المحاضرة الثالثة

بسم الله الرحمن الرحيم

عناصر المحاضرة

١- الانزيمات البكتيرية (تعريفها – أمثلة).
٢- طبيعة النشاط الانزيمي (خمس نقاط).
٣- رسم تخطيطي يوضح أهمية المرافقات الانزيمية في التفاعلات الانزيمية.
٤- حالات أهمية المرافقات الانزيمية في تسير التفاعلات.
٥- أنواع الانزيمات البكتيرية.
٦- تفاعلات الاكسدة والاختزال.
٧- تفاعلات التحلل المائي.

الأنزيمات البكتيرية Bacterial Enzymes

تتميزالأنزيمات بصفات البروتينات والكثير منها يتكون من جزئين:-
١ - جزء ذو طبيعة بروتينية يعرف بـ (apoenzyme).
٢ - الجزء الآخر غير بروتيني يعرف بالمرافق الأنزيمي (coenzyme).
والمرافق الأنزيمي يمكنه أن ينفصل عن الجزء البروتيني من الأنزيم.
وعادة يكون كل من جزئي الانزيم بمفردة غير فعال في سير التفاعلات.
لذا يتمثل نشاط الإنزيم في إتحاد الجزئين معا ويعرف التركيب الأنزيمي الكامل باسم holoenzyme.
عمل المرافق الإنزيمي:- يعمل المرافق الأنزيمي كحامل متنقل لأيونات الهيدروجين وغيره من الأيونات أو نقل المجاميع من أنزيم إلى أنزيم آخر.أمثلة:-

١) المرافق الأنزيمي Nicotinamide Adenine Di-nucleotide (NAD) نيكوتين أميد ادنين داى نيوكليوتيد:- مرافق للأنزيمات المزيلة للهيدروجين. حيث يعمل كمستقبل للهيدروجين من التفاعلات التي تعطي الهيدروجين. ليعطي الهيدروجين للتفاعلات التي تحتاجه.

٢) المرافق الأنزيمي Nicotinamide Adenine Di-nucleotide Phosphate (NADP):- يعمل كمستقبل للهيدروجين في بعض نظم إنزيمات إزالة الهيدروجين.

٣) المرافق الأنزيمي:- Adenosine Tri-phosphate أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) يعمل كمعطي للفوسفات في تفاعلات الفسفرة مثل تلك التي تحدث في دورة التخمر.
ويرتبط الفوسفات في جزيئات هذه المادة بروابط غنية بالطاقة حيث أن أنكسارها ينطلق عنه طاقة.

طبيعة النشاط الانزيمي

يمكن تلخص طبيعة النشاط الأنزيمي بعدة نقاط أهمها:-

١) سطح البروتين الأنزيمي ومادة التفاعل يجب أن يناسب بعضها بعض في أمكنة معينة وقد شبهت بالماضي بالقفل ومفتاحه حيث يجب أن يلائم المفتاح القفل قبل حدوث التفاعل.

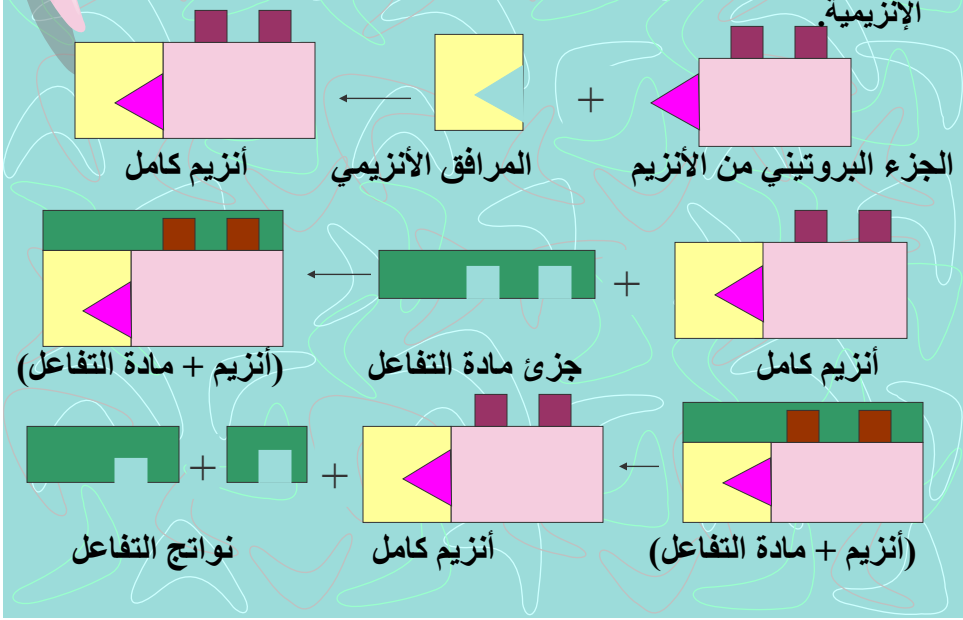
٢) قد يحدث أن تشترك عدة أنزيمات في مرافق أنزيمي واحد عضوي أو معدني بالرغم من اختلاف تفاعلاتها. وهذا يجعل سطح البروتين الأنزيمي أكثر صلاحية للإرتباط بمواد التفاعل.

٣) من المحتمل أن تقوم المرافقات الأنزيمية بدور ملحوظ في تحلل مواد التفاعل.

٤) يرجع التخصص الإنزيمي تجاه مادة التفاعل إلى الجزء البروتيني من الأنزيم.

٥) يعتقد أنه يحدث نوع من الإرتباط غير المحكم بين مادة التفاعل والجزء البروتيني من الأنزيم قبل حدوث التفاعل وأن وجود المرافق الأنزيمي يسمح بزيادة الإرتباط بينهما .

ويبين الرسم التخطيطي التالي أهمية المرافقات الإنزيمية في حدوث التفاعلات الإنزيمية.



وهناك أربع حالات عامة توضح أهمية المرافقات الأنزيمية في تسير التفاعلات:-

١) إذا لم يحتاج الإنزيم إلى مرافق أنزيمي فإن سطح البروتين الإنزيمي يكون ذا تركيب كافٍ لحدوث الإرتباط بينه وبين جزيئات مادة التفاعل.

٢) إذا احتاج الإنزيم إلى مرافق أنزيمي معدني وليس عضوي. فهذا يدل على أن القوى على سطح جزيئات البروتين الإنزيمي ليست مناسبة لحدوث الإرتباط بمادة التفاعل. لذا إدمصاص جزيئات أيونات المعدن على سطح البروتين الإنزيمي في أمكنة معينة، تضفي عليه التركيب المناسب لحدوث الإرتباط بينه وبين جزيئات مادة التفاعل.

٣)احتاج الإنزيم إلى مرافق أنزيمي عضوي فقط، فإن سطح البروتين الإنزيمي يكون ذو تركيب غير كافٍ لحدوث الإرتباط بجزيئات مادة التفاعل. لذا ادمصاص المرافق الإنزيمي العضوي على سطح البروتين الإنزيمي تجعله، في حالة أصلح للإرتباط بمادة التفاعل.

٤) إذا احتاج الإنزيم إلى كل المرافقات العضوية والمعدنية فإن ذلك يمكن تفسيره بطريقتين:-

١- الإحتياج للأيونات المعدنية يهيئ المكان المناسب على سطح الإنزيم لإدمصاص المرافق العضوي وهذا بدوره يجعل سطح البروتين الإنزيمي أكثر ملائمة للإرتباط بمادة التفاعل.

٢- أن كلا من المرافق الإنزيمي المعدني والعضوي يدمصان في موضعين مختلفين على سطح الإنزيم وهذا يجعل سطح البروتين الإنزيمي مناسب للإرتباط بمادة التفاعل .

أنواع الأنزيمات البكتيرية

تقسم الأنزيمات تبعاً للتفاعلات التي تعمل فيها كعوامل مساعدة إلى:-

١- أنزيمات تساعد في تفاعلات إزالة الهيدروجين تعرف باسم Dehydrogenase.

٢- أنزيمات تساعد في تفاعلات إزالة ثاني أكسيد الكربون تعرف باسم Decarboxylase.

وقد تقسم تبعاً لمادة التفاعل التي يعمل عليها مثل:-

١- Pyruvic decarboxylase.

٢- Succinc decarboxylase.

وتحتوي الخلايا البكتيرية على عدد كبير من الأنزيمات المختلفة والتي تقوم بالمساعدة في التفاعلات الأساسية منها:-

أولاً- تفاعلات الأكسدة والإختزال Oxidation and Reduction

ثانياً- تفاعلات التحلل المائي Hydrolysis

ثالثاً- إزالة مجاميع الأمين Deamination

رابعاً- إزالة مجاميع الكربوكسيل Decarboxylation

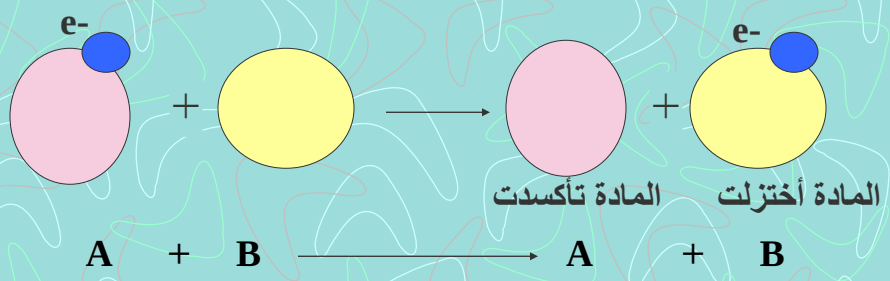
خامساً- عمليات الفسفرة Phosphorylation.

أولاً- تفاعلات الأكسدة والإختزال Oxidation and Reduction

من الناحية الكيميائية: يقال أن المادة تأكسدت إذا ما فقدت إلكترونات وأختزلت عندما تكتسب إلكترونات.

وعندما تحدث عملية أكسدة فإنه يحدث في نفس الوقت عملية أختزال، لأن الإلكترونات التي تفقدها مادة معينة تكتسبها مادة أخرى.

ويمكن توضيح هذه العملية بالرسم التخطيطي التالي:-



شكل يوضح حدوث عملية الأكسدة والإختزال في آن واحد .

مثال:- (١) عندما يحترق عنصرالزنك في وجود الأكسجين يتكون المركب المعروف بأكسيد الزنك تبعاً للمعادلة التالية:-

$$Zn + 1/2\ O_2 \longrightarrow Zn^{++}O^{--}$$

معطي مستقبل إختزال وأكسدة

وباعتبار أن العنصر في حالته الحرة غير المرتبطة في صورة مركبات تعرف بأن لها تكافؤ يقدر بصفر. فأن الـZn :- تغير من صفر إلى +٢ حيث أنه فقد الكترونين بمعنى أنه تأكسد. O_2:- تغير من صفر إلى –٢ حيث أنه اكتسب الكترونين بمعنى أنه أختزل.

مثال:- (٢) وعندما يعامل عنصر الزنك بحمض الهيدروكلوريك فإن الزنك أيضاً يتأكسد تبعاً للمعادلة التالية:-

$$Zn + 2\,H + Cl \longrightarrow Zn^{++} + Cl_2 + H_2^{--}$$

معطي مستقبل أكسدة إختزال

ويلاحظ المعادلة أن:- Zn:- تغير من صفر إلى +٢ حيث أنه فقد الكترونين بمعنى أنه تأكسد. و H_2:- تغير من صفر إلى –٢ حيث أنه اكتسب الكترونين بمعنى أنه أختزل.

وكما هو ملاحظ من المثال الأول والثاني أن عمليات الأكسدة ليست مقصورة على إتحاد المواد بالأكسجين وهذا واضح ايضاً في أن بعض البكتيريا يمكنها أن تنمو في غياب الأكسجين ولكنها قادرة على الحصول على الطاقة اللازمة لها من عمليات الأكسدة. ولذلك يمكن تقسيم عمليات الأكسدة إلى قسمين تبعاً لاستعمال الأكسجين الغازي:-

أولاً-عمليات أكسدة بيولوجية هوائية:- وهي التي تستعمل الأكسجين وتسمى هذه العملية بـ التنفس respiration.

ثانياً-عمليات أكسدة بيولوجية غيرهوائية:- وهي التي لاتستعمل الأكسجين وتحدث في غيابه وتسمى هذه العملية بـ التخمرات Fermentation .

- وتتم عمليات الأكسدة والإختزال بمساعدة نوع من الأنزيمات يطلق عليها الإنزيمات المزيلة للهيدروجين dehydrogenase. ويختلف عمل هذه الأنزيمات في حالة التنفس عنها في حالة التخمر بما يلي:-

- في حالة التنفس توصل الأنزيمات الهيدروجين إلى الأكسجين الغازي.
- في حالة التخمر لا توصل الأنزيمات الهيدروجين إلى الأكسجين الغازي.

ثانياً- تفاعلات التحلل المائي Hydrolysis

أنزيمات التحلل المائي Hydrolytic enzymes هي المسئولة عن جميع عمليات الهضم والتي يتحلل فيها البروتين إلى أحماض أمينية، والدهون إلى أحماض دهنية وجليسرول، والكربوهيدرات المعقدة إلى عديدات التسكر أو سكريات أحادية.

(أ) أنزيمات تحليل البروتينات:- تكسر الروابط الببتيدية

-CO-NH- لذا فهي تكسر الببتيدات المحتوية على هذه الروابط إلى مركبين:-

(١) مركب يحتوي على مجموعة كربوكسيل حرة COOH.

(٢) مركب يحتوي على مجموعة أمين حرة NH_2.

وعادة ما تفرز الخلية البكتيرية الأنزيمات المحللة للبروتينات خارجها وتسمي أنزيمات خارجية extracellular enzymes ويعود ذلك إلى أن جزيئات البروتين لايمكنها المرور خلال الجدار الخلوي للخلية البكتيرية.

مثال:- أنزيم الجلاتينيز Gelatinase يحلل الجيلاتين مائياً إلى أحماض أمينية وتستطيع بعض الأجناس البكتيرية إفرازه وبذلك يمكنها أن تسيل بيئات الجيلاتين التي تنمو عليها وتستغل هذه القدرة كصفة تفريقية بين أجناس البكتيريا المختلفة.

(ب) أنزيمات تحليل الكربوهيدات:-

١-قدرة البكتيريا على تحليل الكربوهيدات مائياً يقتضى أيضاً إفراز أنزيمات خارجية.

٢-تستعمل هذه القدرة في أغراض التقسيم.

وتعتمد درجة التخصص الأنزيمي في تحليل الكربوهيدات مائياً على طبيعة الروابط التي تربط وحدات السكريات الأحادية في سلسلة عديدات التسكر.

وتوجد أنزيمات لا يمكنها أن تتكون إلا إذا نميت الخلايا البكتيرية أولاً في وجود أحد المواد الكربوهيدراتية وتسمى إنزيمات تطبعية. Adaptive enzyme

مثال:- بكتيريا الـ *Clostridium* لا يمكنها تحليل النشا إلا إذا سبق تنميتها في وجود النشا فترة من الزمن.
وهذه البكتيريا التي تكون تطبعت على تحليل النشا تستطيع أن تحلل سكر المالتوز والجليكوجين.
وبالمثل إذا تأقلمت هذه البكتيريا على النمو في وجود المالتوز يمكنها تحليل النشا والجليكوجين.

وقد وجد أن التنمية المبدئية لهذه البكتيريا في وجود الجلوكوز لا تؤدي إلى إفراز الإنزيمات اللازمة لتحليل المواد الكربوهيدراتية المعقدة.

- (أ) تحليل النشا:- يتم تحليل النشا بواسطة بكتيريا الـ *Clostridium* عن طريق إفراز إنزيمين:-
- ١- إنزيم الأميليز amylase يحلل النشا إلى مالتوز.
- ٢- إنزيم المالتيز maltase يحلل سكر المالتوز إلى وحدات سكر الجلوكوز.

النشا Starch ← مالتوز Maltose.

إ نزيم الأميليز amylase

المالتوز ← وحدات سكر الجلوكوز.

إنزيم المالتيز maltase

(ب) تحليل السليلوز:- يحلل السليلوز بواسطة العديد من الكائنات الحية عن طريق إفراز إنزيمين:-

١- إنزيم سليوليز cellulase يحلل السليلوز إلى سيلوبيوز cellobiose.

٢- إنزيم سيلوبيز cellobiase (بيتاجلوكوسيديز) يحلل السيلوبيوز إلى وحدات سكر الجلوكوز.

يحلل السليلوز ← سيلوبيوز cellobiose.
إنزيم سليوليز cellulase

يحلل السيلوبيوز ← سكر الجلوكوز.
إنزيم سيلوبيز cellobiase
(بيتاجلوكوسيديز)

وحديثاً اقترح تحليل السليلوز على ثلاث مراحل كما يلي-:

١- إنزيم C1 يحلل السليلوز إلى بولي انهيدروجلوكوز.

٢- إنزيم Cx يحلل بولي انهيدروجلوكوز إلى سكريات ذائبة وبخاصة السيلوبيوز.

٣- إنزيم سيلوبيز cellobiase (بيتاجلوكوسيديز) يحلل السيلوبيوز إلى وحدات سكر الجلوكوز.

١- السليلوز ← بولي انهيدروجلوكوز(مواد غير ذائبة)
إنزيم C1

٢- بولي انهيدروجلوكوز ← السيلوبيوز (سكريات ذائبة)
إنزيم Cx

٣- السيلوبيوز ← وحدات سكر الجلوكوز.
إنزيم سيلوبيز cellobiase (بيتاجلوكوسيديز)

ثالثاً- إزالة مجاميع الأمين Deamination

وهي إزالة مجاميع الأمين من جزيئات الأحماض الأمينية وتتم هذه العملية على خطوات هي:-

١- إنزيم L-glutamic acid deaminase يقوم بإزالة الهيدروجين من الحامض الأميني وتحويله إلى حمض الأمينوجلوتاميك.

٢- تحلل مائي لحمض الأمينوجلوتاميك مؤدياً إلى إنفصال مجموعة الأمين على صورة أمونياً.

١- الحامض الأميني ⟵ حمض الأمينوجلوتاميك + H_2

L-glutamic acid deaminase

٢- حمض الأمينوجلوتاميك يتفصل الأمين

رابعاً- إزالة مجاميع الكربوكسيل Decarboxylation

هي عملية إزالة CO2 من مجموعة الكربوكسيل في جزئيات الأحماض الأمينية أوالأحماض الكيتونية، وينتج من هذه العملية الدهيد أوحمض البيروفيك أوالحمض الأميني المقابل.

(١) خلايا الخميرة التي تحتوي على الأحماض الفا-كيتونية α- Ketoacid تتحلل بواسطة إنزيم متخصص هو الداى كربوكسيليز decarboxylase ويتكون هذا الأنزيم من جزء بروتيني مرتبط إرتباطا غير محكم بالمرافق إنزيمي فوسفات ثنائي الثيامين .

CH_3- CO- COOH- $\xrightarrow{\text{decarboxylase}}$ CO_2 + CH_3- CHO

α-Ketoacid — الدهيد

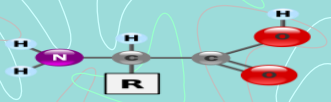
(٢) البكتيريا التابعة لجنس *Azotobacter* وكذلك بكتيريا *Micrococcus* تحتوي أنزيمات أقل تخصصاً لها القدرة على فصل CO_2 من أي حمض كيتوني.

أوكسالاستيك ديكربوكسيليز

$$COOH\text{-}CH_2\text{-}COOH \longrightarrow CH_3\text{-}CO\text{-}COOH + CO_2$$

أوكسالا — حمض

(٣) يمكن بيوفيلم الأجناس البكتيرية أن تهاجم أحماض تيلينية معينة لتفصل منها جزئ CO_2 ومحولة إياها إلى الأمينات المقابلة كما في المعادلة التالية:-



Amino-acid decarboxylase

$$R\text{-}CH\text{-}NH_2\text{-}COOH \longrightarrow R\text{-}CH_2\text{-}NH_2\text{-}NH_2$$

حمض — الحمض الأميني المقابل

خامساً- عمليات الفسفرة Phosphorylation

تحدث عمليات الفسفرة في تفاعلات الأكسدة غير الهوائية (التخمر) والأكسدة الهوائية (التنفس) وتحدث أيضاً في كثير من التفاعلات الأخرى والدليل هو عزل المواد المفسفرة العديدة والتي تمثل مركبات وسطية لتفاعلات أيضية معينة في خلايا الأنسجة الحية.

(١) تفاعلات الأكسدة غير الهوائية للكربوهيدات (التخمر) بخلايا الخميرة والأنسجة الحيوانية تتطلب فسفرة هذه الكربوهيدات أولاً عن طريق سلسلة من التفاعلات التي تتضمن مركب الأدينوسين ثلاثي الفوسفات ATP وهومركب غني بالطاقة والفوسفات العضوية. وتمثل عمليات تخمر الكربوهيدات المصدر الرئيسي للطاقة اللازمة للكائنات غير الهوائية.

والخطوة الأولى في هذه التفاعلات هو إنتقال الفوسفات من مركب ATP إلى الذرة الكربون رقم ٦ من الجلوكوز بواسطة إنزيم الهيكسوكاينيز hexokinase

(2)أن الطاقة المتحصل عليها من عمليات الأكسدة الهوائية المختلفة تنطلق أيضاً من تكوين أو تكسير الروابط الفسفورية الغنية بالطاقة .

مثال:- في الأنواع التابعة لجنس *Lactobacillus* يتم أكسدة حمض البيروفيك هوائياً إلى مركب فوسفات الأسيتل acetyl phosphate بفعل الإنزيم pyruvic oxidase في وجود الفوسفات H_3PO_4 .

حمض البيروفيك + O_2 + H_3PO_4 $\xleftarrow{\text{pyruvic oxidase}}$ فوسفات الأسيتل + طاقة

(أكسدة)