

الفصل الخامس

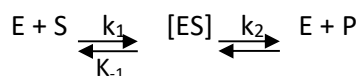
الأنزيمات Enzymes

هي محفزات بروتينية للتفاعلات الحياتية, تعمل بتخصص عالي على جزئ(المادة الأساس Substrate) معين أو على صنف من الجزيئات المعينة وتحوي الخلية الحية الواحدة على ما يقارب ١٠٠٠ من الأنزيمات المختلفة. وهذا ما يجعلها تعمل بكفاءة عالية.

الأنزيمات تشبه المحفزات غير العضوية في كونها لا تستنفذ ولا تتغير بعد تحفيزها لتفاعل معين وهي تخفض طاقة التنشيط اللازمة لذلك التفاعل.

الطبيعة الكيميائية للأنزيمات

الأنزيمات: هي بروتينات تتألف من الأحماض الأمينية نفسها الموجودة في البروتين. وتتكون بواسطة الخلايا الحية وتستطيع أن تعمل بصورة مستقلة خارج الخلايا الحية, إن الأشكال المجسمة الخاصة بالأنزيمات تعود الى وجود التعاقب (التسلسل) المعين لمخلفات الأحماض الأمينية التي تؤلف كل أنزيم. كلمة أنزيم مشتقة من الكلمة اللاتينية (in yeast) والتي تعني الخميرة. يمكن تمثيل التفاعل الأنزيمي بالتفاعل العام الآتي:



E = Enzyme

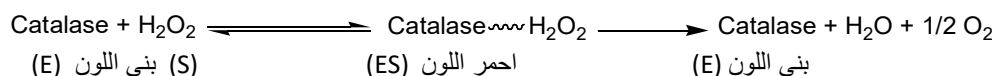
S = Substrate

ES = Enzyme- Substrate complex

P = Product

معقد أنزيم- مادة أساس [ES]

هو مركب وسطي قد يحتوي على طاقة تنشيط كافية ليكون الناتج (P) أو قد يتفكك الى المادة الأساس و الأنزيم (E+S). هناك أدلة ثبت وجود المركب الوسيط (معقد أنزيم- مادة أساس) فمثلاً أنزيم Catalase (بني اللون) يقوم بتحويل بيروكسيد الهيدروجين الى أوكسجين وماء، حسب التفاعل الآتي:



العوامل المساعدة Co- factors

هي عوامل مساعدة كيميائية غير بروتينية تحتاج إليها بعض الأنزيمات للقيام بالعمل التحفيزي. تقسم العوامل المساعدة الأنزيمية الى:

١. المجاميع المرتبطة Prosthetic groups

تتميز بعض الأنزيمات بأنها عبارة عن بروتينات مركبة أي إن بروتين الأنزيم يرتبط بقوة مع مركب غير بروتيني يطلق عليه اسم المجموعة المرتبطة.

Enzyme = Protein + Prosthetic group

تقوم هذه المجاميع المرتبطة في بعض الأنزيمات بالمشاركة في نقل المجاميع الكيميائية من مركب الى آخر أثناء التفاعلات الأنزيمية. مثل مجاميع Prophrine(Heme) المرتبطة بأواصر تساهمية قوية مع الجزء البروتيني في أنزيمات الـ Peroxidase, Catalase.

FMN= Flavin Mononucleotide

FAD= Flavin Adenine Dinucleotide

مصدرهما فيتامين B₂ يشاركان في نقل H⁺

٢. المرافقات الأنزيمية Coenzyme

يطلق عليها carier لطبيعة عملها في التفاعلات الأنزيمية، هي جزيئات عضوية غير بروتينية مستقرة حراريا أي لا تتفكك بالحرارة ويمكن فصلها عن الأنزيمات المرتبطة معها. لا تستطيع الأنزيمات القيام بعمليات التحفيز بدون هذه المرافقات الأنزيمية.

تقسم المرافقات الأنزيمية الى:

أ- **حاملات الهيدروجين:** وهي تلك التي تشارك في عمليات التأكسد والأختزال التي تجري فيها نقل الهيدروجين من مركب الى آخر.

NAD= Nicotin Amide Adnine Dinucleotide

NADP= Nicotin Amide Adnine Dinucleotide Phosphate

GSH= Glutathione

Ascorbic acid= Vitamin C

ب- **نيوكليوتيدات ثلاثية الفوسفات:** مثل

CTP= Cytidine Triphosphate

نقل الكليسيريدات(تخليق الدهون الفسفورية)

ATP= Adenosine Triphosphate.

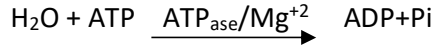
نقل الفوسفات (الفسفرة)

UTP= Uridine Triphosphate

نقل جذر الكلايكوسيل(تخليق الكاربوهيدرات)

٣. الفلزات أو الأيونات (المنشطات اللاعضوية Activators):

مثل $(Zn^{+2}, Ca^{+2}, Mn^{+2}, Mg^{+2}, K^{+1})$ فمثلاً انزيم ATP يحتاج الى وجود أيونات Mg^{+2} في الخلية ليرتبط مع جزئيات ATP مما يساعد عمل الأنزيم.



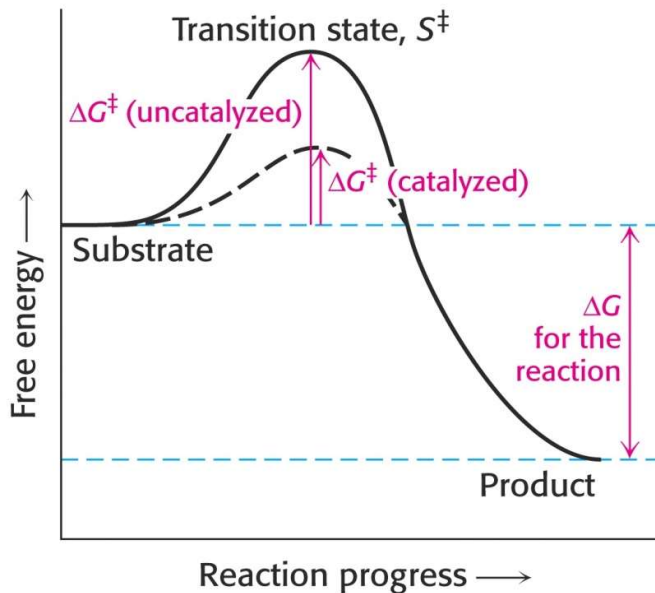
استعمالات الأنزيمات Uses of Enzymes

تستخلص الأنزيمات في الوقت الحاضر من الأنسجة الحيوانية أو النباتية على نطاق واسع ثم تنقى للأغراض الآتية:

١. لدراسة مسار من مسارات التفاعلات البايولوجية metabolic pathway وتنظيم التفاعلات الجارية في ذلك المسار.
٢. لدراسة تركيب عمل الأنزيمات وآليتها mechanism of action.
٣. تستعمل في الصناعة كعوامل مساعدة بايولوجية لتصنيع الهورمونات والعقاقير.
٤. تستعمل لدراسة فعالية الأنزيمات الموجودة في مصل الدم سريرياً كمؤشر لمعرفة حدوث حالة مرضية معينة.

التفاعلات الأنزيمية و طاقة التنشيط Enzymatic Reaction and Activation

في التفاعلات الكيميائية عند تحول المادة الأساس (S) الى ناتج (P) يحتاج الى طاقة تنشيط Activation energy لتكوين الناتج خلال عبور التفاعل في منطقة الحالة الانتقالية Transition state وقد يحتاج التفاعل الى طاقة عالية للوصول الى هذه الحالة (تسخين المواد المتفاعلة). هذا غير ممكن في الخلايا، لأن التفاعلات تجري داخل الخلايا الحية بدرجات حرارة واطئة نسبياً وثابتة وهي غير قادرة على رفع درجة حرارتها، لذلك تستخدم الأنزيمات للتقليل من طاقة تنشيط التفاعلات عند درجة الحرارة الفسيولوجية.



الطاقة الحرة: تشير إلى أقصى شغل مفيد يمكن الحصول عليه من نظام ما عند ضغط ودرجة حرارة وحجم ثابت.

طاقة التنشيط Activation Energy

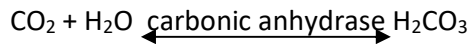
هي كمية الطاقة اللازمة لجلب جميع الجزيئات الموجودة في وزن جزيئي غرامي للمادة المتفاعلة إلى الحالة الانتقالية.

الحالة الانتقالية Transition state

هي الحالة الغنية بالطاقة عند قمة منحني التفاعل وتكون عندها المركبات غير مستقرة سرعان ما تتحلل لتعطي النواتج.

إن عمل الأنزيم هو تسهيل التفاعلات التي تجري داخل الخلايا الحية وذلك بتخفيض طاقة التنشيط إذ يتحد الأنزيم مع المواد المتفاعلة لتكوين الحالة الإنتقالية التي تختلف عن الحالة الإنتقالية في حالة عدم وجود العامل المساعد. إذ تكون الحالة الإنتقالية بوجود العامل المساعد مستقرة نسبياً وبالتالي تحوي على طاقة أقل.

الإنزيمات لا تقوم بتغيير التوازن بل تسريع الوصول إلى حالة التوازن وجعل التفاعل ممكناً. فمثلاً اتحاد CO_2 مع الماء والذي يحدث داخل الأنسجة الحية، إذ ينتقل CO_2 من الأنسجة إلى الدم ومنها إلى الهواء داخل الحويصلات الهوائية والذي يتم بواسطة أنزيم Carbonic anhydrase الذي يعد من أسرع الأنزيمات المعروفة، إذ إن كل جزيئة أنزيم تمكن من اتحاد (1×10^6) جزيئة CO_2 مع الماء في الثانية الواحدة. هذه السرعة تعادل أكثر من مليون مرة سرعة نفس التفاعل بدون العامل الأنزيمي.



وجود الأنزيمات :

توجد الأنزيمات في جميع الخلايا الحية، هناك نوعان من الأنزيمات من حيث موقع عملها:

١. الأنزيمات الداخلية Endoenzymes

وهي الأنزيمات التي تعمل داخل الخلية نفسها وليس لها القابلية على التنافذ من خلال غشاء معين مثل الأنزيمات التأكسدية.

٢. الأنزيمات الخارجية Exoenzymes

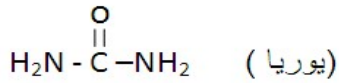
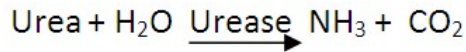
وهي الأنزيمات التي تعمل خارج الخلية بعد إفرازها من الأنسجة مثل الأنزيمات الهاضمة.

الموقع الفعال للأنزيم Active site

هو المركز الذي يتحد فيه الأنزيم (E) Enzyme مع المادة الأساس (S) Substrate التي يعمل عليها الأنزيم ، يكون هذا الموقع على شكل حفرة أو التفاف لسلسلة متعدد الببتيد، إذ إن لكل أنزيم

مركز نشط واحد او أكثر مسؤول عن قيام الأنزيم بعمله. ويحدد المركز النشط نوع وترتيب وتعاقب الأحماض الأمينية في سلسلة الببتيد ، أي إن اختلافها يؤدي الى اختلاف المراكز النشطة.

مثال/ أنزيم Pepsin يحتوي على مركز نشط واحد أما أنزيم Urease فيحتوي على أربع مراكز نشطة. وكذلك أنزيم Catalase .

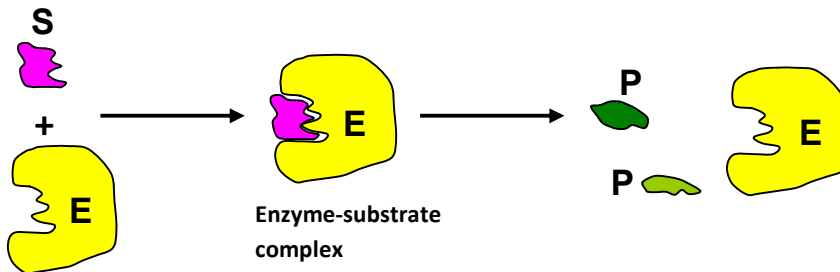


ميكانيكية عمل الأنزيمات:

يرتبط الأنزيم بالمادة الأساس من خلال الموقع الفعال وتكوين معقد وسطي من الأنزيم والمادة الأساس [E-S] Enzyme- Substrate Complex وهناك نظريات عدة لتفسير طبيعة المعقد (ES) أهمها:

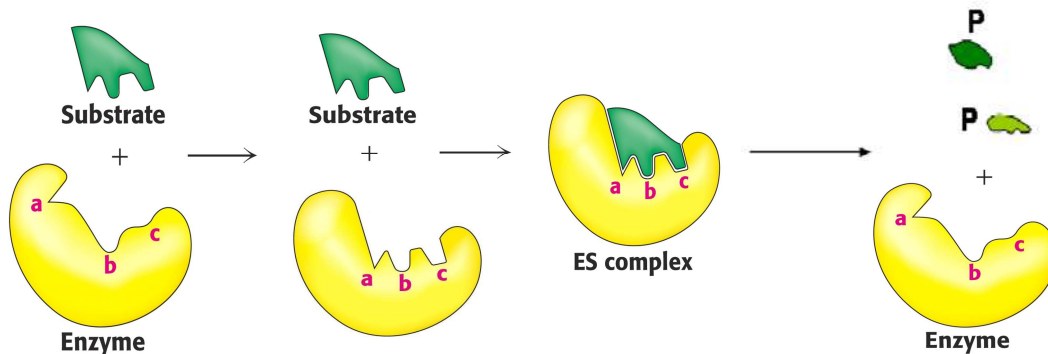
١. نظرية القفل والمفتاح Lock & Key theory

تفسر هذه النظرية كيفية إرتباط الأنزيم بالمادة الأساس بشكل يشبه القفل والمفتاح. أي إن الموقع الفعال الثلاثي الأبعاد يكون في شكله مكملاً لشكل جزيئة المادة الأساس فيتكون المعقد الوسيطى [ES].



٢. نظرية التوافق المستحث Induced- Fit theory

تفترض هذه النظرية إن الموقع الفعال للأنزيم يكون بشكل معين في جزيئة الأنزيم وعند وجود جزيئات المادة الأساس قريبة من الموقع الفعال يتغير شكل الموقع الفعال ليتلائم للإرتباط مع جزيئة المادة الأساس وتكوين المعقد [ES].



مستويات بناء الأنزيمات : تتكون الأنزيمات من الأحماض الأمينية من نوع α -amino acid والتي ترتبط مع بعضها بروابط أو أواصر ببتيدية مكونة سلاسل طويلة. وتختلف الأنزيمات في تركيبها الكيميائي حسب:

١. عدد ونوع الأحماض الأمينية في كل سلسلة ببتيدية.
٢. تتابع الأحماض الأمينية في كل سلسلة ببتيدية.
٣. التوزيع الفراغي للذرات والمجموعات بالنسبة لبعضها من السلسلة الببتيدية وهذا يتوقف على درجة الالتفاف و الالتواء على طول السلسلة والذي يؤدي الى الشكل الحلزوني.

تكوين الجسم الثلاثي الأبعاد لجزيئة الأنزيم

الأواصر التي تثبت جزئ الأنزيم هي:

- ١) الأواصر الأيونية.
- ٢) الأواصر الهيدروجينية.
- ٣) الأواصر ثنائية الكبريت.
- ٤) قوى فاندر فالز.

ولهذا فإن مستويات بناء الأنزيمات هي:

١) البناء الأولي Primary structure

يحدد نوع الأحماض الأمينية وتتابع ترتيبها في السلسلة الببتيدية.

٢) البناء الثانوي Secondary structure

يحدد إلتفاف السلاسل الببتيدية مع بعضها على شكل حلزون α -helix أو صفائح مطوية β -Plated sheet ويثبت هذا البناء بالأواصر الهيدروجينية.

٣) البناء الثالثي Tertiary structure

يمثله شكل جسم ثلاثي الأبعاد للأنزيم ويحدده إلتفاف السلاسل الببتيدية على بعضها ويثبت هذا البناء بالروابط الثانوية وكذلك الأصرة ثنائية الكبريت.

٤) البناء الرباعي Quaternary structure

وهو البناء الناتج عن تجمع بعض جزئيات الأنزيم مع بعض. وهذا البناء يتوقف على نوع الشحنات الكهربائية ودرجة حموضة المحلول، تعمل الروابط ثنائية الكبريت على تثبيت هذا البناء.

تخصص عمل الأنزيم:

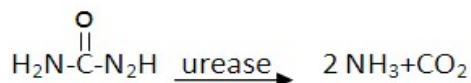
الأنزيمات لها تخصص دقيق في التفاعلات وهي أهم صفة من صفات الأنزيم ويعود ذلك إلى طبيعة جزئ الأنزيم البروتيني ونقصه به الموقع النشط أو الفعال وكذلك التركيب الترتيبي لجزئ المادة الأساس وعليه فإن الأنزيم يختار عدد معين ومحدود من المواد التي يعمل عليها إذ يحفز تفاعل كيميائي محدد.

أنواع التخصص:

١. التخصص المطلق Absolute specificity:

هو الأنزيم الذي يعمل على مادة أساس معينة ولا يعمل على أية مادة أساس أخرى حتى لو كانت تشابه المادة الأساس في التركيب.

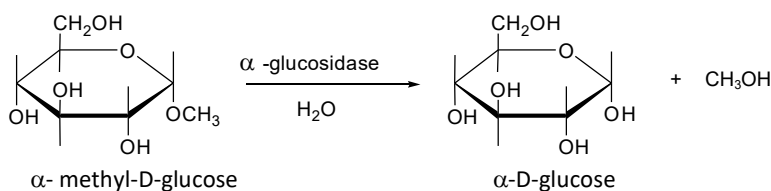
مثال/ سايتوكروم أوكسيداز Cytochrome oxidase الذي يبدي تخصصه المطلق تجاه المادة الأساس Cytochrome c وكذلك أنزيم Urease الذي يحلل اليوريا إلى أمونيا و CO_2 .



٢. التخصص النسبي لمجموعة Relative Group Specificity

يكون تخصص الأنزيم على مجموعة معينة واحدة من المادة الأساس ونوعاً محدداً من الأواصر .

مثال/ أنزيم α -glucosidase الذي يعمل على مجموعة ($-\text{OCH}_3$) في جزيئة الفا-ميثوكسي كلوكوسايد.



٣. تخصص الرابطة أو الأصرة Linkage Specificity

هذا النوع من الأنزيمات يتخصص على نوع معين من الأواصر بغض النظر عن المجاميع المجاورة لها.

مثال/ أنزيم Peptidase الذي يعمل على Polypeptide وأنزيم الليباز Lipase الذي يعمل على الدهون.

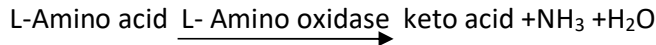
Polypeptide $\xrightarrow{\text{Peptidase}}$ Amino acid + peptide

Triglyceride $\xrightarrow{\text{Lipase}}$ Fatty acid + Glycerol

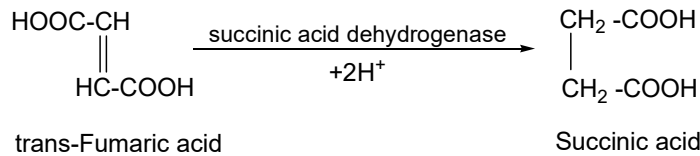
٤. التخصص على الأشباه الجزيئية (التخصص الفراغي) Sterospecificity:

بعض الأنزيمات لها تخصص على الأشباه الجزيئية مثل L و D.

مثال/



أو بصيغة Cis أو trans مثل أنزيم Succinic dehydrogenase الذي يعمل على trans حامض الفيوماريك ولا يعمل على نظيره cis الذي يسمى حامض الماليك



سرعة التفاعل الأنزيمي:

هي كمية المادة المتفاعلة (S) أو الناتجة (P) في وحدة الزمن في ظروف معينة ومثبتة من حامضية معينة (pH) ودرجة حرارة (T) وعوامل مساعدة (تراكيدها) ان وجدت.

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

بما إن التفاعلات الأنزيمية تعتمد على ظروف التفاعل من pH ودرجة حرارة وتركيز الأيونات المنشطة (Activators) إن وجدت، إذ توجد عدة وحدات مستخدمة لذلك لجئ الاتحاد العالمي للكيمياء الحيوية (IUB) الى وضع وحدة عالمية قياسية للأنزيمات هي:

I.U (International Unit):

وهي كمية الأنزيم التي تحفز أو تساعد على تحول واحد مايكرومول (μmole) من المادة الأساس الى ناتج في الدقيقة الواحدة في درجة ٢٥° م وظروف قياسية مثالية لقياس الفعالية الأنزيمية.

Specific Activity النوعية

وهي عدد وحدات الأنزيم (I.U) لكل ملغم من البروتين . يستفاد من الفعالية النوعية في قياس نقاوة الأنزيم إذ تزداد الفعالية النوعية بزيادة نقاوة الأنزيم.

تسمية وتصنيف الأنزيمات عالمياً:

تسمية الأنزيمات كانت تعتمد على المادة الأساس مضافاً اليها المقطع (-ase) وكانت تسمية كثير من الأنزيمات تتقاطع مع تسمية أنزيمات أخرى أو لا تفسر عمل الأنزيم بشكل دقيق. أحياناً أخرى يسمى الأنزيم نفسه بعدة أسماء من قبل الباحثين لذلك في عام ١٩٧٢ أعتد الإتحاد العالمي للكيميائيين الحيائيين- لجنة الأنزيمات Enzyme Commission of International Union of Biochemistry ترقيم وتصنيف وتسمية الأنزيمات بطريقة علمية تفسر نوع الأنزيم والأصرة أو المجموعة التي يعمل عليها وإن كان بحاجة الى عوامل مساعدة أم لا وغيرها من الصفات لذلك أعطي لكل أنزيم رقم أنزيمي خاص به وهذا الرقم الأنزيمي مؤلف من أربعة أرقام وهذه الأرقام لا تتكرر لأنزيمات أخرى و يعرف الأنزيم من رقمه .

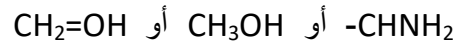
يدل الرقم الأول على المجاميع الستة الرئيسة للأنزيمات (Class).

يدل الرقم الثاني على المجاميع الثانوية (Subunit).

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

أما الرقم الرابع فيدل على تسلسل الأنزيمات نسبة الى تركيب المادة الأساس وهذا الرقم يأتي بالنسبة الى أسبقية الأنزيمات المكتشفة ويكون إعتباطي.

إن Subunit تشير الى المجموعة التي يطرأ عليها التفاعل مثل:



والـ Sub- Subunit تشير الى نوع مساعد الأنزيم .

تقسم الأنزيمات الى ستة مجاميع رئيسة Classes وهذا هو الرقم الأول من الرقم الأنزيمي وهي:

١. أنزيمات الأكسدة والأختزال Oxidoreductase

٢. الأنزيمات الناقلة Transferases

٣. أنزيمات التحلل المائي (التميؤ) Hydrolases

٤. أنزيمات الفصل والأضافة Lyases

٥. أنزيمات الأشباه الجزيئية Isomerases

٦. أنزيمات التركيب الحيائي (التخليق) Ligases(Synthetases)

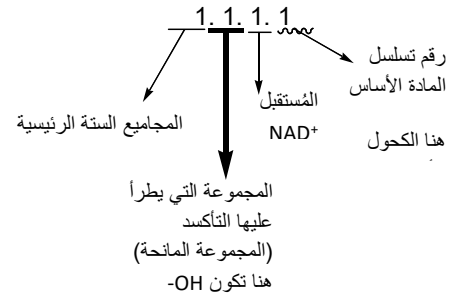
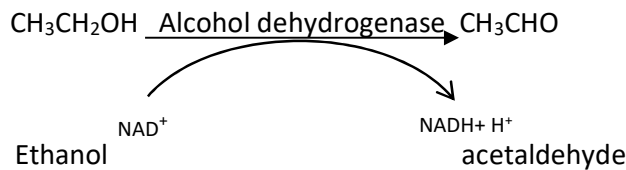
١. أنزيمات الأكسدة والاختزال Oxidoreductases

إن الطاقة التي تحتاجها الأجسام الحية تحصل عليها من أكسدة الأغذية بعد هضمها وأن هذه الأكسدة تجري بثلاث طرق هي:

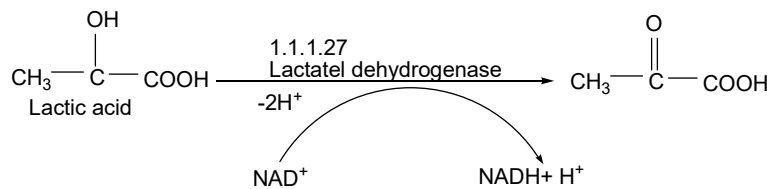
- أ- إضافة الأوكسجين .
- ب- فصل الهيدروجين من المواد الأساس.
- ج- فصل الإلكترون.

وجميع هذه الطرق تشمل على فقدان الإلكترونات

مثال/ Alcohol dehydrogenase (1.1.1.1)



مثال/ Lactate dehydrogenase (1.1.1.27)

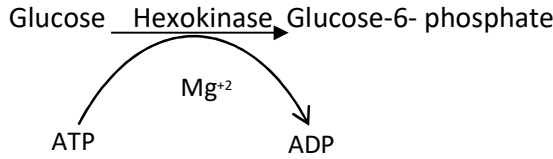


٢. الأنزيمات الناقلة Transferase

وهي تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل على نقل مجموعة كيميائية من مادة أساس لأخرى. مثل نقل مجاميع الأمين ، المثيل ، الألكيل ، الأسيل أو نقل مجاميع تحتوي على فسفور أو كبريت.

مثال/ أنزيم Kinase يقوم بنقل مجموعة الفوسفات بين المركبات , أنزيم Hexokinase

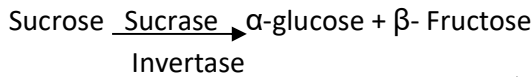
(2.7.2)



٣. أنزيمات التحلل المائي (التميؤ) Hydrolases:

وتشمل جميع الأنزيمات التي تعمل في تفاعلات التحلل المائي وتحفز هذه الأنزيمات إنشطار الروابط (C-C, C-N, C-O) وذلك بإضافة عناصر الماء تقسم هذه المجموعة وفقاً لنوع الرابطة التي تتحلل مائياً مثل الروابط الأسترية للدهون (الأنزيمات) التي يحللها Lipase والروابط الكلايكوسيدية للسكريات الأنزيمات التي تحللها α -Glucosidase والروابط الببتيدية للبروتينات Peptidase.

مثال/ أنزيم Sucrase الذي يعمل على السكروز (3.2.1.26)

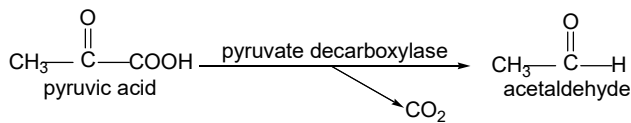


أما الأنزيمات التي تحلل النيوكليوتيدات مائياً تسمى nucleases.

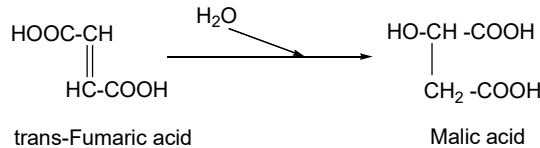
٤. أنزيمات الحذف والأضافة (بدون تحلل مائي) Lyases:

تشمل جميع الأنزيمات التي تعمل في تفاعلات تفكيك أجزاء من مركب مثل فصل مجموعة أمين على شكل أمونيا أو نزع عناصر الماء مع مجموعة الأمين وتحفز هذه الأنزيمات انفصال الروابط (C-C, C-O, C-N) فضلاً عن روابط أخرى إذ تقسم إلى مجاميع تبعاً للأواصر التي تعمل عليها .

مثال/ Pyruvate decarboxylase (4.1.1.1)



تفاعل حذف



تفاعل إضافة

٥. أنزيمات الأشباه الجزيئية Isomerases:

تشمل الأنزيمات التي تعمل على تغيير أحد متناظرات مركب ما إلى متناظر آخر له. كأنزيمات cis- trans isomerases و epimerases.

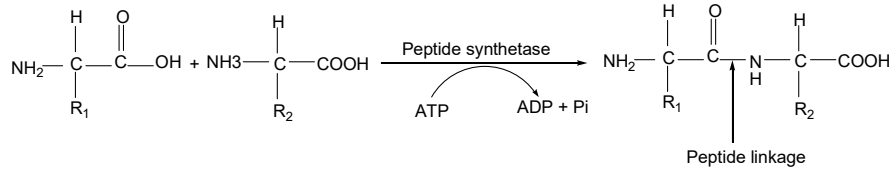
مثال/ أنزيم الريتينال أيزوميريز retinal isomerase الذي يتعلق بعملية الأبصار، Glucose racemase (5.1.3) ، أنزيم Mutase(5.4.3)

D- Glucose $\xrightarrow{\text{Glucose rasemase}}$ L- Glucose

Glucose-6- phosphate $\xrightarrow{\text{Mutase}}$ Glucose-1-phosphate

٦. أنزيمات التركيب الحيائي (التخليق- تكوين الأصرة) *Ligases (Synthetases)*

هي الأنزيمات التي تعمل على ربط (تكوين الأصرة) بين جزيئين معاً أو ربط نهايتي جزيء واحد لتكوين شكل حلقي. وتفتقر التفاعلات المحفزة بهذه الأنزيمات بكسر أصرة بايروفوسفات Pyrophosphate bond للـ ATP. لأعطاء الطاقة اللازمة لعملية البناء (تكوين الأصرة).



العوامل التي تؤثر على فعالية الأنزيم *Factores effecting enzyme activity*

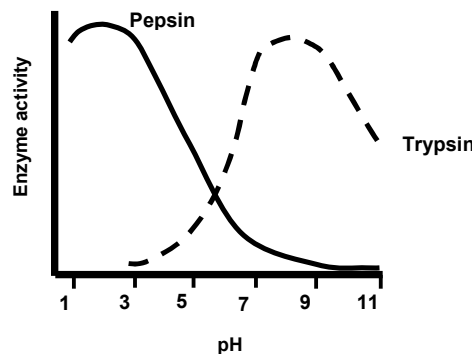
١. تأثير الأس الهيدروجيني على فعالية الأنزيم *Effect of pH on enzyme activity*

إن لكل أنزيم رقم هيدروجيني pH عنده يبدي الأنزيم أقصى فعاليته ويسمى الرقم الهيدروجيني الأمثل pH optimum . يتراوح الرقم الهيدروجيني الأمثل لأغلب الأنزيمات ما بين (٥-٩). وغالباً ماتكون الـ pH المثلى قيمتها مقاربة من لتلك الـ pH للنسيج الذي يحوي ذلك الأنزيم. مثلاً أنزيم الببسين Pepsin الذي يفرز من داخل المعدة له درجة pH مثلى قيمتها ٢ (وقيمة الـ pH المعدية = ٢,٣) يؤثر الرقم الهيدروجيني في مناطق معينة من الأنزيم منها:

- أ- الصفات الأيونية للمجاميع الأمينية والكربوكسيلية للأنزيم.
- ب- الصفات الأيونية للمجاميع الجانبية لوحداث الأحماض الأمينية.
- ج- الصفات الأيونية لوحداث الأحماض الأمينية الكائنة في الموقع المسؤول عن التحفيز.

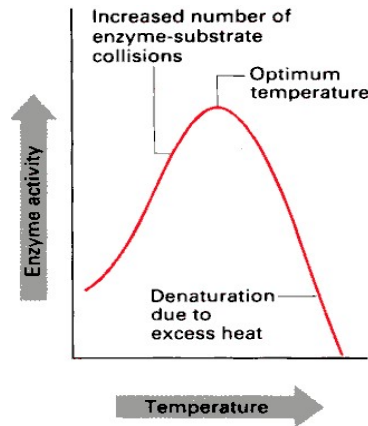
وقد لوحظ إستعمال pH عال أو واطئ جداً يؤدي الى تشويه طبيعة الأنزيم Denaturation, مما يؤدي إلى فقدان فعاليته.

قد تكون هناك شحنات كهربائية لمجاميع R المتأينة بالقرب من الموقع الفعال للأنزيم عند قيم pH عالية أو واطئة مما يؤدي الى وجود أواصر أيونية أو تجاذب أو تنافر كهربائي من شأنه أن يعمل على زيادة أو تقليل أو منع إقتران المادة الأساس بالأنزيم.



٢. تأثير درجة الحرارة على فعالية الأنزيم activity

إن إرتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الأنزيم بشرط أن لا يصل هذا الأرتفاع للحد الذي يؤدي الى مسخ الأنزيم. إذ إن إرتفاع درجة الحرارة مبدئياً يعمل على زيادة الطاقة الحركية لجزئ الأنزيم، بالتالي الى إزدياد الأحتكاك بين الأنزيم والمادة الأساس مما يسبب زيادة سرعة التفاعل. إن مدى الفعالية لمعظم الأنزيمات يقع (١٠-٥٠)°م وعندما تزيد درجة الحرارة أكثر فإن الأنزيم يبدأ بفقدان خواصه الطبيعية إذ تتفكك الأواصر الهيدروجينية والقوى الأخرى المسؤولة عن ثباتية البناء المحدد لذلك البروتين وبالتالي يترسب فاقداً فعاليتته. وإن الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الأنزيمي في سرعته القصوى تطلق عليها درجة الحرارة المثلى لذلك الأنزيم.



٣. تأثير تركيز المادة الأساس على فعالية الأنزيم

Effect of substrate concentration on enzyme activity

عند إبقاء تركيز الأنزيم ثابتاً، وعند التركيز الواطئ من المادة الأساس، فإن سرعة التفاعل الأنزيمي (السرعة الأولية initial velocity) تزداد بزيادة تركيز المادة الأساس. لكنه عند الأستمرار في زيادة تركيز المادة الأساس فإن الزيادة في معدل السرعة تتباطئ الى أن تصبح السرعة ثابتة، بالرغم من زيادة تركيز المادة الأساس أكثر ويطلق على هذه السرعة الثابتة عند التركيز العالي للمادة الأساس، بالسرعة القصوى ويرمز لها بالرمز V_{max} . maximum velocity

لقد قام العالمان (Michaelis- Menten) عام ١٩١٨ بتفسير العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي وتركيز المادة الأساس، فعند إستخدام تراكيز واطئة جداً من المادة الأساس في بداية التفاعل ، تكون المواقع الفعالة لجزئيات الأنزيم غير مشبعة بجزئيات المادة الأساس، وعليه فإن سرعة التفاعل (السرعة الأولية) تعتمد على تركيز المادة الأساس ، ويعبر عنها بحركية إحدادي الرتبة First order kinetic وعند زيادة تركيز المادة الأساس الى درجة كبيرة، بحيث تصبح المواقع الفعالة لجزئيات الأنزيم مشبعة دائماً بجزئيات المادة الأساس وتكون

سرعة التفاعل في هذه الحالة غير معتمدة على تركيز المادة الأساس، ويعبر عنها بحركية صفر الرتبة zero order kinetic .

وإن الرسم البياني بين تركيز المادة الأساس وسرعة التفاعل يكون بشكل منحنى ذي قطع مخروطي (hyperbolic)، هذه الخاصية تتميز بها الأنزيمات فقط دون غيرها من المحفزات.

والمعادلة الآتية توضح العلاقة بين سرعة التفاعل الأنزيمي وتركيز المادة الأساس والتي تحقق شكل منحنى ذي قطع مخروطي hyperbolic ويطلق عليها بمعادلة ميكاليس-منتن :Mechaelis- Menten equation

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

إذ إن:

V = سرعة التفاعل (السرعة الأولية)

$[S]$ = تركيز المادة الأساس

$V_{\max}$ = السرعة الأولية القصوى

K_m = ثابت ميكاليس

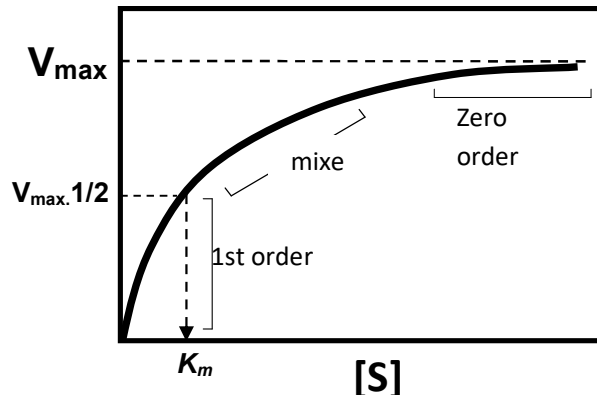
K_m = هو عبارة عن تركيز المادة الأساس عندما تكون سرعة التفاعل تساوي نصف

السرعة القصوى. ويمكن بيان ذلك كما يأتي:

عندما يكون $[S] = K_m$ فإن:

$$V = \frac{V_{\max} K_m}{K_m + K_m}$$

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



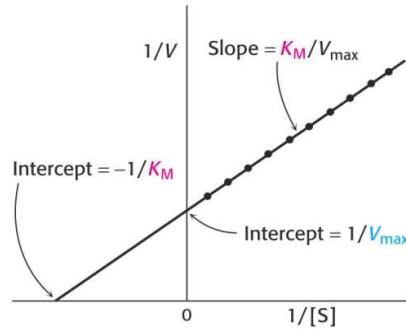
رسم لينويفر-بيرك البياني The Lineweaver-Burk plot

عند أخذ القيم العكسية لطرفي معادلة ميكاليس-منتن وإعادة ترتيبها نحصل على معادلة لينويفر-

بيرك Lineweaver-Burk equation

$$1/V = K_m/V_{max}(1/[S] + 1/V_{max})$$

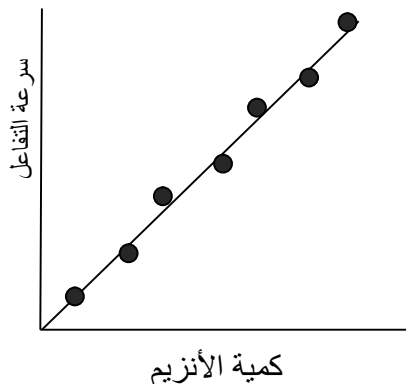
وتمثل هذه المعادلة خطاً يحصل عليه بوساطة رسم $1/V$ مقابل $1/[S]$ ويمكن إيجاد كلا من K_m و V_{max} بدقة من الرسم دون الحاجة الى إيجادها بالطريقة المختبرية ويستفاد من الرسم عند دراسة المثبطات و أنواعها.



إن القيمة العالية لـ K_m تشير الى إن الأنزيم له ميلاً (ألفة affinity) قليلة للمادة الأساس ، في حين القيم الواطئة لـ K_m ، تشير الى إن للأنزيم ميلاً كبيراً للمادة الأساس، تعتمد قيمة K_m على نوعية المادة الأساس والذالة الحامضية pH لمحلول التفاعل ودرجة الحرارة تتراوح قيم K_m لمعظم الأنزيمات بين $(10^{-6}-10^{-1})$ مولار.

٤. تأثير كمية الأنزيم على الفعالية الأنزيمية Effect of enzyme concentration on enzymatic activity

إن سرعة التفاعل تتناسب طردياً مع تركيز الأنزيم ضمن مدى واسع وفي هذه الحالة يستعمل تركيز ثابت من المادة الأساس وبمقدار فائض عن حاجة الأنزيم. يمكن استخدام العلاقة هذه لقياس كمية الأنزيم في مستخلص لنسيج معين أو في سائل بايولوجي معين. فعند ظروف ملائمة تشتمل على تركيز المادة الأساس $(K_m \times 100)$ ودرجة الحرارة و pH مثلى فإن سرعة الفعالية تتناسب مع كمية الأنزيم الموجود.



تنشيط الأنزيم Enzyme Inhibition:

المثبطات هي مركبات كيميائية تخفض من معدل سرعة التفاعل المحفز بالأنزيم. وتؤدي المثبطات فعلها على عامل أو أكثر من العوامل الأتية:

- أ- الموقع الفعال active site من الأنزيم.
- ب- الجزء البروتيني من الأنزيم والمسمى Apoenzyme.
- ج- مرافق الأنزيم Coenzyme.
- د- المجموعة الرابطة في الأنزيم Prosthetic group .

ويمكن تصنيف مثبطات الأنزيم الى ثلاثة أصناف:

١. المثبط التنافسي Competitive inhibitor

يحدث هذا النوع من التنشيط عندما يتنافس المثبط مع المادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للأنزيم. ويكون هذا النوع من التنشيط عكسيا، يعتمد على تركيز المثبط والمادة الأساس. وعادة تتشابه التراكيب الكيميائية للمثبط التنافسي والمادة الأساس. يمكن تقليل نسبة التنشيط للأنزيم بزيادة تركيز المادة الأساس ، وبأستعمال الرسم البياني لـ لاينويفر-بيرك بوجود وعدم وجود المثبط التنافسي يمكن إستخلاص المعلومات الأتية:

- أ- تبقى السرعة القصوى V_{max} ثابتة.
- ب- تزداد قيمة K_m .
- ج- تنخفض ألفة affinity الأنزيم للمادة الأساس.
- د- التغلب على التنشيط بزيادة تركيز المادة الأساس.

مثال/ المثبط التنافسي سلفانيل أميد sulfanil amide تركيبه مشابه للمركب حامض بارا- أمينو بنزويك P-amino benzoic (عامل نمو البكتريا) وهو المادة الأساس للأنزيمات المشاركة في تخليق المرافق الأنزيمي الفعال تترا هايدروفوليت tetrahydrofolate في البكتريا وبهذا يستخدم كعلاج للحد من نمو البكتريا.



٢. المثبط غير التنافسي Non-Competitive inhibitor

لا يوجد أي نوع من التنافس بين المثبط والمادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للأنزيم ، إذ إن المثبط يتحد مع موقع آخر في الأنزيم غير الموقع الفعال وقد يكون المثبط مشابهاً أو غير مشابه في التركيب الكيميائي للمادة الأساس . يقسم المثبط غير التنافسي الى نوعين:

أ- المثبط غير التنافسي العكسي Reversible non-competitive inhibition

بما أن كلاً من المثبط والمادة الأساس يتحد مع مواقع مختلفة في الأنزيم فهناك احتمال تكوين معقدين بوجود المثبط وهما EI و EIS .

ب- المثبط غير التنافسي غير العكسي Irreversible non-competitive inhibitor

يرتبط المثبط مع وحدة الحامض الأميني للأنزيم بواسطة آصرة تساهمية Covalent bond بحيث لا يمكن فصل المثبط عن الأنزيم بواسطة التخفيف أو الدليزة . يقال عن الأنزيم في هذا النوع من التثبيط أنه قد تسمم بالمثبط ، مثال على ذلك السيانيد Cyanide، أيودو سيانيد Iodo acetamide أيونات المعادن الثقيلة (Ag^+ , Hg^{+2}) التي تتحد بقوة مع مجاميع الثايول لبعض الأنزيمات). إن المثبطات غير العكسية تتحد بقوة مع الأنزيم وهذا الارتباط يؤدي إلى تحريف الأنزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كلياً. إن لكل من التثبيط غير التنافسي العكسي وغير العكسي نفس الحركية .

ومن رسم لاينويفر-بيرك نستنتج المعلومات الآتية:

أ- تنخفض السرعة القصوى V_{max} .

ب- تبقى K_m ثابتة، ذلك لأن زيادة [S] ليس لها تأثير في تقليل التثبيط.

ج- تبقى الألفة affinity الأنزيم للمادة الأساس ثابتة.

د- لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس.

٣. التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive Inhibition

يتحد المثبط اللاتنافسي في هذه الحالة مع المعقد ES لتكوين EIS .

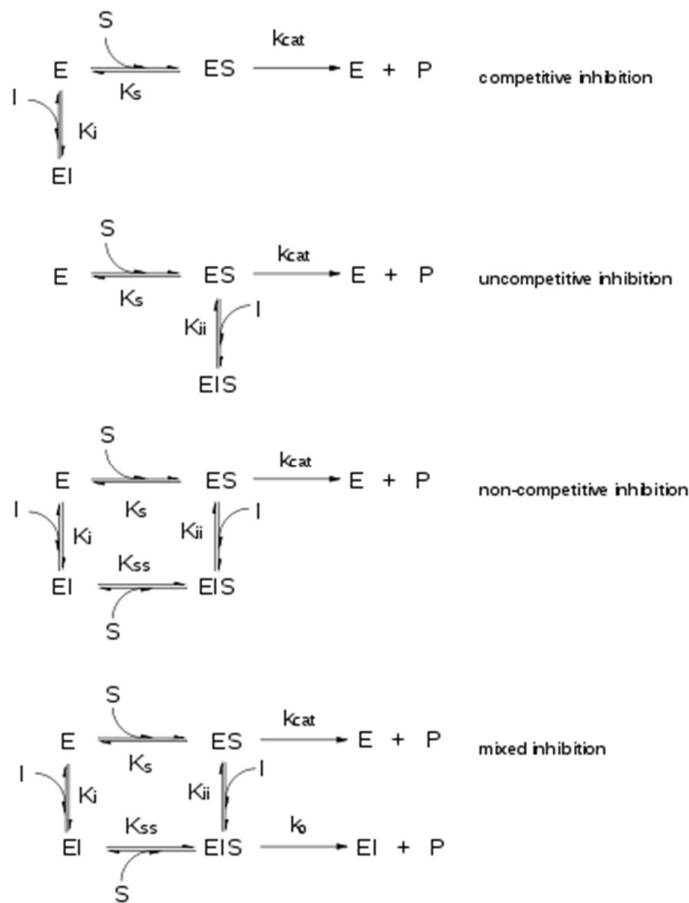
يعد المثبط اللاتنافسي جزءاً من المثبط غير التنافسي العكسي إذ كلاهما يحتويان على المعقد EIS . أما الرسم البياني لـ لاينويفر-بيرك بوجود المثبط اللاتنافسي أو عدم وجوده يوضح المعلومات الآتية:

أ- انخفاض قيمة السرعة القصوى V_{max} .

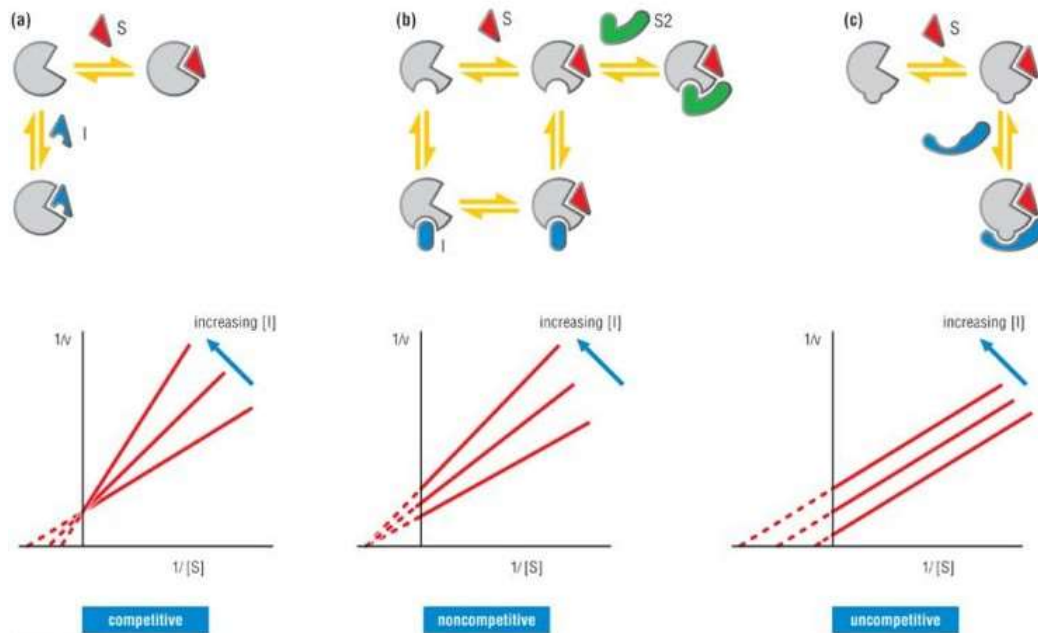
ب- انخفاض قيمة K_m .

ج- لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس

ويمكن توضيح ميكانيكيات التثبيط بالأشكال الآتية:



From [Protein Structure and Function 2005-2006 Online Update](#)
by Gregory A Petsko and Dagmar Ringe



الأنزيمات المنظمة أو الألوسستيرية Allosteric Regulatory enzymes:

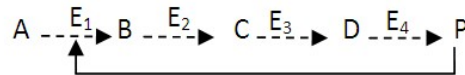
توجد أنزيمات معينة لا تخضع لحركية ميكاليس- منتن فالرسم البياني لتركيز المادة الأساس مقابل معدل السرعة للأنزيم لا يكون بشكل منحنى ذي قطع مخروطي Hyperbolic ففي هذه الحالة يكون الرسم أما منحنى شبيه بالحرف Sigmoidal أو منحنى مسطح Flatt end ويطلق على هذين النوعين من الأنزيمات بالمنظمة أو الألوسستيرية.

تعني كلمة الألوسستيرية الموقع (الطرف) الآخر another site وللأنزيمات الألوسستيرية طرف أو موقع آخر منظم يختلف عن الطرف المحفز ترتبط فيه المواد المؤثرة أو المعدلة modifiers effector أو modulator وتتكون الأصرة التساهمية بين المادة المؤثرة والأنزيم. تتألف الأنزيمات الألوسستيرية من وحدات عدة لسلاسل ببتيدية وتعمل هذه الأنزيمات على تنظيم المسارات الأيضية حسب حاجة الخلية ولهذا تسمى الأنزيمات الألوسستيرية المنظمة.

إن المؤثر أو المحفز الموجب Positive or stimulating effector هو مركب يعزز إقتران المادة الأساس بالأنزيم .

في حين المؤثر السالب Negative effector مركب يقلل من إقتران المادة الأساس بالأنزيم. إذ أن إقتران المؤثرات بالطرف المنظم يغير من التركيب الرباعي للأنزيم الألوسستيري وبالتالي يغير خواص الموقع الفعال للاقتران بالموقع الفعال.

تعمل نظم الأنزيمات المتعددة multienzyme system بصورة متسلسلة إذ يكون فيها ناتج التفاعل للأنزيم الأول مادة أساس للأنزيم الذي يليه وهكذا. غالباً ماتقع الأنزيمات الألوسستيرية في الخطوة الأولى أو في بداية المسار الطويل للعملية الأيضية، إذ يعمل الناتج النهائي للمسار مؤثراً سلباً للأنزيم المنظم وهذا ما يدعى بتثبيط الناتج النهائي end product inhibition أو تثبيط التغذية المرتدة feedback inhibition.



تمتاز الأنزيمات الألوسستيرية بما يأتي:

١. وزنها الجزيئي عال.
٢. إحتوائها على مواقع Active site وهي أكثر نشاطاً من الأنزيم الطبيعي.
٣. لها أهمية كبيرة في عملية الأيض الغذائي.
٤. الرسم البياني لا يخضع لمعادلة ميكاليس-منتن.

الأنزيمات المتماثلة الأصل Isoenzymes:

هي أنزيمات تتشابه من حيث عملها على نفس المادة الأساس، ولكنها تختلف بالنسبة للسرعة القصوى V_{max} وثابت ميكاليس K_m وتختلف أيضاً من حيث قيم R_f المختلفة عند فصلها بواسطة الهجرة الكهربائية Electrophoresis . وتحتوي على سلسلتين أو أكثر من سلاسل متعدد الببتيد وتختلف هذه السلاسل في مكوناتها من الأحماض الأمينية وتسلسلها. توجد هذه الأنزيمات بشكلين أو أكثر إذ أن ذلك يتوقف على عدد سلاسل متعدد الببتيد في الأنزيم.

من الأمثلة على ذلك ، أنزيم اللاكتات ديهيدروجيناز Lactate dehydrogenase موجود في الأنسجة الحيوانية بخمسة أشكال. وقد تكون هذه الأنزيمات الخمس المتماثلة الأصل من إتحاد نوعين مختلفين من سلاسل متعدد الببتيد.

سلاسل M تعود للعضلات Muscles.

سلاسل H تعود للقلب Heart.

إذ إن الأنزيم السائد في العضلات يحتوي على أربعة سلاسل M متطابقة (M4). والأنزيم السائد في القلب يحتوي على أربعة سلاسل H متطابقة (H4). وأنزيمات اللاكتات ديهيدروجيناز في الأنسجة الأخرى تكون هجينة وتتكون من خليط من سلاسل M وسلاسل H كالآتي: M3H, M2H2, MH3

يمكن توضيح الشرح أعلاه كما يأتي:

أشكال أنزيم LD الخمسة ومكان وجودها.

١. LD1 (H4) أربعة سلاسل ببتيدية توجد في القلب Heart.
٢. LD5 (M4) أربعة سلاسل ببتيدية توجد في العضلات Muscles.
٣. LD4 (M3H) سلاسل هجينة توجد في القلب والعضلات
٤. LD3 (M2H2)
٥. LD2 (MH3)

يستفاد من دراسة حركية هذه الأنزيمات في تشخيص بعض الأمراض مثل القلب والكبد من خلال اختلاف توزيعها فتعطي أشكالاً مختلفة عند تحليلها بالهجرة الكهربائية ودراسة فعاليتها في مصل الدم فإنها تعطينا مؤشرات قيمة لغرض تشخيص هذه الأمراض.

الهجرة الكهربائية: هجرة الجزيئات المشحونة تحت تأثير تيار كهربائي . وهي طريقة لفصل مزيج من الجزيئات المشحونة إستناداً الى شحنات الجزيئة وشكل وحجم الجزيئة.