الأيض الميكروبي
Microbial Metabolism

يُعرف الأيض metabolism بأنه كل العمليات الكيميائية التي تحدث في الخلية أو الكائن. ويتكون الأيض من مجموعتين عامتين من التفاعلات: هما الهدم catabolism والبناء anabolism. أما الهدم catabolism فهو تفتيت degradation أو تكسير breakdown الجزيئات المعقدة إلى جزيئات بسيطة. وبصفة عامة يتحرر من عمليات الهدم طاقة energy، بمعنى منتجة للطاقة exergonic = (energy yielding). حيث تتحرر الطاقة الكيميائية المخزنة في الروابط bonds بين ذرات الجزيئات المعقدة وذلك عندما تتكسر هذه الروابط (أو يعاد تنظيمها إلى حالة منخفضة الطاقة). ويتم إصطياد بعض هذه الطاقة لتستخدمها الخلية: أما الباقي فيفقد على شكل حرارة. كما تستخدم بعض المركبات الكيميائية الأبسط التي تنتج عن الهدم، بواسطة الخلية لتعمل منها مركبات معقدة جديدة، على حين يطرد الباقي إلى خارج الخلية على شكل فضلات.

أما البناء anabolism فهو التخليق الحيوي biosynthesis (التمثيل الحيوي) للجزيئات المعقدة من المركبات البسيطة. وقد تكون المركبات البسيطة البادئة في التفاعل البنائي منقولة إلى الخلية أو مكتسبة من خلال عمليات الهدم. ويتطلب بناء الجزيئات المعقدة طاقة، لذا يطلق على تفاعلات البناء أنها مستهلكة للطاقة endergonic (– energy consuming). وتستمد الطاقة اللازمة لهذه التفاعلات بواسطة التفاعلات الهدمية والتي تمتص في روابط كيميائية تنشأ أثناء تكوين المركبات المعقدة.

وعموماً، فكلما كان المركب أكثر تعقيداً احتوى على طاقة أكثر. وتحتوي المركبات المعقدة على الطاقة التي تستخدم في بنائها الناتجة عن استخدام الذرات والجزيئات الأبسط. ويمكن أن تحرر هذه الطاقة بتكسير المركبات المعقدة إلى مكونات أبسط.

ويوضح الجدول رقم (١٣) بعض الصفات العامة لعمليات الهدم والبناء.

الجدول رقم (١٣). مقارنة بين الصفات العامة لعمليات الهدم والبناء.

الصفة	الهدم catabolism	البناء anabolism
١- تبادل الطاقة	منتجة للطاقة	مستهلكة للطاقة
٢- نوع التفاعل	تأكسدي oxidative	اختزالي reductive
٣- طبيعة التحويل	معقد ← بسيط (تكسيري)	بسيط ← معقد (بنائي)
٤- توجد أغلب الطاقة على شكل	مواد وسط substrates	منتجات products

الأكسدة والاختزال
Oxidation and Reduction

لا يمكن أن تفهم عمليات الهدم catabolism أو عمليات البناء anabolism في إطار التغيرات التي تحدث في تعقيداتها الجزيئية (في التخليق في مقابل التكسير) ولا حتى في إطار نقل الطاقة (المنتجة للطاقة في مقابل المستهلكة لها). ففي كل التفاعلات الأيضية metabolic reactions تنتقل أيضاً الإلكترونات electrons. ويحدد نقل الإلكترونات ما إذا كان هذا التفاعل مؤكسداً oxidative أو اختزالياً reductive. وبمجرد أن يتأكسد أي جزيء، فإنه يتم اصطياد إلكتروناته المفقودة بواسطة جزيء آخر الذي يختزل في هذه العملية. وعلى هذا، فإن كل تفاعل تأكسدي يكون مترافقاً تزامنياً بتفاعل اختزالي.

ويتحرر عن هدم الجزيئات المعقدة كل من الطاقة والإلكترونات. أما من ناحية أخرى، فإن عمليات التخليق (التمثيل الحيوي) لا تستهلك فقط الطاقة ولكنها تحتاج أيضاً إلى مصدر من الإلكترونات. ولذلك فإنه يمكن القول كقاعدة عامة أن المركبات المختزَلة بشدة تكون أكثر غنى في الطاقة عن المركبات المؤكسَدة بشدة. فمثلاً جزيء الجلوكوز المحتوي على ٦ ذرات من الكربون يكون في حالة اختزال عالية وأنه يخزن في هذا الجزيء طاقة عالية عندما يحول الكربون إلى صورة أكثر تأكسداً. ويلخص هذا التفاعل في المعادلة التالية :

$$O_2 + C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 6CO_2 + 6H_2O + \text{Energy}$$

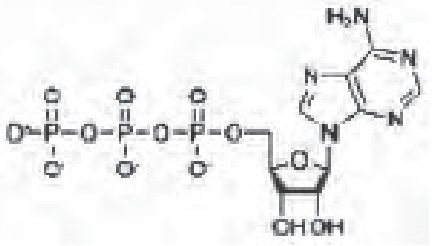
جلوكوز عال الاختزال وغني بالطاقة — ثاني أكسيد الكربون عال التأكسد وفقير بالطاقة — الكترونات تتحرر من الجلوكوز وتدخل في جزيء الماء

وفي هذا التفاعل ينقل ١٢ إلكتروناً (محولين بواسطة ١٢ ذرة هيدروجين) من الجلوكوز إلى الأوكسجين لتكون ٦ جزيئات من الماء. ومقارنة بالجلوكوز، فإن ثاني أكسيد الكربون يحتوي على قدر قليل متاح من الطاقة ؛ لأن أغلب طاقة الجلوكوز تحررت أثناء الأكسدة.

أدينوسين ثلاثي الفوسفات: عملة الطاقة Adenosine Triphosphate (ATP): The Energy Currency

يعد أدينوسين ثلاثي الفوسفات (أ.ث.فو ATP) عملة الطاقة في جميع الكائنات بما فيها الأحياء الدقيقة. وتحصل الخلايا على الطاقة اللازمة لعملياتها الحيوية من الجزيئات المعقدة كالنشاء starch والجليكوجين (نشاء حيواني) ومن الدهون lipids. حيث تقوم أولاً بتحويل أو تكسير المركبات المعقدة الكبيرة إلى تحت وحدات أو مركبات أبسط ، التي يتم بعدئذ أكسدتها عن طريق سلاسل من التفاعلات، ومن ثم فإنها تحرر كميات صغيرة من الطاقة التي يمكن أن تستغلها الخلية. وتفقد هذه الطاقة ما لم تحولها الخلية إلى شكل يمكن استخدامه ويكون متاحاً لها عند احتياجها للعمليات الحيوية. وينقل قدر كبير من الطاقة الناتجة عن التفاعلات التأكسدية إلى روابط كيميائية

chemical bonds في مركبات عالية الطاقة أكثرها شيوعاً هو أدينوسين ثلاثي الفوسفات (أ.ث.فو adenosine triphosphate (ATP)) والذي يتكون من أدينين مرتبط بسكر ريبوز ويتصل بالأخير ثلاث مجموعات من الفوسفات (الشكل رقم ٨٢).



الشكل رقم (٨٢). تمثيل هيكلي لجزيء اديبوسين ثلاثي الفوسفات.

ويحتوي جزيء أدينوسين ثلاثي الفوسفات على ثلاث مجموعات فوسفات متصلة بعضها مع بعض. ويلزم لتكوين هذا الجزيء طاقة عظيمة ليحدث ارتباط لأدينوسين ثنائي الفوسفات adenosine diphosphate (ADP) مع فوسفات غير عضوية (pi)، وتخزن هذه الطاقة في مجموعة الفوسفات الثالثة المتكونة حديثاً. ويطلق على تكوين روابط الفوسفات الغنية بالطاقة هذه الفسفرة phosphorylation . أما في التفاعل العكسي (أي ATP ⟵ ADP + pi+ طاقة) فإن رابطة الفوسفات تتكسر (بعملية تسمى التحلل المائي hydrolysis) محررة بذلك الطاقة المخزنة.

ويقدر ثراء أي كائن بما يمتلكه من جزيئات أ.ث.فو (ATP) الناتجة عن أيضه البنائي. وعند الحاجة تستخدم الخلايا هذه الطاقة (أي تصرفها) في العمليات البنائية التي يلزم لها طاقة endergonic.

لقد تم تقدير الطاقة اللازمة لبكتيرة إيشيريشيا كولاي لتصنيع البروتينات والمركبات التركيبية الأخرى بمبلغ ٢ مليون جزيء أ.ث.فو (ATP) لكل ثانية. وعلى هذا الأساس فإن ATP (أ.ث.فو) هو الحامل الابتدائي للطاقة أما أدينوسين ثنائي الفوسفات (ADP) فهو مستقبل acceptor للطاقة.

حاملات الإلكترون Electron Carriers

تعد عمليات نقل الطاقة energy transfer تفاعلات أكسدة واختزال وتتطلب: تبادل الطاقة energy exchange. ويحدث غالباً نقل مؤقتاً للإلكترونات إلى واحد من ثلاثة جزيئات حاملات للإلكترون الذي ينقل الإلكترون إلى جزيء آخر. وهذه المركبات الثلاث الحاملة للإلكترون هي:

١- نيكوتين أميدأدينين ثنائي النيوكليوبيد (ناد NAD) necotinamide adenine dinucleotide.

٢- فوسفات نيكوتين أميدأدنين ثنائي النيوكليوتيد (نادب NADP) necotinamide adenine dinucleotide phosphate.

٣- فلافين أدينين ثنائي النيوكليوتيد (فاد FAD) Flavine adenine dinucleetide.

ويمكن لكل واحد من هذه المركبات أن يختزل بواسطة قبوله لزوج من الإلكترونات. وعادة تتحرر هذه الإلكترونات من مانح للإلكترون electron donor على شكل ذرتي هيدروجين (تحتوي ذرة الهيدروجين على إلكترون وبروتون). ويكون جزيء ناد NAD ونادب NADP موجبي الشحنة أي $NADP^+$, NAD^+. ويختزل كل جزيء بقبوله زوجاً واحداً من الإلكترونات من ذرتي هيدروجين. ويتم استقبال بروتون واحد فقط من الهيدروجين، ومع هذا فإنه يعطي مركباً متعادلاً محتوياً على ذرة هيدروجين واحدة. أما البروتون الثاني لذرتي الهيدروجين فإنه يتحرر في المحلول كأيون هيدروجين (H^+) hydrogen ion. وتمثل هذه الصورة المختزلة للمركبين الحاملين للإلكترون بـ NADH و NADPH. ويحدث أثناء العملية العكسية أن يتحرر من المركب الحامل إلكترونان وبروتون. ويعاد اتحاد الإلكترونان غير المزدوجين unpaired بأيون هيدروجين من المحلول. وتمثل هذه التفاعلات كما يلي:

$NAD^+ - 2H \leftrightarrow NADH\ (-H^+$ في المحلول)

$NADP^+ - 2H \leftrightarrow NADPH\ (-H^+$ في المحلول)

ومن ناحية أخرى فإن الشكل المختزل من فاد FAD يحتوي كلاً من البروتونين وكلاً من الإلكترونين ويمثل بـ $FADH_2$. وبذا فإن هذه المركبات الثلاث الحاملة للإلكترون تكون في صورتها المختزلة مصدراً للإلكترونات (وللهيدروجين).

وتقوم حاملات الإلكترون بوظيفتين:

١- يقوم مركبي ناد NAD وفاد FAD بحمل الإلكترونات المحررة من المركبات العضوية إلى مواقع نوعية حيث يمكن عندها إطلاق الطاقة التي تستخدم في عمل أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP (وهي آلية تسمى التنفس الخلوي).

٢- تنقل الإلكترونات المحررة بواسطة أكسدة المواد العضوية من NADH إلى $NADP^+$. ويمكن لـ NADP المختزل (NADPH) أن ينقل هذه الإلكترونات إلى مركبات يتم تخليقها.

وبناءً عليه، فإن عمليات الأكسدة في الأيض الهدمي ليست فقط مصدراً للطاقة على هيئة ATP تستخدمها الخلية، ولكنها أيضاً تولد للخلية قدرتها الاختزالية reducing power المتمثلة في مصدر الإلكترونات المتاحة لعمليات التمثيل الحيوي والعمليات الاختزالية الأخرى. وبذلك فإن مورد NADH و NADPH في الخلية يمثل القوة الاختزالية.

المسارات الأيضية: تحوير جزيء خطوة خطوة
Metabolic Pathways: Molecular Modification Step by Step

تحدث عادة العمليات الكيميائية للأيض في سلاسل series خطوة خطوة بدلاً من تفاعل الخطوة الواحدة، ويقوم كل تفاعل بعمل تحوير طفيف في الجزيء السابق حتى ينتهي كامل تتابع هذه الخطوات إلى التفاعل النهائي المستهدف. ويطلق على كل مجموعة أو سلسلة من التغيرات الكيميائية: المسار الأيضي metabolic pathway فمثلاً، تقوم الخلايا بتكسير الجلوكوز إلى ثاني أكسيد كربون وماء في ١٩ تفاعلاً. ويمكنها أن تحقق نفس العملية في تفاعل واحد ببساطة عن طريق حرق الجلوكوز في وجود الأوكسيجين. لكن للتفاعل المتسلسل (المسار) للتكسير التدريجي للجلوكوز ميزة أولى هي أن الطاقة المحررة تكون بكميات يسهل الاستفادة منها بدلاً من أن تكون في تفاعل مفرد متفجر. وبهذه الطريقة، يمكن الحفاظ على الطاقة لتستخدمها الخلية. والميزة الثانية، أن المسارات الأيضية تولد مركبات وسطية intermediate compounds خلال العملية التي تعطي فيها المركبات النهائية ويكون لها نفع في الأيض والتمثيل الغذائي.

الإنزيمات — موجهات للأيض Enzymes-Directors of Metabolism

لا يحدث الأيض بطريقة عشوائية. ولكن يكون كل تفاعل فيه محكوماً بدقة بواسطة الإنزيمات.

الإنزيم Enzyme: عبارة عن عامل مساعد حيوي biological catalyst، أي أنه مادة تزيد من معدل تفاعل كيمحيوي نوعي من دون أن تستهلك في التفاعل. ويقلل وجود الإنزيم طاقة التنشيط اللازمة لبدء أي تفاعل كيميائي نوعي. وفي الخلية فإن التفاعلات التي تحدث بمعدلات بطيئة تلقائياً يقوم الإنزيم بالإسراع من معدلاتها. فإن أي كائن يمكن أن يهضم بكفاءة سكر الجلوكوز، مثلاً إذا كان لديه الإنزيمات التي تقوم بعملية الهضم هذه. وتتحدد التفاعلات التي تقوم بها أية خلية بما تحتويه من إنزيمات لهذه التفاعلات، ففي بكتيريا إيشيريشيا كولاي يوجد ما يزيد عن ١٠٠٠ نوع من الإنزيمات المختلفة التي تحدد كل الخواص الفيزيائية والتي توجه النشاط الأيضي.

كما تساهم بعض الإنزيمات، وخاصة في الكائنات المسببة للأمراض، في مقدرة الكائن على إحداث المرض. على هذا الأساس فإن العطب الذي يحدث في الإنسان أو الحيوان أو النبات المصاب بكائنات ممرضة، يكون سببه الرئيس وجود إنزيمات تحلل أنسجة العائل وتدمرها.

ما هي الخواص العامة للإنزيمات What are the general properties of enzymes

تتلخص الخواص العامة للإنزيمات فيما يلي:

١- تتكون الإنزيمات البسيطة كلية من البروتين. أما الإنزيمات المعقدة فتحتوي على مكونٍ آخر غير بروتيني على ارتباط وثيق بجزيء الإنزيم البروتيني والتي يطلق عليها مصطلح المجموعات المرتبطة prosthetic groups.

٢- عالية التخصصية highly specific، فكل إنزيم يتعرف فقط على مجموعة واحدة من مادة الوسط substrate (أي المادة التي سيعمل عليها) ويحولها إلى منتج أو نواتج معينة. ويوجد بكل إنزيم موضع نشط active site

يتعرف به نوعياً على مادة الوسط التي يعمل عليها دون سواها التي يجب أن تتطابق فيزيائياً وكيميائياً مع الموقع النشط تماماً مثلما يتوافق القفل والمفتاح.

٣- الإنزيمات ذات كفاءة عالية في التفاعلات التي تساعد على حدوثها. إذ أن أقل تركيز من الإنزيم يُسرّع بالتفاعل الكيميائي للتقدم بمعدلات سريعة جداً.

٤- لا تُستهلك الإنزيمات في التفاعلات الوسيطة فيها. فهي تظهر دائماً سليمة بعد تحول مادة الوسط إلى منتجات ويعاد استخدامها من جديد مرات ومرات. ويساهم إعادة تدوير هذه الإنزيمات في كفاءتها.

٥- تحتاج بعض الإنزيمات إلى جزيئات صغيرة للمساعدة في عملها. ومن دون هذه الجزيئات المساعدة لا تستطيع مثل هذه الإنزيمات أداء عملها. فبالإضافة إلى بعض المجموعات المرتبطة دائماً بالإنزيم، فإن إنزيمات أخرى ترتبط بها جزيئات مساعدة إضافية فقط أثناء عملها ويطلق على هذه المواد المساعدة مصطلح العوامل المرافقة co-factors والتي قد تكون مركبات عضوية أو معادن. ومن أمثلة ذلك، حاملات الإلكترون الثلاث: FAD, NADP, NAD وكذلك بعض الفيتامينات.

٦- حساسة للحرارة. ولكل منها مدى حراري توجد به درجة مثلى وأسفلها درجة دنيا وأعلاها درجة قصوى.

وعند تسمية أغلب الإنزيمات يضاف المقطع "يز" ase ليعني إنزيم، أما المقطع السابق فيكون جزءاً من المادة التي يعمل عليها الإنزيم مثال ذلك إنزيمات محللة الدهون lipases ومحللة البروتين proteases ومحللة الأحماض النووية nucleases. كما أن بعض الإنزيمات تساهم في تفاعلات ليست تحللية lytic كالسابقة ولكنها من تفاعلات أخرى مثل الأكسدة oxidases أو إزالة الهيدروجين dehydrogenases أو نقل مجموعة الأمين deaminases أو مُخلّقة synthetases.

الأحياء الدقيقة واكتساب الطاقة

Microorganisms and Acquiring Energy

تعتمد جميع العمليات الأحيائية لكل الكائنات، بما فيها الأحياء الدقيقة، على الطاقة التي تخزن في جزيئات أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP. وتكتسب هذه الطاقة إما من ضوء الشمس بواسطة عملية التمثيل الضوئي photosynthesis وإما من الأكسدة الأيضية metaboloic oxidation للمركبات المختزلة بدرجة عالية. وتوجد من البكتيريا العديد من ذاتية التغذية الكيميائية (chemoautotrophs = chemotrophic autotrophs)، وهي الكائنات التي تحصل على طاقتها عن طريق أكسدة المواد الكيميائية غير العضوية، وتضمن كل الكربون اللازم لها عن طريق تثبيت الكربون غير العضوي أي CO_2.

أما الأحياء الدقيقة غير الممثلة للضوء nonphotosynthetic، فهي كائنات كيميائية التغذية chemotrophs، بمعنى أنها تحصل على طاقتها بأكسدة المواد الكيميائية وليس من ضوء الشمس وقليل من هذه تكون ذاتية التغذية الكيميائية chemoautotrophic، ومثل هذه البكتيريا تحصل على طاقتها بأكسدة المواد غير العضوية وتحصل على الكربون اللازم

لها، مثل النباتات وغيرها، من الكائنات ذاتية التغذية الضوئية photoautotrophic عن طريق اختزال CO_2 إلى مركبات عضوية. وبسبب أن هذه الكائنات لا تستخدم كيماويات عضوية ولذلك تسمى أيضاً مغذيات غير عضوية lithotrophs، ومع هذا فإن أغلب الكائنات غير الممثلة للضوء تسمى متباينة التغذية الكيميائية chemoheterotrophs والتي تحصل على كلٍ من الطاقة وثاني أكسيد الكربون بأكسدة المواد الغذائية العضوية المختزلة بشدة.

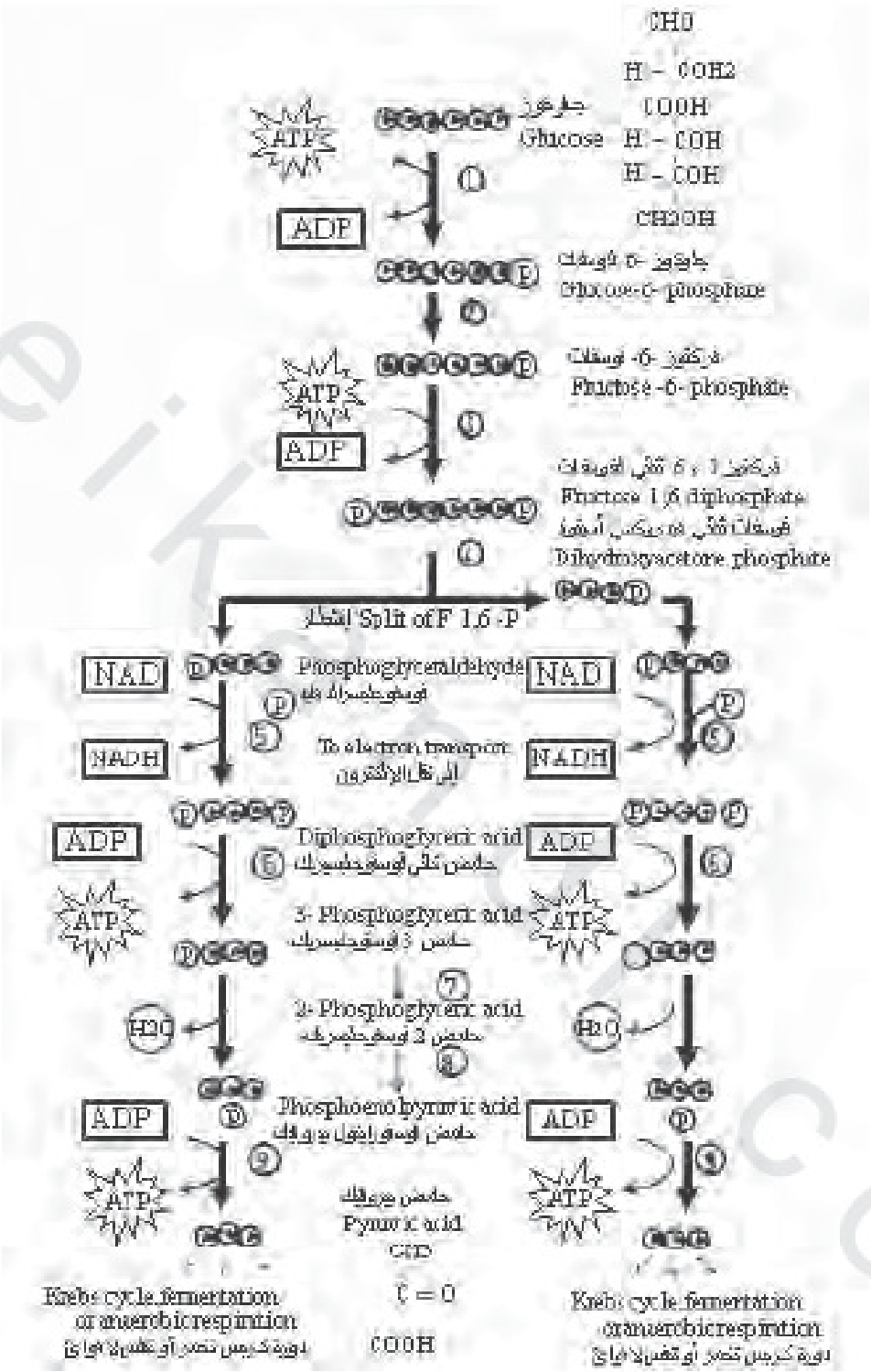
التنفس Respiration

حصول الكائنات كيميائية التغذية على الطاقة Acquisition of energy by chemotrophs

تعتمد هذه الكائنات كيميائة التغذية المتباينة على تجميع الطاقة عن طريق تحويل المواد الغذائية إلى جلوكوز أو كناتج ثانوي من أيض الجلوكوز. وبذا يتم تحرير الطاقة الكيميائية للجلوكوز عن طريق أكسدته ووضعها في جزيئات تحتوي على طاقة أقل. ويتم استخدام بعض هذه الطاقة لتسيير العمليات الحيوية بالخلية. ويعتمد المصير الأيضي للجلوكوز على الدرجة التي يتم بها تفكيك disassembled هذا الجزيء، وينتج عن الأكسدة الكاملة للجلوكوز ثاني أكسيد كربون CO_2 وماء H_2O في عملية تسمى التنفس respiration. وتحت ظروف معينة، مع هذا، فإن بعض الكائنات لا تستطيع أن تستخدم مساراتها التنفسية، والبعض الآخر يفتقر إليها كلية، ومثل هذه الخلايا تقوم بتفكيك الجلوكوز جزئياً بواسطة عملية تسمى التخمر fermentation، مما ينتج عنها بعض ATP (الطاقة) وتحول باقي قطع الجلوكوز إلى منتجات التخمر الثانوية fermentation by – products. والتنفس والتخمر يبدأن بعملية واحدة هي تحلل الجلوكوز glycolysis (جليكوليسيز) وهو المسار الأكثر شيوعاً في بدء هدم الجلوكوز glucose catabolism.

تحلل الجلوكوز (جليكوليسيز Glycolysis)

يعد الجلوكوز هو المادة الأكثر شيوعاً كمادة هدم بواسطة الأحياء الدقيقة كيميائية التغذية المتباينة. ويتم بواسطة عملية تحليل الجلوكوز (جليكوليسيز) تحرير بعض الطاقة الكيميائية للجلوكوز في تفاعلات تتابعية يتم فيها شطر السكر سداسي ذرات الكربون إلى جزيئين من حمض بيروفيك pyruvic acid يحتوي كلاهما على ثلاث ذرات كربون. ويصاحب تحلل الجلوكوز (جليكوليسيز (إنتاج أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) ونيكوتين أميدأدينين المختزل (NADH). ويتكون مسار الأيض الهدمي لجزيء الجلوكوز من ١٠ خطوات (أي ١٠ تفاعلات أيضية متسلسلة) كل منها يساعد فيه catalyzed بواسطة إنزيم نوعي. وتقوم كل خطوة من المسار بإعادة توزيع الطاقة التي يحتوي عليها جزيء الجلوكوز الأصلي إلى أن تتركز في أربعة روابط فوسفات غنية بالطاقة. عندئذ يمكن الاستفادة من هذه الطاقة في تكوين ٤ جزئيات ATP. وبسبب أن الفوسفات تنقل transferred مباشرة من مادة وسط عضوية إلى جزيء أدينوسين ثنائي الفوسفات ADP، فإنه يطلق على هذا النوع من تكوين ATP مستوى فسفرة مادة الوسط substrate level phosphorylation. كما هو موضح في الشكل رقم (٨٣). كما يطلق أيضاً على عملية تحليل الجلوكوز مسار إمبدين — مايرهوف Embden Meyerhof.



الشكل رقم (٨٣). تحلل الجلوكوز (جلايكوليسيس) مسار أمبدين ـــ مايرهوف.

وتتلخص تفاعلات تحليل الجلوكوز في الخطوات التالية:

١- تبدأ العملية بأكسدة oxidation جزيء الجلوكوز (سداسي ذرات الكربون) عن طريق تنشيط السكر بطاقة مكافئة لجزيئين (ATP). ومن ثم يتم عملية فسفرة لجزيء الجلوكوز ليتحول إلى فركتوز ١، ٦ ثنائي الفوسفات (سداسي ذرات الكربون) مع إطلاق جزيئين من أدينوسين ثنائي الفوسفات نتيجة لنزع الفوسفات من ATP.

٢- في الخطوة الثانية ينشطر جزيء فركتوز ١، ٦ ثنائي الفوسفات إلى جزيئين من جليسرالدهيد ٣- فوسفات glyceraldehyde 3-phosphate (ثلاثي ذرات الكربون).

٣- في الخطوة الثالثة يتفسفر جليسرالدهيد ٣- فوسفات إلى ١، ٣ ثنائي حامض فوسفوجلسيريك -1,3 diphosphoglyceric acid في وجود نيكوتين أميد ثنائي النيوكليوتيد (NAD^+) والفوسفات غير العضوية (Pi) ليعطي جزيئين من نيكوتين أميد ثنائي النيوكليوتيد المختزل NADH 2+ بروتونين $2H^+$.

٤- في الخطوة الرابعة يتحول جزيئي ١، ٣ ثنائي حامض فوسفوجليسريك إلى جزيئين من فوسفوإينول بيروفات phosphoenol pyruvate في وجود جزيئين من ADP وجزيئين من الفوسفات غير العضوية (Pi) ليتكون أول جزيئين من ATP.

٥- وفي الخطوة الخامسة يتحول جزيء فوسفوإينول بيروفات إلى جزيئين من حامض بيروفيك pyruvic acid في وجود جزيئين من ADP وجزيئين من Pi لينتج جزيئين من ATP . وهذان هما ثاني جزيئين من ATP ينطلقان من تحليل الجلوكوز. علماً بأنه قد تم في الخطوة الأول استهلاك جزيئين من ATP. وبذا يكون الناتج النهائي هو:

$$\text{glucose} \rightarrow 2 \text{ pyruvic acid} + 2 \text{ ATP} + 2 (NADH + H^+)$$

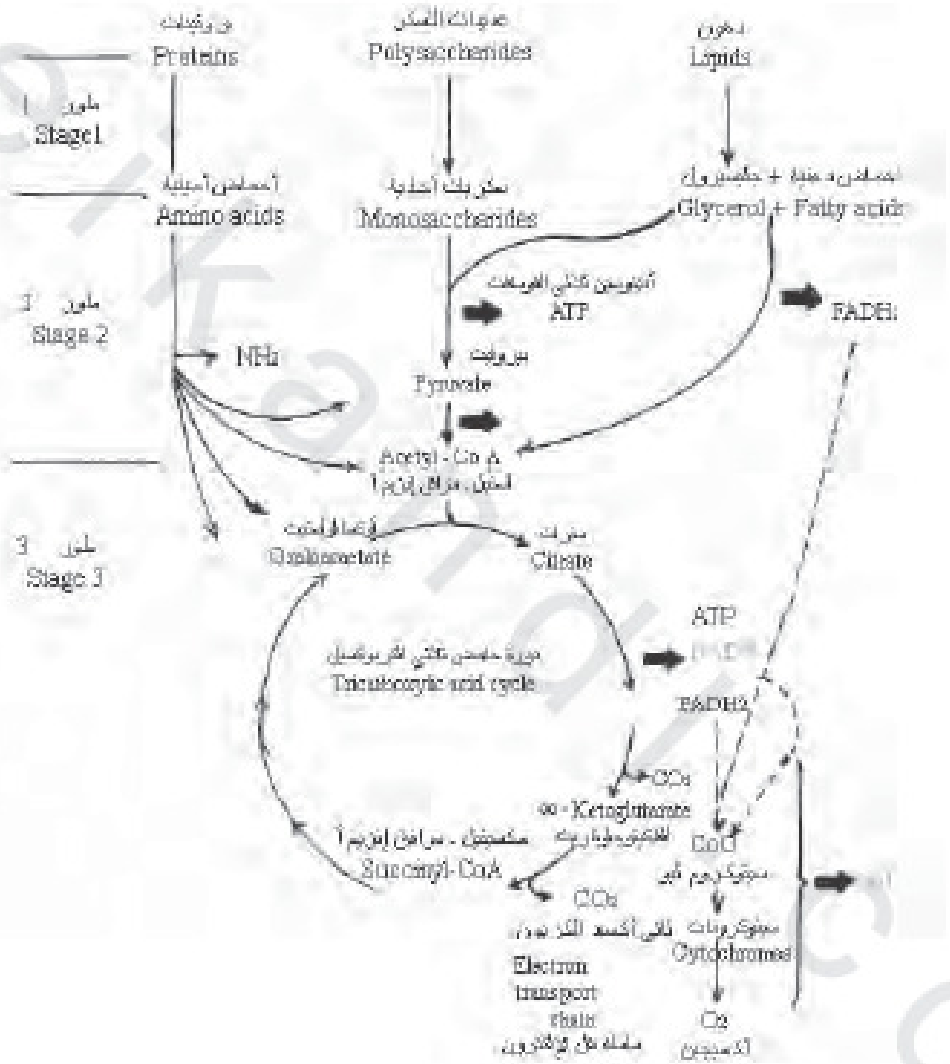
ويؤدي إنتاج المرافق الإنزيمي المختزل NADH أثناء تحليل الجلوكوز إلى استنزاف مورد مستقبل الإلكترون NAD^+، وبسبب أن NAD^+ أساسي لأكسدة النواتج الوسيطة لتحليل الجلوكوز، فإن غيابه يوقف تقدم مسار هذه العملية. ويتجدد مصدر NAD^+ عن طريق نقل الإلكترونات من NADH إلى جزيء آخر. ويحدد المركب الذي يكتسب في النهاية الإلكترونات من NADH ما يلي: ١- نوع الناتج النهائي لتحليل الجلوكوز، ٢- إذا ما كان هذا الكائن تنفسياً respiratory أم مخمِّراً fermentative، فإذا كان مستقبل الإلكترون عبارة عن الأوكسيجين الجزيئي molecular oxygen، فإنه يطلق على هذه العملية التنفس respiration. أما إذا كان المركباً العضوي هو المانح للإلكترون وهو أيضاً المستقبل النهائي للإلكترون فإنه يطلق على هذه العملية التخمر fermentation.

مراحل التنفس

التنفس عبارة عن عملية أكسدة oxidation، تنقل بكفاءة مزيداً من الطاقة المتبقية في حمض بيروفيك على شكل نيكوتين أميدأدينين ثنائي النيوكليوتيد المختزل NADH وفلافين أدينين ثنائي النيوكليوتيد المختزل $FADH_2$. بعدئذ تنقل الطاقة من هذين الحاملين للإلكترون لصنع أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP.

دورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل (دورة كربس) Tricarboxylic acid cycle (Krebs cycle)

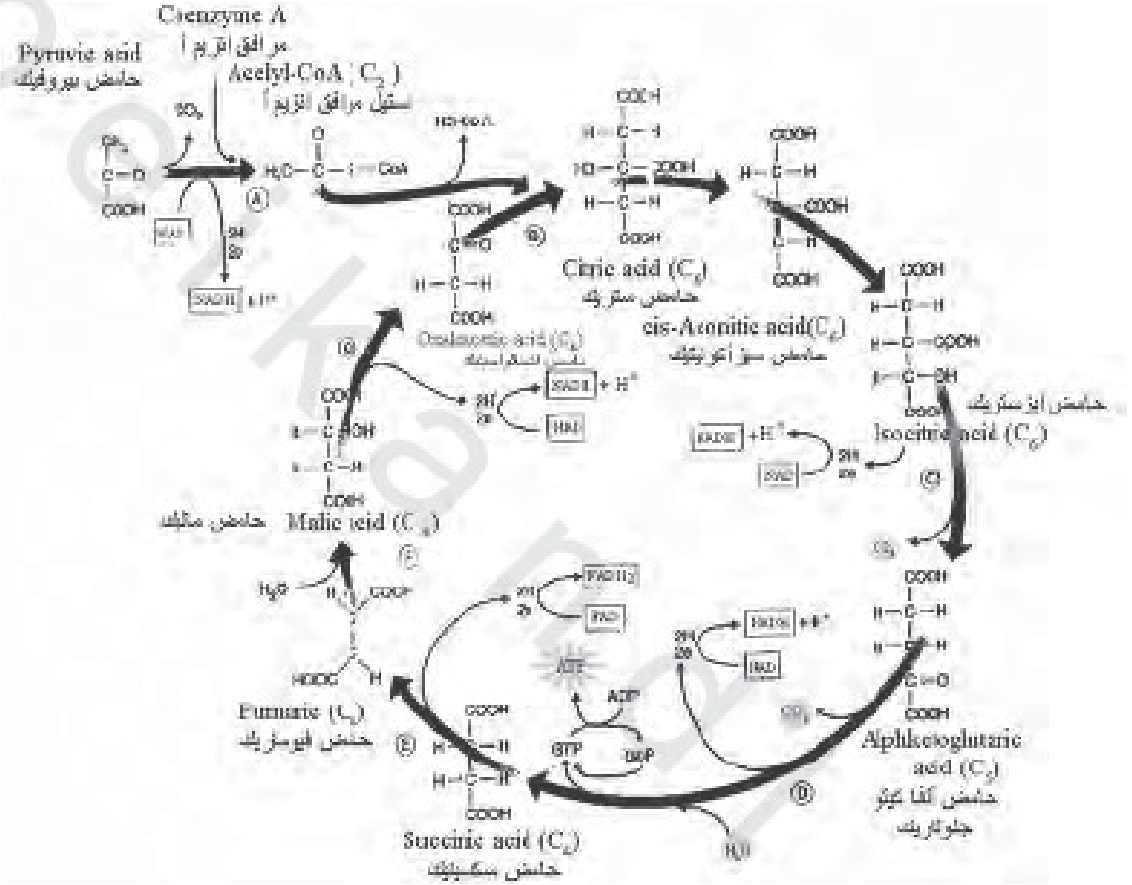
على الرغم من أنه يمكن الحصول على بعض الطاقة بعملية تحليل الجلوكوز (جليكوليسيز) إلى بيروفات إلا أنه يمكن تحرير طاقة أكثر عند تكسير البيروفات هوائياً إلى ثاني أكسيد الكربون CO_2 في الطور الثالث من الأيض الهدمي catabolism . ويتم ذلك على مراحل (الشكل رقم ٨٤) كما يلي :



الشكل رقم (٨٤). الأطوار الثلاثة للأيض الهدمي catabolism تكون فيها دورة أولى حمض ثلاثي الكربوكسيل في موضع مركز وتبين الخطوط المنقطة مسارات الإلكترونات محمولة بواسطة NADH و $FADH_2$، إلى سلسلة نقل الإلكترون (عن: Prescott, *et al.*, 1999).

١- في وجود نظام إنزيمي متعدد يقوم إنزيم بيروفيت ديهيدروجينز pyruvate dehydrogenase بأكسدة بيروفيت إلى ثاني أكسيد الكربون وأستيل مرافق إنزيمي أ acetyl coenzyme A (acetyl-co-A)، وهو جزيء غني

بالطاقة يتكون من مرافق إنزيمي أ وحمض خليك acetic acid يرتبطان معاً بواسطة رابطة ثيول إستر thiol ester عالية الطاقة. ويتكون أسيتيل مرافق إنزيمي أ من الأيض الهدمي للعديد من الكربوهيدرات والدهون والأحماض الأمينية (الشكل رقم ٨٥) ويمكن أن يحدث مزيد لتكسير أسيتيل مرافق إنزيمي أ في دورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل.



الشكل رقم (٨٥). دورة الحامض ثلاثي الكربوكسيل (كريبس = حامض ستريك) (عن: Alcamo, 2001).

٢- تبدأ دورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل TCA (وتسمى أيضاً دورة كريبس Krebs، أو دورة حمض ستريك citric acid) انظر الشكل رقم ٨٥.

أ) في التفاعل الأول يتم تكثيف أسيتيل مرافق إنزيمي- أ مع مركب رباعي ذرات الكربون هوأكسالوأسيتات oxaloacetate ليكون سترات citrate ويبدأ الطور سداسي ذرات الكربون.

ب) يحدث إعادة تنظيم للسترات (كحول رباعي) ليعطي أيزوسترات isocitrate وهو كحول ثانوي أكثر قابلية للتأكسد.

ج) يعقب ذلك أكسدة أيزوسترات وينزع منه الكربوكسيل decarboxylated مرتين ليعطي الفاكيتوجلوتاريت α-Ketoglutarate ثم سكسينيل مرافق إنزيمي- أ. وعند هذه الخطوة يتكون جزيئان من NADH ويفقد ذرتان من الكربون في الدورة على شكل ثاني أكسيد الكربون. ولأنه كان قد أضيف ذرتي كربون على شكل أسيتيل مرافق إنزيمي- أ في البداية، فإنه يتم الحفاظ على التوازن ويصبح صافي الكربون بدون فاقد.

د) بعد ذلك تدخل الدورة بالطور رباعي الكربون فتتحول سكسينات مرافق إنزيمي- أ إلى سكسينات succinate ثم إلى فيوماريت fumarate ثم ماليت malate وأخيراً إلى أوكسالوأسيتات لتبدأ الدورة من جديد مع جزيء جديد من أسيتيل مرافق إنزيمي- أ. وأثناء هذا تحدث خطوتان تأكسديتان ينتج عنهما جزيء $FADH_2$ وجزيء NADH. إضافة إلى ذلك، فإن جزيئاً من جوانيدين ثلاثي الفوسفات GTP وهو مركب عال الطاقة مكافيء لـ ATP) يتكون من سكسينيل مرافق إنزيمي أ عن طريق الفسفرة. وبهذا فإنه ينتج عن دورة TCA توليد جزيئان من CO_2 وثلاث من NADH وواحد من FADH وواحد من GTP لكل جزيء أسيتيل مرافق إنزيمي- أ يتم أكسدته.

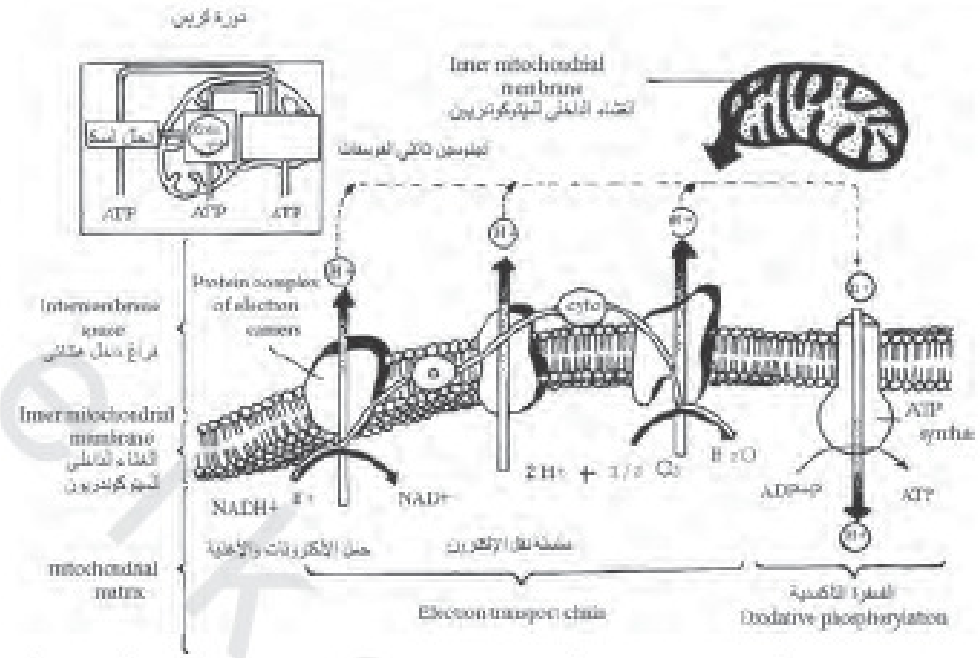
وتنتشر إنزيمات دورة الحامض ثلاثي الكربوكسيل TCA في الأحياء الدقيقة. وتعمل الدورة كاملة في العديد من البكتيريا الهوائية والأوليات حرة المعيشة ومعظم الطحالب والفطريات، ومع هذا فإن الكائنات اختيارية مثل إيشيريشيا كولاي لا تستخدم هذه الدورة بكاملها تحت الظروف اللاهوائية.

نقل الإلكترون والفسفرة التأكسدية Electron Transport And Oxidative Phosphorylation

إلى حيث نهاية دورة كربس (دورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل = دورة حمض سيتريك) فإنه لا يتم تخليق الكثير من جزيئات الطاقة ATP. ولكن يتم فقط تخليق ٤ جزيئات من ATP عندما يتأكسد جزيء واحد من الجلوكوز إلى ٦ جزيئات ثاني أكسيد كربون عن طريق تحليل الجلوكوز ودورة الحمض ثلاثي الكربوكسيل. ويأتي أغلب ATP المتولد من أكسدة NADH و FADH في سلسلة نقل الإلكترون electron transport chain.

سلسلة نقل الإلكترون The electron transport chain

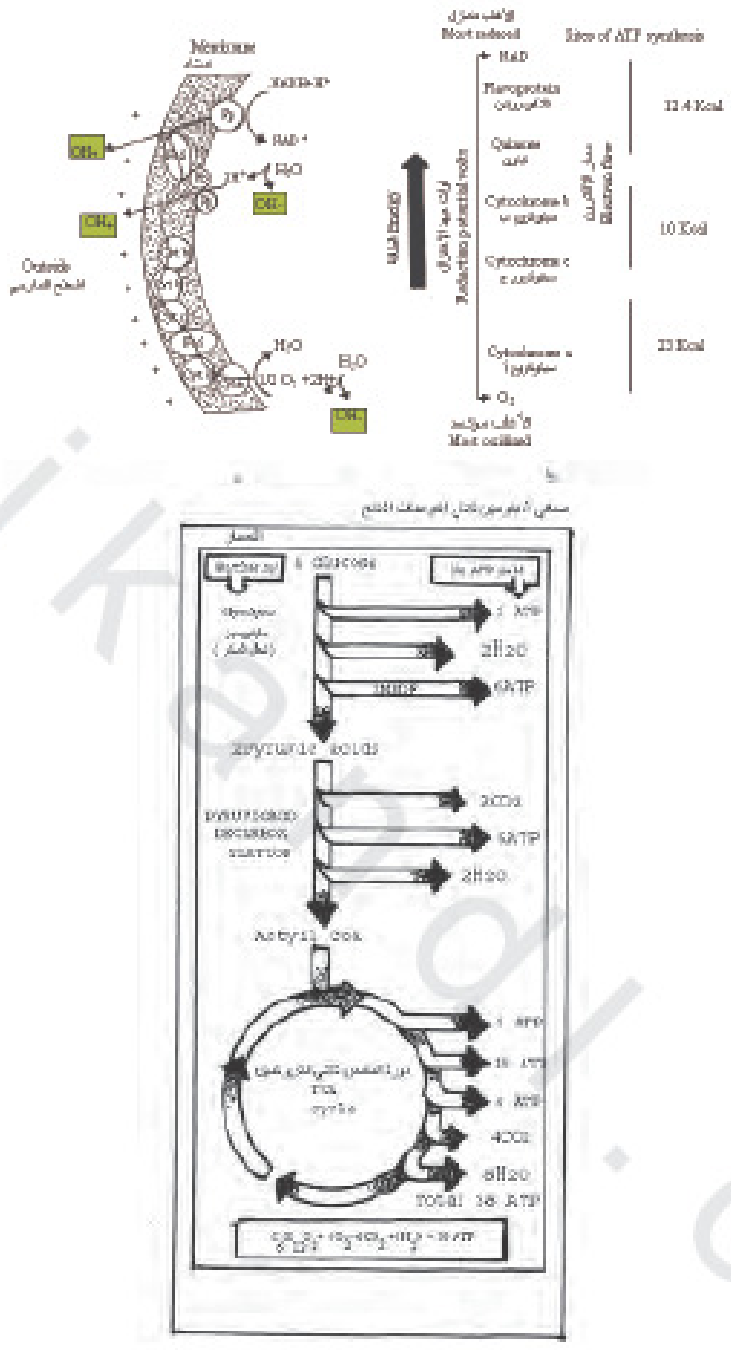
وهي ما يطلق عليها أيضاً سلسلة نقل الإلكترون الميتوكوندرية mitochondrial لأنها تحدث في الميتوكوندريا أو ما يناظرها من أغشية (انظر الشكل رقم ٨٦) ويحتوي زوج الإلكترونات المحمولين بواسطة NADH على طاقة كبيرة، وفي الكائنات التنفسية يمكن صرف هذه الطاقة في صنع ATP عن طريق عودة الإلكترونات إلى حالتها منخفضة الطاقة والاستفادة من الطاقة المحررة بهذه العملية. ويمكن تشبيه ذلك بجهد طاقة الماء عند قمة المسقط المائي، ومثلما يتساقط الماء على هيئة شلالات على الصخور ليصل إلى مستوى طاقة منخفضة، فإنه يحرر هذه الطاقة إلى أن يصل إلى قاع الشلالات. ويمكن الاستفادة من طاقة تساقط المياه في عمل مفيد كدوران العجلات لتوليد الطاقة الكهربية مثلاً، وبالمثل فإن الخلايا القادرة على التنفس تمتلك الآلة التي تحصد طاقة الإلكترونات الساقطة من حالاتها عالية الطاقة.



الشكل رقم (٨٦). سلسلة نقل الإلكترون المحلة بالإسموزية الكيميائية Chemiosmosis التي تشمل نقل سلسلة الإلكترون إلى تخليق ATP (عن: Campbell & Reece, 2002).

وأثناء التنفس يمكن استخلاص الطاقة المحمولة في الإلكترونات عن طريق تحرير الإلكترونات في سلسلة تنفسية respiratory chain أو ما يسمى جهاز نقل الإلكترون electron transport system، والذي هو عبارة عن سلسلة من حاملات الإلكترون electron carriers متصلة بغشاء الخلية. وفي الكائنات حقيقية النواة، فإن حاملات الإلكترونات هذه تكون معزولة compartmentalized بعضها عن بعض في أغشية الميتوكوندريا، أما في بدائيات النواة فإنها تكون مرتبطة بسطح الغشاء البلازمي. وترتب حاملات الإلكترون تبعاً لجذبها للإلكترونات فكل فرد من السلسة يكون أكثر جلباً للإلكترونات عن الجزيء السابق له. وتمنح الجزيئات منخفضة الميل (القدرة) للإلكترونات الإلكترونات للجزيئات المجاورة ذات الجذب الأعلى للإلكترونات. وبهذه الطريقة تنساب flow الإلكترونات من خلال سلسلة التنفس فاقدة لبعض طاقتها مع كل نقل متعاقب. وتستخدم الطاقة المحررة بانسياب الإلكترونات خلال جهاز نقل الإلكترونات في بناء ثلاثة جزيئات من أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP لكل زوج من الإلكترونات المحرَّرة (المعطاة) بواسطة NADH. ويطلق على إنتاج الطاقة المرتبط بنقل الإلكترونات على طول السلسلة التنفسية الفسفرة التأكسدية oxidative phosphorylation.

ويشترك في معظم سلسلة نقل الإلكترونات ٣ أنواع من الجزيئات العامة. وهذه هي فلافوبروتينات Flavoproteins، والمرافق الإنزيمي كيو co-enzyme Q والسيتوكرومات cytochromes. وتستقبل accept الفلافوبروتينات والمرافق الإنزيمي كيو الهيدروجين وأزواج الإلكترون. وتمنح donate الإلكترونات إلى الحامل التالي في السلسلة، على حين يحرر الهيدروجين بروتونات protons في المحلول المحيط بالخلية. ومعظم حاملات سلسلة نقل الإلكترون عبارة عن سيتوكرومات، وهي جزيئات تحتوي على الحديد والتي تستقبل الإلكترون عالية الطاقة من الحاملات السابقة عليها في التتابع فتمنحها للجزيئات التالية في السلسلة (الشكل رقم ٨٧).



الشكل رقم (٨٧). سلسلة نقل الإلكترونات وتكوين جزيئات أديوسين ثلاثي الفوسفات ATP من NADH أو $FADH_2$ ويبدأ نقل الإلكترون عادة باختزال فلافوبروتين بواسطة ذرتي هيدروجين (a) نقل الإلكترونات من المادة المختزلة ($NADH + H^+$) والتي تتضمن: فلافوبروتينات (Fp) وكينونات (CO Q) quininas، وكبريت الحديد (Fes) ironsulfur وسيتوكرومات cytochromes. (b) كلما كان المركب أكثر اختزالاً كلما إمتلك طاقة أكبر، وتحرر الطاقة كإلكترونات تنساب من المركبات الأكثر اختزالاً للمركبات الأكثر أكسدة (عن: Ketchum, 1985). (c) تكوين ATP في التنفس الهوائي لأكسدة الجلوكوز (عن: McKane & Kandel, 1996).

ويتكون زوج الهيدروجين الممنوح من إلكترون وبروتون من NADH إضافة إلى H^+ (بروتون) من المحلول بعدئذ ينقل فلافوبروتين المختزل إلكترونين إلى الحامل التالي من سلسلة نقل الإلكترون ويحرر البروتونات في المحلول، وتتحرك الإلكترونات خلال نظام نقل الإلكترون حتى تصل إلى المركب الأخير في السلسلة ولا يوجد لهذا السيتوكروم الأخير (سيتووكروم a_3) في مركب يليه ليستقبل الإلكترونات. ولكن له القدرة على تحريرها ليستقبلها الأوكسيجين الجزيئي O_2 ½ ليتكون ماء H_2O باتحاده مع البروتونين $2H^+$. وهذا يفسر لماذا تحتاج الكائنات التنفسية إلى الأوكسيجين الجزيئي الذي يقوم بأكسدة الإلكترونين النهائيين في سلسلة نقل الإلكترون.

وللأوكسيجين الجزيئي ميلٌ أعظم للإلكترون عن أي مركب حامل للإلكترون في سلسلة نقل الإلكترون. حيث تستقبل ذرة أوكسيجين (نصف جزيء أوكسيجين) زوجاً من الإلكترون (أيوني هيدروجين) ليكون الماء. وعند هذه الخطوة تكون الإلكترونات قد نزع منها الطاقة تماماً فتنتقل خارج النظام لتكون جزيء الماء. وعلى هذا، ففي وجود الأوكسيجين تظل السلسلة مفتوحة لتحرير زوج الإلكترونات التالي.

وعندما يستخدم الأوكسيجين كمستقبل نهائي للإلكترونات فإنه يطلق على هذه العملية التنفس الهوائي aerobic respiration، وذلك لتمييزها عن البكتيريا التي تقوم بالتنفس اللاهوائي anaerobic respiration حيث تستقبل مركبات غير عضوية عدا الأوكسيجين لتكون المستقبل النهائي للإلكترونات.

ويعد عمل فواصل في الغشاء membrane compartmentalization مهم جداً في توليد الطاقة بواسطة التنفس.

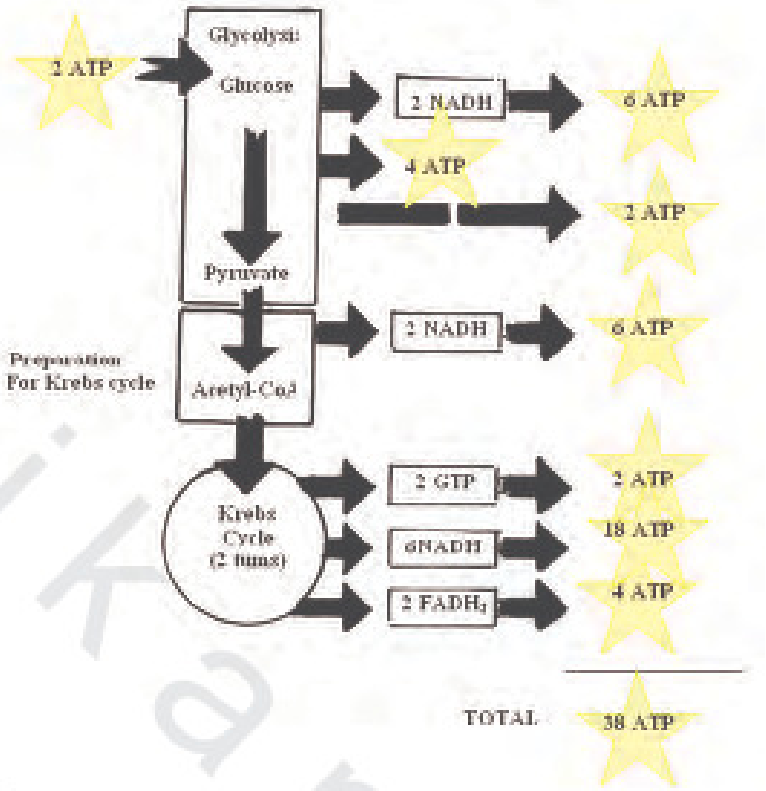
الأسموزية الكيميائية وآلية إنتاج أدينوسين ثلاثي الفوسفات

Chemiosmosis-the mechanism for producing ATP

تستخدم الطاقة المحرَّرة من الإلكترونات لطرد البروتونات (H^+) عبر الغشاء، ولذلك فإنها تتراكم عند جانب واحد من الحاجز (مثل تراكم المياه خلف السد). ويتولد عن هذه العملية توليد متدرج بروتونات proton gradient يمثل خزاناً من الطاقة يسمى القوة الدافعة للبروتونات protonmotive force. وفي النهاية تحرر البروتونات هذه الطاقة عندما تنساب عائدة عبر الغشاء خلال قنيات البروتون proton channels. وفي بعض الأحيان تستخدم الطاقة الناتجة عن انسياب البروتونات مباشرة بواسطة الخلية مثلما يحدث عند نقل المواد المغذية إلى الخلية أو عند دوران الأسواط. وفي معظم الأحيان فإن هذه القنيات تحتوي على إنزيم مخلق أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP synthetase والذي يستخدم طاقة إنسياب البروتونات في فسفرة ADP إلى ATP. ويطلق على تخليق ATP باستخدام الطاقة الناتجة عن القوة الدافعة للبروتونات الأسموزية الكيميائية.

ويوضح الشكل رقم (٨٨) ملخص التتابعات التنفسية الكاملة لأكسدة الجلوكوز وإنتاج ٣٨ جزيء ATP من أكسدة جزيء جلوكوز هوائياً حسب المعادلة التالية:

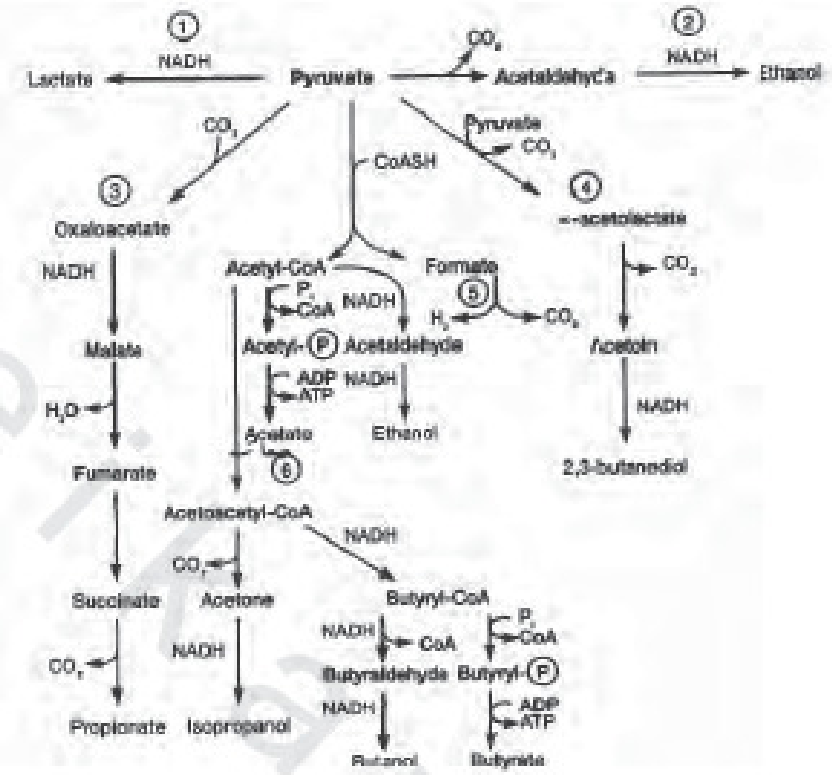
$$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 38\ ATP$$



الشكل رقم (٨٨). ملخص التفاعلات التنفسية الكاملة لأكسدة جزيء واحد من الجلوكوز وإنتاج ٣٨ جزيئاً ATP (عن: Alcamo, 2002).

التخمر Fermentation

في غياب الأوكسيجين، يتم عادة أكسدة NADH بواسطة سلسلة نقل الإلكترون لأنه لا يوجد مستقبل خارجي للإلكترونات. ومع هذا فإن NADH الناتج عن تحليل الجلوكوز (جليكوليسيز) لا يزال يجب أن يتأكسد ثانية إلى +NAD. وتحل كثير من الميكروبات هذه المشكلة عن طريق إبطاء عملية بيروفات ديهجروجينيز الذي ينتج البيروفات أو وقف نشاطه تماماً وإستخدام البيروفات أو أحد مشتقاتها كمستقبل الإلكترون والهيدروجين لأكسدة NADH (الشكل رقم ٨٩). وقد يؤدي إلى إنتاج مزيد من ATP، ويطلق على مثل هذه العملية لإنتاج الطاقة، والتي تعمل فيها المركبات العضوية وظيفتين كمانحات للإلكترون وكمستقبلات للإلكترون، مصطلح التخمر fermentation. وتوجد أنواع عديدة من التخمرات تكون مميِّزة لمجموعة معينة من الأحياء الدقيقة (انظر الشكل رقم ٨٩).



الشكل رقم (٨٩). بعض التخمرات الميكروبية الشائعة (عن علم الأحياء الدقيقة بريسكوت وزملاءه ١٩٩٩).

ويجب الأخذ في الاعتبار نقطتين هامتين في التخمر الميكروبي: أولاً: تتم أكسدة NADH إلى NAD^+، وثانياً: أن مستقبل الإلكترون إما أن يكون بيروفات أو أن يكون مشتقاً من البيروفات. وتقوم العديد من الفطريات وبعض البكتيريا والطحالب والأوليات بتخمير السكريات إلى إيثانول ethanol (كحول إيثيلي ethyl alcoho) و CO_2 في عملية تسمى التخمر الكحولي alcoholic fermentation. حيث يحدث إزالة الكربوكسيل decarboxyltion للبيروفات وتحويلها إلى أسيتالدهايد acetaldehyde والذي يتم بعد ذلك اختزاله إلى إيثانول بواسطة إنزيم الكحول ديهيدروجينيز alcohol dehydrotgenase بواسطة NADH كمانح للإلكترون (الشكل رقم ٢، ٨٩). أما تخمر حمض لاكتيك lactic acid fermentation، فيحدث فيه اختزال البيروفات إلى لاكتات (الشكل رقم ١، ٨٩)، وهو شائع، ويوجد في البكتيريا وبكتيريا حمض لاكتيك وجنس باسيللاس، وفي الطحالب (كلوريللا Chlorella)، وبعض أعفان الماء والأوليات وحتى في عضلات الحيوان الهيكلية.

ويمكن للعديد من البكتيريا، خاصة أفراد عائلة إنتروباكتيريسي Enterobacteriaceae أن تؤيض metabolize البيروفات إلى حمض فورميك formic acid ومنتجات أخرى في عملية تسمى أحياناً تخمر حمض فورميك (الشكل رقم ٥، ٨٩) ويمكن أن يتحول حمض فورميك إلى H_2 و CO_2 بواسطة إنزيم فورميك هيدروجين ليز formic hydrogenlyase (وهو توليفة على الأقل من إنزيمين).

ويوجد نوعان من تخمر حمض فورميك

١- تخمر الأحماض المختلطة mixed acid والذي ينتج عنه إفراز الإيثانول وخليط معقد من الأحماض، خاصة الخليك واللاكتيك والسكسينيك والفورميك. فإذا وجد إنزيم فورميك هيدروجين ليز، فإن حمض فورميك سوف يتكسر إلى H_2 و CO_2. ويرى هذا النمط في إيشيريشيا كولاي وسالمونيللا وبروتياس وأجناس أخرى.

٢- تخمر بيتانيديول butanediol: وهو مميز لبكتيريا إنتيروباكتر وسيراتيا وإرووينيا وبعض أنواع جنس باسيللاس (الشكل رقم ٥، ٨٩) حيث تتحول بيروفات إلى أسيتوين acetoin والذي يتم بعد ذلك اختزاله إلى ٢، ٣ بوتانيديول 2,3-butanediol بواسطة NADH. كما تنتج أيضاً كمية كبيرة من الإيثانول مع كميات أقل من أحماض مثل التي توجد في تخمر الأحماض المختلفة.

التنفس اللاهوائي Anaerobic Respiration

تمتلك بعض البكتيريا سلاسل نقل الإلكترونات التي تعمل بمستقبلات إلكترون غير عضوية خلاف الأوكسيجين. وأهم هذه المستقبلات هي النترات nitrate والكبريتات sulfate وثاني أكسيد الكربون، ولكن يمكن أيضاً اختزال معادن مثل الكبريت S ⟵ H_2S والحديديك Fe^{3+} إلى حديدوز Fe^{2+}.

ويمكن لبعض البكتيريا أن تستخدم النترات كمستقبل للإلكترون في نهاية سلسلة نقل الإلكترون الخاصة بها ولا تزال تنتج طاقة ATP. ويطلق على هذه العملية، غالباً اختزال النترات الهدمي dissimilatory nitrate reduction:

$$NO_3^- + 2e^- + 2H^+ \rightarrow NO_2^- + H_2O$$

ومع هذا فإن اختزال النترات إلى نيتريت ليس كفئاً في عمل ATP، لأن كمية كبيرة من النترات تكون مطلوبة للنمو بخلاف كون النيتريت ساماً. ولهذا فإنه يحدث مزيد من إختزال النترات إلى غاز نيتروجين في عملية تسمى إزالة النترتة denirification حيث يستقبل كل جزيء نترات خمسة الكترونات بدلاً من اثنين عند تحوله إلى نيتريت.

$$2NO_3^- + 10e^- + 12H^+ \rightarrow N_2 + 6H_2O$$

ويوجد دليل على أن عملية إزالة النترتة يدخل فيها أربعة إنزيمات هي نيتريت ردكتيز nitrate reductase ونيتريك ردكتيز nitric reductase ونيتريك أوكسايدرديكتيز nitric oxide reductase ونيتراس أوكسايدريداكتيز nitruos oxide reductase.

$$NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$$

ويقوم بعملية إزالة النترتة أفراد من جنسي سيدوموناس *Pseudomonas* وباسيللاس *Bacillus*، ويستخدمان هذا الطريق كبديل عن التنفس الهوائي، ومن ثم يمكن اعتبارهما اختياري اللاهوائية facultative anaerobes، فإذا

وجد O_2 فإن هذه البكتيريا تستخدم التنفس الهوائي (يحدث تثبيط لإنزيم نيتريت ريدكتيز بواسطة O_2). وينتج عن ازالة النترتة في التربة اللاهوائية فقدٌ في نيتروجين التربة الذي يؤثر سلباً على خصوبة التربة.

وتوجد مجموعتان أخريتان من البكتيريا تستخدمان التنفس اللاهوائي لأنهما إجباري اللاهوائية obligate anaerobes. وهما يستخدمان CO_2 أو الكربونات كمستقبل طرفي للإلكترون ويسميان مولدات الميثان methanogens لأنهما يختزلان CO_2 إلى ميثان. كما يمكن أيضاً أن تعمل الكبريتات كمستقبل نهائي للإلكترون كما في بكتيريا ديسلفوفيبريو *Desulfovibrio* حيث يختزل الكبريتات إلى كبريتيد مع استقبال ثمانية الكترونات

$$SO_4^{2-} + 8e^- + 8H^+ \rightarrow S^{2-} + 4H_2O$$

ولا يعد التنفس اللاهوائي كفئاً مثل التنفس الهوائي في إنتاج طاقة ATP.

أيض البناء Anabolism (التمثيل الحيوي Biosynthesis)

(البناء الضوئي Photosynthesis)

لا يقتصر إنتاج الطاقة في الأحياء الدقيقة على أكسدة المواد العضوية وغير العضوية، ولكن بعضها يمكن أن يصطاد capture الطاقة الضوئية ويستخدمها في تخليق (بناء) الجزيئات الغنية بالطاقة مثل NADPH, NADH, ATP ويطلق على العملية التي يصطاد بها طاقة الضوء وتحويلها إلى طاقة كيميائية اسم البناء الضوئي photosynthesis وعادة يقوم الكائن الحي باختزال ثاني أكسيد الكربون لتكوين الكربوهيدرات، ولذلك يطلق عليه أحياناً مصطلح التمثيل الكربوني carbon assimilation أو البناء الكربوهيدراتي carbohydrate assimilation.

ويعد البناء الضوئي أهم مصدر للطاقة على الأرض عموماً سواء للنبات أو الإنسان أو الحيوان، فضلاً عن ذلك، فهو يوفر للأحياء الدقيقة التي تقوم به NADH, ATP اللازمة لتخليق المواد العضوية اللازمة للنمو. كما أن عملية التمثيل الضوئي توفر تجديداً لمصدر الأوكسيجين O_2 الذي ينطلق. وكما يلعب التمثيل الضوئي دوراً مهماً في سلسلة الغذاء لكل المخلوقات فإنه من الجدير بالذكر أن نعرف أن الأحياء الدقيقة تساهم بما يزيد عن نصف عملية التمثيل الضوئي مقارنة بالنباتات الخضراء.

وتتضمن عملية التمثيل الضوئي تفاعلين هما: ١- تفاعل الضوء light reaction والذي يتم فيه اصطياد الطاقة الضوئية وتثبيتها على هيئة طاقة كيميائية، ٢- تفاعل الظلام dark reaction والذي تستخدم فيه الطاقة الكيميائية الناتجة من تفاعل الضوء في اختزال أو تثبيت CO_2 وتخليق مكونات الخلية.

١- تفاعل الضوء Light Reaction

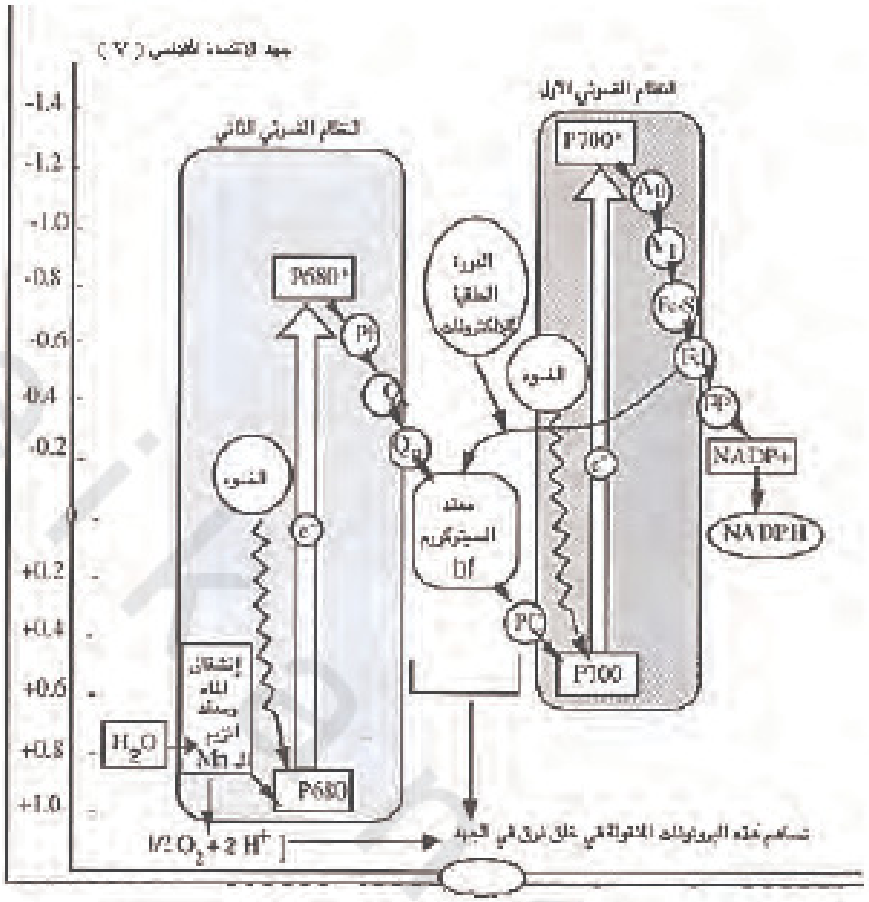
ويحدث هذا التفاعل في كثير من الكائنات حقيقة النواة وأيضاً البكتيريا الزرقاء cyanobacteria ويلزم أساساً لعملية التمثيل الضوئي ١- وجود صبغات تمتص الطاقة الضوئية مثل الكلوروفيلات chlorophylls ؛ ٢- وجود الطاقة

الضوئية ؛ ٣- وجود الماء ؛ ٤- وجود ثاني أكسيد الكربون و ٥- وجود إنزيمات نوعية. والكلوروفيللات عبارة عن مركبات عضوية حلقية كبيرة تحتوي على عنصر المغنيسيوم. وتوجد في حقيقات النواة أنواع عديدة من الكلوروفيللات مثل أ،ب، ج .. إلخ، وأهمها هو نوعي أ، ب. وتمتص الكلوروفيللات الضوء الأحمر والأزرق على حين تسمح بنفاذ الضوء الأخضر ولهذا السبب فإن معظم النباتات والأحياء الدقيقة التي تقوم بالتمثيل الضوئي تكون خضراء اللون، كما توجد صبغات أخرى غير الكلوروفيللات تقوم بامتصاص الطاقة الضوئية مثل الكاروتينات carotenoids مثل بيتاكاروتين β-carotene (أصفر اللون) الذي يوجد في معظم الطحالب وفيوكوزانثين fucoxanthin الذي يوجد في الدياتومات والدينوفلاجيللات والطحالب البنية. أما الطحالب الحمراء والبكتيريا الزرقاء فتحتوي على صبغات أخرى للتمثيل الضوئي تسمى فايكوبايليبروتينات phycobiliproteins التي تتكون من بروتينات مرتبطة بها أربعة حلقات بيرولية pyrrole rings. أما فايكوإريثرين phycoerythrin فهو صبغة حمراء وفايكوسيانين phycocyanin فإنه صبغة زرقاء. وتعرف الصبغات السابقة غير الكلوروفيللات والصبغات الأخرى بأنها صبغات مساعدة accessory pigments.

وتترتب الكلوروفيللات والصبغات المساعدة في تكتلات تسمى مصايد antennas لتزيد مساحة السطح الذي يصطاد ويمتص أقصى ما يستطيع من فوتونات photons الضوء ويوجد نوعان من المصايد (الأنتينا) نوع مرتبط بما يسمى النظام الضوئي رقم واحد photosystem I ونوع ثان مرتبط يسمى النظام الضوئي رقم ٢ photosystem II.

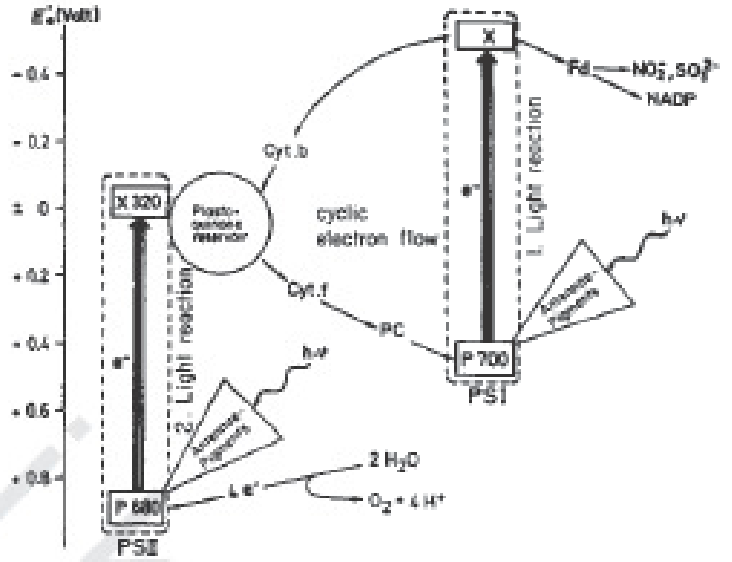
ويمتص النظام الضوئي رقم ١ الضوء الذي أطول أمواجه أكثر من ٦٨٠ (أي ٧٠٠ نانوميتر) وينقل الطاقة إلى جزيء خاص من الكلوروفيل أ يسمى ب ٧٠٠ (P700)؛ لأنه يمتص الضوء بكفاءة عند طول موجي ٧٠٠، أما النظام الضوئي رقم ٢ فيمتص الضوء عند طول موجي ٦٨٠ نانومتراً وينقل الطاقة إلى جزيء خاص من الكلوروفيل هو ب ٦٨٠ (P680).

ويقوم الكلوروفيل الممتص للطاقة الضوئية بنقلها على صورة إلكترونات عالية الطاقة إلى مستقبل خاص من كلوروفيل أ أو إلى بروتين يحتوي على الحديد والكبريت protein iron-sulfur. بعدئذ ينقل الإلكترون إلى فيرودوكسين ferrodoxin في أحد اتجاهين. فقد يتنقل الإلكترون في طريق حلقي cyclic route خلال سلسلة من حاملات الإلكترون ثم يعود راجعاً إلى P700 المؤكسَد: ويسمى هذا المسار بالطريق الحلقي؛ لأن الإلكترونات المحمولة على P700 تعود ثانية إلى P700 بعد سفرها في سلسلة نقل الإلكترون الخاصة بالتمثيل الضوئي. ويطلق على هذه العملية بالفسفرة الضوئية الحلقية cyclic photophosphorylation؛ لأن الإلكترونات تسافر في مسار حلقي مع تكوين ATP (انظر الشكل رقم ٩٠).



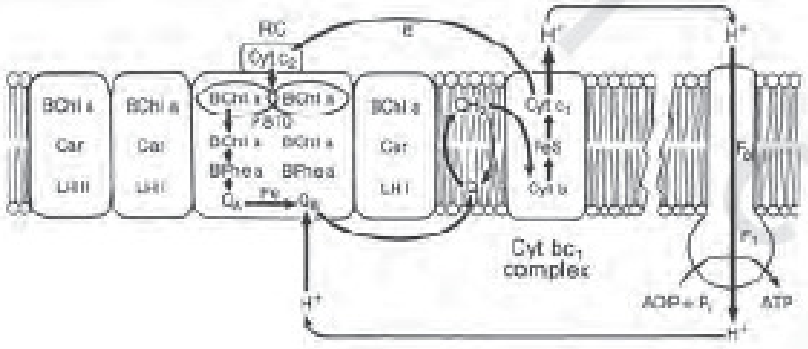
الشكل رقم (٩٠). الفسفرة الضوئية الحلقية.

كما يمكن أيضاً أن تنتقل الإلكترونات في نظام غير حلقي يتضمن كلا النظامين حيث يتهيج P700 بالطاقة (الإلكترون) ومن ثم يمنحها إلى فيرودوكسين كما سبق. ومع هذا فإنه في هذا المسار غير الحلقي فإن الفيرودوكسين المختزَل يختزل $NADP^+$ إلى NADPH (انظر الشكل رقم ٩١) ولأن الإلكترونات المشارة لـ $NADP^+$ لا يمكن استخدامها لاختزال P700 المؤكسد، فإن مشاركة النظام الضوئي رقم ٢ تكون مطلوبة، لأنه يعطي الإلكترونات إلى P700 المؤكسد ويولد ATP. ويمتص مصائد (أنتينا) النظام الضوئي رقم ٢ طاقة الضوء ويهيج P680، الذي بعدئذ يختزل فايوفايتين أ phaeophytin a. وفيوفايتين أ هو كلوروفيل أ ولكن حدث فيه استبدال ذرة المغنيسيوم المركزية بذرتي هيدروجين. يعقب ذلك انتقال الإلكترونات إلى كيو أ (بلاستوكينون plastoquinone) وينتقل إلى أسفل سلسلة النقل حتى P700. بعدئذ يحصل P680 المؤكسد على إلكترون من أكسدة الماء إلى O_2. بناء عليه تتمكن الإلكترونات من الانسياب من الماء إلى $NADP^+$ بمساعدة الطاقة الناتجة من نظامي التمثيل الضوئي، ومن ثم يتخلق ATP بواسطة الفسفرة الضوئية غير الحلقية noncyclic photophosphorylation. وبذلك يظهر أن جزيئاً واحداً من ATP وواحداً من NADPH يتكونان عندما يسافر إلكترونان خلال المسار غير الحلقي.



الشكل رقم (٩١). التمثيل الضوئي في النباتات الخضراء. ويتضمن البكتيريا الزرقاء والطحالب حقيقية النواة نظامين للتمثيل الضوئي مخطط زد Z-scheme لنقل الإلكترون في التمثيل الضوئي 700 p، كلوروفيل أ (مانح للإلكترون للنظام الضوئي) (PSI)؛ ب ٦٨٠، كلوروفيل أ (مانح للإلكترون للنظام الضوئي) (PSII)، X320 = مستقبل إلكترون للنظام الضوئي (PSII)، X = مستقبل إلكترون للنظام الضوئي (PSI) وهو بروتين حديد – كبريت؛ Fd = فيرودوكسين (عن: Schlegel, 1995).

ومثلما يحدث نقل الإلكترون عبر الميتوكوندريا، فإن نقل الإلكترون في التمثيل الضوئي يحدث خلال الغشاء (الشكل رقم ٩٢).



الشكل رقم (٩٢). رسم بياني للغشاء الذي يقوم بالتمثيل الضوئي مبيناً نظام التمثيل الضوئي (PSI) ونظام التمثيل الضوئي (PSII)، Ao = مستقبل ابتدائي (الكلوروفيل) لنظام التمثيل الضوئي؛ A1 = مستقبل ثانوي (فيللوكينون) للنظام الضوئي، cyt b = سيتوكروم ب، cyt f = سيتوكروم إف؛ F1 = مكون من إنزيم مخلق ATP ؛ FAB = كبريت – حديد مركزي أ، ب؛ Fd = فيرودوكسين؛ Fe² = مركز الكبريت – الحديد؛ Fp = فلافوبروتين؛ LHI = مصايد الصبغات I ؛ LHII = مصايد الصبغة II ؛ Pc = بلاستوسيانين؛ pheo = فايوفايتين؛ PQ = بلاستوكينون؛ QB = كينون ب (عن: Schlegel, 1995).

تفاعل الضوء في البكتيريا الخضراء والإرجوانية The Light Reaction in Green and

تختلف البكتيريا الخضراء والأرجوانية المخلقة ضوئياً عن البكتيريا الزرقاء والأحياء الدقيقة حقيقية النواة المخلقة ضوئياً. إذ لا تستخدم البكتيريا الخضراء أو الأرجوانية الماء كمصدر للإلكترونات كما أنها لا تنتج الأوكسيجين O_2 من عملية التمثيل الضوئي. ومن أجل تخليق NADH و NADPH فإن كلاً من البكتيريا الخضراء والأرجوانية يجب أن تستخدمان مانحات إلكترون من الهيدروجين H_2 وكبريتيد الهيدروجين H_2S والكبريت العنصري والمركبات العضوية ذات جهد الاختزال السالب negative reductional potentials، وليس الماء، ولهذا تكون أسهل في الأكسدة (أي أنها مانحات إلكترون أفضل). علاوة على ذلك، فإن كلاً من البكتيريا الخضراء والأرجوانية تحتويان على نوع خاص من صبغات ضوء تخليقية تسمى الكلوروفيل البكتيري bacteriochlorophyll. ويمتص كل من البكتيريوكلوروفيل أ، ب الضوء عند طول موجي ٨٣٠–٨٩٠ نانومتراً لبكتيريوكلوروفيل أو ١٠٢٠–١٠٤٠ نانومتراً لبكتيريوكلوروفيل ب أي منطقة الأشعة دون الحمراء infrared التي تتوافق مع بيئة هذين النوعين من البكتيريا.

وبسبب عدم وجود النظام الضوئي رقم ٢ في البكتيريا الخضراء والأرجوانية لذا فإنهما غير قادرتين على إستخدام الماء كمانح للإلكترون في نظام النقل غير الحلقي. ومن غير النظام الضوئي رقم ١ فإنهما لا تستطيعان إنتاج O_2 من H_2O التخليق الضوئي، ومن ثم يتقيدان بالنظام الحلقي للفسفرة الضوئية ولهذا فإنهما إجباري اللاهوائية.

٢– تفاعل الظلام Dark Reaction

تتم التفاعلات التالية في عدم وجود الضوء أي في الظلام بشرط أن يكون قد تم تفاعل الضوء السابق. ويتطلب تفاعل الظلام ٣ جزيئات ATP وجزيئين NADPH كي يتم اختزال جزيء واحد من ثاني أكسيد الكربون CO_2. ومن ثم يستخدمه في تخليق الكربوهيدرات CH_2O كما يلي:

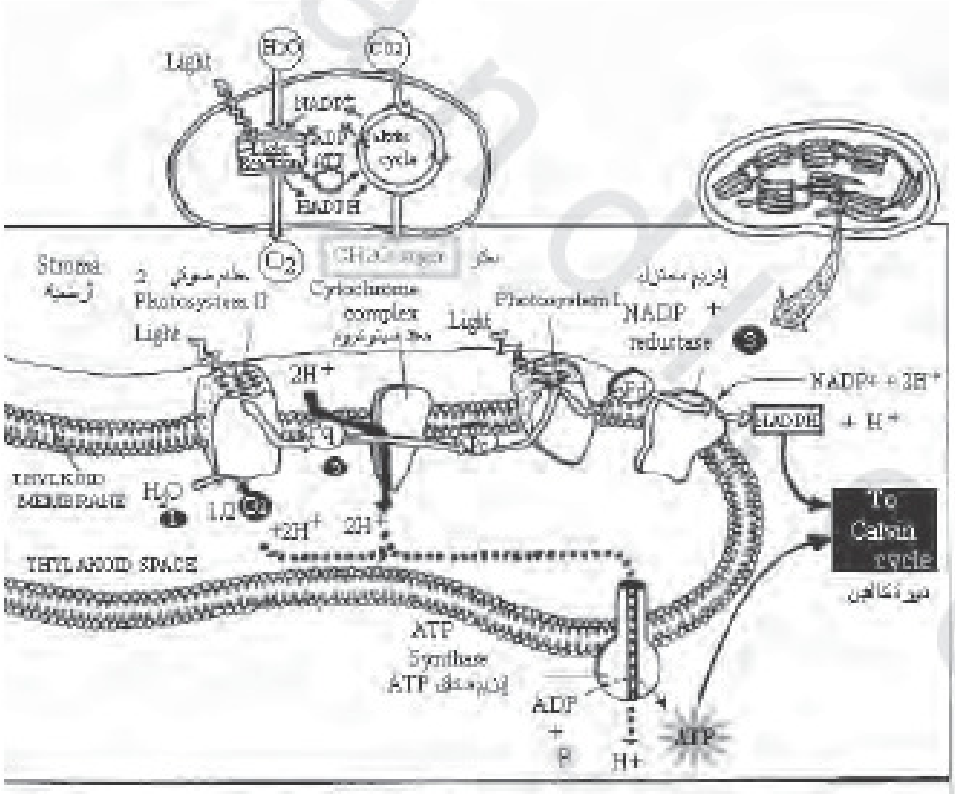
$$CO_2 + 3ATP + 2NADPH + 2H^+ + H_2O \rightarrow (CH_2O) + 3ADP + 3pi + 2NADP^+$$

ويولد النظام غير الحلقي في تفاعل الضوء جزيئاً واحداً من NADPH وجزيئاً واحداً من ATP لكل زوج من الإلكترونات، ومن ثم فإن مرور أربعة إلكترونات خلال النظام سوف تنتج جزيئين من ATP وآخرين من NADPH. ويكون مطلوب ٨ كوانتا (quanta = وحدة الضوء) أربعة لكل نظام ضوئي من أجل طرد ٤ إلكترونات من الماء إلى $NADP^+$. وبسبب أن نسبة NADPH: ATP المطلوب لتثبيت CO_2 هي ٢ : ٣، لذا فيجب إمداد جزيء آخر من ATP. ومن المحتمل أن الفسفرة الضوئية الحلقية تعمل مستقلة لتوليد هذا الجزيء الإضافي من ATP وهذا يتطلب امتصاص ٢ – ٤ كوانتات أخرى. بناء عليه، فإن ١٠ – ١٢ كوانتا من الطاقة الضوئية تكون مطلوبة واختزال وإدخال جزيء واحد من CO_2 أثناء التمثيل الضوئي.

تثبيت ثاني أكسيد الكربون بالضوء الذاتي
Autotrophic CO_2 Fixation

دورة كالفن Calvin Cycle

ما سبق ذكره هو تفاعلات الضوء في التمثيل الضوئي. والآن نستعرض ما يسمى تفاعلات الظلام dark reactions التي تستطيع بها الكائنات ذاتية التغذية autotrophs، سواءً من ذاتية التغذية الضوئية photoautotrophs أو ذاتية التغذية الكيميائية الغير عضوية Chemolithoautrophs، أن تحول ثاني أكسيد الكربون CO_2 إلى مادة عضوية، وتحصل الكائنات ذاتية التغذية على كل الكربون من CO_2، وتسمى العملية بكاملها تثبيت ثاني أكسيد الكربون، وأن تفاعلات تثبيت ثاني أكسيد الكربون تحدث في الظلام التام باستخدام ATP وقوة مختزله عبارة عن NADPH اللتان تتولدان أثناء تفاعلات الضوء للتمثيل الضوئي. أو أثناء أكسدة المواد غير العضوية. ويتم اختزال CO_2 خلال دورة تسمى دورة كالفين Calvin cycle. ويلخص الشكل رقم (٩٣) تفاعلات الضوء والإسموزية الكيميائية في أغشية ثايلاكويدات البلاستيدات الخضراء وعلاقة ذلك بالميتوكوندريا ودورة كالفين.



الشكل رقم (٩٣). التمثيل الضوئي وعلاقة تفاعلات الضوء والإسموزية الكيميائية بالميتوكوندريا ودورة كالفين (عن: Campbell & Reece, 2002).

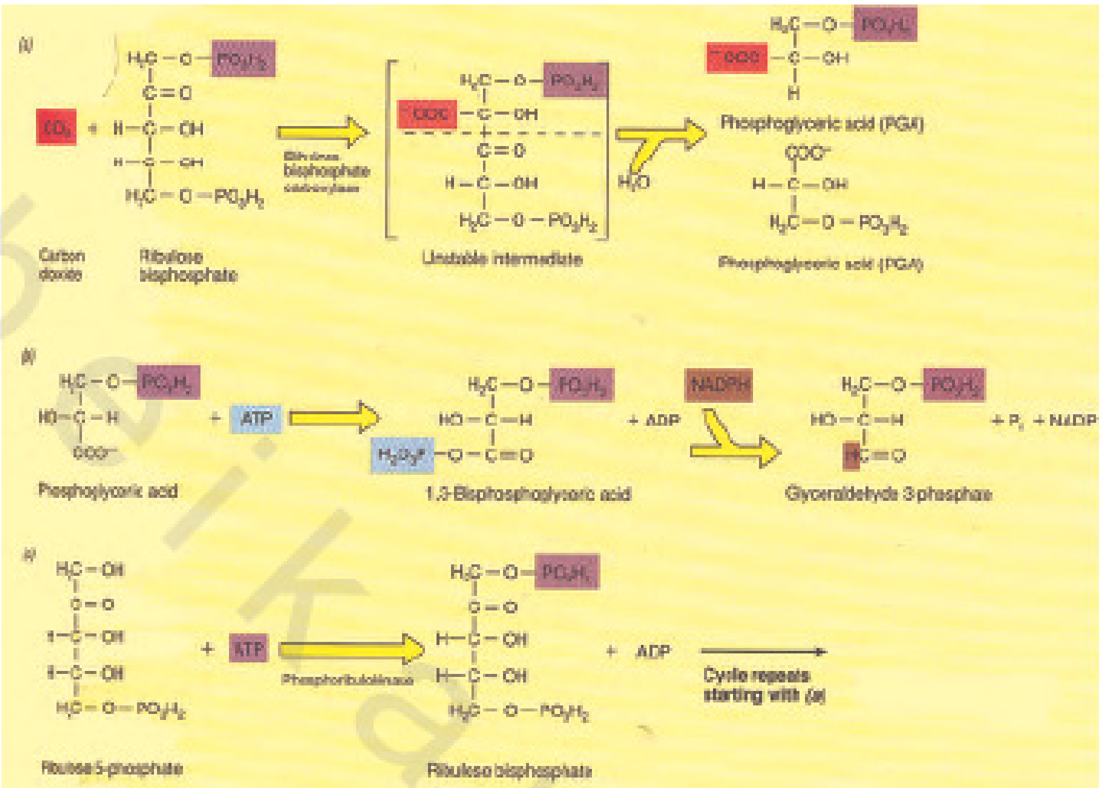
خطوات دورة كالفين

إن أول خطوة في اختزال CO_2 في دورة كالفين هي تفاعل يقوم فيه كعامل مساعد إنزيم كربوكسيليز ريبيولوز ثنائي الفوسفات ribulose biphosphate carboxylase (Rubis CO)، والذي يتضمن تفاعلات بين ثنائي أكسيد الكربون وريبيولوز ثنائي الفوسفات (الشكل رقم ٩٤) مؤدياً إلى تكوين جزيئين من ٣ حامض فوسفوجليسيريك 3 phosphoglyceric acid (PGA)، واحد منهما يحتوي على ذرة كربون آتية من CO_2. ويكوّن حامض فوسفوجليسيريك أول مركب وسيط يمكن التعرف عليه في عملية اختزال CO_2. وتظل ذرة الكربون في PGA المشتقة من CO_2 على نفس المستوى من الأكسدة كما كانت في CO_2. وتتضمن الخطوات التالية اختزال PGA لمستوى أكسدة الكربوهيدرات. ففي هذه الخطوات يكون مطلوب كلاً من ATP و NADPH، ويكون أدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP مسؤولاً عن تفاعل الفسفرة الذي ينشط مجموعات الكربوكسيل، أما نيكوتين أميد أدينين ثنائي الفوسفات المختزل NADPH فهو بطبيعته في حالة الاختزال.

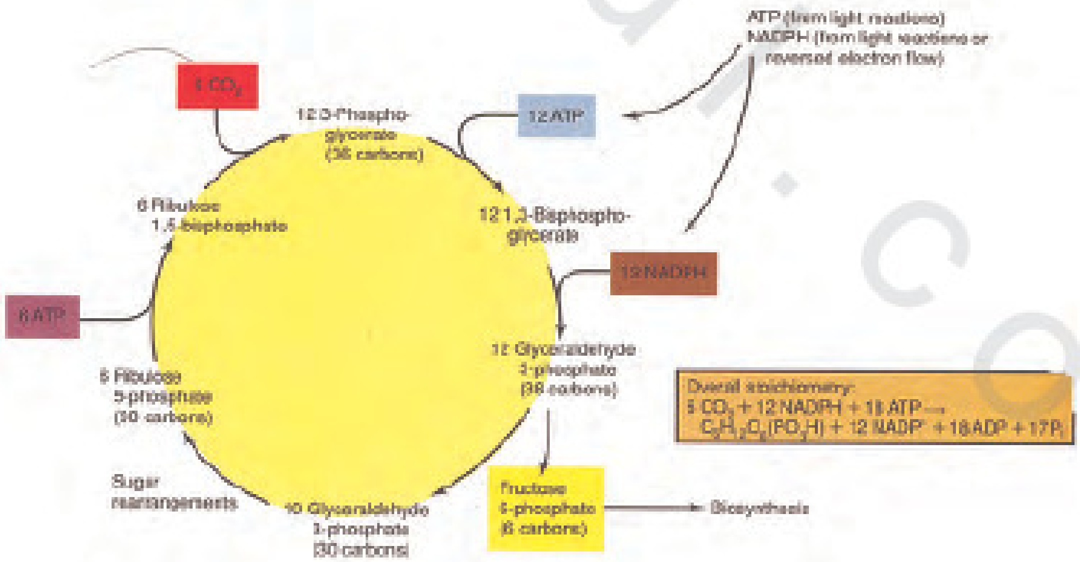
يبين (الشكل رقم ٩٤) التفاعلات الإنزيمية في دورة كالفين، أما (الشكل رقم ٩٥) فيبين ملخصاً كاملاً لها والمعادلة النهائية للتفاعلات.

ويدخل CO_2 الكربون إلى دورة كالفين ويخرج منها على شكل سكر. وتؤدي سلسلة التفاعلات إلى تخليق ريبولوز ثنائي الفوسفات والتي تتضمن عدداً من إعادة ترتيب السكر ومن خلال نقل الإنزيمات التي تعيد ترتيب مركبات بنتوزفوسفات pentose phosphate والإنزيمات الموجودة في مسارات تحليل السكر glycolytic، يتحول جليسيرالدهايد ٣ فوسفات glyceraldehyde 3-phosphate إلى ريبيولوز- ٥- فوسفات ribulose 5-phosphate وبالتالي ريبيولوز ثنائي الفوسفات.

وفي هذه التفاعلات تتحول ٦ جزيئات من CO_2 إلى جزيء واحد من فركتوز ٦- فوسفات fructose 6-phosphate. ويلزم ١٢ جزيئاً من ATP و ١٢ جزيئاً من NADPH لاختزال ١٢ جزيئاً من حامض فوسفوجليسيريك (PGA) إلى جليسيرالدهايد فوسفات glyceraldehyde phosphate، كما يلزم ٦ جزيئات ATP لتحويل ريبيولوز فوسفات إلى ريبيولوز ثنائي الفوسفات. وبهذا يلزم ١٢ جزيئاً NADPH و ١٨ جزيئاً ATP لتخليق جزيء واحد من الهكسوز من CO_2. ويمكن أن تحرر جزيئات الهكسوز كبوليميرات من الجليكوجين glycogen أو النشاء starch أو من عديد بيتا هيدروكسي الكانويتس poly-β hydroxyalkanoates.



الشكل رقم (٩٤). التفاعلات الإنزيمية في دورة كالفين (عن: Madigan. *et al.*, 1997).



الشكل رقم (٩٥). ملخص لدورة كالفين والمعادلة الشاملة (عن: Madigan *et al.*, 1997).

obeikandl.com

بدائل عن دورة كالفين Alternatives to Calvin cycle

يعد الإنزيمات الرئيسة في دورة كالفين وهما كربوكسيليز ريبيولوز ثنائي الفوسفات ribulose phosphate dearboxylase وفوسفوريبيولوكاينيز phosphoribulokinase فريدان بالنسبة للكائنات ذاتية التغذية التي تثبت CO_2 عن طريق دورة كالفين. وفي الحقيقة، فقد وجد هذان الإنزيمان في كل الكائنات ضوئية التغذية التي فحصت بما فيها النباتات والطحالب والبكتيريا. كما وجد أيضاً في العديد من البكتيريا كيميائية التغذية الغير عضوية مثل بكتيريا الكبريت والحديد والنتريه nitrifying. وقد يخزن إنزيم كربوكسيليز ريبيولوز ثنائي الفوسفات أحياناً داخل الخلية في تكتلات كبيرة تسمى أجسام كربوكسي (كربوكسيسومز Carboxysomes).

ومع هذا، فإن مجموعات عديدة من الكائنات ذاتية التغذية بما فيها بكتيريا الكبريت الخضراء ضوئية التغذية phototrophic green sulfur، مثل كلوروفليكساس *Chloroflexus*، والأركيا المولّدة للميثان methanogenic Archea، وأنواع .... من البكتيريا المختزلة للكبريتات sulfate reducing والبكتيريا المولّدة ذاتياً للخلات homoacetogenic (نتيجة لتخمير السكر)، لا تستخدم دورة كالفين لتثبيت CO_2. وفي هذا الحالات لا توجد إنزيمات دورة كالفين.