الوحدات المستخدمة لقياس الفعالية الأنزيمية:

سرعة التفاعل الأنزيمي: هي كمية المادة المتفاعلة (S) أو الناتجة (P) في وحدة الزمن في ظروف معينة ومثبتة من حامضية معينة (أس هيدروجيني pH) ودرجة حرارة (T) وعوامل مساعدة (تراكيزها) أن وجدت.

وبصورة أدق فان سرعة التفاعل الأنزيمي هي كمية المادة الأساس (S) المتناقصة أو كمية المادة الناتجة (P) المتزايدة والمقدرة بالـ gm, mg, µg أو mole أو µmole في وحدة الزمن بالثواني أو الدقائق أو الساعات.

بما أن التفاعلات الأنزيمية تعتمد على ظروف التفاعل من pH ودرجة حرارة وتركيز الأيونات المنشطة (activators) إن وجدت، حيث توجد عدة وحدات مستخدمة لذلك لجأ الإتحاد العالمي للكيمياوين الحياتيين (IUB) إلى وضع وحدة عالمية قياسية للأنزيمات هي:

(International Unit) I.U.: وهي كمية الأنزيم التي تحفز أو تساعد على تحول واحد مايكرومول (µmole) من المادة الأساس إلى ناتج في الدقيقة الواحدة في درجة 25° مئوية وظروف قياسية مثالية لقياس الفعالية الأنزيمية.

I.U. = 1 µmole / min.

الفعالية النوعية (Specific Activity): وهي عدد وحدات الأنزيم (I.U.) لكل ملغم من البروتين. يستفاد من الفعالية النوعية في قياس نقاوة الأنزيم حيث تزداد الفعالية النوعية Specific- Activity بزيادة نقاوة الأنزيم.

تسمية وتصنيف الأنزيمات عالمياً: تسمية الأنزيمات كانت تعتمد على المادة الأساس مضافاً إليها المقطع (**-ase**) وكانت تسمية كثير من الأنزيمات تتقاطع مع تسمية أنزيمات أخرى أو لا تُفسر عمل الأنزيم بشكل دقيق. أحياناً أخرى يسمى الأنزيم نفسه بعدة أسماء من قِبل الباحثين لذلك في عام 1972 اعتمد الإتحاد العالمي للكيميائيين الحياتيين/ لجنة الأنزيمات Enzyme Commission of International Union of Biochemistry (ECIUB) ترقيم وتصنيف وتسمية الأنزيمات بطريقة علمية تفسر نوع الأنزيم والآصرة أو المجموعة التي يعمل عليها وإن كان بحاجة إلى عوامل مساعدة أم لا وغيرها من الصفات لذلك أُعطيَ لكل أنزيم

رقم أنزيمي خاص به وهذا الرقم الأنزيمي مؤلف من **أربعة أرقام** وهذه الأرقام لا تتكرر لأنزيمات أخرى، ويُعرف الأنزيم من رقمه.

*يدل الرقم الأول على المجاميع الستة الرئيسية للأنزيمات (Class).

يدل الرقم الثاني على المجاميع الثانوية (Subunit).

يدل الرقم الثالث على المجاميع تحت الثانوية (Sub- subunit).

أما الرقم الرابع فيدل على تسلسل الأنزيمات نسبة إلى تركيب المادة الأساس وهذا الرقم يأتي بالنسبة إلى أسبقية الأنزيمات المُكتشفة ويكون اعتباطي.

* أن الـ subunit تشير إلى المجموعة التي يطرأ عليها التفاعل مثل: $-\overset{|}{\underset{|}{C}}=O$ أو $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-OH$

أو $-CHNH_2$

والـ Sub- subunit تشير إلى نوع مساعد الأنزيم.

تقسم الأنزيمات إلى ستة مجاميع رئيسية (Classes) وهذا هو الرقم الأول من الرقم الأنزيمي وهي:

1) أنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductases

2) أنزيمات النقل للمجاميع Transferases

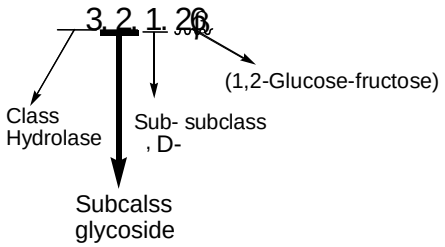
3) أنزيمات التحلل المائي (التميؤ) Hydrolases

4) أنزيمات الفصل والإضافة Lyases

5) أنزيمات الأشباه الجزيئية Isomerases

6) أنزيمات التركيب الحياتي (التخليق) Ligases (Synthetases)

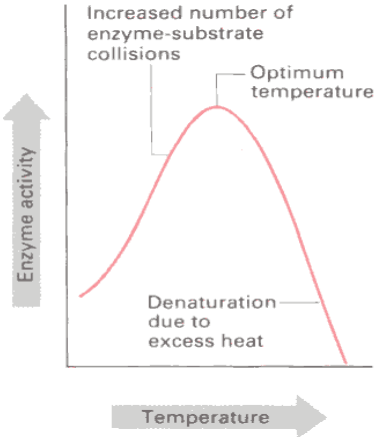
مثلاً الرقم الأنزيمي لأنزيم Sucrase (Invertase) هو



العوامل المؤثرة أو المسيطرة على فعالية وحركية الأنزيمات (معدل سرعة التفاعل الأنزيمي):-

هناك عدة عوامل تؤثر على تكوين المعقد أنزيم- مادة أساس [ES] أهمها:

1) تأثير الحرارة على التفاعلات الأنزيمية: تزداد سرعة التفاعل الكيميائي بزيادة درجة الحرارة وهذا ينطبق على فعالية الأنزيم، ولكن بنطاق ضيق. أن الأنزيمات هي بروتينات، وإذا ارتفعت أو انخفضت درجة الحرارة في نطاق محدد بين (35- 55 °C) فإن الأنزيمات تبدأ بالتحوير وتفقد فعاليتها. لكل أنزيم درجة حرارة معينة تكون فعالية الأنزيم في أوجها تدعى **بدرجة الحرارة المُثلى Optimum temperature**



1) المرحلة الأولى: يحدث فيها زيادة في سرعة عمل الأنزيم إلى أن يصل إلى أقصى نشاطه في درجة الحرارة المُثلى.

2) المرحلة الثانية: يحدث فيها انخفاض في سرعة التفاعل الأنزيمي بزيادة درجة الحرارة (يجتاز درجة الحرارة المُثلى) حيث يبدأ الأنزيم بالتحوير.

3) المرحلة الثالثة: يتوقف التفاعل تماماً بسبب تحوير بروتين الأنزيم تماماً.

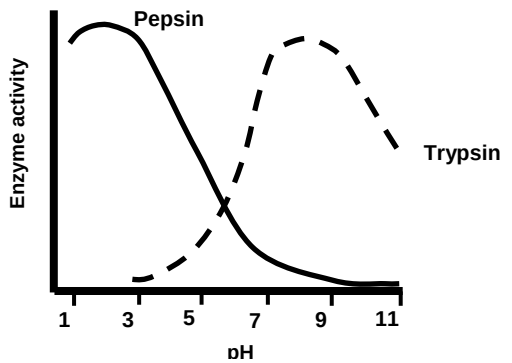
إذن تأثير درجة الحرارة على النشاط الأنزيمي يشمل 1) زيادة سرعة التفاعل.

2) تغير في تركيب الأنزيم.

2) تأثير درجة الأس الهيدروجيني (pH):-

أن لكل أنزيم درجة أس هيدروجيني (pH) معين، يُبدي عنده الأنزيم أقصى فعاليته. وتسمى بالرقم الهيدروجيني الأمثل (Optimum pH) وغالباً ما تكون pH المُثلى مقاربة لـ pH النسيج الذي يحوي ذلك الأنزيم وتتراوح pH العظمى لأغلب الأنزيمات بين (5- 9) وقد لوحظ قيم واطئة لبعض الأنزيمات مثل أنزيم الببسين (Pepsin) الذي يُفرز داخل المعدة (Optimum pH=2) وقيمة pH المعدة (2- 3).

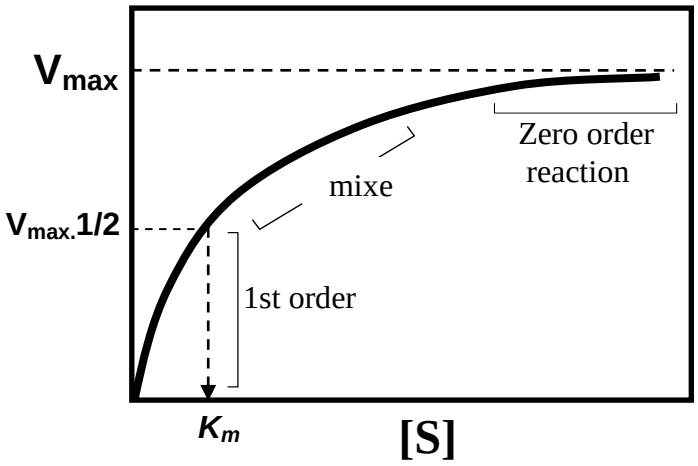
أن تأثير الـ pH يكون على المجاميع الأمينية والهيدروكسيل الموجود في الأنزيم وكذلك يؤثر على شحنة السلسة الجانبية (هيدروكسيل، الثايول، الكاربوكسيل، الأمين). وقد لوحظ أن استخدام pH عالي يؤدي إلى تحوير الأنزيم وفقدان فعاليته الأنزيمية.



3) تأثير تركيز المادة الأساس على معدل سرعة التفاعل الأنزيمي:

عند إبقاء تركيز الأنزيم ثابتاً وتثبيت ظروف التفاعل الأنزيمي في Optimum Temp. & pH فأن زيادة تركيز المادة الأساس [S] تسبب زيادة في معدل سرعة التفاعل الأنزيمي (V) بعلاقة خطية ثم يُلاحظ تباطؤ في سرعة التفاعل قليلاً بزيادة تركيز [S] وأخيراً وصول التفاعل إلى سرعة معينة تسمى السرعة القصوى $V_{amximum}$ وتثبت السرعة حتى بزيادة التركيز للمادة الأساس [S]

يمكن رسم العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي (V) وتركيز المادة الأساس [S] كما درسها العالمان ميكالس ومنتن (Michaels- Menten) عام 1913 حيث وجدوا أن الأنزيمات تظهر ثلاث مناطق من السُرع الأنزيمية وكما هو موضح في الشكل أدناه:



1) يبدأ التفاعل بصورة نشطة حيث تكون المواقع الفعالة للأنزيم غير مشبعة وتستمر سرعة التفاعل بالزيادة لكي يتشبع الأنزيم بالمادة الأساس وعليه فأن سرعة التفاعل تعتمد على تركيز المادة الأساس [S] ويُعبر عنها **بتفاعل من المرتبة الأولى** First order reaction.

2) يحدث تشبع لبعض المواقع الفعالة لبعض جزيئات الأنزيم وقسماً آخر من الجزيئات الأنزيمية لا زالت غير مشبعة بجزيئات المادة الأساس وبذلك ستكون سرعة التفاعل (**خليطاً من تفاعل المرتبة الأولى والمرتبة الصفر) Mixed first and zero order reaction** ويُظهر شكلاً زائدي المقطع إلى أن تصل السرعة إلى السرعة القصوى ($V_{max.}$).

3) هناك تركيز عالي في [S] فتتشبع كل المواقع الفعالة لكل جزيئات الأنزيم، وبالتالي فأن أي زيادة في تركيز [S] لن يؤثر على سرعة التفاعل، فيظهر التفاعل خطاً أُفقياً ثابتاً وبذلك تكون سرعة التفاعل في هذه المنطقة من **المرتبة صفر Zero order reaction**.

*فسر العالمان Michaelis- Menten هذه العلاقة بمعادلات رياضية

$$V = \frac{V_{max.}\,[S]}{K_m + [S]}$$

Michaelis- Menten equation

V= السرعة الابتدائية عند أي تركيز من [S]

$V_{max.}$= السرعة القصوى

[S]= تركيز المادة الأساس (وحداتها وحدات تركيز).

K_m= ثابت ميكالس- منتن ولها نفس وحدات [S]

K_m (ثابت ميكالس- منتن): يُمثل تركيز المادة الأساس [S] عندما تكون سرعة التفاعل الأنزيمي نصف السرعة القصوى. أي أن

$$K_m = \frac{V_{max.}}{2}$$

ويمكن القول K_m بأن يمثل ألفة الأنزيم للمادة الأساس، فكلما كانت K_m واطئة وقليلة كان للأنزيم ألفة عالية للمادة الأساس والعكس صحيح.

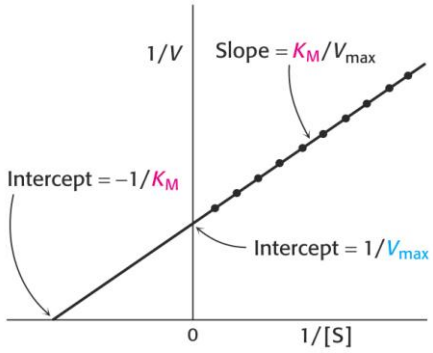
*لقد وُجد تجريبياً أن قيم K_m و $V_{max.}$ ثابتة ومعينة لكل أنزيم في ظروف معلومة ومثبتة من pH ودرجة حرارة.

*أن حساب قيم K_m و $V_{max.}$ حسب ميكالس- منتن لا تتطابق دائماً لأن الرسم بأجمعه لا يكون خطاً مستقيماً بل هو شكل زائدي المقطع لذلك يجب حساب قيم K_m و $V_{max.}$ لعدة مرات وبصورة تجريبية.

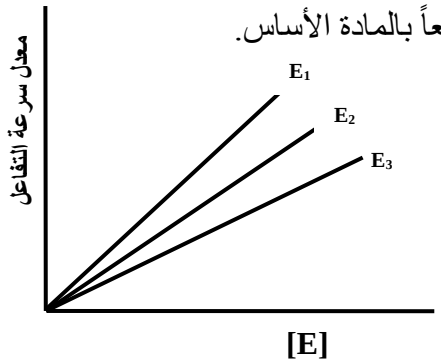
*وجد العالمان Linweaver- Burk أن تحوير معادلة ميكالس- منتن بأخذ القيمة العكسية لطرفي المعادلة وإعادة ترتيبها نحصل على معادلة لينويفر- بيرك

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}}\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}.$$ ***(Lineweaver-Burke Equation)***

هذه المعادلة تمثل خطاً مستقيماً، نحصل عليه من رسم 1/V مقابل 1/[S]



شكل يمثل رسم معادلة لينويفر- بيرك

4) تأثير تركيزالأنزيم على معدل سرعة التفاعل الأنزيمي:

أن سرعة التفاعل المُحفز بالأنزيم يتناسب طردياً مع تركيز الأنزيم عندما تكون المادة الأساس موجودة بوفرة وينتهي التفاعل متى ما أستهلكت كل المادة الأساس ليبقى الأنزيم وحده علماً أن لكل أنزيم **سرعة معينة** في التفاعل وهي: عدد جزيئات المادة الأساس التي تتحول إلى ناتج في فترة زمنية مقاسة بالثانية عندما يكون الأنزيم مشبعاً بالمادة الأساس.