فالليكروبان السابقان يحولان حمض الألتويك إلى Ureidoglycolic (-) ، اليوريا في خطوة واحدة بمساعدة allantoinase (EC 3.5.3.4) ويعرف أيضاً بإنزيم allantoinamide amidohydrolase



ويتحرر جزئاً يوريا آخر بتأثير إنزيم (-) ureidoglycolate lyase (EC 4.3.2.3) ويتكون glyoxylic كنتاج نهائي ثان بجانب اليوريا .

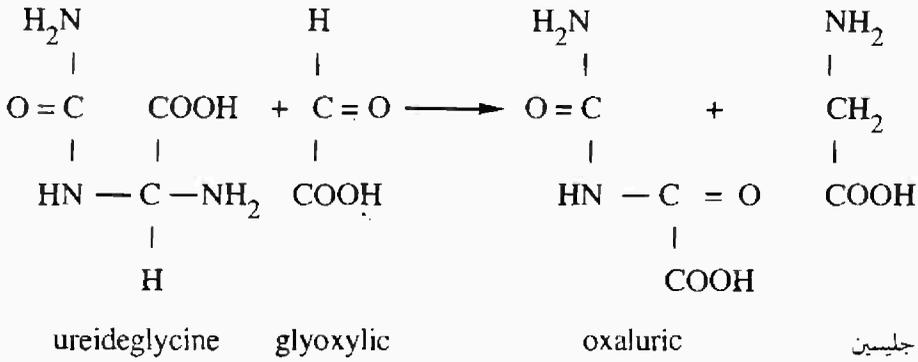


أما ميكروب *Ps. acidovorans* فيسلك طريقاً ثانياً حيث لا يفرز إنزيم allantoicase ولكن يملك إنزيمين هما allantoate amidohydrolase ، ureidoglycine aminohydrolase (+) اللذان يحولان حمض الالنتويك إلى (-) ureidoglycolic (+) وتطلق الأمونيا ، كما أنه في وجود المركب الوسطى يوريدوجليسرين . والمركب الناتج (-) ureidoglycolic يتحول إلى glyoxylate واليوريا بواسطة lyase كما سبق .



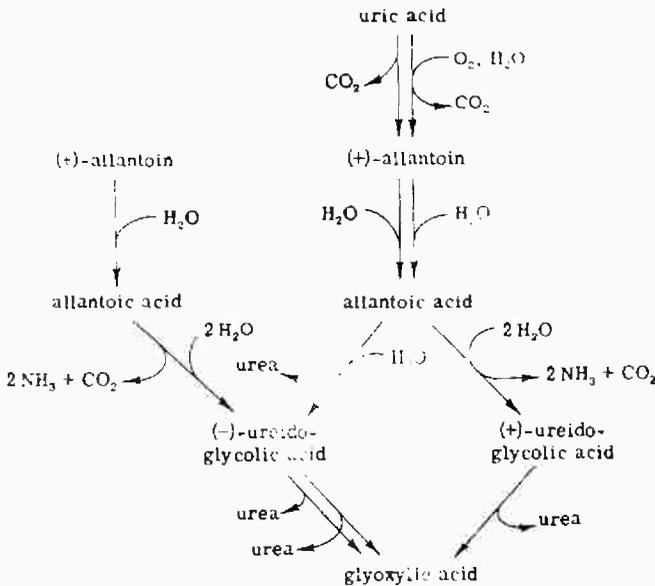
وفي ميكروب *Ps. acidovorans* ايضاً يمكن نقل مجموعة أمينو transamination من

المركب الوسطى ureidoglycine إلى المركب glyoxylate ويتكون oxaluric acid والجليسين .



أما الطريق الثالث ويقوم به *E. coli* ، *Arthrobacter allantoicus* حيث يتحول حمض الالنتريك إلى ureidoglycolate (-) مع تكوين ٢ مول أمونيا ، ١ مول ك أ ه 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

٢.٥.٧ تحول التربتوفان Tryptophan

تقسيم مجموعة ميكروبات Pseudomonads طبقاً لأسلوبها في تمثيل التربتوفان إلى :

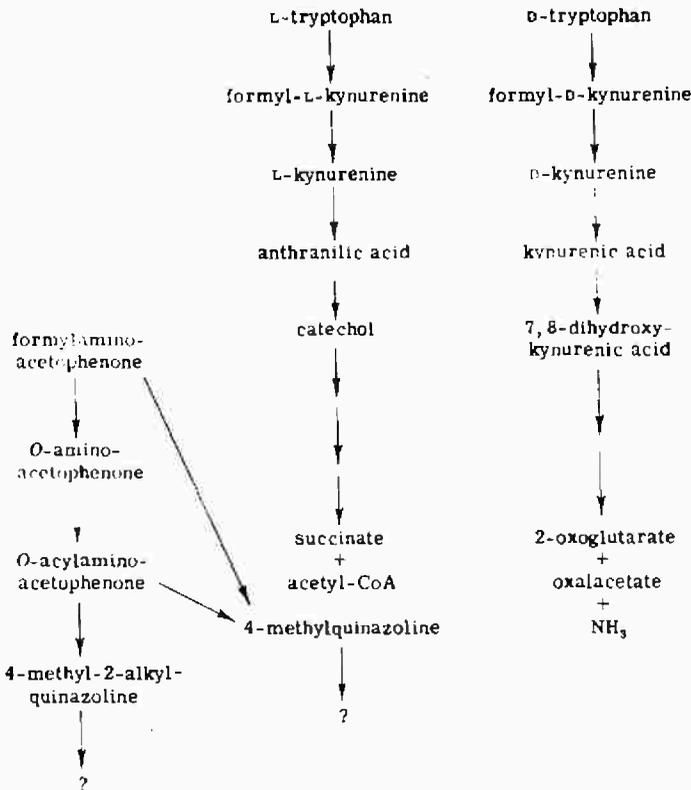
١ - المجموعة الحلقية aromatic وهي التي تحلل التربتوفان من النوع (L) عبر anthranilic acid ويمثلها *Ps. fluorescens* .

٢ - مجموعة quinoline وهي تحلل التربتوفان من نوعي (L) ، (D) عبر Kynurenic acid ويمثلها *Ps. acidovorans* .

٣ - مجموعة racemase - aromatic وهي تحلل التربتوفان من نوع (L) ، (D) عبر حمض anthranilic .

٤ - مجموعة quinazoline وهي تحلل التربتوفان من نوعي (L) ، (D) عبر O-amino acetophenone ويمثلها *Ps. aeruginosa* .

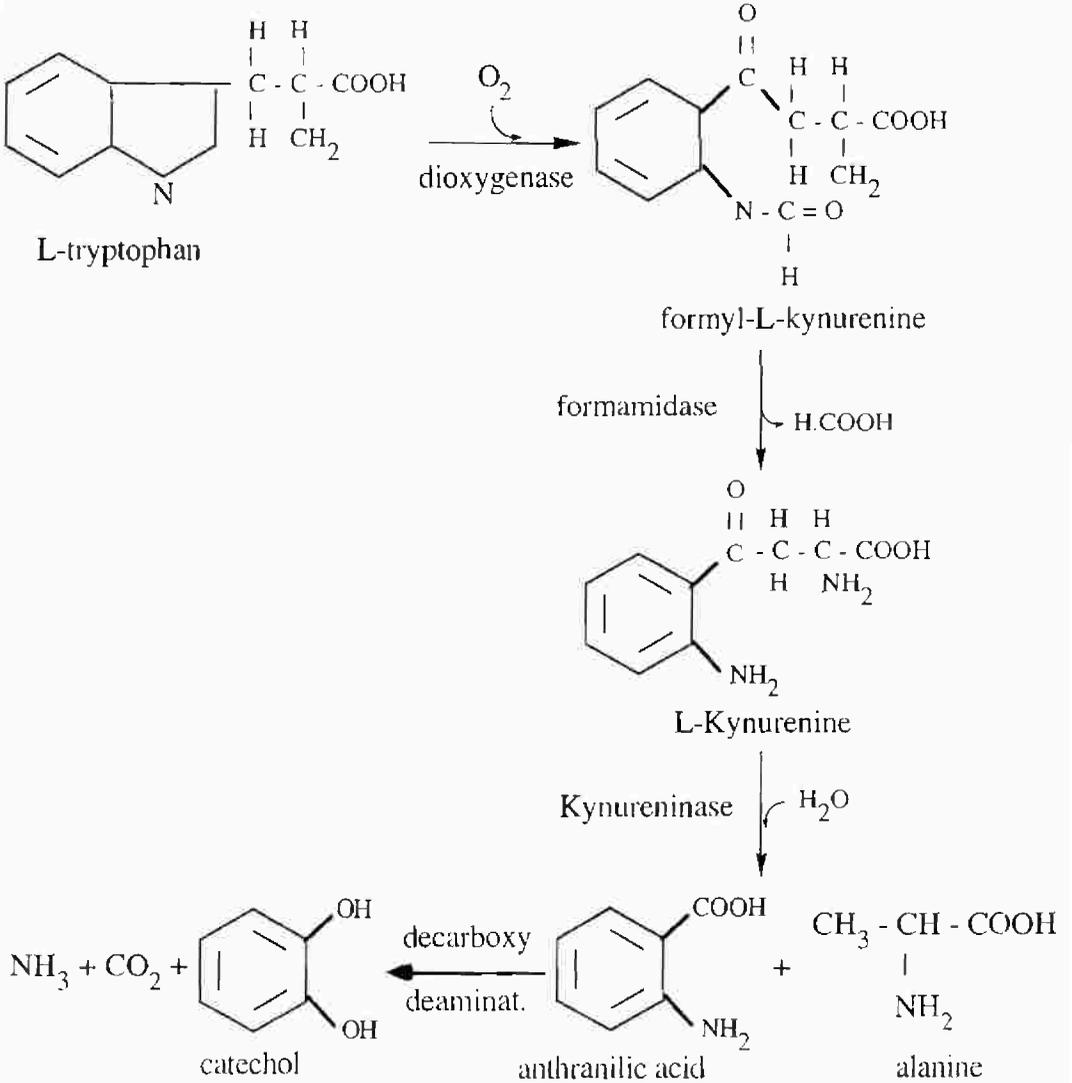
ويمكن تلخيص ذلك بالرسم التالي :



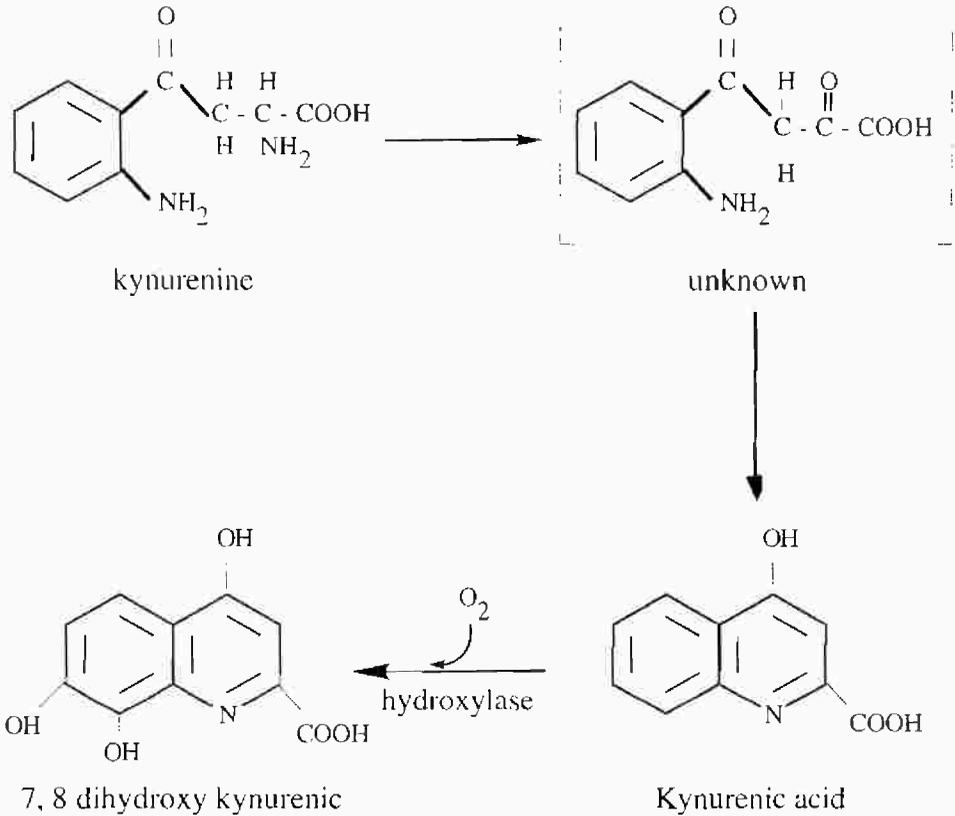
شكل (١٠.٧) : تحولات التربتوفان بواسطة pseudomonads

المجموعة الأولى : تهاجم التريبتوفان (L) بواسطة إنزيم 2,3 dioxxygenase (EC 1.13.11.11) وينحول إلى formyl - L - kynurenine . وهذا الإنزيم يحتوي مجموعة hematic كمجموعة مرافقة ويدخل O_2 إلى الحلقة (Pyrrole ring) .

ثم تنزع الفورمات بواسطة إنزيم Kyn. Formamidase (EC 3.5.1.9) ويتكون Kynurenine ثم يعقب ذلك تحلل مائي للسلسلة الجانبية إلى الآمين بواسطة إنزيم Kynureninase (EC 3.7.1.3) ويتكون حمض anthranilic وأخيراً تحدث عملية نزع ك أ_٢ مؤكسدة + عملية نزع مجموعة أمين مع إدخال الأوكسجين والنتائج هو Catechol والذي يكمل تحولاته عبر دورة β - Ketoacidate .



المجموعة الثانية : حيث يتحول (D-) or (L-) tryptophan عبر oxygenase المتخصص ، formamidase إلى (D) & (L) - kynurenine كما في المجموعة الأولى وبدلاً من kynureninase يقوم الميكروب بإفراز (D) or (L) kynureninase oxidase الذي ينتج kynurenic acid عبر مركب وسطي غير معلوم .



والخطوة الأخيرة تتم في وجود (EC 1.14.99.2) Kynurenate 7, 8 hydroxylase

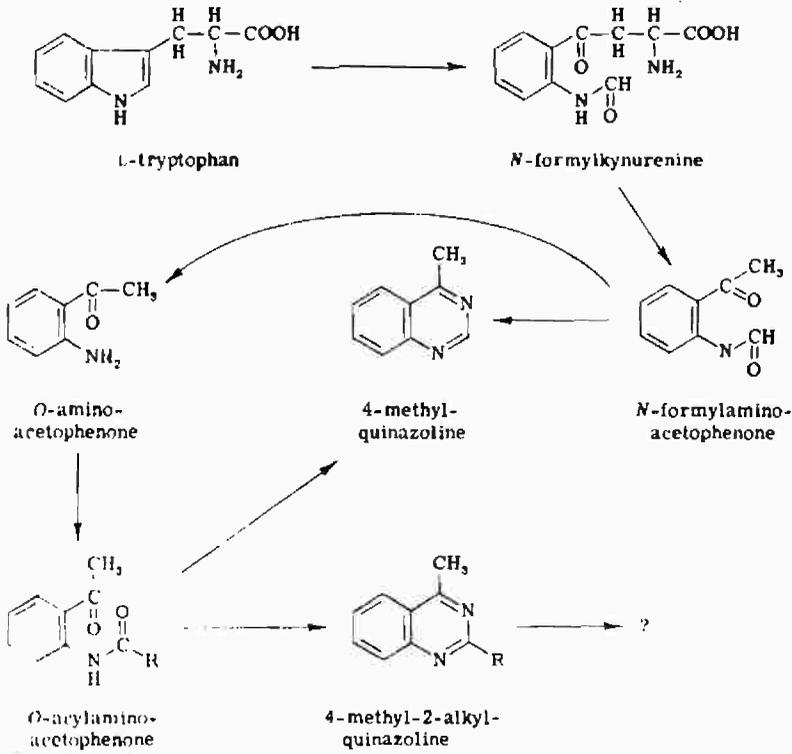
والنتائج النهائية لهذا الطريق هو 2 - oxoglutarate ، oxalacetate ، NH_3 .

المجموعة الثالثة : فهي تحول التربتوفان سواء (D) أو (L) عبر anthranilic acid

والفرق بينهما وبين المجموعة الأولى هو وجود racemase الذي يمكن الكائن من تحويل

التربتوفان من نوع (D) إلى النوع (L) .

المجموعة الرابعة : ويمثلها *Ps. aeruginosa* . ورغم أنه أمكن تحديد وتعريف خطوات التحول إلا أن الإنزيمات المشاركة لم توصف بعد . والرسم التالي يظهر خطوات التحول في هذه المجموعة .



شكل (١١.٧) : تحولات التربتوفان في المجموعة الرابعة ويمثلها *Ps. aeruginosa*

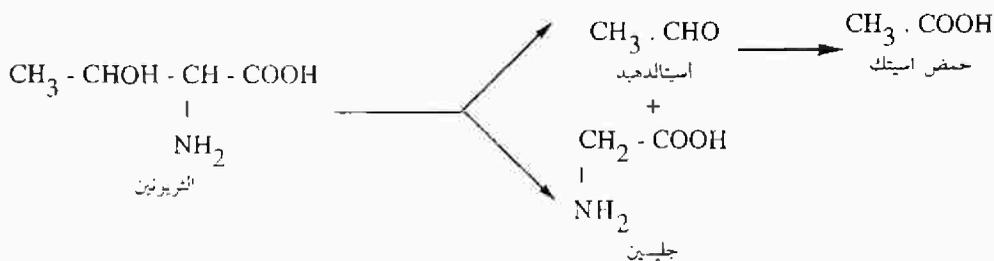
وقد لوحظ أن تحولات التربتوفان في الميكروبات تختلف تمامًا عن الموجودة في أنسجة الثدييات وربما يرجع ذلك لوجود oxygenase في الميكروبات .

وتستطيع ميكروبات *B. cereus* ، *streptomyces* ، أيضاً تمثيل التربتوفان (D) ويبدو أن هذا التحول يلعب دوراً هاماً أثناء التجزئ .

وثبت أن الإنزيم 2, 3 dioxxygenase هو إنزيم allosteric يلعب دوراً تنظيمياً في الدورة عند مستر formyl kynurenin .

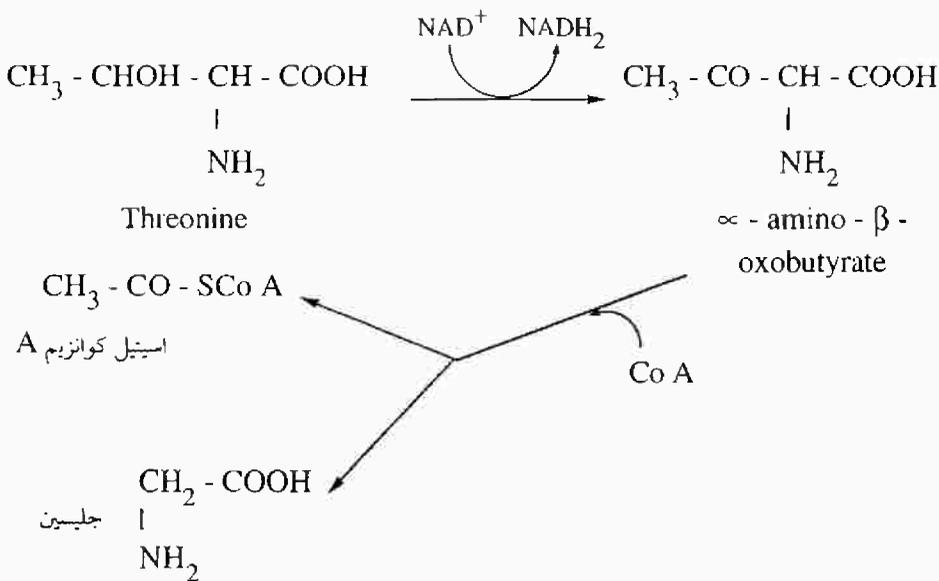
٣.٥.٧ تحولات الثريونين Threonine

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 أسيئالدهيد والجليسين ثم يتحول الأسيئالدهيد إلى الأسيئات الذى يدخل دورة glyoxylate .

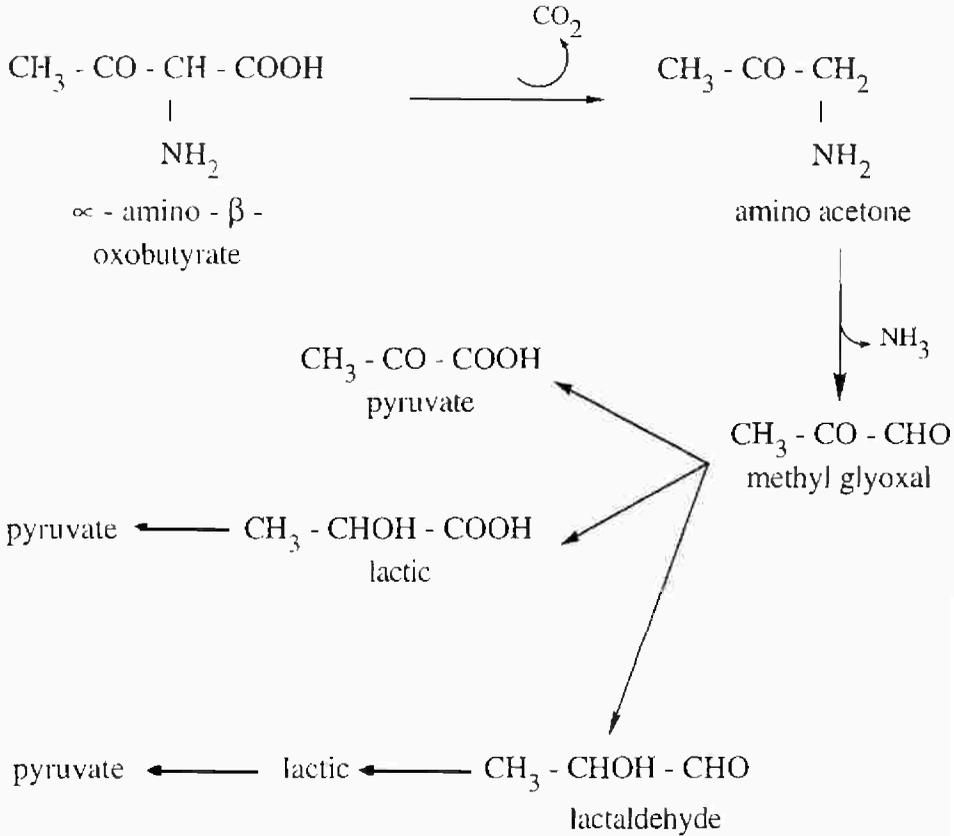


أما ميكروب *Arthrobacter* فلا يستطيع إفراز الإنزيم السابق ولكن يفرز (L) threonine - 3 dehydrogenase (EC 1.1.1.103) والذى يؤكسد الثريونين إلى ألفا - أمينو - بيتا - أوكسو بيوترات والذى ينشق فى وجود Co A إلى أسيئيل كوانزيم A والجليسين (الذى يدخل دورة السيرين) والإنزيم المسئول عن ذلك هو :

α - amino - β - oxobutyrate Co A - ligase كما يظهر ذلك فى التفاعل التالى :



أما ميكروب *Bacillus subtilis* فيستطيع تمثيل الثريونين والأمينوبروبانول عبر أمينو أسيتون والميثايل جليوكسال إلى البيروفات. فعند مستوى ألفا - أمينو - بيتا اوكسوبروبانوات (من المعادلة السابقة) يحل إنزيم amino acetone - reductase محل A ligase التالي :



ويتبع الميثايل جليوكسال ٣ طرق لتكوين البيروفات :

- ١ - الأكسدة المباشرة في وجود methyl glyoxal dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ .
- ٢ - أكسدة الميثايل جليوكسال إلى اللاكتك في وجود إنزيم methyl glyoxalase ثم إلى البيروفيك .
- ٣ - التحول الغير مباشر عبر لاكتل الدهيد في وجود إنزيم NADPH - linked methyl glyoxal reductase (EC 1.1.1.78) ثم إلى اللاكتيك في وجود إنزيم

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 أستون والذي يتبع الطريق السابق (أمينو أستون ← ميثايل جليوكسال ← بيروفات) وتفرز بعض ميكروبات Enterobacteriaceae هذا الإنزيم ولكن لتكوين الأمينو بروبانول بدلاً من الأمينو أستون (تفاعل عكسي) وذلك لإنتاج فيتامين B₁₂ .

٤.٥.٧ تحولات الليسين Lysine

يستطيع *Pseudomonas putida* تمثيل الليسين من خلال طريقين محددين أحدهما الصورة الحلقية ومادة تفاعله D - lysine والآخر الصورة غير الحلقية ومادة تفاعله L - lysine كما بالرسم (شكل ٧ - ١٢) .

والإنزيمات المسئولة عن الطريق الغير حلقي معروفة وهي حسب رقم التفاعل كالتالي :

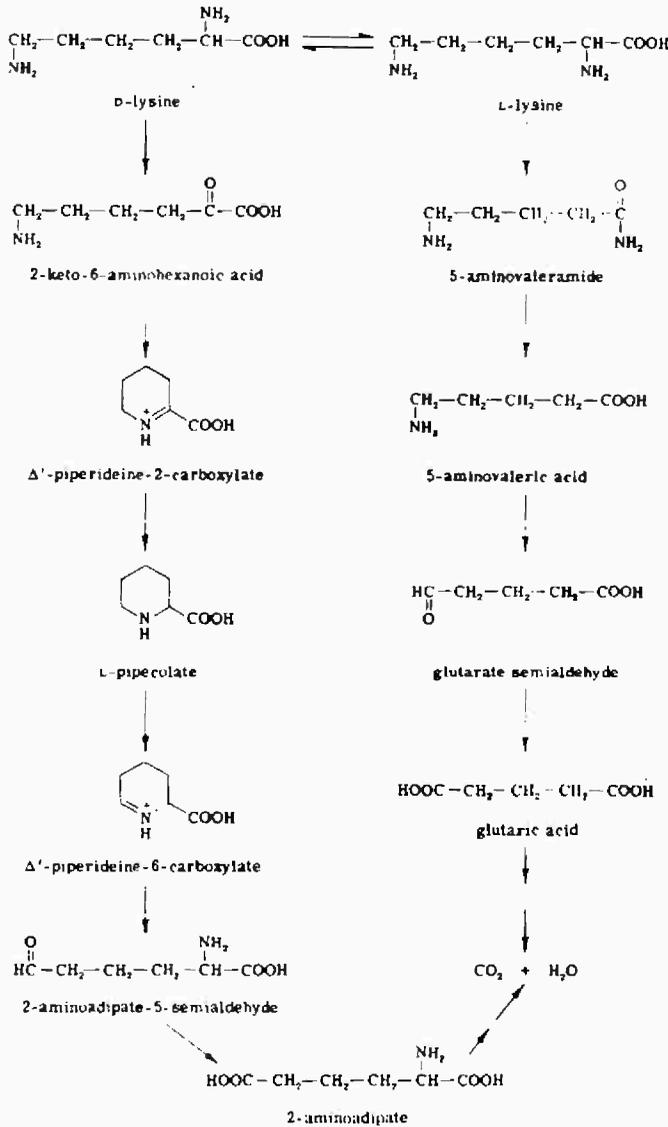
١ - L - lysine - 2 - mono oxygenase (EC 1.13.12.2) .

٢ - amino valeramide amidase (نزع مجموعة الأمينو) .

٣ - amino valerate transaminase (نزع مجموعة الأمينو الثانية) .

٤ - glutaric semialehyde DH (EC 1.2.1.20) .

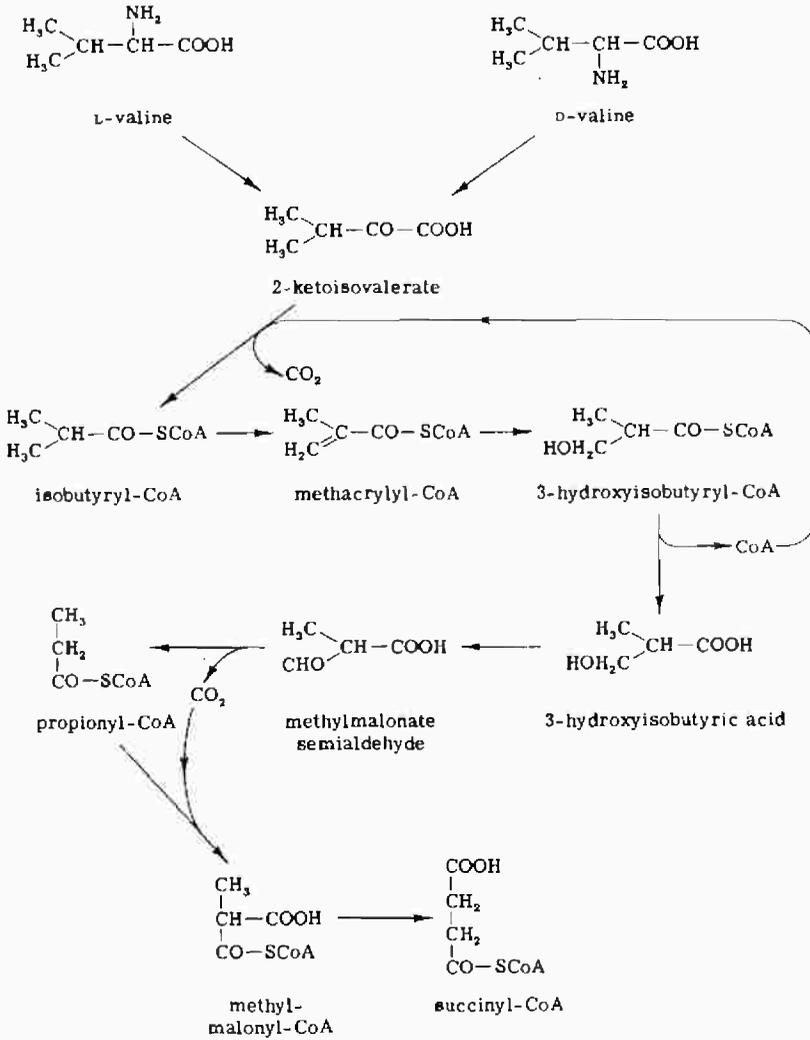
أما الإنزيمات المسئولة عن الطريق الحلقى فممازالت غير محددة والمركب الوسطى لهذا الطريق هو L-pipecolate وستحدث عنه في الباب القادم .



شكل (١٢.٧) : تحولات الليسين بواسطة *Ps. putida* نقلاً عن Miller & Rodwell 1971

6.5.7 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 الوسيط كيتو أيسوفاليرات .



شكل (١٣.٧) : تحولات الفالين الهوائية بواسطة *Ps. aerugenosa*

ثم يتحول كينو أيسوفاليرات بعملية نزع ك^أ مؤكسدة oxidative decarboxylation فى وجود Co A إلى أيسو بيوتيريل - كوانزيم A . والإنزيم المشارك هو ketoisovalerate dehydrogenase (EC 1.2.1.25) - 2 . ويعقب ذلك خطوتين نزع ايدروجين وادخال جزئ ماء فتكون ٣ - هيدروكسى آيسوبيوتيرات والذى يتأكسد إلى ميثيل مالونات سسمى الدهيد فى وجود (EC 1.1.1.31) hydroxy butyrate DH وهذا المركب الأخير يتأكسد إلى propionyl - Co A فى وجود إنزيم ديهيدروجينز مرتبط بـ NAD^+ ، Co A مع انطلاق ك^أ .

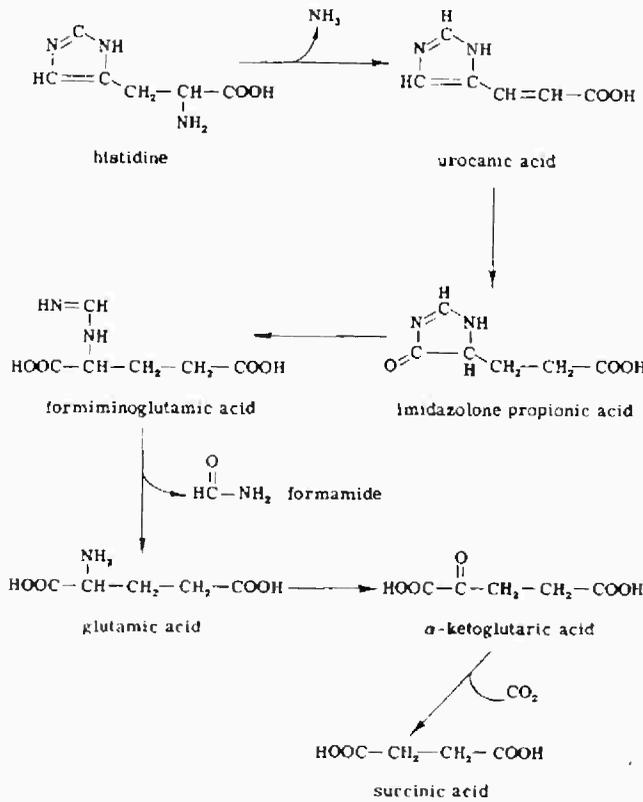
ومركب بروبيونيل كوانزيم A يتحول أما عن طريق acrylyl - Co A إلى لاكتيل كوانزيم A أو عبر ميثيل مالونات كوانزيم A إلى سكسينل كوانزيم A ثم إلى السكسينات ومنها إلى دورة TCA أو دورة glyoxylate .

وثبت أن ميكروب *Ps. aeruginosa* يمكنه تكوين الالانين، الأسبارتيك عند نميته على الفالين مما يدل على وجود تفرعات أخرى من بروبيونيل كوانزيم A .

٧.٥.٧ تحولات الهستيدين Histidine

يكثُر تمثيل الهستيدين بواسطة الميكروبات . وهناك بعض الفروق البسيطة بين تحولاته تحت الظروف الهوائية واللاهوائية .

أما تحت الظروف الهوائية فإنه يحدث أولاً عملية نزع الأمينو فى وجود إنزيم histidine lyase (EC 4.3.1.3) إلى حمض urocanic الذى يختزل فى وجود uroca-nate hydratase (EC 4.2.1.49) إلى أيميد ازولون بروبيونات . أما كسر الحلقة فيحدث بملامسة إنزيم imidazolone propionase (EC 3.5.2.7) مكوناً formiminoglutamic ثم يحدث تحلل مائى فينقسم الجزئ إلى formamide والجلوتاميك والإنزيم المسئول هو formiminoglutamase (EC 3.5.3.8) ثم يتحول الجلوتاميك إلى كيتو جلوتاريك ثم السكسينات فدورة TCA كما يتضح من الشكل التالى (٧-١٤) .



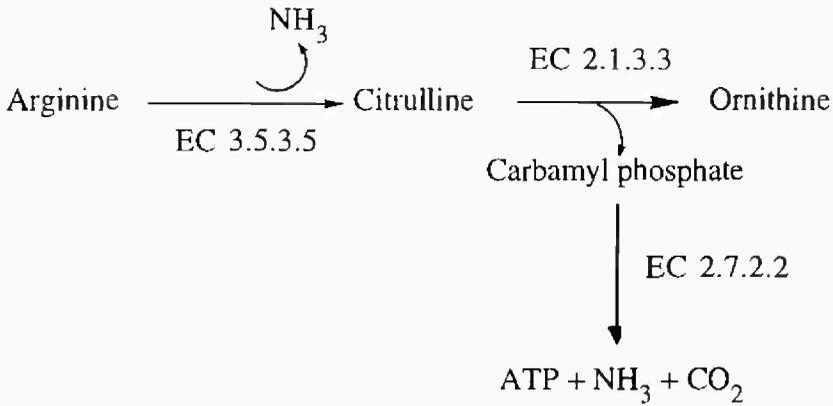
شكل (١٤.٧) : تحولات الهستيدين الهوائية

وقد لوحظ بعض الفروق بين العائلات البكتيرية في هدم الهستيدين. ففي *Pseudomonads* تستعمل المركب الأول (حمض urocanic) كمحفز فسيولوجي physiological inducer أما السكيتات فتلعب دوراً في الشيط الرجعي feed back inhibition. أما في *Enterobacteriaceae* مثل *Aerobacter aerogenes* و *Salmonella typhemurium* فتلعب اليورونيك أسيد دور المحفز الفسيولوجي وتخليق ammonia يتأثر بالظروف البيئية المحيطة.

٨.٥.٧ تحولات الأرجينين Arginine

يرتبط هدم الأرجينين في *Streptococcus faecalis* بتكوين ornithine. حيث

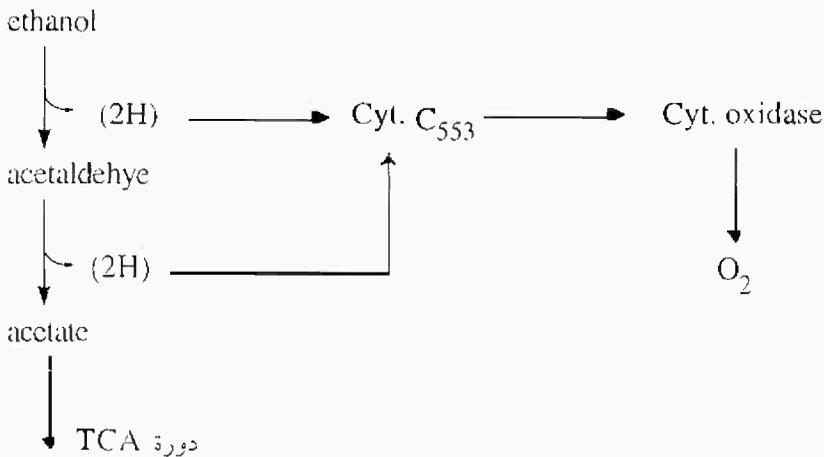
يلامس إنزيم Arginine deiminase (EC 3.5.3.5) تحويل الارجينيون إلى سترولين مع انطلاق الأمونيا .



وفى وجود إنزيم Ornithine Carbamoyl transferase (EC 2.1.3.3) ينشق السترولين إلى أورنيثين وكارباميل فوسفات والذي يكمل تحولاته فى وجود Autrescine carbamate kinase (EC 2.7.2.2) ليكون ATP ، الأمونيا ، ك أم كنواتج نهائية .

٦.٧ تحولات الإيثانول Ethanol

تستطيع ميكروبات *Acetobacter* ، *Acetomonas* أكسدة الإيثانول إلى الأسيتات الذى يدخل دورة TCA متتهياً إلى ك أم ، يد ه آ . ويعتبر الأسيتالدهيد هو المركب الوسطى فى أكسدة الإيثانول والإنزيم المسئول هو ethanol dehydrogenase المرتبط بـ NAD^+ (EC 1.1.1.1) كما هو بالرسم .



ويتميز ميكروب *Acetomonas suboxydans* بقدرته على اختزال NADP^+ بمعدل يتفوق ٤ مرات اختزال NAD^+ بواسطة ميكروب *Acetobacter peroxydans* .

أما الأستالدهيد فيتأكسد بواسطة *aldehyde dehydrogenase* 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 سى على مواصلة أكسدة الأستات 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 *gluconeogenesis* (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 نسبة ATP / ADP عالية 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 .

أسئلة للمراجعة

- ١ - ماهى أهم الفروق بين نظام انتقال الالكترونات فى Chemolithotrophs ، Chemoorganotrophs الهوائية ؟
- ٢ - أشرح دورة TCA مع ذكر الإنزيمات المشاركة فيها .
- ٣ - أشرح بالتفصيل ميكانيكية أكسدة 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 الرئيسة المشاركة فيها ؟
- ٧ - ماهو anaplerotic sequences ؟
- ٨ - أشرح الطريقتين المستخدمتين 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 الأربعة المستخدمة فى تحولات التريبتوفان الهوائية .
- ١٣ - «يتحول الشريونين عبر ٣ طرق مختلفة معتمدا على الإنزيمى المفتاحى الموجود» ناقش هذه العبارة .

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. Bacteriol. 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 racemase. J. Biochem. 48 : 277.
- 9 - Karlson, P. (1965). "Introduction to modern biochemistry" 2 nd Ed. Academic Press., New York.

- 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. Biophys. Acta 171 : 198.
- 18- White, D. C. and Sinclair, P. R. (1971) Branched electron transport systems in bacteria. Advan. Microbial. Physiol. 5 : 173.