كلية العلوم

القسم : علم الحياة

السنة : الرابعة

المادة : تركيب ضوئي

المحاضرة : السادسة/نظري/

{{ مكتبة A to Z }}

Facebook Group : مكتبة A to Z

كلية العلوم ، كلية الصيدلة ، الهندسة التقنية

١٤

2025

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

تفاعلات تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون وإرجاعه
Reactions of Fixation and Reduction of CO_2

يجري عبر هذه التفاعلات تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون وإرجاعه على شكل مركبات عضوية مختلفة (سكريات بالدرجة الأولى، أحماض أمينية، أحماض دسمة) ويرتبط سيرها بالنواتيدات المرجعة $NADPH+ H^+$ والطاقة ATP الناجمة عن النقل الالكتروني الضوئي و الفسفرة الضوئية في الأغشية الثايلاكويدية. لا تتطلب تفاعلات تثبيت CO_2 وإرجاعه الضوء بشكل مباشر من أجل حدوثها، فهي يمكن أن تجري نظرياً في الضوء وفي الظلام، ولذا تُدعى أحياناً بالتفاعلات المظلمة Dark reactions. إلا أن هذه التسمية ليست دقيقة تماماً، إذ يحرض الضوء على عمل بعض انزيماتها ، إضافة إلى أن سير هذه التفاعلات يتباطأ أو يتوقف في الظلام نتيجة النقص الحاصل في نواتج التفاعلات الضوئية.

أخذت صورة هذه التفاعلات تتضح بدءاً من عام 1950، وذلك بعد اكتشاف الكربون المشعّ (C^{14})(1) واستبدال ثاني أكسيد الكربون العادي بثاني أكسيد الكربون المشعّ، الأمر الذي سمح بتتبع مسارات الكربون خلال هذه التفاعلات. لقد أمكن التعرف على مسالك مختلفة لإرجاع غاز CO_2 وذلك حسب النبات وبيئته. لذا فإنه من المتّبع عادةً تقسيم النباتات إلى ثلاث مجموعات :

النباتات ثلاثية الكربون C_3 – Plants، النباتات رباعية الكربون C_4 – Plants، نباتات المسلك CAM Crassulasion acid metabolism (CAM-Plants).

---

(1) : تحوي الذرة المشعة لعنصر ما على نفس عدد الالكترونات ونفس شحنة النواة للذرة العادية لنفس العنصر، إنما تختلف عن الذرة العادية في الوزن الجزيئي وفي عدم استقرارها إذ تتحطم تدريجياً.

Scanned with CamScanner

أولاً- مسلك الكربون عند النباتات ثلاثية الكربون (حلقة كالفن)

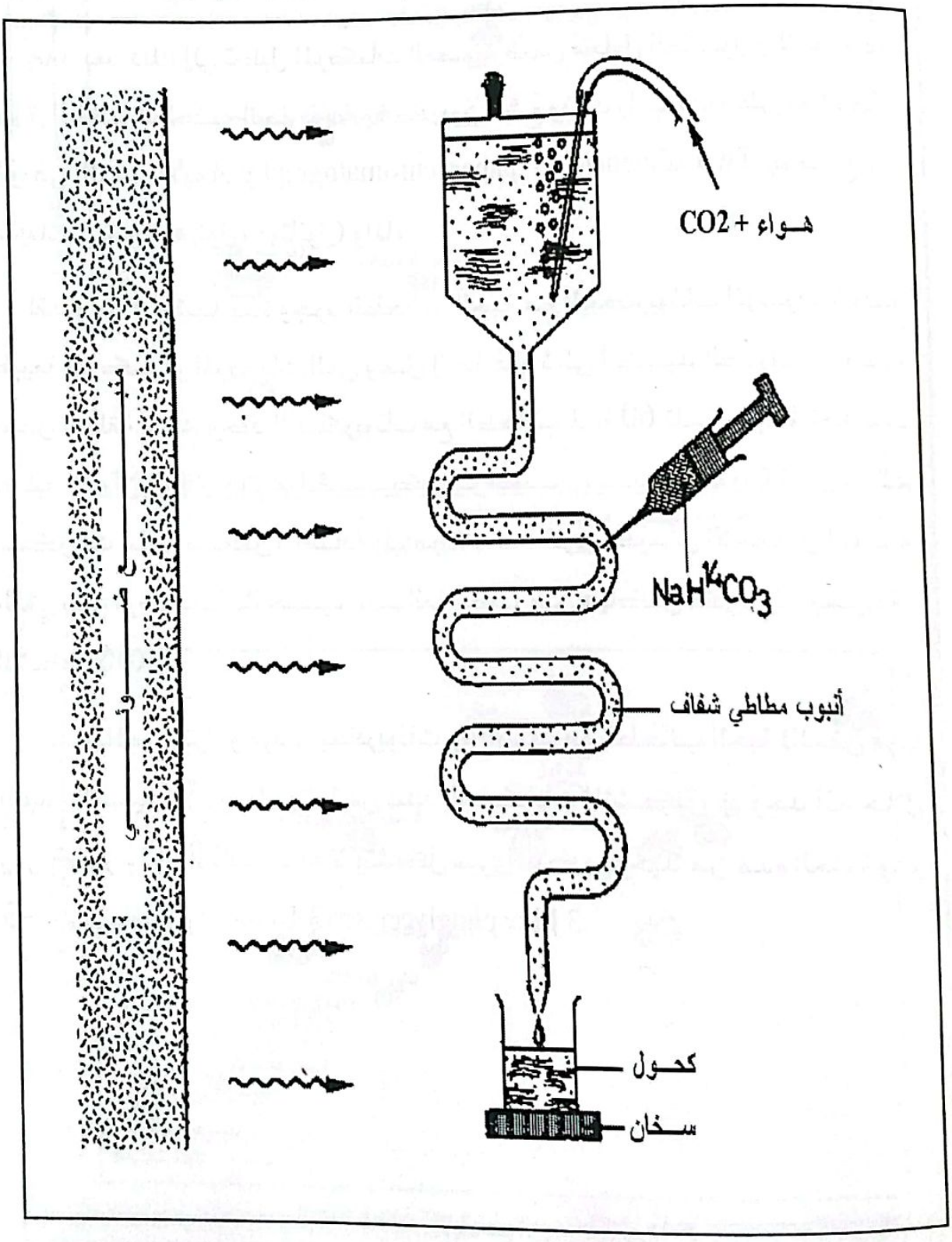
وهي تشمل معظم النباتات الموجودة على سطح الأرض. ويتم تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون وإرجاعه عندها في أثناء عملية التركيب الضوئي عبر حلقة معقدة تدعى بحلقة كالفن Calvin cycle. تتركز حلقة كالفن في حشوة الصانعة الخضراء عند النباتات الراقية وفي السيتوبلازم عند البكتيريا التي تقوم بالتركيب الضوئي، وتجري تفاعلاتها بفعل 11انزيماً، تُعدّ ثلاث منها متخصصة بالتركيب الضوئي، وهي: الريبيلوز 5،1 ثنائي الفوسفات كربوكسيلاز/أوكسيجيناز (روبيسكو) و السيدوهبتلوز 7،1 ثنائي الفوسفات فوسفاتاز و الريبيلوز 5 فوسفات كيناز. تمثل هذه الحلقة المسار الرئيس لتثبيت غاز CO_2 وإرجاعه ، إذ يجري من أجل تثبيت جزيئة من ثاني أكسيد الكربون استهلاك 3جزيئات من الـ ATP وأكسدة جزيئتين من الـ $NADPH+H^+$ الناتجين كمحصلة للتفاعلات الضوئية. لايقتصر وجود هذه الحلقة على النباتات ثلاثية الكربون بل أنها توجد أيضاً عند النباتات رباعية الكربون والنباتات العصارية إلى جانب مسارات أخرى كما سنرى فيما بعد.

تُعدّ هذه الحلقة في كثير من خطواتها تمثيلاً للاتجاه العكسي في هدم السكريات عبر مسلك البنتوز فوسفات التأكسدي، ولذا تدعى أحياناً بالحلقة الإرجاعية للبنتوز فوسفات Reductive pentosphosphat cycle.

لقد تمَ الكشف عن خطوات هذه الحلقة لأول مرة عند طحلب الكلوريللا *Chlorella sp.* من خلال عدة أبحاث قام بهَا العالم الأمريكي كالفن وزملاؤه Calvin et al.، إذ جرى منحه جائزة نوبل للكيمياء عام 1961 تقديراً لجهوده في توضيح مسار الكربون خلال التركيب الضوئي.

قام كالفن وزملاؤه بتعريض محلول الطحالب الجاري للضوء، ومن ثم حقنه في مواقع مختلفة منه بمحلول بيكربونات الصوديوم المشع $NaHC^{14}O_3$ كمصدر لغاز

ثاني أكسيد الكربون ، كما هو موضح في الشكل (65). إذ تقوم الطحالب الجارية مع المحلول بتثبيت غاز CO_2 الموسوم وذلك قبل وصولها إلى محلول



الشكل (65): تمثيل تخطيطي لتجربة كالفن في الكشف عن مسلك الكربون المثبت خلال التركيب الضوئي عند طحلب الكلوريللا. (حسب كالفن وزملاءه)

Scanned with CamScanner

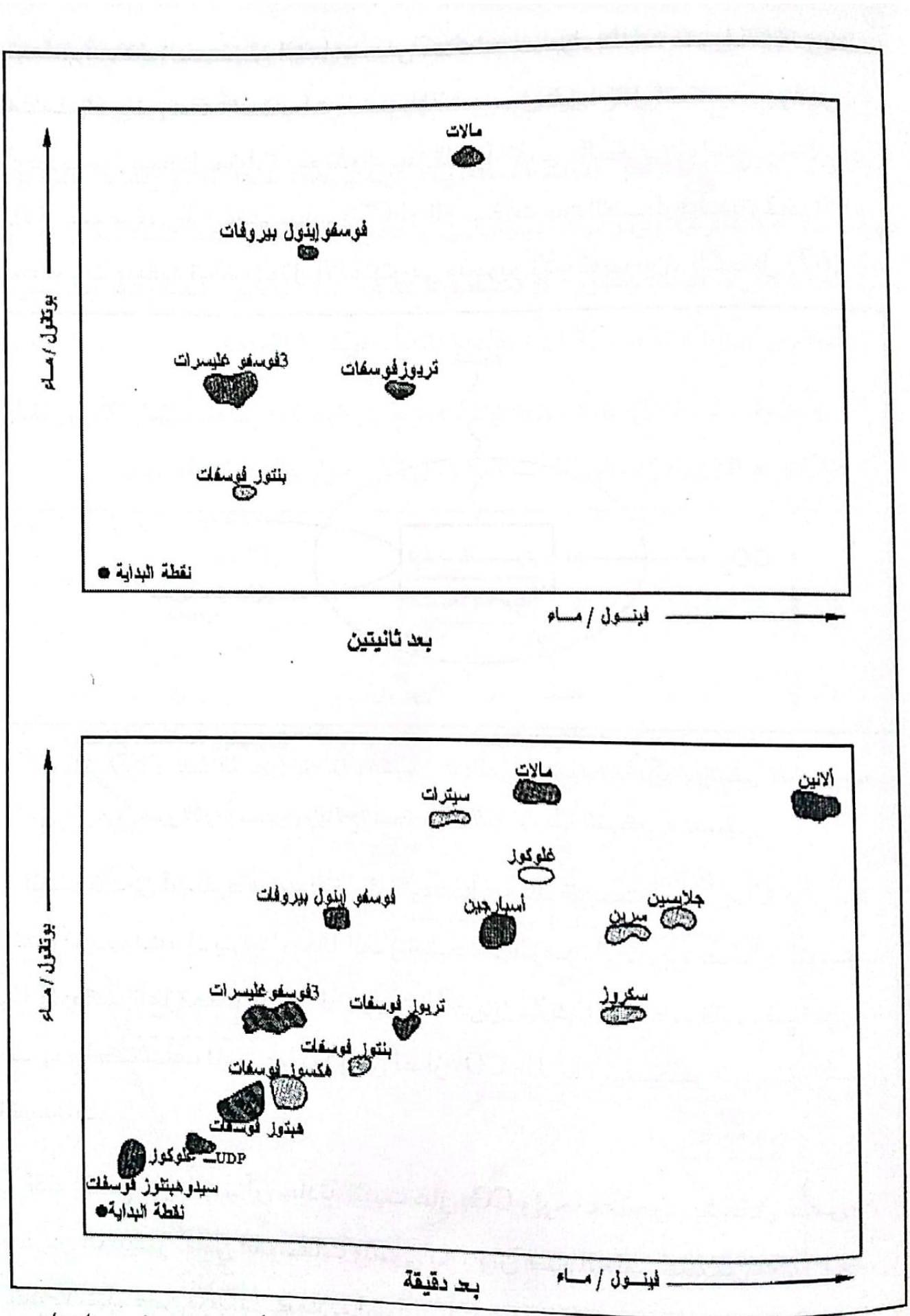
الكحول الساخن، حيث تُقتل على الفور، وتتوقف عمليات تثبيت غاز CO_2 ومجمل العمليات الاستقلابية الأخرى.

يُعمد بعد ذلك إلى تحليل المركبات العضوية ضمن محلول الكحول والناجمة عن تمزق الخلايا الطحلبية الحاوية على الكربون المشعّ وذلك باستخدام طريقة الفصل الورقي الثنائي الأبعاد Two dimensional paper chromatography في مزيج من مذيبات عضوية (فينول، بوتانول) والماء.

لقد وجد أنه تبعاً لمدة وجود الطحالب الحية مع البيكربونات الموسومة تتحدد طبيعة المركب أو المركبات التي وصل إليها غاز ثنائي أكسيد الكربون الموسوم ضمن الحلقة. فعند وجود البيكربونات مع الطحالب لمدة 60 ثانية، فإننا نجد بعد عملية الفصل الكروماتوغرافي سكريات مفسفرة عديدة موسومة تمثل معظم سكريات حلقة كالفن، إضافةً إلى مركبات أخرى كبعض الأحماض الأمينية التي يتم تركيبها في حشوة الصانعة أيضاً من هياكل كربونية بسيطة، الشكل(66).

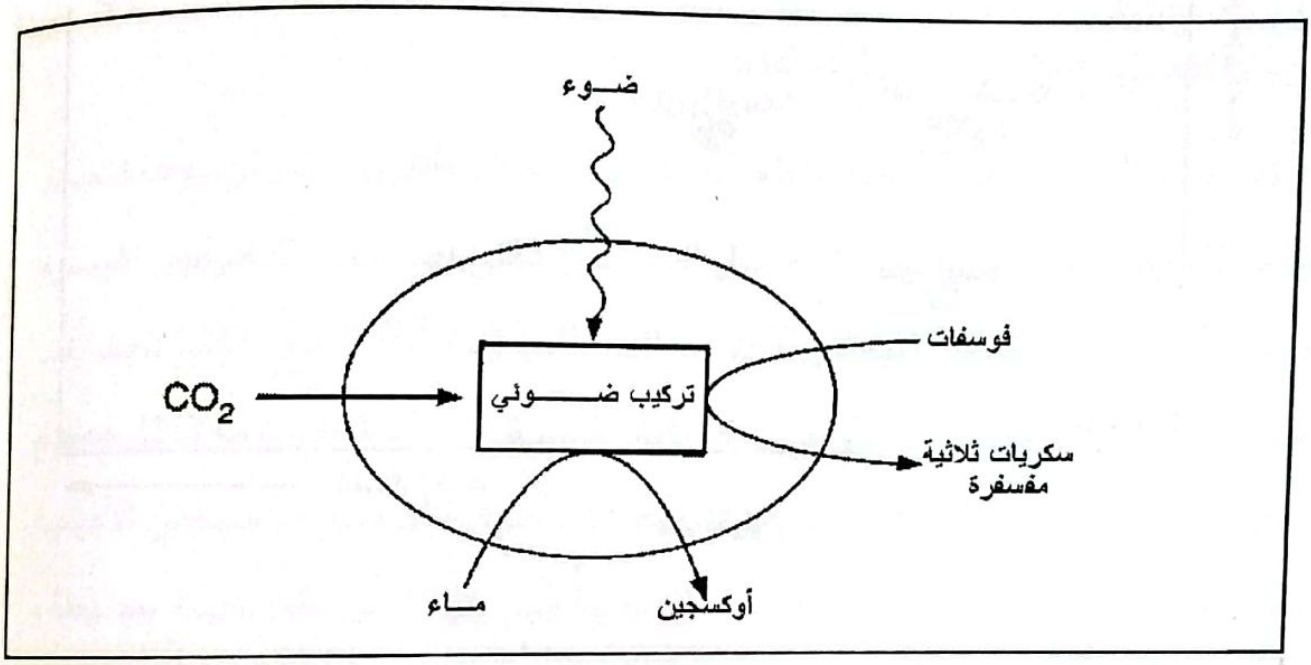
عند تناقص فترة وجود البيكربونات في الوسط مع الطحالب الحية (الحقن قرب النهاية السفلية للأنبوب)، يتناقص عدد السكريات المتشكلة، إذ وجد أنه خلال زمن قصير جداً (2 ثانية) فإنه لا يتشكل سوى مركب وحيد من هذه الحلقة وهو 3- فوسفوغليسرات (3-P-G) 3 Phosphoglycerate.

Scanned with CamScanner



الشكل (66): تمثيل تخطيطي للفصل الكروماتوغرافي الذي يُظهر نواتج تثبيت وإرجاع CO_2 عبر حلقة كالفن خلال فترتين زمنيتين مختلفتين

لقد أجريت فيما بعد نفس التجارب على صانعات خضراء سليمة معزولة، إذ لوحظ أنه عند تعريض هذه الصانعات للضوء فإنه يجري فيها نقل الكتروني وتحرير للأوكسجين بشكل مترافق مع تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون وإنتاج سكريات ثلاثية مفسفرة، وأنّه عند غياب CO_2 أو الفوسفات من الوسط فإنّه يتوقف إنتاج السكريات ويعقبه توقف النقل الالكتروني وتحرير الأوكسجين، الشكل (67).



الشكل (67): العلاقة بين استهلاك الفوسفات وثاني أكسيد الكربون وشطر الماء من جهة مع تحرر الأوكسجين وإنتاج السكريات الثلاثية عبر التركيب الضوئي.

لقد تبيّن أن المركب الأول المتشكل بعد تثبيت غاز CO_2 هو 3-فوسفوغليسرات، إذ يرتبط هذا الغاز مشكلاً الزمرة الكربوكسيلية الموسومة لهذا المركب. أما مصدر ذرتي الكربون الأخريين في هذا المركب فقد بقي مجهولاً حتى تمّ اكتشاف المستقبل الأولي لغاز CO_2 والمتمثّل بسكر الريبيلوز ثنائي الفوسفات.

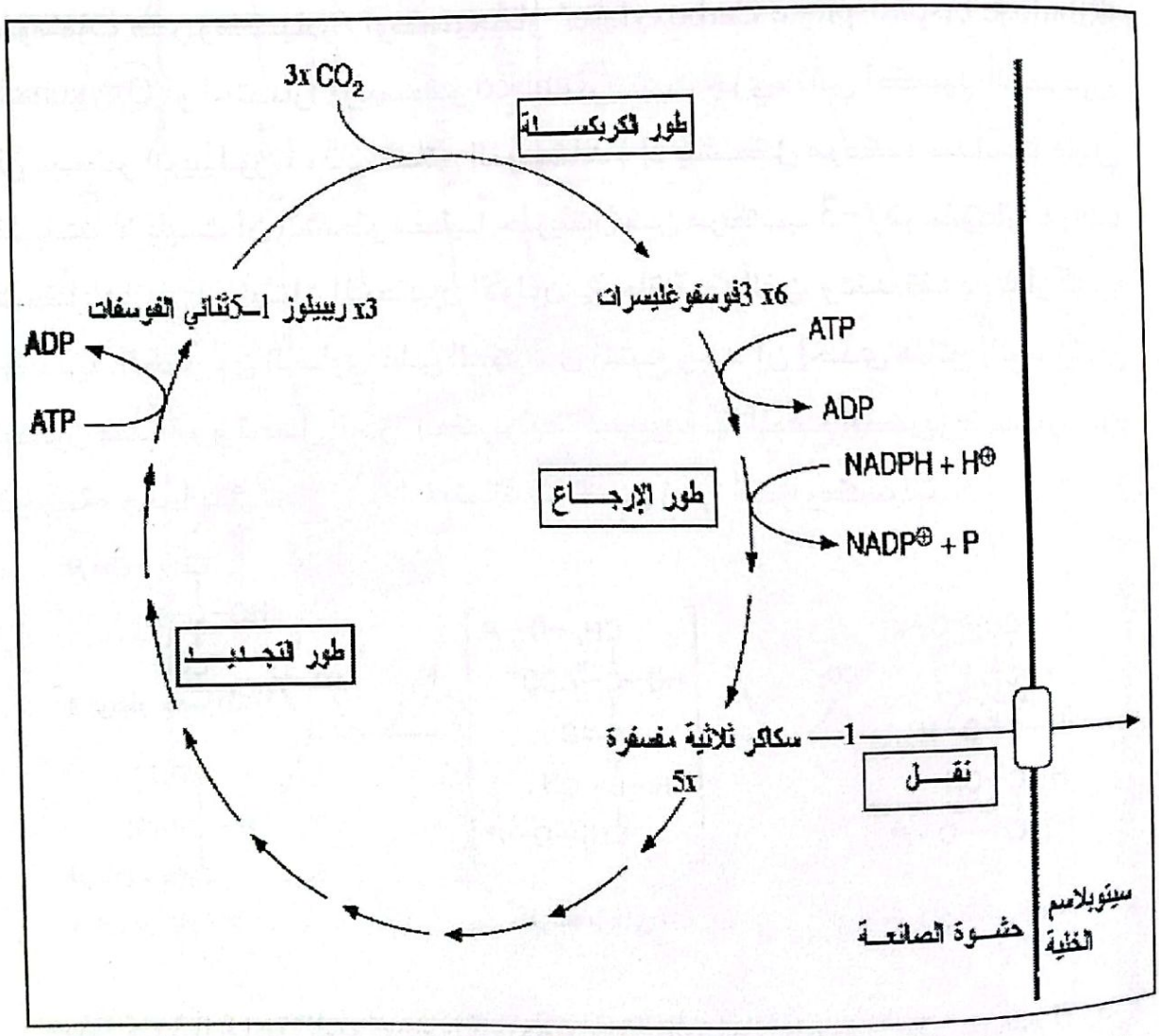
لقد اتضح فيما بعد أن حادثة تثبيت غاز CO_2 وإرجاعه تجري بشكل حلقي، إذ تبدأ من الريبيلوز ثنائي الفوسفات وتنتهي به، وأنَ هذه الحلقة تتضمن مجموعة من التفاعلات يمكن ترتيبها في ثلاثة أطوار، الشكل (68):

Scanned with CamScanner

- طور الكربسلة Carboxylation phase : يجري فيه تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون وتشكل الزمرة الكربوكسيلية ضمن مركب 3- فوسفوغليسرات.

- طور الإرجاع Reduction phase : يتمُّ فيه إرجاع هذا الغاز وتحوّل الزمرة الكربوكسيلية إلى زمرة ألدهيدية في سكريات ثلاثية يمكن لبعضها أن يغادر الصانعة إلى السيتوبلازم، أو يساهم بعضها في تشكيل سكريات سداسية الكربون في الصانعة، إلا أنّ معظمها يتابع تحوله في الحلقة.

- طور التجديد Regeneration phase : ويجري فيه تجديد المستقبل الأولي لغاز CO_2 وهو الريبيلوز ثنائي الفوسفات لأجل الاستمرار في دوران الحلقة.



الشكل (68): رسم تخطيطي لحلقة كالفن يبيّن الأطوار الثلاث ومراحل استهلاك الطاقة والنواتيدات المرجعة خلال الحلقة.

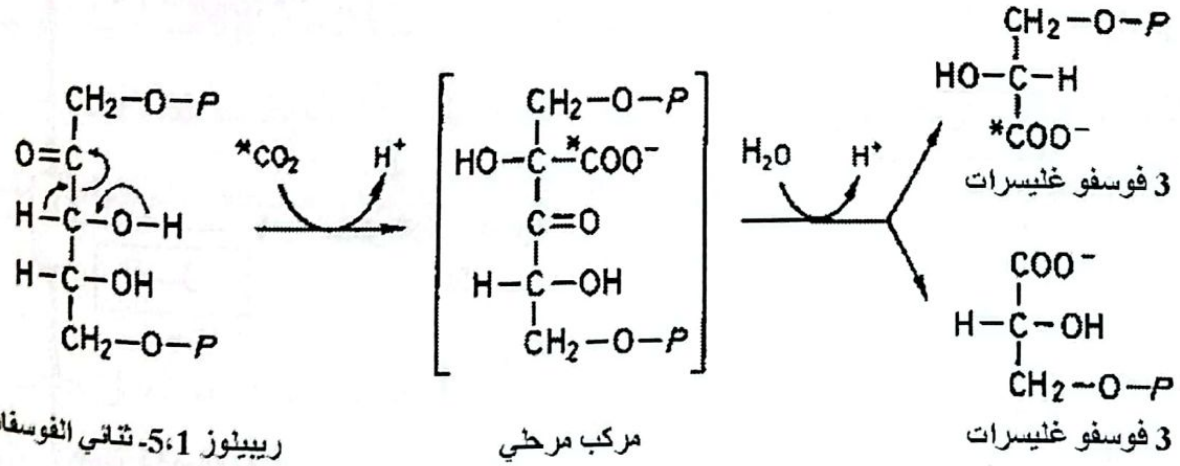
Scanned with CamScanner

تجري حلقة كالفن في حشوة الصانعة الخضراء عند النباتات الراقية و لكنه من الممكن لبعض السكريات الثلاثية المفسفرة أن تغادر الصانعة باتجاه سيتوبلازم الخلية، حيث تساهم هناك في تشكيل مواد عضوية وسكريات مختلفة.

يبيّن المخطط الموضح في الشكل (69) خطوات هذه الحلقة مع المرحلة التي يتم خلالها تثبيت غاز CO_2، والمراحل الأخرى التي يتم خلالها استهلاك النواتيدات المرجعة $NADPH+H^+$ والطاقة ATP الناجمة عن التفاعلات الضوئية.

آ- طور الكربسلة Carboxylation phase:

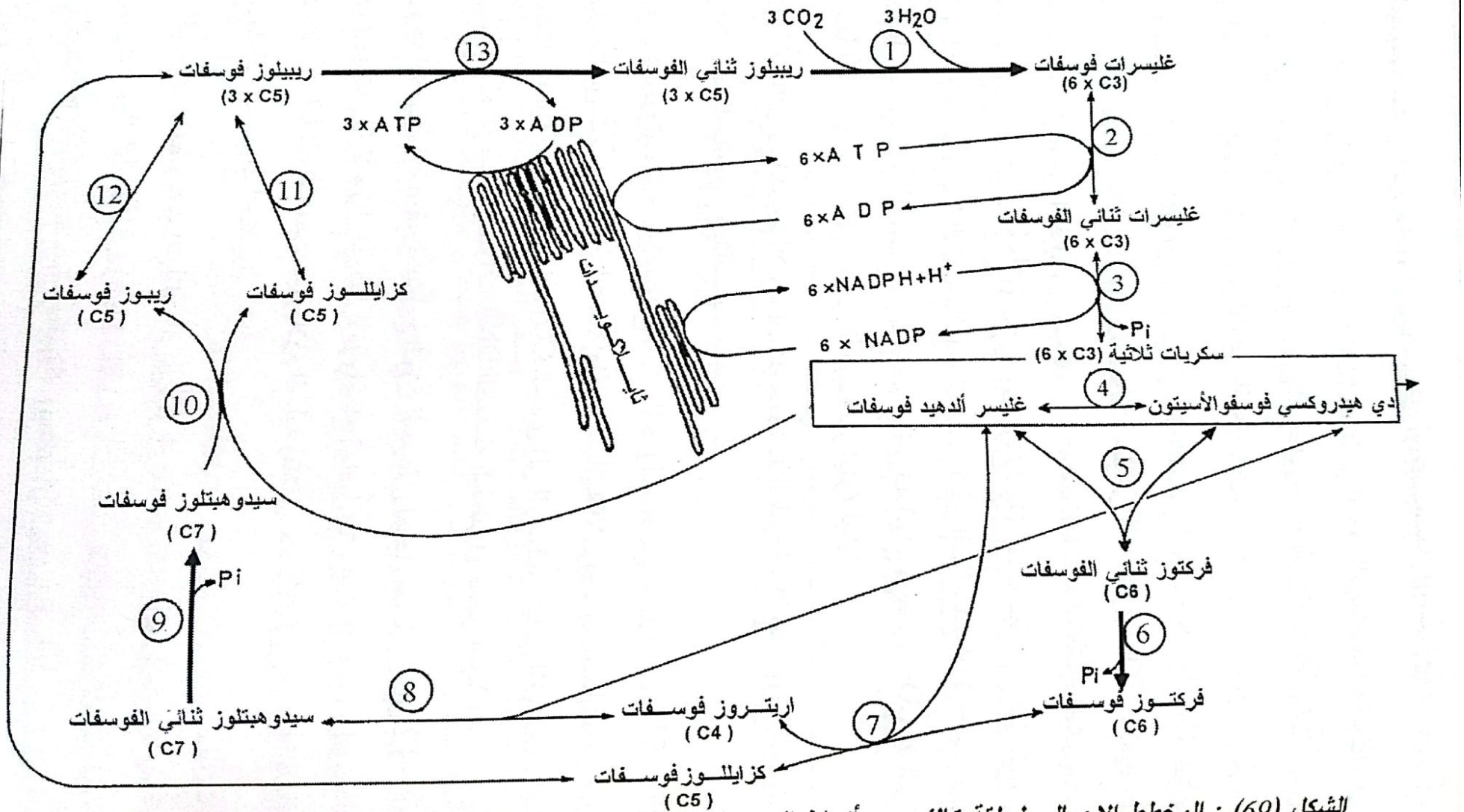
1- يقوم معقد انزيمي متخصص بالتركيب الضوئي هو انزيم الريبيلوز ثنائي الفوسفات كربوكسيلاز/ أوكسيجيناز /Ribulose bisphosphate Carboxylase Oxygenase أو اختصاراً روبيسكو Rubisco بتثبيت جزيء ثاني أكسيد الكربون إلى سكر الريبيلوز 1، 5 ـ ثنائي الفوسفات، إذ يتشكل مركباً سداسياً قليل الثبات، لا يلبث أن ينشطر معطياً جزيئتين من مركب 3- فوسفوغليسرات. تشكّل هاتان الجزيئتان المركبين الأولين في حلقة كالفن. وعند تقديم غاز ثاني أكسيد الكربون الحاوي على الكربون المشعّ وجد أن إحدى هاتين الجزيئتين تكون مشعة، و تحمل الذرة الكربونية الموسومة في الموقع الكربوكسيلي من الجزيئة، وهذا يدل على أنّ CO_2 يتم تثبيته ضمن زمرة كربوكسيلية.



ريبيلوز 1،5- ثنائي الفوسفات　　مركب مرحلي

يعتبر هذا التفاعل غير عكوس، وهو يمثل التفاعل الوحيد على سطح الأرض الذي يجري عبره تثبيت غاز ثاني أكسيد الكربون بشكل غير عكوس.

Scanned with CamScanner



الشكل (69) : المخطط الإجمالي لحلقة كالفن مع أنماط السكريات المساهمة فيها، (الخطوط السميكة: تفاعلات غير عكوسة)

Scanned with CamScanner

انزيم الريبيلوز ثنائي الفوسفات كربوكسيلاز/ أوكسيجيناز (روبيسكو) :

يوجد انزيم الروبيسكو عند جميع الكائنات التي تقوم بالتركيب الضوئي، إذ ينتشر في حشوة الصانعات الخضراء بكميات كبيرة، ويشكّل حوالي 50 ٪ من مجموع البروتينات المنحلة في الأوراق النباتية الخضراء.

يعتبر تفاعل تثبيت CO_2 إلى سكر الريبيلوز ثنائي الفوسفات بواسطة انزيم الروبيسكو تفاعلاً بطيئاً للغاية، إذ تبلغ سرعته حوالي 3.3 جزيء CO_2 / ثانية في كل مركز تفاعل ضمن الانزيم، ويعتبر هذا الرقم منخفضاً جداً مقارنة بانزيمات أخرى كالديهيدروجيناز مثلاً (10^3 جزيء ركيزة/ثانية). يفسّر بطء التفاعل السبب في الكميات الكبيرة لهذا الانزيم في الصانعات، وتبيّن الدراسات أنّ تركيز هذا الانزيم أعلى بحوالي 1000مرة من تركيز ركيزته (يبلغ تركيز CO_2 في الجو حوالي 0.03٪، وفي ماء الخلية حوالي 10ميكرو ليتر/ ليتر).

يمثل هذا الانزيم أضخم الانزيمات الموجودة في الطبيعة، إذ يبلغ وزنه الجزيئي حوالي 550 كيلودالتون، و يتألف بنيوياً من جزئين:

- **ثمان وحدات بروتينية كبيرة:** يتراوح الوزن الجزيئي لكل منها ما بين 51- 58 كيلو دالتون. تُعدّ هذه الوحدات مسؤولة عن فعالية الانزيم، إذ يحمل كل منها مركزاً تفاعلياً يعمل على تثبيت CO_2 الجوي إلى الريبيلوز ثنائي الفوسفات. يتم إصطناع هذه الوحدات بإشراف DNA الصانعة الخضراء ضمن الحشوة.
- **ثمان وحدات بروتينية صغيرة:** يتراوح الوزن الجزيئي لكل منها ما بين 12- 16 كيلو دالتون، ولا يزال دورها غير واضح تماماً. يتم إصطناع هذه الوحدات بإشراف DNA النواة ضمن سيتوبلازم الخلية وتنتقل بعد ذلك إلى حشوة الصانعة لترتبط إلى الوحدات الكبيرة.

من الجدير بالذكر عند النباتات الراقية أن أي من هاتين المجموعتين لا يمكن أن تكون فعّالة إلا إذا كانت مرتبطة بالأخرى. تنخفض قابلية هذا الانزيم لتثبيت غاز CO_2 بشكل كبير عند عزله مخبرياً، ويعتقد أنّ السبب في ذلك يعود إلى تغيُّر

Scanned with CamScanner

في التركيب البنيوي للانزيم من جراء فقدان بعض الوحدات البروتينية الصغيرة في أثناء عمليات العزل.

وبالمقابل يكون هذا الانزيم عند بعض أجناس البكتيريا ذات التركيب الضوئي، كالبكتيريا الأرجوانية Purple bacteria، مؤلفاً من وحدتين كبيرتين فقط، وتغيب الوحدات الصغيرة تماماً. وعلى الرغم من ذلك لوحظ أن فعالية هذا الانزيم لدى هذه البكتيريا لاتختلف في شدة تثبيت CO_2 وسرعته عنه لدى نفس الانزيم ذي الوحدات الست عشرة عند الطحالب والنباتات الراقية.

آلية تنشيط انزيم روبيسكو: تتألف كل من الوحدات البروتينية الكبرى من حوالي 470 حمضاً أمينياً، ويساهم الحمض الأميني ليزين Lysine في الموقع 102 من كل وحدة في تشكيل مركز كربكسلة فعال Carboxylation center.

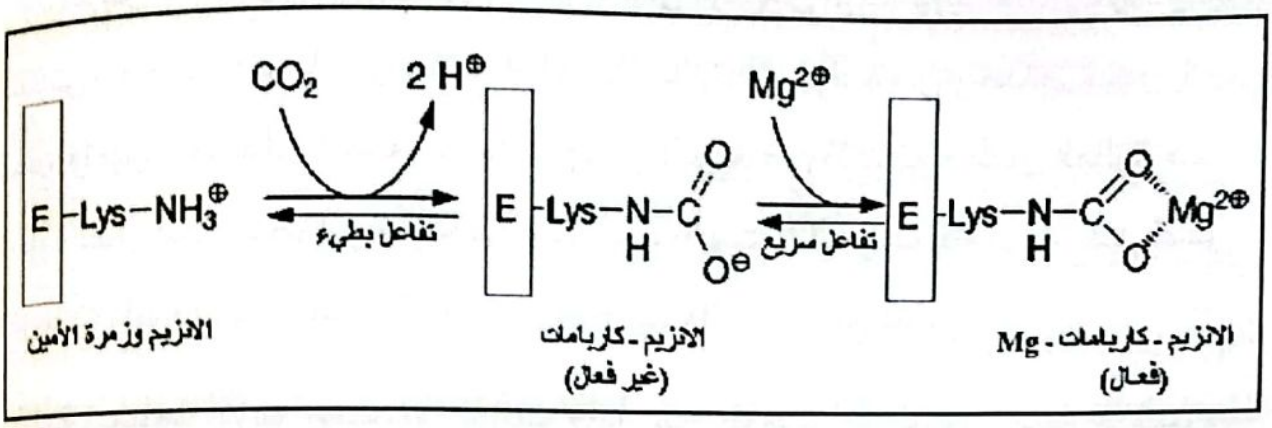
كما هو الحال عند كثير من انزيمات حلقة كالفن يكون انزيم روبيسكو خاملاً في الظلام، بينما ينشط نهاراً إذ يجري تنشيط الوظيفة الكربوكسيلية في المراكز الفعّالة في بعض أو كل وحدة كبيرة بفعل عدد من العوامل المتكاملة والمتداخلة فيما بينها وأهمها: الانزيم منشط الروبيسكو Rubisco activase و أيونات المنغنزيوم وجزيئات CO_2، وفق مايلي:

- تكون مراكز الكربكسلة على سطح الوحدات الكبيرة مثبطة بسبب ارتباط سكر الريبيلوز ثنائي الفوسفات بها بشكل غير عكوس. يقوم الانزيم منشط الروبيسكو (انزيم منتشر في حشوة الصانعة إلى جوار انزيم الروبيسكو) بفصل سكر الريبيلوز ثنائي الفوسفات عن انزيم الروبيسكو بشكل مترافق مع استهلاك الطاقة (ATP).

- تساهم جزيئة CO_2 بمهمة التنشيط هذه عن طريق ارتباطها إلى الزمرة الأمينية للحمض الأميني ليزين Lysine في مركز الكربكسلة مشكّلة مركب الكاربامات Carbamate الذي يعتبر شرطاً رئيساً لتنشيط انزيمات الروبيسكو عند جميع الكائنات التي تقوم بالتركيب الضوئي. يقوم المركز بعد ذلك بضم أيون

Scanned with CamScanner

مغنيزيوم Mg^{+2} إليه متحولاً إلى الشكل النشط. تجري عملية التنشيط نتيجة تبدل في الوضع الفراغي للوحدة البروتينية، وتقوم أيونات المغنيزيوم بتثبيت الوضع الفراغي الجديد والمحافظة عليه، الشكل (70).



الشكل (70): تنشيط انزيم روبيسكو بواسطة CO_2 والمغنيزيوم

لا بد من التأكيد هنا على أن جزيئة CO_2 المرتبطة إلى الانزيم لا تقوم بدور الركيزة، بل تعمل فقط على تنشيط مركز الكربكسلة في كل وحدة انزيمية ترتبط إليها. يقوم المركز بعد ذلك بتثبيت جزيئة CO_2 أخرى (ركيزة) إلى المستقبل الأولي وهو الريبيلوز ثنائي فوسفات.

الوظيفة الكربوكسيلية والأوكسجينية للروبيسكو: يقوم انزيم الريبيلوز ثنائي الفوسفات كربوكسيلاز / أوكسيجيناز بوظيفة جانبية أخرى وهي الوظيفة الأوكسجينية. كما يتضح من تسميته. إذ يتوسط أيضاً تفاعل سكر الريبيلوز 1- 5 ثنائي الفوسفات مع جزيئات الأوكسجين، مما ينجم عنه تشكيل جزيئات غليكولات فوسفات وغليسرات فوسفات كما سنرى عند دراستنا للتنفس الضوئي:

$$\text{Ribulose1,5 -P} + O_2 \xrightarrow{\textit{Rubisco}} \text{Glycolate - P} + \text{Glycerate -P}$$

وهذا يفسر مرة أخرى الحاجة إلى تراكيز عالية من هذا الانزيم ضمن حشوة الصانعة لتعويض النقص الحاصل بسبب انشغال بعض جزيئات الانزيم بتثبيت الأوكسجين بدلاً من ثاني أكسيد الكربون. يتطلب استقلاب الغليكولات طاقة عالية من النبات، تقدّر بحوالي 50٪ من مجمل الطاقة المستخدمة في حلقة

Scanned with CamScanner

كالفن..علماً بأنّ استقلاب هذا المركب الثانوي (الغليكولات) عديم الفائدة بالنسبة للنبات، فهو يمثّل نوعاً من اللهو غالي الثمن.

صحيح أن قابلية انزيم الروبيسكو للأوكسجين هي أقل منها بالنسبة لغاز CO_2 في الحالة الطبيعية إذ تكون النسبة أوكسيجيناز/ كربوكسيلاز = 1 / 4، ولكن هذه النسبة يمكن أن ترتفع لتصبح (1 / 2) عند ارتفاع نسبة الأوكسجين في الوسط عن حدها الطبيعي (20٪) أو عندما يطرأ خلل على جهاز التركيب الضوئي. تبدو أهمية الوظيفة الأوكسجينية لهذا الانزيم غير واضحة تماماً حتى الآن، على الرغم من وجود بعض النظريات التي تقول بأنّ للوظيفة الأوكسجينية دوراً في التخلص من الفائض من كل من ATP، $NADPH+H^+$ التي تنتجها التفاعلات الضوئية بشكل كبير. كما لا يزال هناك في عصرنا الحالي (عصر الهندسة الجزيئية) سؤال يشغل الباحثين وهو:

هل يمكن تحت شروط معينة أن يقوم هذا الانزيم بالوظيفة الكربوكسيلية فقط دون الوظيفة الأوكسجينية ؟!.

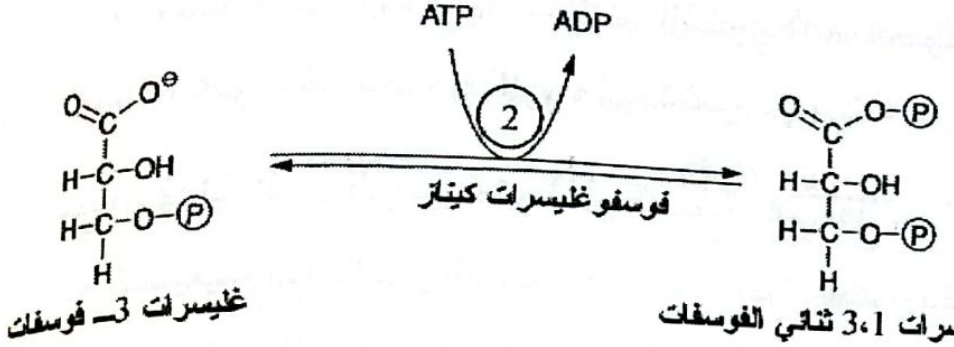
ب - طور الإرجاع Regeneration phase:

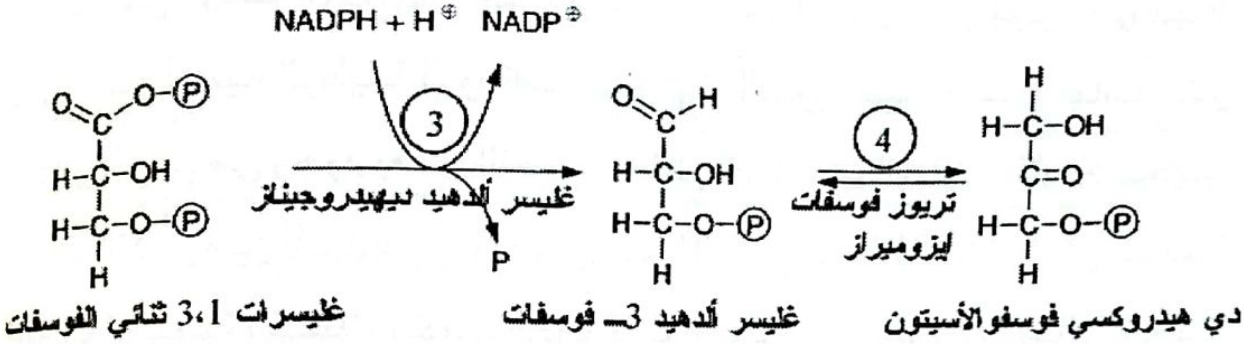
يعتبر هذا الطور أهم أطوار حلقة كالفن، إذ يتم خلاله تحويل غاز ثاني أكسيد الكربون إلى زمرة كربونية ضمن مركّب عضوي ثابت. لكي يتحقّق هذا الفعل لا بد من استهلاك الهيدروجين من $NADPH+H^+$ والطاقة من ATP الناجمين عن فعل الضوء في النقل الالكتروني الضوئي والفسفرة الضوئية.

2- يتحوّل غليسرات 3- فوسفات إلى مركب غليسرات 1- 3 ثنائي الفوسفات ويترافق ذلك مع استهلاك الطاقة، إذ تتحوّل جزيئة ATP إلى ADP.

يعتبر هذا التفاعل عكوساً، ويجري بوساطة انزيم فوسفوغليسرات – كيناز Phosphoglycerate kinase الذي يوجد أيضاً في سيتوبلازم الخلية، ويُشارك في التحلّل السكري Glycolysis، إذ يجري إنتاج الطاقة من ADP والغليسرات ثنائي الفوسفات.

Scanned with CamScanner





3- يمكن للزمرة الكربوكسيلية لمركّب غليسرات 1- 3 ثنائي الفوسفات التي أصبحت مرتفعة طاقياً بعد ارتباطها بالفوسفور أن تتحوّل إلى زمرة ألدهيدية، إذ تحدث عملية الإرجاع الحقيقي، وبالتالي ينتج لدينا مركّب غليسر ألدهيد 3- فوسفات. تحتاج عملية الإرجاع إلى نواتيدات مرجعة $NADPH+H^+$ وتترافق مع تحرُّر جزيئة فوسفات غير عضوي.

يحدث هذا التفاعل بفعل انزيم غليسر ألدهيد فوسفات- ديهيدروجيناز المرتبط مع NADP (NADP-GAP-dehydrogenase). إذ يتفاعل الانزيم مع الزمرة الكربوكسيلية المرتفعة طاقياً ضمن مركّب غليسرات 1- 3 ثنائي فوسفات محوّلاً إياها إلى زمرة ألدهيدية. يبلغ الوزن الجزيئي لهذا الانزيم حوالي 170 كيلو دالتون، ويُعتبر مميزاً للصانعات الخضراء. من المعروف حالياً أنّه يوجد لهذا الانزيم نظير في سيتوبلازم الخلية، ويرتبط بـ NAD إذ يعمل هناك ضمن مسار التحلل السكري على أكسدة الغليسر ألدهيد إلى غليسرات ثنائي الفوسفات مانحاً الالكترونات إلى NAD التي تساهم لاحقاً في تحرير الطاقة (ATP)، بينما نلاحظ هنا أنّ انزيم الغليسر ألدهيد فوسفات ديهيدروجيناز يستمد الالكترونات والبروتونات من $NADPH+H^+$ ويمنحها إلى الغليسرات 1- 3 ثنائي الفوسفات. وهنا

Scanned with CamScanner

يظهر الفرق جلياً بين دور كل من NAD و NADP في عمليات الاستقلاب؛ فبينما تمثل NAD/NADH وعاءً يجري فيه تجميع المرجعات لإنتاج الطاقة لاحقاً، يتلخص دور $NADP/NADPH+H^+$ في تأمين المرجعات اللازمة لعمليات الاصطناع الحيوي.

4- يمكن لسكر الغليسر ألدهيد 3- فوسفات أن يتحول إلى السكر الكيتوني دي هيدروكسي فوسفو الأسيتون. يكون هذا التفاعل عكسياً، وهذا يعني أنّ السكر الثلاثي الناتج يمكن أن يوجد في حلقة كالفن في كلا الشكلين.

يجري هذا التفاعل بفعل انزيم التريوز فوسفات- ايزوميراز Triose phosphate isomerase، الذي يعمل في كلا الاتجاهين وذلك حسب الحاجة لأحد هذين المركّبين في الخلية. تكون نسبة السكر الكيتوني (دي هيدروكسي فوسفو الأسيتون) مرتفعة، وتبلغ حوالي 96٪، بينما تبلغ حوالي 4٪ للسكر الألدهيدي (الغليسر ألدهيد 3- فوسفات). ولكن عند الحاجة إلى السكر الألدهيدي يقوم انزيم التريوز فوسفات إيزوميراز بالعمل سريعاً محولاً دي هيدروكسي الأسيتون إلى الغليسر ألدهيد.

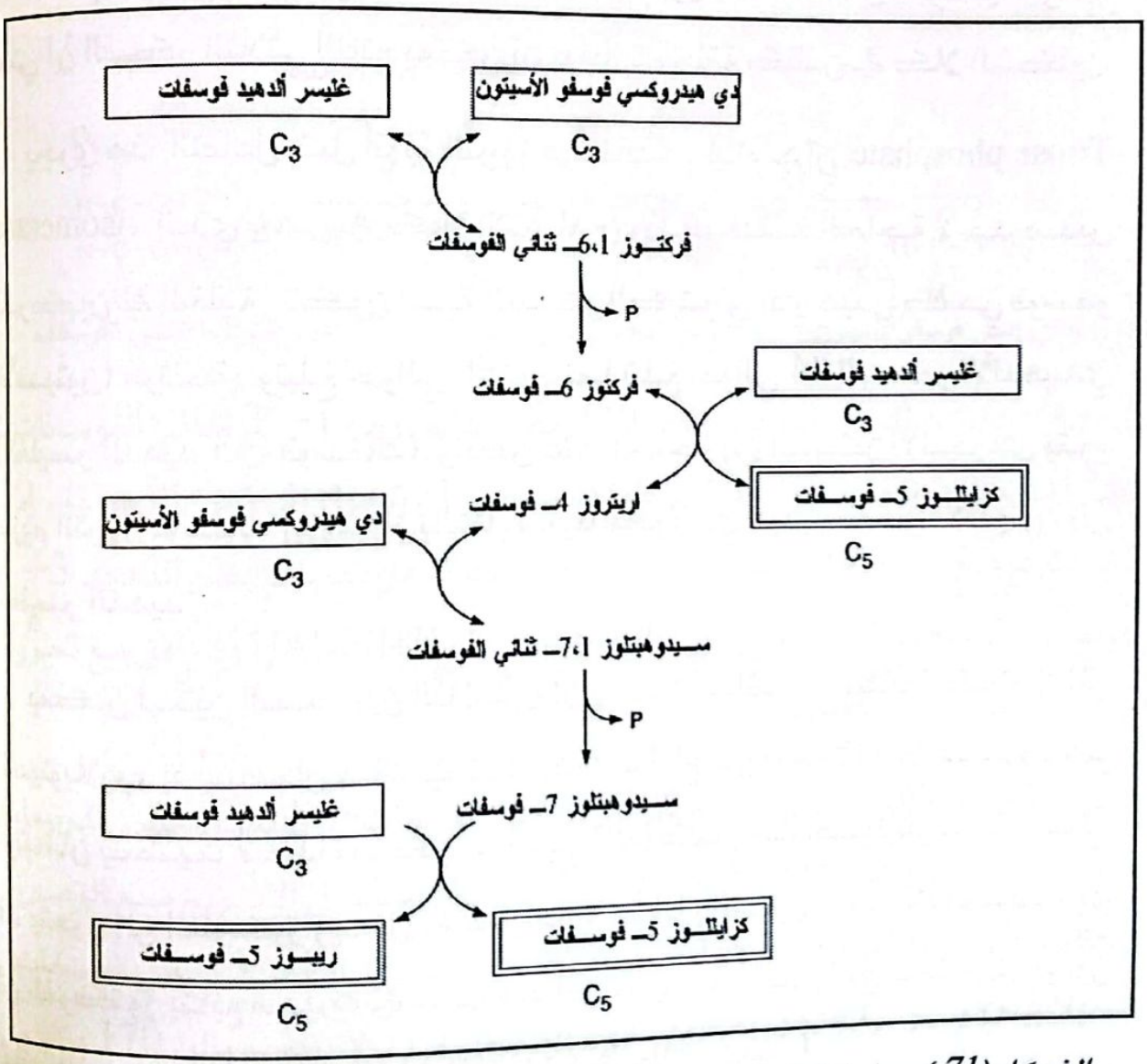
يمكن لهذين السكرين الثلاثيّين أن يغادرا الحلقة والصانعة ككل إلى السيتوبلازم، إذ يُساهمان هناك في تفاعلات اصطناع حيوي مختلفة. كما أنّهما قد يرتبطان ببعضهما لإعطاء سكر سداسي (الفركتوز) في حشوة الصانعة، الذي قد يتحول إلى الغلوكوز ويدخل في عمليات الاصطناع الحيوي للنشاء في الصانعة، أو أنّ الفركتوز يتابع مسيرته في حلقة كالفن باتجاه تجديد إنتاج سكر الريبيلوز ثنائي الفوسفات (المستقبل الأولي لغاز CO_2 في حلقة كالفن).

ج - طور التجديد Regeneration phase :

لو حسبنا محصلة تفاعلات تثبيت وإرجاع غاز ثاني أكسيد الكربون في حلقة كالفن حتى هذه المرحلة لوجدنا أنّه عندما يجري تثبيت ثلاث جزيئات من CO_2 يتشكّل لدينا ست جزيئات من السكريات الثلاثية (دي هيدروكسي فوسفو الأسيتون والغليسر ألدهيد فوسفات). في الحقيقة يتمثل الربح الصافي للحلقة في هذه

Scanned with CamScanner

الحالة بجزيئة وحيدة من السكر الثلاثي التي يمكن أن تغادر الحلقة لتساهم في عمليات الاصطناع الحيوي في أماكن أخرى من الخلية، بينما تكون جزيئات السكر الثلاثي الخمس المتبقية ضرورية لمتابعة دوران الحلقة. يجري في طور التجديد إنتاج ثلاث جزيئات من السكريات الخماسية وذلك من الجزيئات الخمس للسكريات الثلاثية، وفق المخطط المبيّن في الشكل (71).



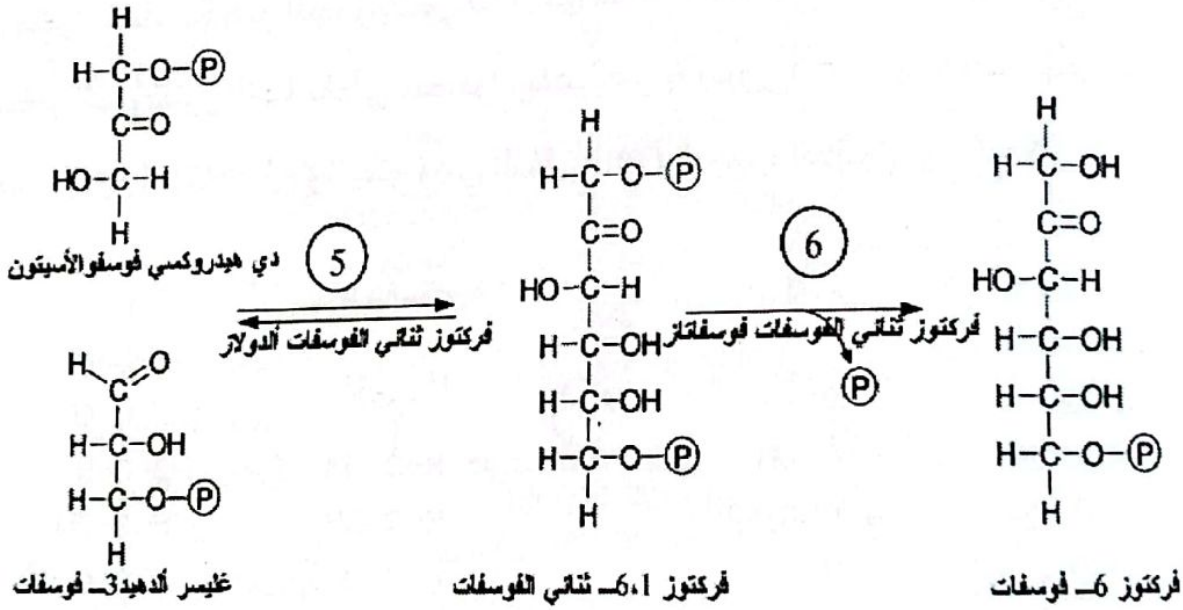
الشكل (71): مراحل إنتاج ثلاث جزيئات من السكريات الخماسية من خمس جزيئات من السكريات الثلاثية خلال طور التجديد

تمثل تفاعلات هذا الطور الصورة العكسية لممر البنتوز فوسفات Pentose phosphate pathway الذي يجري في سيتوبلازم الخلية، كما أنّ كثيراً من انزيمات هذا الطور تُعدّ أيضاً فعّالة في تفاعلات أكسدة السكريات عبر ممر البنتوز فوسفات.

Scanned with CamScanner

5- ترتبط جزيئة من الغليسر ألدهيد 3- فوسفات مع جزيئة من دي هيدروكسي فوسفو الأسيتون بعملية تكثيف، إذ ينتج لدينا سكراً سداسياً هو الفركتوز 1- 6 ثنائي الفوسفات Fructose 1,6 phosphate .

يجري هذا التفاعل بفعل انزيم متخصص بجهاز التركيب الضوئي هو الفركتوز ثنائي الفوسفات – ألدولاز Fructose bisphosphate aldolase الذي يحتاج إلى أيونات التوتياء Zn^{+2} والمنغنيز Mn^{+2} في أداء وظيفته.



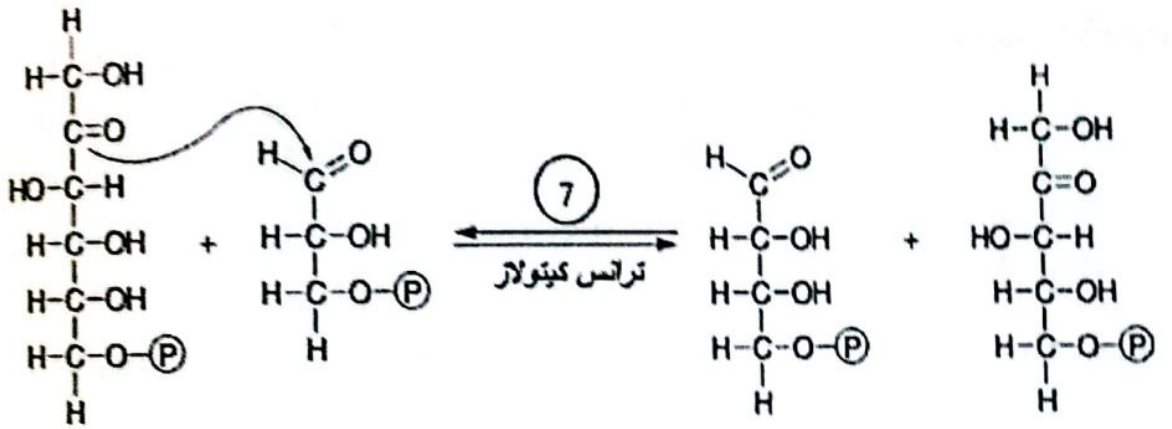
6- يفقد سكر الفركتوز 1- 6 ثنائي الفوسفات جزيئة الفوسفات من الموقع (1) ويتحوّل بفعل انزيم فركتوز ثنائي الفوسفات – فوسفاتاز Fructose bisphosphate phosphatase إلى سكر الفركتوز 6- فوسفات. يعتبر هذا الانزيم أيضاً من الانزيمات المتخصصة بالتركيب الضوئي، ويحتاج لأيونات المغنزيوم من أجل تنشيطه.

وعلى هذا النحو يكون قد تم تثبيت جزيئة CO_2 وإرجاعها وإنتاج سكر سداسي كما في المعادلة العامة للتركيب الضوئي، ولكن هذا لايعني أن يغادر هذا السكر الحلقة، بل يمكن أن يتحول إلى غلوكوز ويساهم في اصطناع النشاء داخل الصانعات، أو أنّه يتابع ضمن حلقة كالفن.

Scanned with CamScanner

7- يتفاعل سكر الفركتوز 6- فوسفات مع السكر الثلاثي غليسر ألدهيد 3- فوسفات الناتج في المرحلة (3) أو (4). يجري التفاعل بوساطة انزيم ترانس كيتولاز Transketolase، إذ ينتج سكران أحدهما خماسي وهو الكزايللوز 5- فوسفات والآخر رباعي وهو الأريتروز 4- فوسفات، الشكل (69).

يتمثل دور انزيم ترانس كيتولاز في نقل ذرتي الكربون (1) و(2) من سكر الفركتوز 6- فوسفات إلى السكر الثلاثي غليسر ألدهيد 3- فوسفات معطياً سكراً خماسياً هو الكزايللوز 5- فوسفات. أما ذرات الكربون المتبقية من سكر الفركتوز فإنها تعطي سكراً رباعياً هو الايتروز 4- فوسفات. تأتي تسمية هذا الانزيم استناداً إلى وظيفته وهي النقل Trans للزمرة الكيتونية Keto.

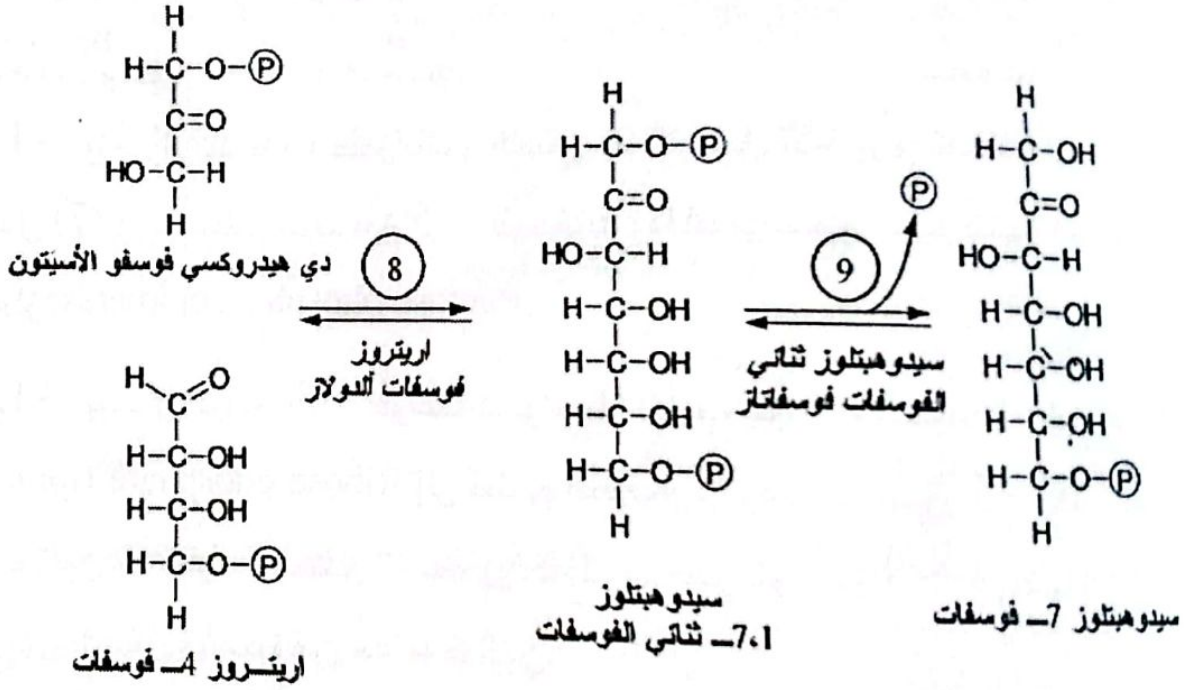


فركتوز 6ـ فوسفات غليسرألدهيد 3ـ فوسفات اريتروز 4ـ فوسفات كزايللوز 5ـ فوسفات

8- لا يلبث سكر الايتروز 4- فوسفات أن يتحد مع السكر الثلاثي دي هيدروكسي فوسفو الأسيتون الناتج في التفاعل (4) معطياً سكراً سباعياً هو السيدوهبتلوز 1،7 ثنائي الفوسفات . يجري التفاعل بواسطة انزيم اريتروز فوسفات الدولاز Erythrose phosphate aldolase وهو انزيم متخصص بجهاز التركيب الضوئي كمثيله في التفاعل (5). من الجدير بالذكر أنّ انزيمات الألدولاز المتخصصة بالتركيب الضوئي تختلف عن تلك الموجودة في سيتوبلازم الخلية بأنّها متخصصة جداً بربط السكر الكيتوني دي هيدروكسي فوسفوالأسيتون إلى مركّبات أخرى ضمن حلقة كالفن. إضافةً إلى أنّها تحتاج إلى أيونات المغنزيوم والتوتياء لكي تُصبح نشطة فعّالة.

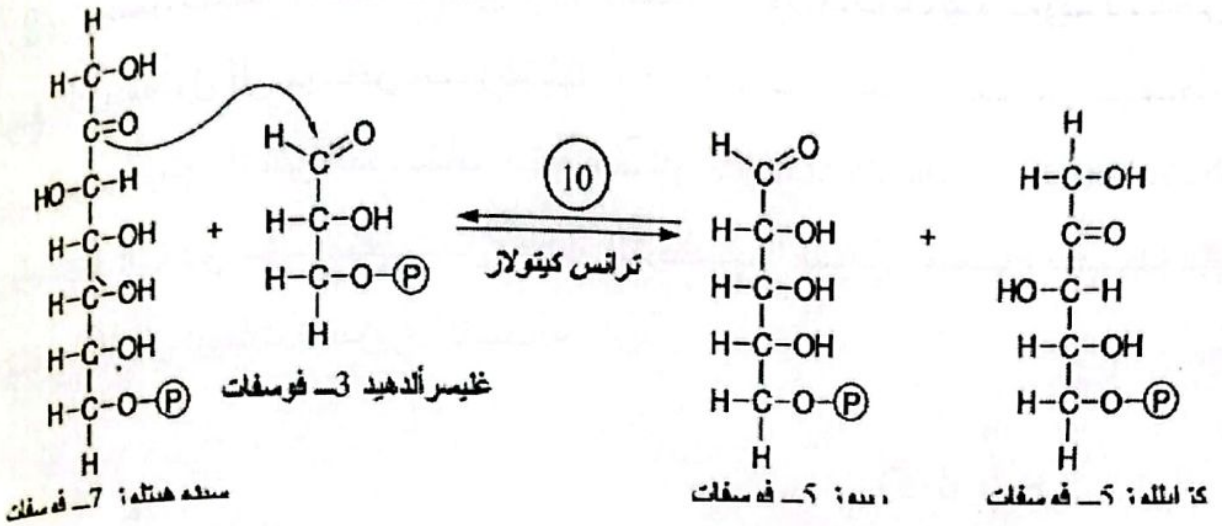
Scanned with CamScanner

9- يخسر سكر السيدوهبتلوز 1- 7 ثنائي الفوسفات جزيئة الفوسفات من الموقع (1) ويتحول إلى سكر سيدوهبتلوز 7- فوسفات. يجري التفاعل بواسطة انزيم سيدوهبتلوز ثنائي الفوسفات – فوسفاتاز Sedoheptulose bisphosphate phasphotase وهو انزيم متخصّص بجهاز التركيب الضوئي، ويحتاج كمثيله في التفاعل (6) إلى أيونات المغنزيوم لتنشيطه.



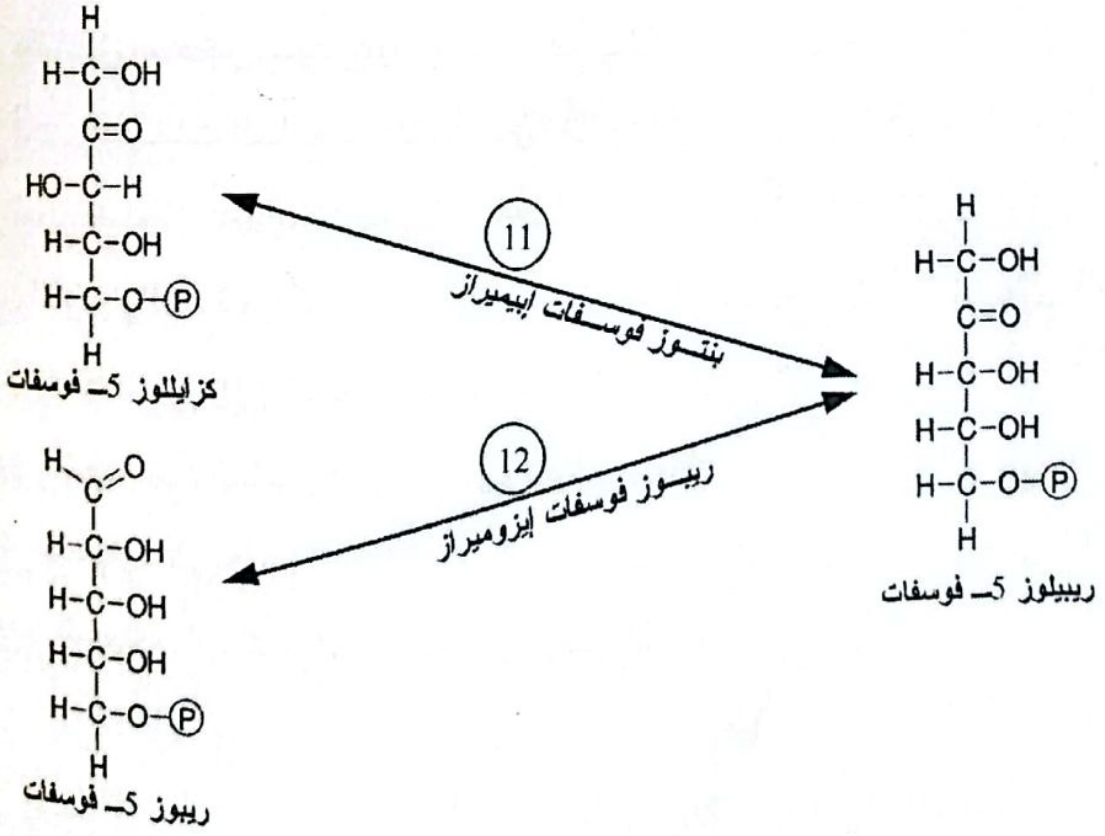
10- يتفاعل سكر سيدوهبتلوز 7- فوسفات مع السكر الثلاثي غليسر ألدهيد 3- فوسفات الناتج في التفاعلين (3) و(4). يجري هذا التفاعل بواسطة انزيم ترانس كيتولاز Transketolase، كما ورد في التفاعل (7)، إذ يتمّ نقل ذرتي الكربون الأولى والثانية من السيدوهبتلوز وربطهما إلى سكر الغليسرألدهيد 3- فوسفات، الذي يتحوّل إلى سكر خماسي هو الكزايللوز 5- فوسفات. أما ذرات الكربون المتبقية من السيدوهبتلوز فإنها تعطي سكراً خماسياً هو الريبوز 5- فوسفات. يكون حتى هذه المرحلة قد تم عبر حلقة كالفن الحصول على ثلاث جزيئات من السكريات الخماسية (جزيئتي كزايللوز وجزيئة ريبوز).

Scanned with CamScanner



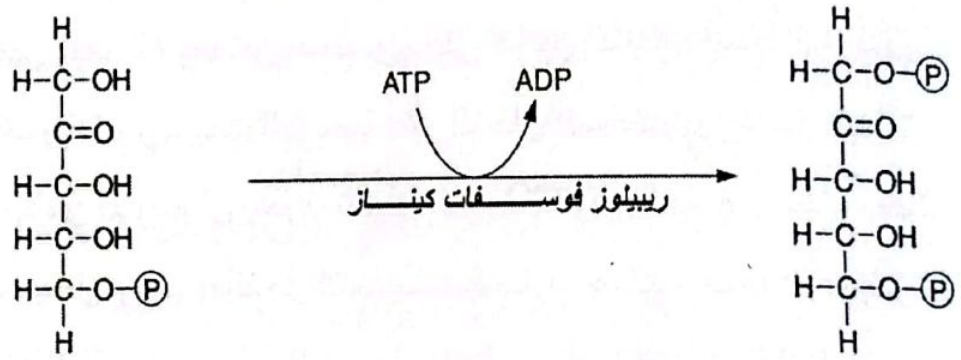
11- يتحوّل سكر الكزايللوز الناتج في التفاعل الأخير وكذلك الناتج في التفاعل (7) إلى سكر الريبيلوز 5- فوسفات وذلك بواسطة انزيم بنتوز فوسفات ابيميراز Pentose phosphate epimerase.

12- يتحوّل الريبوز 5- فوسفات بواسطة انزيم ريبوز فوسفات – ايزوميراز Ribose phosphate isomerase إلى نظيره الكيتوني وهو الريبيلوز 5- فوسفات. بهذا تكون قد تحوّلت معظم السكريات إلى سكر الريبلوز 5- فوسفات، الذي يمثّل المرحلة قبل الأخيرة من حلقة كالفن.



Scanned with CamScanner

13- تتحوّل في المرحلة الأخيرة من حلقة كالفن الجزيئات الثلاث لسكر الريبيلوز 5- فوسفات إلى ثلاث جزيئات لسكر الريبلوز 1- 5 ثنائي الفوسفات بشكل مترافق مع استهلاك الطاقة الناجمة عن التفاعلات الضوئية. وبذلك تكون الحلقة قد اكتملت ووصلنا إلى المستقبل الأولي لغاز CO_2 . يحدث هذا التفاعل بواسطة انزيم ريبيلوز فوسفات كيناز Ribulose phosphate kinase وهو انزيم متخصّص بالتركيب الضوئي ويحتاج لأيونات المغنزيوم من أجل تنشيطه.



ريبيلوز 1،5ـ ثنائي الفوسفات ريبيلوز 5ـ فوسفات

لو نظرنا إلى الشكل (69) فإننا نستطيع تلخيص حلقة كالفن كما يلي:

يحتاج تثبيت جزيئة واحدة من غاز ثاني أكسيد الكربون وإرجاعها إلى جزيئتي $NADPH+H^+$ وثلاث جزيئات ATP. وإذا أردنا حساب اللازم لإنتاج جزيئة سكر سداسي عبر الحلقة فإنّ ذلك يعني تثبيت ست جزيئات CO_2 وإرجاعها بشكل مترافق مع استهلاك 18 جزيئة ATP (يتم استهلاك ست منها في التفاعل رقم 13، بينما يتم استهلاك المتبقي في التفاعل رقم 2) و 12 جزيئة $NADPH+H^+$ (يتمُ استهلاكها في التفاعل رقم 3). بأخذ جميع تفاعلات هذه الحلقة بعين الاعتبار فإنه يمكننا كتابة المحصلة العامة لها على الشكل :

$$6CO_2 + 12\,NADPH+H^+ + 18\,ATP + 6H_2O \rightarrow$$
$$C_6 \sim P + 12NADP + 18\,ADP + 17Pi$$

لقد وجد أنَ تثبيت وإرجاع غاز CO_2 عبر حلقة كالفن يجري بنفس الطريقة عند جميع المتعضيات النباتية ذات التركيب الضوئي.

Scanned with CamScanner

تحديد وتنظيم سير حلقة كالفن :

بعد استعراض تفاعلات حلقة كالفن يتبيّن لنا للوهلة الأولى أنّ هذه الحلقة لا تتطلب الضوء من أجل جريانها إلا بشكل غير مباشر. إذ إنّ الضوء يوفّر لها عبر النقل الالكتروني والفسفرة الضوئية الطاقة والنواتيدات المرجعة التي يجري استهلاكها خلال التفاعلات 2، 3، 13. ومنه يمكننا أن نستنتج أنّ سير هذه الحلقة سيكون مثالياً في الضوء، إذ يتم الإمداد بـ ATP والمرجعات بشكل جيد وكافٍ. ولكن وبما أنّه يمكن الحصول على هاتين المادتين أيضاً من خلال عمليات الأكسدة الحيوية للمركّبات العضوية عبر التحلُّل السكري ومسار البنتوز فوسفات التأكسدي، فمن المتوقّع أن يجري تثبيت غاز CO_2 وإرجاعه عبر حلقة كالفن أيضاً في الظلام بشكل جيد. وبالفعل لقد بيّنت تجارب هيلد وفردان وفيرتز Heldt، Werdan، Wirtz أنّ الصانعات الخضراء المعزولة قادرة أيضاً في الظلام على تثبيت وإرجاع غاز CO_2 شريطة إمداد الوسط بـ ATP والمرجعات اللازمة بشكل مستمر.

لكن جريان حلقة كالفن على حساب عمليات الأكسدة الحيوية سيكلّف الخلية النباتية طاقة إضافية ويؤدي بالمحصلة إلى خسارة طاقية لم تكن في الحسبان. وهنا تتبيّن لنا الضرورة القصوى إلى وجود آلية تنظّم عمل هذه الحلقة. كي ينخفض نشاطها ليلاً، وبالتالي يتناقص معدّل استهلاكها للطاقة وللنواتيدات الناجمة عن العمليات الحيوية التأكسدية، بالإضافة إلى ذلك يتوجب على هذه الآلية أن تحرض نهاراً على عمل الحلقة، وتقلّل بالوقت نفسه من معدّل أكسدة السكريات عبر مسار البنتوز فوسفات في الصانعات الخضراء.

لقد تبيّن فعلاً أنّ بعض انزيمات حلقة كالفن تنشط نهاراً بفعل التأثير غير المباشر للضوء، ويجري استهلاك فعّال لنواتج التفاعلات الضوئية. بينما ينخفض نشاط هذه الانزيمات في ساعات الليل المتأخرة إذ يتوقف سير الحلقة.

يمكننا تلخيص الآليات التي تنظم عمل هذه الانزيمات في أربعة أشكال رئيسة:

Scanned with CamScanner

1- دور الفريدوكسين - الثيوريدوكسين :

يلعب الناقل الالكتروني فريدوكسين (Fd) المترتب على الغشاء الثايلاكويدي من جهة حشوة الصانعة دوراً بارزاً في تحديد فعالية بعض الانزيمات الحاوية على زمر كبريتية وظيفية. إذ يمكن لهذه الزمر أن تكون مرجعة (-SH) أو مؤكسدة (-S-S-)، وهذا يقود إلى تغيّر في البنية البروتينية وبالتالي في فعالية الانزيم بحسب الحالة المؤكسدة أو المرجعة التي يوجد فيها. من بين هذه الانزيمات نذكر بعض انزيمات حلقة كالفن، ومثالها الفركتوز 6، 1 ثنائي الفوسفات فوسفاتاز، السيدوهبتلوز 1،7 ثنائي الفوسفات فوسفاتاز، والريبيلوز 5- فوسفات كيناز.

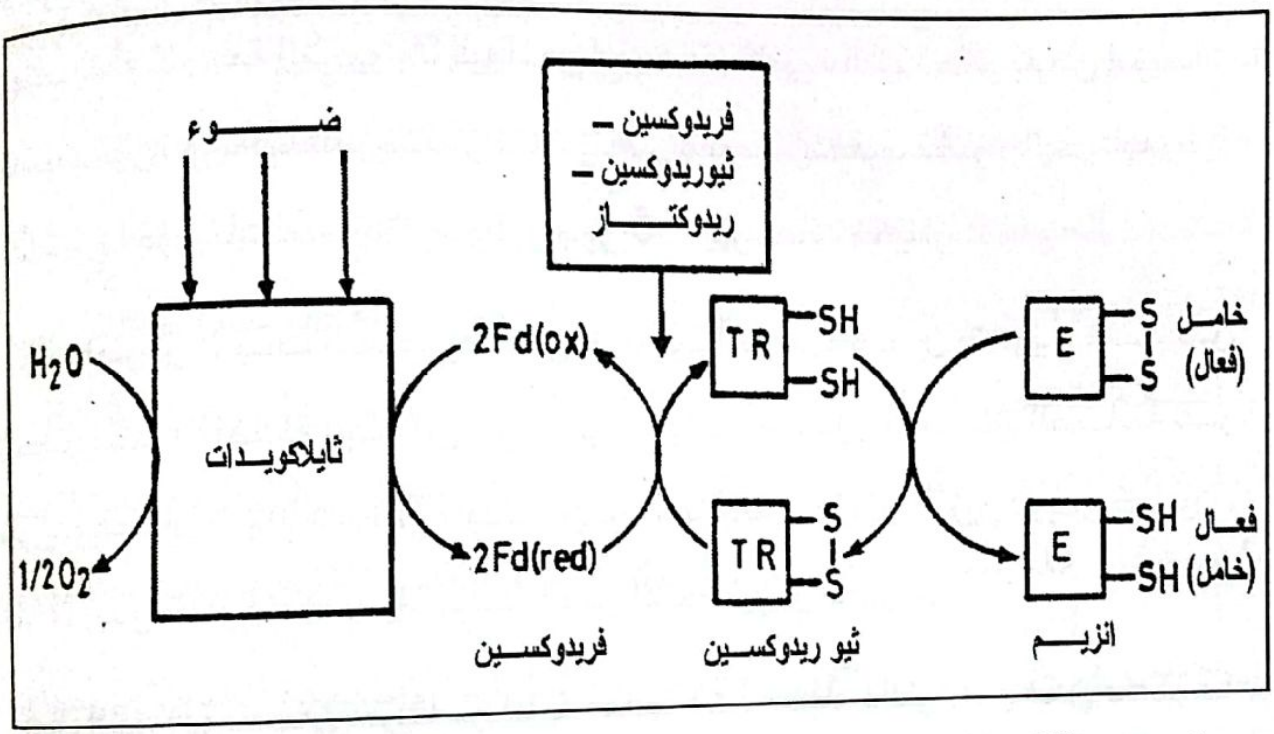
عند تعرّض النبات للضوء يمكن أن يقوم الفريدوكسين بتحويل قسم من الالكترونات الواصلة إليه إلى مركّب بروتيني منحل في حشوة الصانعة هو الثيوريدوكسين Thioredoxin، بدلاً من تحويلها بالكامل إلى انزيم فريدوكسين - NADP ريدوكتاز (FNR) في سلسلة النقل الالكتروني الضوئي.

يمثّل الثيوريدوكسين جزيئاً بروتينياً صغيراً (12 كيلو دالتون)، يحمل مجموعة كبريتية وظيفيّة مؤلفة من زمرتي سلفهيدريل (-SH) متجاورتين تنتجان عن حمضي سيستيئين متجاورين في بنيته. يمكن لهاتين الزمرتين أن تبقيا حرتين (الشكل المرجع) أو ترتبطا معاً (-S-S-) بجسور كبريتية (الشكل المؤكسد).

تُعدّ جزيئات الثيوريدوكسين واسعة الانتشار في خلايا الكائنات الحية من البكتيريا البدائية حتى النباتات الراقية والحيوانات، وهي تمثل مركبات مؤكسدة مرجعة تقوم بنقل الالكترونات والبروتونات إلى العديد من البروتينات الانزيمية في الخلية، إذ تستهدف الزمر الكبريتية في هذه البروتينات محوّلة إياها بين شكل مؤكسد أو مرجع (-S - S- ↔ -SH)، وتلعب من خلال ذلك دوراً منظماً للعديد من التفاعلات الحيوية في الخلية كعمل الهرمونات، وتخثر الدم لدى الحيوانات، وتنشيط الانزيمات في أثناء إنبات البذور. وتلعب جزيئات الثيوريدوكسين المنحلّة هنا

Scanned with CamScanner

في حشوة الصانعة الخضراء دوراً منظماً لعمل انزيمات حلقة كالفن عن طريق نقلها للالكترونات إلى الانزيمات الحاوية على زمر كبريتية ضمن حشوة الصانعة مؤدية إلى إرجاعها. بينما يجري إرجاع الثيوريدوكسين من الفريدوكسين بفعل انزيم فريدوكسين - ثيوريدوكسين - ريدوكتاز Ferrodoxin – thioredoxin – reductase، كما هو موضّح في الشكل (72).

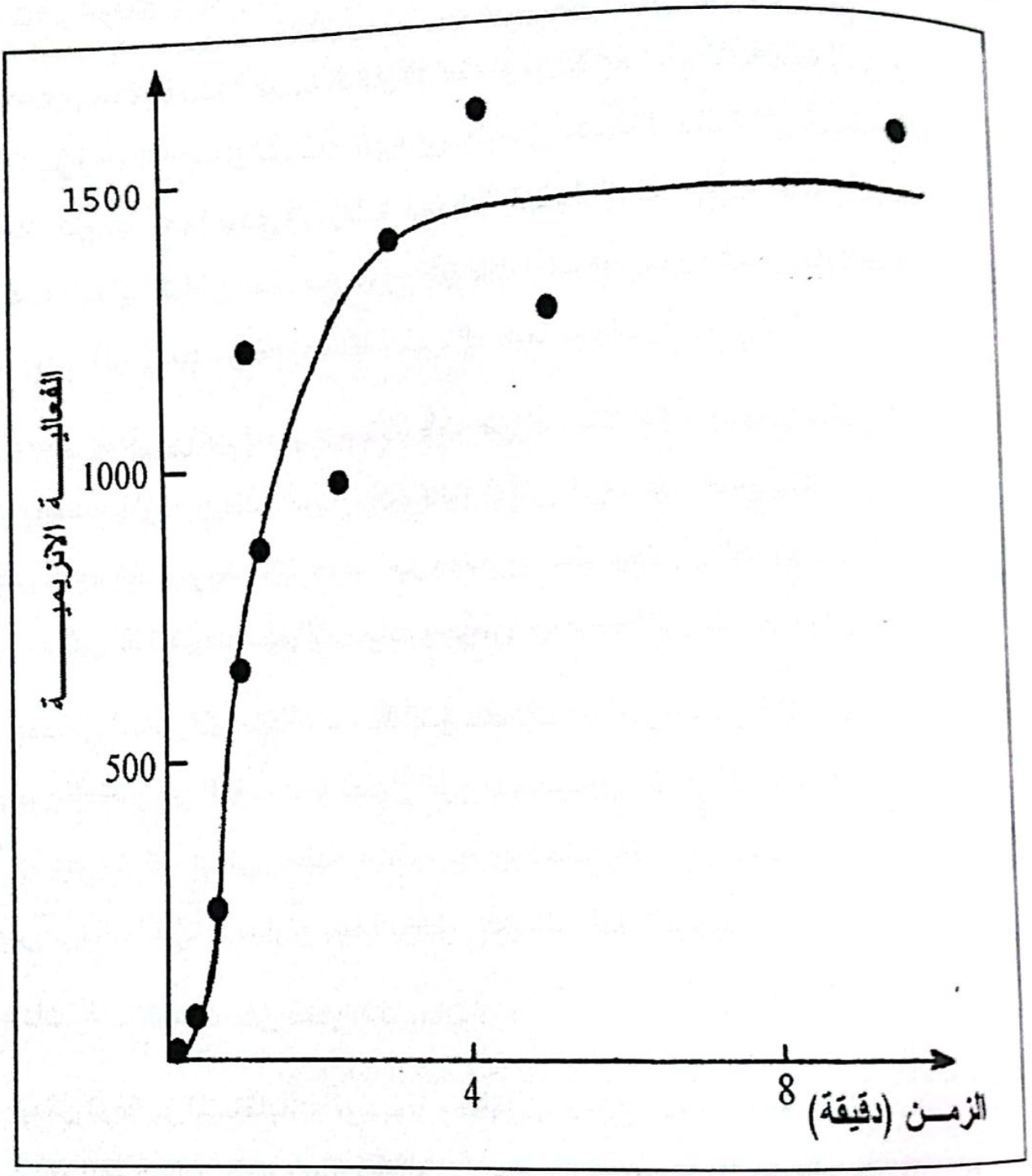


الشكل (72): آلية تأثير الضوء في بعض انزيمات حلقة كالفن ومسار البنتوز فوسفات التأكسدي، ( ): الحالة الوظيفية لانزيمات مسار البنتوز فوسفات.

لقد وجد أنّ انزيمات حلقة كالفن المذكورة أعلاه تصبح فعّالة عندما تكون بشكلها المرجع. هذا يعني أن الضوء والنقل الالكتروني يحرضان على نحوٍ غير مباشر على عمل هذه الانزيمات عبر الثيوريدوكسين. تبلغ انزيمات حلقة كالفن فعاليتها العظمى بوجود الضوء خلال فترة قصيرة من الزمن، كما يتضح من الشكل (73) عند انزيم ريبيلوز 5- فوسفات كيناز على سبيل المثال.

بينما وجد أنّ الضوء يقلّل عبر الثيوريدوكسين أيضاً على نحوٍ غير مباشر من فعالية بعض انزيمات مسار البنتوز فوسفات التأكسدي ومثالها انزيم غلوكوز- فوسفات – ديهيدروجيناز Glucose phosphate dehydrogenase، إذ تستقبل

جزيئات الثيوريدوكسين الالكترونات نهاراً، وتقوم بتحويل هذا الانزيم إلى شكله المرجع (الشكل الخامل)، الأمر الذي يقلل من جريان مسار البنتوز فوسفات في الخلايا النباتية الخضراء .



الشكل (73): الزمن اللازم لبلوغ انزيم ريبيلوز فوسفات كيناز فعاليته العظمى عند تعريض أوراق البازلاء الحاوية عليه للضوء (حسب فريتز وآخرون)

وهكذا يلعب الثيوريدوكسين دوراً هاماً في التنسيق بين حلقة كالفن ومسار البنتوز فوسفات التأكسدي (المسار العكسي لحلقة كالفن) بما يتناسب مع حاجة

Scanned with CamScanner

الخلية النباتية الخضراء نهاراً إلى نواتج كل من الحلقة أو المسلك، وبما يضمن عدم جريانهما في وقت واحد وبشكل متعاكس وبالتالي دون جدوى.

2 – تأثير أيونات المغنزيوم :

تجري بفعل الضوء عملية النقل الالكتروني في الغشاء الثايلاكويدي وتترافق كما مرّ معنا مع دخول لأيونات الهيدروجين من حشوة الصانعة إلى حشوة الأغشية الثايلاكويدية، مما يؤدي إلى زيادة حموضة الوسط الداخلي لهذه الأغشية. لقد وُجد أنّ هذه العملية تترافق أيضاً مع خروج لأيونات المغنزيوم من حشوة الثايلاكويدات، مما يؤدي إلى ازدياد تركيزها في حشوة الصانعة بحوالي 3 ميلي مول.

يجري بفعل أيونات المغنيزيوم تنشيط بعض انزيمات مثل : ريبيلوز ثنائي الفوسفات كربوكسيلاز – أوكسجيناز، فركتوز ثنائي الفوسفات فوسفاتاز، سيدوهبتلوز ثنائي الفوسفات فوسفاتاز، كما مرّ معنا. وبالتالي يكون الضوء قد أثّر بشكل غير مباشر في تنشيط هذه الانزيمات وحرّض حلقة كالفن على الدوران.

يمكن لبعض انزيمات حلقة كالفن كانزيمات الفوسفاتاز (التفاعلين 6، 9) أن تخضع لأكثر من آلية منظّمة (بفعل الثيوريدوكسين، بفعل المغنزيوم) كما لاحظنا. إنّ في هذا تأكيداً على فعالية التنظيم في سير حلقة كالفن، بحيث تبلغ هذه الحلقة أعلى درجات النشاط نهاراً، بينما يكون تثبيطها شبه تام ليلاً.

3 - تأثير المستقلبات على عمل الانزيمات :

يعمل تركيز المستقلبات الوسيطة وكميتها ضمن حلقة كالفن على تنظيم دقيق لسرعة التفاعلات ضمن هذه الحلقة، فعلى سبيل المثال تتناقص فعالية انزيم الفركتوز ثنائي الفوسفات فوسفاتاز مع ازدياد كمية الفركتوز 6- فوسفات الناجم عن التفاعل (6). وبالتالي فإن ذلك يقود إلى التحكّم بشكل غير مباشر في التفاعل (5) العكوس، وباتجاه هذا التفاعل وذلك بحسب حاجة الخلية إلى كل من هذه السكريات، الشكل (69).

Scanned with CamScanner

كما تتناقص فعالية انزيم سيدوهبتلوز ثنائي الفوسفات فوسفاتاز مع تراكم مركب سيدوهبتلوز فوسفات في الصانعة، مما يؤدي إلى التحكم في اتجاه التفاعل (8) العكوس الذي يسبقه.

وهكذا تتحدد سرعة حلقة كالفن من خلال تأثير تراكم النواتج على هذين الانزيمين بما يتناسب مع حاجة الخلية من السكريات الثلاثية التي يمكن أن تغادر الصانعة باتجاه السيتوبلازم.

4 - تأثير المركبات الطاقية ATP/ADP:

يعمل إنتاج ATP وزيادة تركيزه في حشوة الصانعة على تفعيل الانزيم المنشط للروبيسكو Rubisco activase الذي ينشط بدوره انزيم الروبيسكو ويزيد من فعاليته. وبالمقابل يؤدي تراكم ADP ومركّب الغيلسرات 3- فوسفات إلى تثبيط فعالية انزيم ريبيلوز 5- فوسفات كيناز في التفاعل (13). تفيد هذه الآلية في تحقيق توازن بين التفاعلين المستهلكين للطاقة اللاعكوسي (13) والعكوسي (2)، وبالتالي عدم حدوث خلل في سرعة دوران حلقة كالفن.

كما تعمل جزيئات الفوسفات غير العضوي (Pi) على الارتباط إلى المراكز التفاعلية للروبيسكو (مراكز تثبيت CO_2)، و بالتالي فإنّ تراكم الفوسفات غير العضوي (ناتج التفاعلات 3، 6، 9) في حشوة الصانعة والناجم عن بطء استهلاكه في إنتاج ATP عبر التفاعلات الضوئية يؤدي إلى انخفاض فعالية هذا الانزيم و التقليل من شدة تثبيت غاز CO_2 وسرعة جريان حلقة كالفن.

Scanned with CamScanner