كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الثالثة

المادة : الانزيمات

المحاضرة : الثالثة/نظري/د.سومر

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

يمكنكم طلب المحاضرات برسالة نصية (SMS) أو عبر (What's app-Telegram) على الرقم 0931497960

إنزيمات الكائنات الحية الدقيقة
MICROBIAL ENZYMES

الإنزيمات:

عبارة عن مادة عضوية تفرز بواسطة الكائنات الحيه سواء حيوانية او نباتية أو كائنات دقيقة , تساعد على تنشيط التفاعلات الكيموحيويه لذلك تعتبر ضرورية للحياة.

ما هي أهمية الإنزيمات بالنسبة للكائنات الحية الدقيقة؟

يعتمد النشاط الكيموحيوي لها على عديد من الإنزيمات التي تعمل كعوامل مساعدة في كثير من التفاعلات الأيضية المختلفة.

أهم خواص الإنزيمات البكتيرية:

- تزيد من سرعة التفاعلات الكيموحيوية ولو كانت بمقادير ضئيلة.
- لا تشترك في التفاعل وتبقى كما هي بدون تغير.
- لا تزيد من قيمة الطاقة ولا تغير طبيعة أو نسب المواد الناتجة من التفاعل.
- أغلب الإنزيمات تظهر نوع من التخصص وذات عمل عكسي.

طبيعة الإنزيمات البكتيرية:

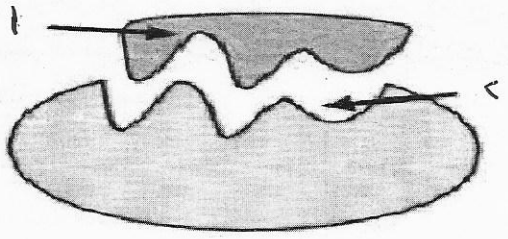
ذات طبيعة بروتينية وتتكون من جزئين:

1 Apoenzyme له طبيعة بروتينية و يعرف باسم الإنزيم المحدد

2 Coenzymeغير بروتيني ويعرف بالمرافق الإنزيمي أو المجموعة الفعالة.

يمكن لهذين الجزئين أن ينفصلا عن بعضهما وفي هذه الحالة يكونا غير فعالين في سير التفاعلات

إذن نشاط الإنزيم يتمثل في اتحاد الجزئين معا ويعرف التركيب الكامل للإنزيم (Holoenzyme)



أولا تحلل النشأ

أ - الأميلوز:

300 – 200 وحدة من سكر الجلوكوز مرتبط مع بعضها بال ا ربطة الجليكوسيدية 4,1 في سلسلة مستقيمة.

ب -مركب الأميلوبكتين:

سلسلة طويلة ومتفرعة من وحدات من سكر الجلوكوز ومجاميع فوسفورية مرتبطة ببعضها بالروابط الجليكوسيديه 4,1 ولكن عند التفرع يكون الاتصال بروابط جليكوسيديه6,1

طريقة العمل:

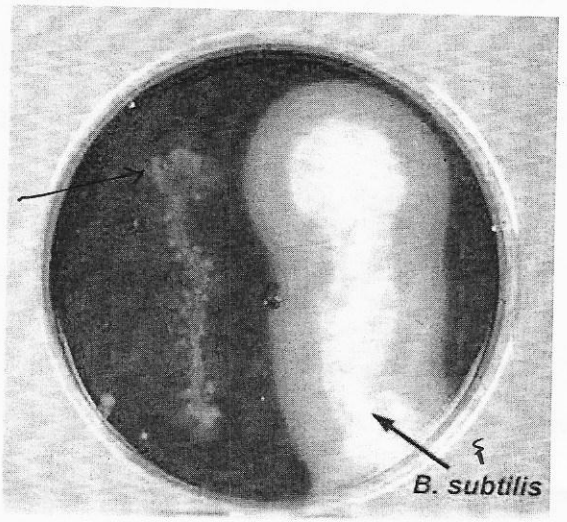
- يحضر وسط غذائي يحتوي على النشا(كمصدر للكربون)ويلقح بواسطة القرص من الفطر المراد دراسته ثم يحضن لمدة أسبوع عند 28 م.

- بعد التحضين ,يتم الكشف عن تحلل النشا بإضافة محلول اليود(الكاشف) indicator

إلى المزرعه الفطرية ,لاختبار تفاعل اليود اللوني مع النشا الذي يعطي لون أزرق داكن.

النتيجة:

إذا تكونت هالة شفافة حول النمو الفطري بعد إضافة اليود دليل على أن الفطر قادر على افراز إنزيم الالفا أميليز α - Amylase أو أي من الانزيمات المحلله للنشا(الإنزيم المحلل) القادر على تكسير النشا إلى مركبات أبسط. إذا لم تظهر مناطق عديمة اللون دل ذلك على عدم قدرة الكائن على تحليل النشا وانتاج الانزيمات المحلله له.



مزرعه بكتيريه لنوعين مختلفين من البكتيريا

أ- يتضح عدم تلون البيئة في المنطقة المحيطة بخط النمو(اليمين)مما يدل على تحلل المائي للنشا في هذه المنطقة عديمة اللون نتيجة موجبه حول خط النمو لمزرعة .B subtilis.

ب يتضح تلون المنطقة المحيطة بالنمو باللون الأزرق الداكن للتفاعل بين اليود والنشا في البيئة(اليسار) نتيجة سالبة حول خط النمو لمزرعة E. coli

ثانيا تحلل الجيلاتين

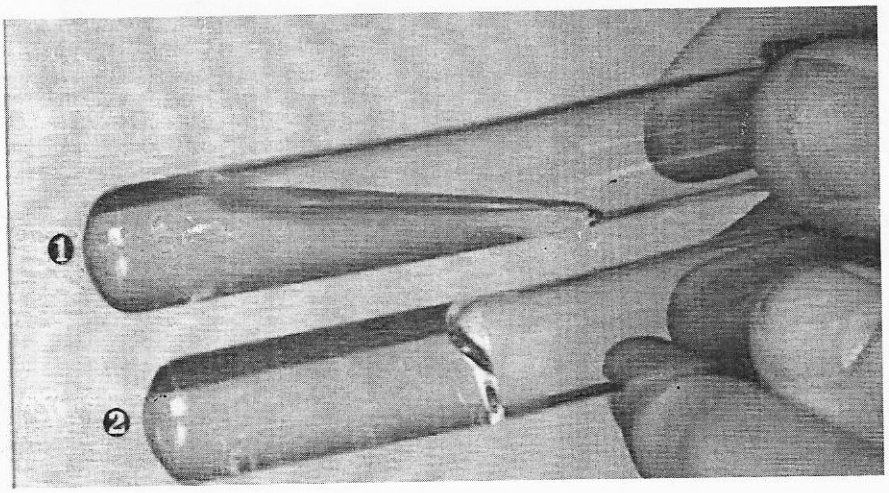
الجيلاتين :بروتين حيواني يمكن لبعض الكائنات الدقيقة أن تحلله لامتلاكها أنزيم خارجي هو أنزيم الجيلاتينيز (gelatinase ناتج التحلل هو الأحماض الأمينية.)

يتميز المحلول المائي للجيلاتين بأنه يكون في الحالة السائله في درجة

حرارة الغرفة ويتحول للحاله الصلبه(يتصلب)عند وضعه في حمام ثلجي.

الإنزيم المحلل: Hydrolytic enzyme

يتمكن الكائن الدقيق من تحليل الجيلاتين لقدرته على إفراز الإنزيمات المحلله للجيلاتين gelatinase، بالتالي تفقد المزرعه قدرتها على التصلب عند وضعها في حمام ثلجي (الكاشف)



صورة توضح مزرعتين لآجار الجيلاتين بعد وضعها في الحمام الثلجي لمدة 15 دقيقة:

أ -عدم تصلب الجيلاتين بسبب تحلله بواسطة الإنزيمات المحللة المنتجه منا لكائن الدقيق النامي على الوسط نتيجة موجبه.)

ب -تصلب أجار الجيلاتين أي عدم تحلله بالنشاط الإنزيمي للكائن الدقيق النامي(نتيجة سالبة.)

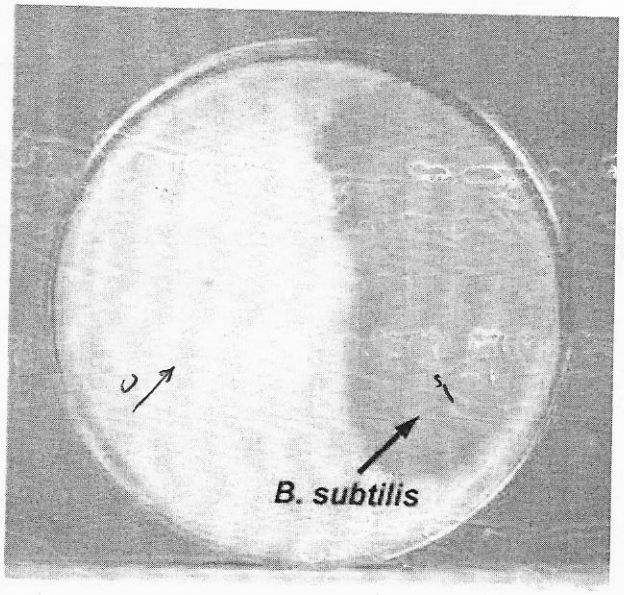
ثالثا تحلل الكازين

الكازين :البروتين الأساسي في اللبن ويوجد فيه كمعلق غروي يعطي اللبن اللون الأبيض غير الشفاف.

الإنزيم المحلل :تمتلك الكائنات الدقيقة إنزيم كازينيز caseinase الذي يحلل هذا البروتين مائياً إلى مشتقات أكثر ذوباناً وشفافيةً(يتحلل إلى الأحماض الأمينية المكونه لها.)

يظهر الكائن الدقيق القادر على تحليل الكازين بواسطة الانزيم المحلل للبروتين محاطا بهالة رائقة بينما تظهر بقية المزرعه بيضاء معتمة لان بروتين الحليب(الكازين)لم يتحلل بها.

الكاشف : Indicator يمكن الكشف عن تحلل الكازين بإضافة حمض الهيدروكلوريك HCl الى بيئة النمو حيث تتكون هالة رائقة حول النمو الفطري وهذا دليل على التحلل.



صورة لمزارع على بيئة آجار الكازين

أ -خط النمو لبكتيريا Bacillus subtilis حيث تظهر منطقة رائقه حوله مما يدل على تحلل الكازين في تلك المنطقة نتيجة إفراز الكائن لإنزيم خارجي محلل للكازين يسمى Caseinase (نتيجة موجبه.)

ب -خط النمور لمزرعة بكتيريا Escherichia coli حيث يظهر الوسط بدون تغيير(معتم) (نتيجة سالبة.)

رابعا تحلل الدهون

تحلل الدهون يؤدي إلى توفر كميات كبيرة من الطاقة أكثر من الطاقة الناتجة عن تحلل السكريات.

الإنزيم المحلل :قدرة الكائن الدقيق على تحليل الدهون يرجع إلى إف ا رز إنزيم lipaseوهذا الأنزيم يقسم جزئ الدهن إلى جزئ جلسرول وثلاثة جزيئات من الاحماض الدهنية.

الكاشف : indicator محلول كبريتات النحاسCuSO4

طريقة العمل:

- يضاف الزيت المعقم بالترشيح إلى الوسط الغذائي المعقم ثم يصب في أطباق بتري معقمة.
- بعد تصلب الأطباق تلقح بالكائن الدقيق(المراد الكشف عن قدرته على تحليل الدهون)ثم يحضن لمدة أسبوع عند° 28 م.
- يتم الكشف عن تحلل الدهون بإضافة محلول كبريتات النحاسCuSO4 إلى المزرعة حيث تتكون نقاط ذات لون أخضر مزرق حول النمو الفطري وهذا دليل على أن الكائن قادر على افراز إنزيم المحلل للدهونLipase
- يحلل الدهون إلى أحماض دهنية وجليسرول حيث تتفاعل كبريتات النحاس مع الأحماض الدهنية لتعطي مركب معقد لونه اخضر مزرق.

خامسا تحلل اليوريا

اليوريا : Urea مركب نيتروجيني عضوي معقد التركيب

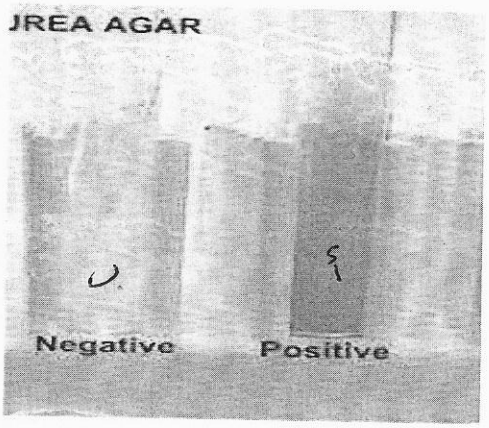
الإنزيم المحلل :يتحلل بواسطة إنزيم اليوريازUrease

ينتج عن التحلل النشادر(الأمونيا ,) NH3 بعض الكائنات الدقيقة (مثل بكتيرياProteus) لها القدرة على إنتاج هذا الإنزيم وبالتالي تستطيع أن تحلل الوسط الذي يحتوي على اليوريا وتستخدمه كمصدر نيتروجيني.

طريقة العمل:

تضاف اليوريا المعقمة بالترشيح إلى الوسط الغذائي المعقم ثم تصب الأطباق وتلقح الأطباق بمستعمرة حديثة العمر ثم تحضن الأطباق لمدة أسبوع عند 28 م.

يتم الكشف عن تحلل اليوريا باستخدام كاشف أحمر الفينول phenol red المضاف إلى الوسط مسبقاً(يتحول من اللون الأصفر عند pH 6.8 إلى اللون الأحمر عندpH 8.1 أو أكثر.)



وسط آجار اليوريا يحتوي على الكاشف الأحمر phenol red بدون تلقيح(كنترول للمقارنة.)

ـأ تغير لون الكاشف من اللون الأصفر إلى اللون الوردي دليل على أن الكائن قادر على افراز الإنزيم المحلل لليوريا urease حيث يعمل على تكسير اليوريا إلى أمونيا NH3 وهي المسئولة عن تغير لون الكاشف لتحول الوسط من حمضي إلى قاعدي(نتيجة موجبة.)

ب يبقى لون الكاشف بدون تغيير بعد نمو الكائن المختبر لعدم قدرته على إف ا رز الإنزيم المحلل لليوريا وبالتالي عدم تغير درجة حموضة الوسط(نتيجة سالبة.) نتيجة سالبة