كلية العلوم / قسم الكيمياء

# محاضرات الكيمياء الحياتية

## المحاضرة الرابعة /
## الانزيمات

فصل الانزيمات : المرحلة الثالثة  أستاذ المادة : د. شيرين فاروق

# الانزيمات Enzymes

الإنزيمات عبارة عن مواد بيولوجية محفزة ( مساعدة ) تقوم وبكميات قليلة بزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية بتقليل طاقة التنشيط والتي تحدث داخل الخلية الحية ( سواء نباتية او حيوانية ) بدون ان تتغير خلال هذه التفاعلات اذ ان الانزيمات لا تستهلك ولاتتحول عكسيا استخدم الإنزيم لأول مرة من قبل العالم W.kuhne في عام 1876 وتعني في الاغريقية Yeast او الخميرة اذ ادرك هذا العالم ان الخميرة تحتوي على مواد تسبب حدوث مختلف العمليات بصورة اسرع . ان معظم الانزيمات هي بروتينات تتألف من احماض امينية تتكون بوساطة الخلايا الحية ( الحيوانية او النباتية او الاحياء الدقيقة ) وتستطيع ان تعمل بصورة مستقلة خارج الخلايا الحية بعد توفر الظروف الملائمة لها . ويطلق على المادة المتفاعلة في التفاعلات الانزيمية بالمادة الاساس ( المادة الخاضعة او الركيزة ) Substrate ( المادة التي يعمل عليها الانزيم ) .

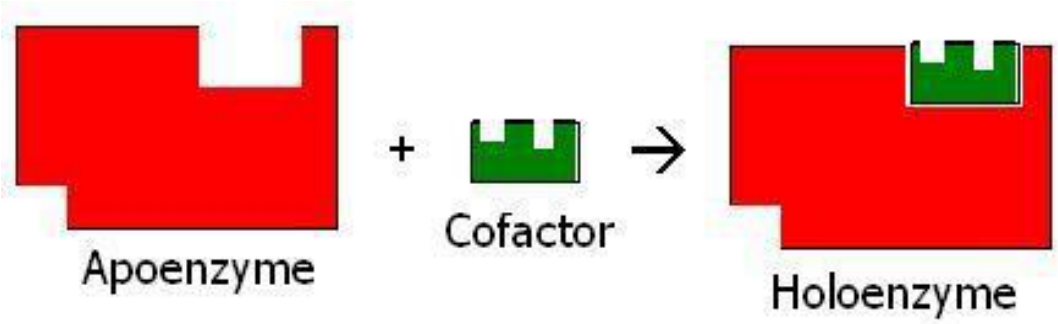
## وظائف الانزيمات :

- حفظ توازن الجسم عن طريق التحكم بالتفاعلات الكيميائية
- تعمل الانزيمات على تقليل كمية الطاقة اللازمة لبدء تفاعل كيميائي وهذا يساعد في حمايتها من التعرض الى الحرارة العالية التي تؤدي مسخ وتفكيك بنية البروتين في الجسم

## الخواص العامة للانزيمات :

- جميع الانزيمات هي بروتينات ، لذلك فأن كل العوامل التي تؤثر على البروتينات سوف تؤثر على الانزيمات أي بتسخين الانزيمات او معاملتها بأحماض او قواعد قوية فأن فعاليتها المساعدة تتحطم .
- تتكون الانزيمات من سلسلة واحدة او من عدة سلاسل متعدد الببتيد
- تتراوح الاوزان الجزيئية من 13000 دالتون الى اكثر من مليون دالتون
- ان من اهم خواص البروتينات هي كونها متخصصة اذ تعمل على مادة أساس واحدة او عدة مواد أساسية ( ولكنها من نفس النوع ) لينتج عن ذلك ناتج او عدة نواتج .
- الاواصر التي تثبت سلسلة جزيئة الانزيم في أوضاعها استنادأ الى ماذكر سابقأ للبروتينات وهي ( الاواصر الايونية ، الاواصر الهيدروجينية ، الاواصر الهيدروفوبية ، الاواصر ثنائية الكبريت ، تجاذب فاندرفالز ، التداخلات القطبية للمجاميع ) .

تحتوي بعض الانزيمات على مكونات كيميائية لفعاليتها البايولوجية ويطلق عليها العامل المرافق Cofactor وتكون على شكل معادن مثل ايونات ( المغنيسيوم والمنغنيز والحديد والسلينيوم والنحاس ، او تكون العوامل المساعدة على شكل جزيئة عضوية تسمى مرافقات الانزيم Coenzymes مثل NADH , FAD , NADPH وتحتاج بعض الانزيمات الى كلا النوعين أي الايونات المعدنية ومساعدات الانزيم ، ويطلق على الجزء البروتيني غير الفعال ( الانزيم وحده بدون مرافق ) ب الابو انزيم apoenzyme او ابوبروتين apoprotein ويطلق على الانزيم الفعال ( الجزء البروتيني والعامل المرافق ) ب holoenzyme




وعند ارتباط العوامل المرافقة باصرة تساهمية مع الانزيم فيطلق عليها بالمجموعة الرابطة Prosthetic group .

- تتشابه الإنزيمات في فعلها مع العوامل المساعدة الكيميائية الأخرى، إذ أنها تشارك في التفاعل دون أن تغير من نتيجته او طبيعة الناتج، كما أنها تعود في نهاية التفاعل إلى وضعها الأصلي الذي كانت عليه قبل بدء التفاعل مما يمكنها من المشاركة بتفاعل جديد وهذا ما يسمح لكميات قليلة من الأنزيم بالمشاركة لفترة زمنية طويلة في التفاعل، لكنها تمتاز عن العوامل المساعدة الأخرى بكفاءتها العالية.
- ان الفرق بين التفاعلات الانزيمية والتفاعلات غير الانزيمية هو ان مادة الأساس في التفاعلات الانزيمية تتحول بكفاءة وسرعة عاليتين ، في حين ان التفاعلات غير الانزيمية هناك نسبة معينة من المادة الأولية تتحول الى ناتج والباقي من المواد الأولية تفقد في كثير من التفاعلات الجانبية .

## الزايموجين proenzyme ( طليعة الانزيم او الإنزيم الغير نشط Proenzyme )

من الإنزيمات ما يصنع أولا في شكل غير نشط يسمى الزايموجين (طليعة الإنزيم Proenzyme ) فإذا دعت الحاجة إلى تنشيط هذا الإنزيم فسوف يتم ذلك بتغير بسيط في تركيبه كأن يزال جزء من سلسلة متعدد الببتيد المكونة له، فيتحول بذلك إلى إنزيم نشط Active Enzyme ومن الأمثلة على الإنزيمات التي تتكون في صورة غير نشطة إنزيما الهضم الببسين والتربسين فهما يتكونان أولا على صورة ببسينوجين و تربسينوجين على التوالي .

## آلية عمل الانزيم :

ان آلية عمل الانزيم عن طريق خفض طاقة التنشيط مما يسمح بإنجاز تفاعلات تجري عادة ضمن درجات حرارة مرتفعة جدا، وفق الشروط الحيوية بدرجة حرارة لا تتعدى درجة حرارة الجسم الحي، ليعود بعد انجاز التفاعل إلى وضعه الأصلي مما يمكنه من المشاركة بتفاعل جديد وهذا ما يسمح لكميات قليلة من الأنزيم بالمشاركة لفترة زمنية طويلة في التفاعل اذ يقلل الأنزيم طاقة تنشيط التفاعل بواسطة ارتباطه (ارتباط مؤقت) بالمواد المتفاعلة عند الموقع النشط للإنزيم وهذا الارتباط يقرب بين المواد المتفاعلة وتحدث التفاعلات بينها أي أن الإنزيم يقلل طاقة التنشيط للتفاعل فيسمح لأكبر عدد من الجزيئات بالتحلل إلى نواتج بواسطة جزئ إنزيم واحد. **هناك حقائق مهمة لعمل الانزيمات :**

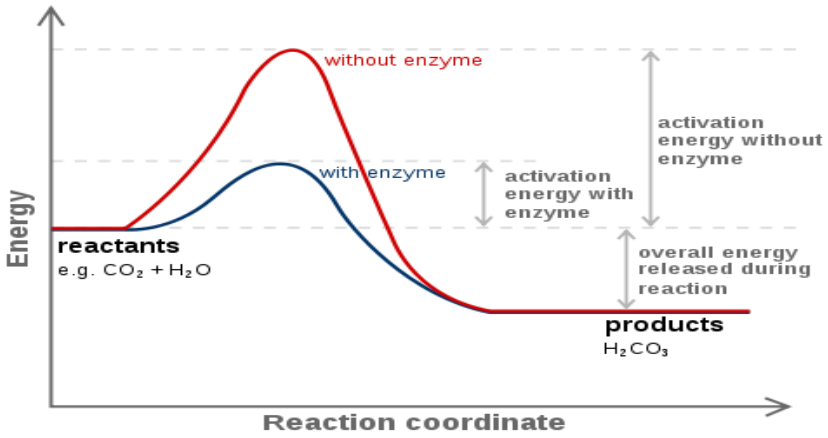
-لا تؤثر الأنزيمات على ثابت الاتزان في التفاعل الذي تحفزه ولكنها تسرع التفاعل للوصول إلى حالة الاتزان.

-لا تؤثر على تغيرات الطاقة الحرة للتفاعل.

-لا تغير الاختلاف في مستوى الطاقة بين المواد المتفاعلة و المواد الناتجة.

-تعمل على تخفيض طاقة التنشيط المطلوبة لبدء التفاعل المحفز بالأنزيم و الوصول به إلى " مرحلة الانتقال"

-طاقة التنشيط : هي الطاقة اللازمة لبدء التفاعل و نقل المواد المتفاعلة إلى مستوى طاقة يكفي لتحويل المواد المتفاعلة إلى نواتج هذا المستوى يعرف" بالحالة الانتقالية المؤقتة . "كلما قلت طاقة التنشيط كلما زادت سرعة التفاعل.




## الموقع الفعالActive site

في أي تفاعل أنزيمي يرتبط الأنزيم ( E ) enzyme مع المادة الهدف (S) substrate ليكونا معا معقد الأنزيم والمادة الهدف ( ES Complex ) و يتم هذا الإرتباط في موقع معين في تركيب الإنزيم يسمى الموقع الفعال-:

أنزيم (E) + مادة أساس (S) ⟵ معقد أنزيم ـ مادة أساس (E ـ S) ⟵ أنزيم (E) + مادة ناتجة (P)

الموقع الفعال هو وحدات من الاحماض الامينية في الانزيم ، تشترك في عملية التحفيز ، ويكون على شكل حفرة او التفاف لسلسلة متعدد الببتيد , توجد المواقع الفعالة Active sites على سطح الأنزيم وفي منطقة ذات شكل هندسي محدد وثابت.

-لا يشغل سوى حيز بسيط من سطح الإنزيم.

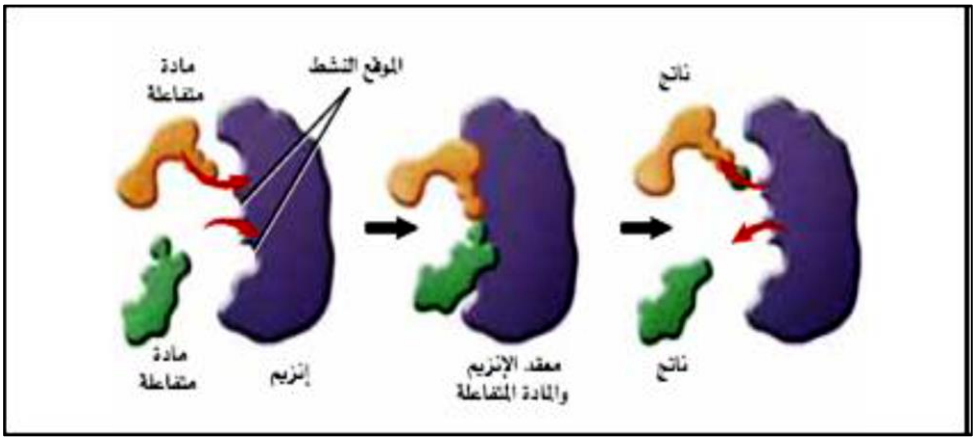
- يتألف من عدد محدود من الأحماض الأمينية المشكلة لجزيء الإنزيم

– ليس من الضروري أن تكون الأحماض الأمينية المشكلة للموقع النشط متتابعة أو متقاربة في سلسلة متعدد الببتيد ، بل هي غالبا تتكون من انثناءات السلسلة المتعددة الببتيد أو انحنائاتها ، فتتقارب لتعطي بناءا محدودا يناسب على نحو ما بناء المادة الهدف.

– ان الطبيعة الكيمائية لوحدات الاحماض الامينية في الموقع الفعال تلعب دوراً فعالا وذلك بمنحها اوسحبها للالكترونات من المجاميع الوظيفية للمادة الأساس .

– ان القوى التي تربط المادة الأساس بالموقع الفعال تكون ضعيفة نسبيا وبهذا تحرر النواتج من على سطح الانزيم بعد اكتمال التفاعل يكون سهلا .

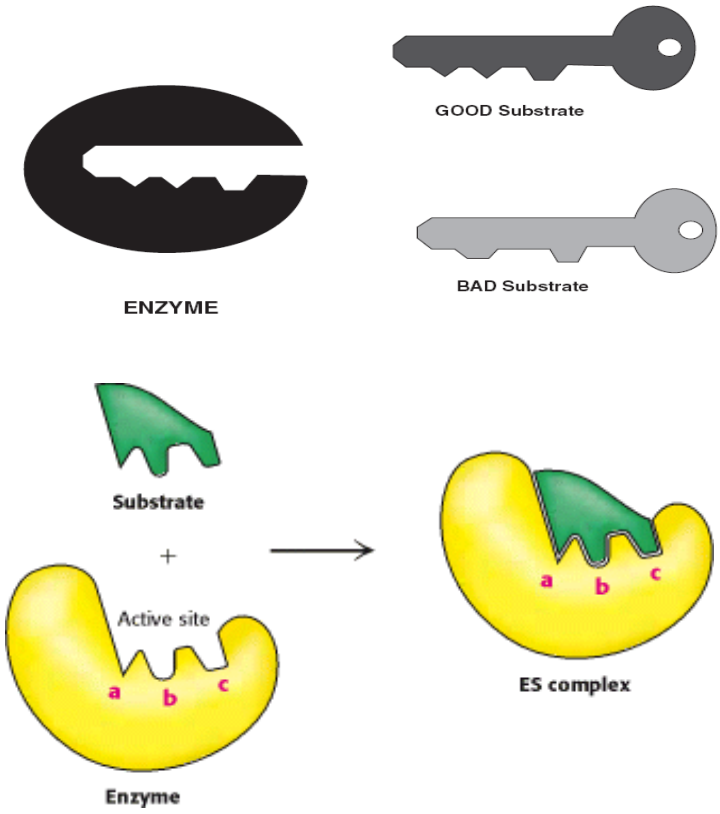
– ان لكل انزيم عدداً محدوداً من المواقع الفعالة مثل انزيم التربسين يحتوي على مركز فعال واحد بينما انزيم اليوريز يحتوي على أربعة مراكز فعالة .




وهناك نظريتان تتضمنان اتحاد المادة الاساس بالموقع الفعال وتكوين معقد الانزيم المادة الاساس( ES complex ) هما :

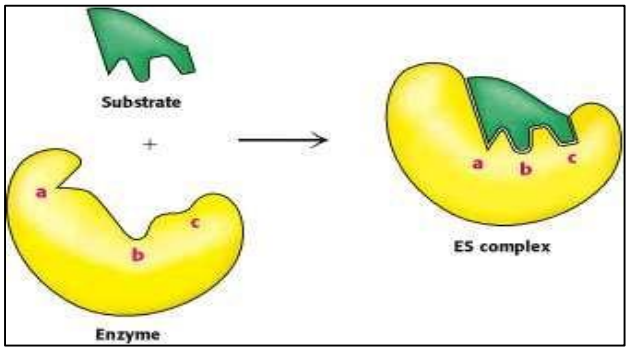
## ١-نظرية القفل والمفتاح :

اقترحت هذه النظرية من قبل الباحث اميل فيشر Emil Fischer في سنة 1890، ففي هذه النظرية وبسبب خصوصية الانزيم فأنه يتحد مادة اساس ذات شكل ملائم تماما للموقع الفعال اشبه بدخول المفتاح داخل القفل اذ يؤثر المفتاح ( المادة الاساس ) على قفل واحد وليس كل المجموعات الموجودة بجزيئة الانزيم ومن عيوب هذه النظرية هي صلابة او عدم مرونة الموقع الفعال بالنسبة للمادة الاساس.



## ٢-نظرية الحث التوافقي :

يعتمد اتحاد مادة الأساس مع الموقع الفعال للأنزيم على المجاميع الجانبية ( R-group ) للأحماض الامينية في الموقع الفعال والتي تشترك جميعا في عملية الاتحاد مع المادة الاساس ، ويمكن تشبيه نظرية التوافق المستحث بالقفار الذي يغير من شكله عند دخول اليد فيه فالقفار هنا يعد الموقع الفعال في الانزيم واليد هي المادة الاساس ان اهم ملامح هذه النظرية هو مرونة الموقع الفعال ، اذ عندما تضاف المادة الاساس للأنزيم فأن الموقع الفعال في هذا الانزيم يتحور بشكل خاص ليتمكن من الارتباط بالمادة الاساس ، أي ان شكل الموقع الفعال لا يتخذ الشكل المشابه للمادة الاساس الا حين يرتبط بها لذلك سميت هذه الحالة بنموذج الحث التوافقي




## استخدامات الانزيمات :

١. دراسة المسارات الايضية وتنظيم التفاعلات الجارية في ذلك المسار
٢. استخدامها في الصناعة بوصفها عوامل مساعدة بيولوجية لتصنيع الهرمونات والعقاقير والصناعات الغذائية والصناعات الكيميائية
٣. تعطي الانزيمات مؤشرا لحدوث حالة مرضية معينة او عدم حدوثها وذلك عند قياس فعاليتها في سوائل وانسجة الجسم المختلفة
٤. تستخدم بعض الانزيمات لأغراض علاجية او مضادات اكسدة او لقاحات ضد انواع معينة من الطفيليات
٥. استخدام بعض الانزيمات لغرض تشخيص الامراض الوراثية مثل انزيم بوليمريز في تفاعل السلسلة Polymerase chine reaction ( PCR )

## الفعالية الانزيمية والتجارب الانزيمية

تقاس الفعالية المساعدة Catalytic activity للأنزيم ( **E** ) بقياس سرعة اختفاء المادة الأساس ( **S** ) او سرعة ظهور الناتج ( **P** ) ان نسبة ظهور الناتج اكثر مناسبة للقياس وخصوصا اذا كان الناتج ملون حيث يستطيع ان يمتص absorbs الضوء في المنطقة المرئية من الطيف حيث تجمع ال S وال E في أنبوب اختبار وتوضع في جهاز الطيف الضوئي Spectrophotometer وان امتصاص الضوء Absorbance من قبل المزيج ويقاس في طول موجي معين وعند تكون ناتج اكثر خلال التفاعل فأن شدة اللون تزداد وكذلك يزداد امتصاص الضوء للمزيج حيث تكون الزيادة في امتصاص الضوء تتناسب مع شدة اللون لفترة معينة من الزمن وعندما تبدأ S بالاختفاء فأن

سرعة التفاعل ومعه سرعة الزيادة في امتصاص الضوء تبدأ بالتباطيء .

ان معظم الفحوصات الانزيمية Enzyme assay تعمل خلال الوقت الذي تكون فيه الزيادة في سرعة امتصاص الضوء مستقيمة مع الزمن

Enzyme assay of $E + S \rightarrow E + P\downarrow$

ناتج ملون يمتص الضوء في

المنطقة المرئية للطيف

ان الزيادة في تركيز الناتج يقابلها زيادة في امتصاص الضوء والذي يقاس ب Spectrophotometer المستخدم لقياس الفعالية الانزيمية .

**الفعالية الانزيمية : او فعالية الانزيم Enzyme Active ، وحدة الانزيم Enzyme Unit :**

وهي كمية الانزيم التي تحول مايكرومول واحد من المادة الاساس الى ناتج في الدقيقة الواحدة تحت الظروف المحددة للقياس .

ولان كل باحث قد طور طريقة خاصة في الفحص الانزيمي فقد احدث هذا ارتباك كبير .

ولرفع الارتباك الذي يحدث فان اللجنة الدولية المختصة بالإنزيم International Enz. Commission قد تبنت وحدة قياسية standard unit للفعالية الأنزيمية اطلق عليها الوحدة العالمية

**(International unit I.U ) ان وحدة عالمية واحدة تعرف على اساس انها كمية الانزيم التي بإمكانها تحـــــويل مايكرومول واحد (1µmol) من ال subs الى ناتج بالدقيقة في ٢٥ درجـــة مئوية = µmol $1\times10^{-6}$ mole**

**الوحدة العالمية ( ( International unit I.U )) قد اعيد تعريفها حديثا على اساس انها عدد المولات من ال subs التي تتحول الى ناتج في الثانية في ٢٥°C**

**1 I.U = $10^{-6}$ mol/60 sec. = $16.7\times10^{-9}$ mol/sec.**

**الفعالية النوعية Specific Active :** وهي عبارة عن عدد وحدات الانزيم ( او الفعالية ) لكل ملغرام واحد من البروتين وتعد مقياسا لنقاوة الانزيم وتزداد خلال تنقيته

**The no. of international units of enzyme per mg of protein**

**Activity = 1 µmol/min at 25°C**

**Sp. Act. = 1 µmol/min/mg protein**

**ان هذا المصطلح يوضح نقاوة purity الانزيم**

**عدد التحول Turnover number:** وهو عدد مولات المادة الاساس التي تتحول الى ناتج لكل مول من الانزيم في الدقيقة الواحدة . او كم هي سرعة الانزيم التي تحول المادة الاساس الى ناتج

اذ يتفاعل الانزيم مع المادة الاساس ليكون المعقد ( الانزيم – المادة الاساس ) [ ES ] والذي يتحول في المرحلة التالية الى ناتج مع خروج الانزيم بحالته الصلبة .

## تسمية الانزيمات :

مثال : العدد التصنيفي المميز لانزيم معين هو : **E.C. 1.2.1.7.** ( البادئة E.C. قبل الرقم تدل على الاسم النظامي للانزيم Enzyme Nomenclature ) ، حيث يدل الرقم الاول على النوع الرئيسي للتفاعل ، بينما يدل الرقم الثاني على النوع الفرعي ، ويدل الرقم الثالث على النوع الفرعي – الفرعي ، ويدل الرقم الرابع على الانزيم نفسه .

مثلا : **انزيم اللايبيز رقمه ( 3.1.1.3 )**

يدل **الرقم الاول ٣** : على الصنف الذي ينتمي له الانزيم وهو انزيمات التحلل المائي

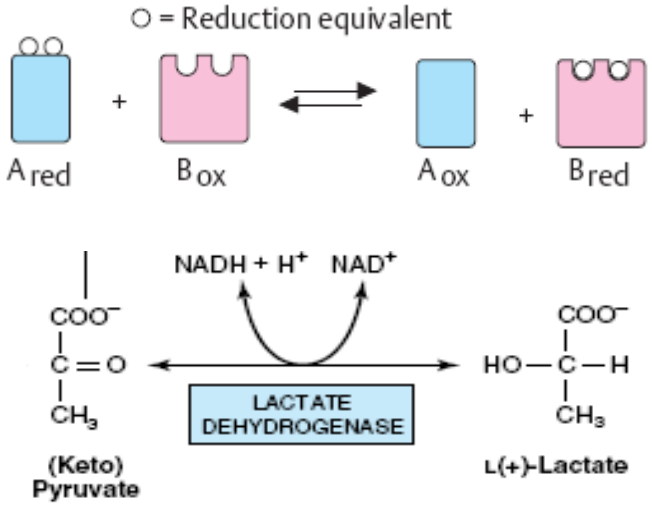
- **الرقم الثاني ١** : يدل على تحت الصنف ( صنف فرعي subclass ) ، حيث يعمل هذا الانزيم على تحليل روابط الاستر .
- **الرقم الثالث ١** : يدل على تحت تحت الصنف ( صنف فرعي – فرعي sub – subclasses ) اي ان الروابط الاستر التي يحللها ( روابط استر كاربوكسيلية ) .
- **الرقم الاخير ٣** : يدل على التسلسل الخاص بانزيم تراي اسيل كليسرول لايبيز Triacylglycerol lipase من ضمن الانزيمات التي تحلل روابط الاستر الكاربوكسيلي .

## تصنيف الانزيمات :

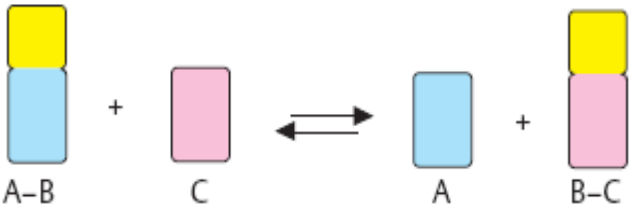
قد تعين وضع نظام تسمية دولي نتيجة لتزايد عدد الإنزيمات المكتشفة كل عام، فشكلت لجنة انبثقت عن مؤتمر الكيمياء الحيوية الدولي الذي انعقد في موسكو عام 1961 فقررت اشتقاق معظم أسماء الإنزيمات من أسماء المواد الاساس التي تؤثر الإنزيمات فيها ملحقة باللاحقة ase وهكذا دعي الإنزيم الذي يحلل النشاء تحليلاً مائياً بالأميليز amylase ، والإنزيم الذي يحلل البروتينات تحليلاً مائياً البروتييز protease والإنزيم الذي يحلل المواد الدهنية تحليلاً مائياً اللايبيز lipase .

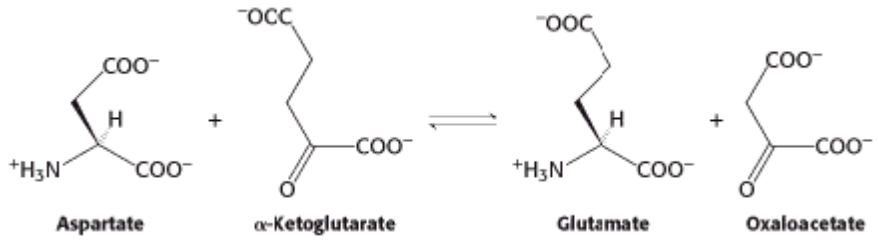
وبعدها وحسب توصيات الاتحاد العالمي للكيمياويين الحياتيين عام 1972 قسمت الأنزيمات إلى ستة أصناف استنادا إلى نوع التفاعل الذي تحفزه ، كذلك وضعوا لكل أنزيم عدد تصنيفي مميز خاص بهذا الأنزيم فقط ، وهذه الاصناف هي كالاتي:

١.**أنزيمات الأكسدة و الاختزال : Oxidoreductases** وهي الانزيمات المنشطة للتفاعلات التي تترافق مع اكسدة واختزال– المركبات المتفاعلة .ومن امثلتها الاوكسيديز والبيروكسيديز

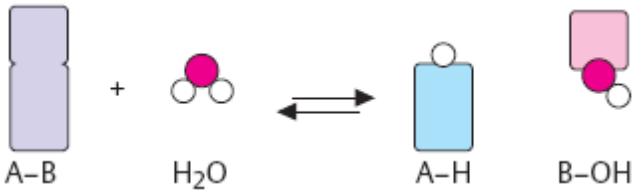



2.**انزيمات النقل : Transferase** وهي الانزيمات التي تقوم بنقل بعض الذرات او المجموعات الذرية ضمن او بين– الجزيئات المختلفة . و من أمثلتها الهكسوكاينيز وهو الإنزيم الذي ينقل مجموعة الفوسفات من مركب أدينوسين ثلاثي الفوسفات (ATP) إلى الكلوكوز.

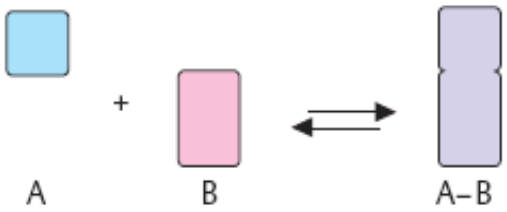


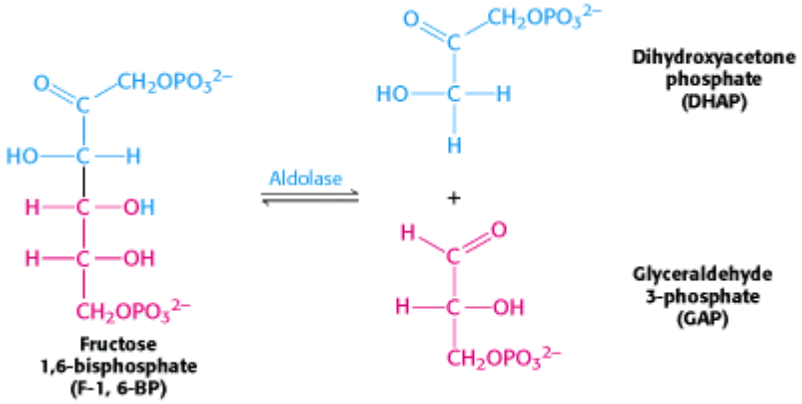




3.**أنزيمات التحلل المائي ( Hydrolases)** وهي الانزيمات التي تنشط تفكك الروابط بين الجزيئات المختلفة– بواسطة جزيئات الماء ومن امثلتها الانزيمات التي تعمل على تحلل الاواصر الكلايكوسيدية مثل انزيم الاميليز.

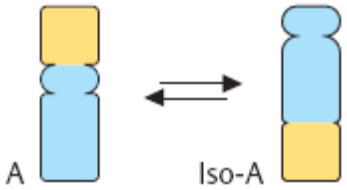


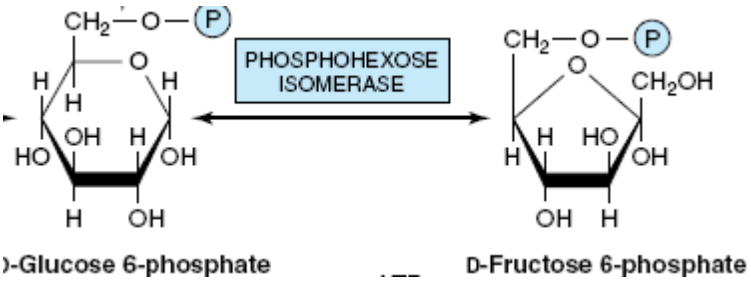

**4.إنزيمات الاضافة او الحذف : Lyases** وهي الانزيمات التي تعمل على نزع مجموعة كيميائية دون اضافة الماء ، ويترافق هذا التفكيك– عادة اما بتكوين رابطة مزدوجة او الاضافة الى رابطة مزدوجة، مثل فصل مجموعة امين 2NH في صورة أمونيا NH3



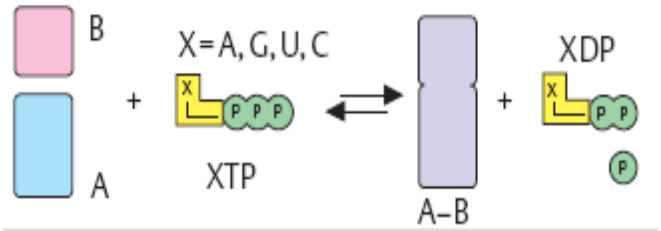



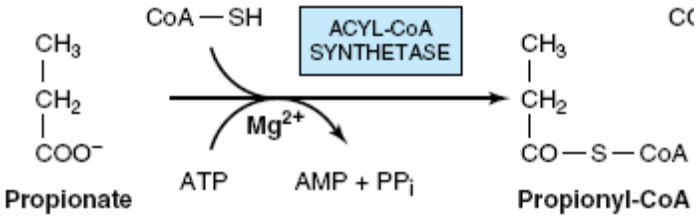

**5.أنزيمات التشكل او التناظر : Isomerase** وهي الانزيمات التي تنشط التحولات البنوية الوظيفية والفراغية ضمن الجزيئة – ومنها انزيمات السس والترانس Cis–Transisomerases وال D و L .






**6.أنزيمات الإرتباط : Ligases** وهي الانزيمات التي تعمل على إنشاء رابطة جديدة بين مركبين مختلفين او اكثر باستخدام– طاقة التحلل لل ATP او غيرها من المركبات عالية الطاقة مثلRNA Ligase .




## خصوصية الأنزيمSpecificity of enzyme

تتصف المركبات الانزيمية بخصوصيتها العالية سواء كان ذلك في التفاعل الذي تحفزه او في اختيارها للمواد المتفاعلةوالتي تسمى بالمواد الأساس Substrates ، وهذا أيضا يميزها عن العوامل المساعدة الغير عضوية . تتفاوت درجة تخصصية الأنزيمات كما يأتي–:

### 1–انزيمات ذات التخصص المطلق( تخصص عالي)

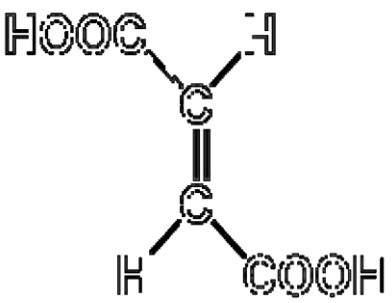
وهي أن يعمل الإنزيم على مادة تفاعل واحدة فقط مثل إنزيم اليوريز الذي يعمل على التحلل المائي لمادة اليوريا وانزيم الكلوكوكاينيز الذي يعمل على اضافة مجموعة الفوسفات الى الكلوكوز فقط.

**2-انزيمات ذات تخصص المجموعة( تخصص منخفض )**

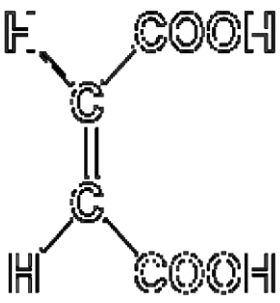
وهي انزيمات تعمل على مجموعة كاملة من المواد الاساس مثل الهكسوكاينيز الذي يعمل على اضافة مجموعة الفوسفات الى اغلب السكريات السداسية.

**3-انزيمات ذات تخصص الاصرة** : وتتخصص هذه الإنزيمات طبقاً لنوع الاصرة التي تربط المادة المتفاعلة مثل إنزيمات الليبيز Lipase الخاصة بالدهون كما في انزيم اللايبيز Lipase البنكرياسي يحلل مائيا ارتباط الاستر بين الكليسرول Glycerol والحوامض الدهنية في الليبيدات ، ولكن لا يكون له اي تاثير على التحلل المائي للبروتينات او السكريات ، مثال اخر انزيمات الاستريز تكون خاصة بالاسترات فقط.

**4-إنزيمات ذات تخصص التشابه الفراغي :** وهي انزيمات تتخصص في التأثير على المواد ذات التشابه الفراغي مثل السس والترانس ، او ايزومرات D و L ، حيث تستطيع هذه الانزيمات التمييز بين شكل واحد فقط أي ان تعمل مثلا على مركبات السس ولا تعمل على الترانس مثل حامض الماليك Maleic acid الذي هو النظير Cis لحامض الفيوميريك ويوضح الشكل التالي تركيب حامض الماليك.




Fumaric Acid



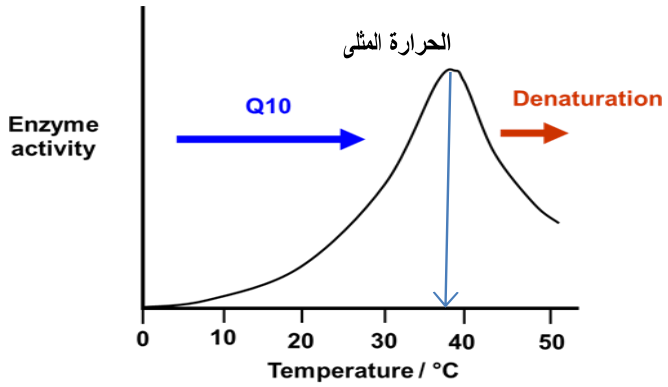

Maleic Acid

## العوامل المؤثرة على فعالية الانزيم:

هناك عدد من العوامل التي تؤثر على فعالية الانزيم وبالتالي تؤثر على سرعة التفاعل الذي يستخدم الانزيم بوصفه عاملا مساعدا (تحفيزيا ) ومن اهم تلك العوامل :

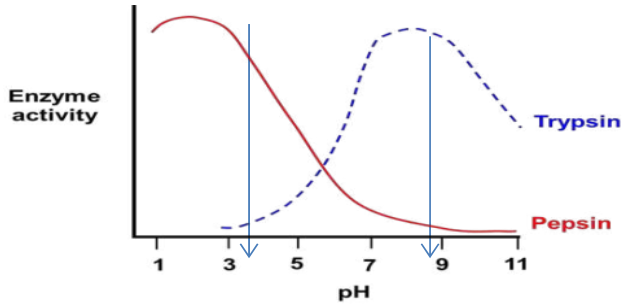
### 1. تأثير درجة الحرارة :

ان سرعة التفاعل الكيميائي بوجود الانزيم تتأثر بالحرارة بصورة رئيسية حيث تعمل الانزيمات بصورة بطيئة جدا في درجات الحرارة القريبة من الصفر 0°C لان الحركة الجزيئية molecular Motion تقل بصورة كبيرة في هذه الدرجة. ان ارتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الانزيم وبالتالي زيادة سرعة التفاعل بشرط ان لا يصل هذا الارتفاع الى الحد الذي يؤدي الى مسخ الانزيم و تحطم الشكل ذو الابعاد الثلاثية للأنزيم ( كون الانزيم هو مادة بروتينية يمكن ان تتعرض للمسخ أيضا ) وان ارتفاع درجة الحرارة تعمل على زيادة الطاقة الحركية للأنزيم فتزيد من تقارب الانزيم مع المادة الأساس مما يسبب زيادة سرعة التفاعل ولان درجة حرارة جسم الكائن الحي تعمل بدرجة 37°C فان انزيمات الخلايا الحية تعمل في درجة حرارة نموذجية مقدارها 37°C . ان الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الانزيمي في سرعته القصوى تطلق عليها الدرجة الحرارية المثلى optimum temp لذلك الانزيم والتي تمثل قمة المنحني الذي يمثل العلاقة بين درجة الحرارة وسرعة التفاعل . ولكن عند استخدام درجات حرارية اعلى من القصوى ( اعلى من قابلية الانزيم على تحمل الحرارة ) والتي تكون غالبا اكثر من 50°C فأن ذلك يمكن ان يؤدي الى مسخ البروتين من خلال تفكك الاواصر الهيدروجينية وبعض القوى الأخرى المسؤولة عن ثبات الانزيم مما يؤدي الى فقدان فعاليتها وانخفاضها بصورة تدريجية



## 2. تأثير الأس الهيدروجيني (pH) :

لكل إنزيم درجة حموضة pH مناسبة يكون نشاطه عندها أكبر ما يمكن اي يكون الانزيم عند اقصى فعالية له ويسمى الاس الهيدروجيني الأمثل(الأقصى) Optimal pH يتراوح الاس الهيدروجيني الأمثل لأغلب الانزيمات ما بين 5–9 ويكون الاس الهيدروجيني للأنزيم مقاربا للاس الهيدروجيني للنسيج الذي استخلص منه ذلك الانزيم مثال ذلك انزيم الببسين تكون ال pH المثلى له تقريبا عند 1.6 وقيمة pH لعصارة المعدة هي 1–2 ولكن عند استخدام اس هيدروجيني عالي جدا او واطئ فيمكن ان يؤدي ذلك الى عملية المسخ للأنزيم وفقدان فعاليته .




**يؤثر الاس الهيدروجيني في مواقع معينة من الانزيم منها :**

١– الصفات الايونية للمجاميع الامينية والكاربوكسيلية للأنزيم

٢– الصفات الايونية للمجاميع الجانبية لوحدات الاحماض الامينية

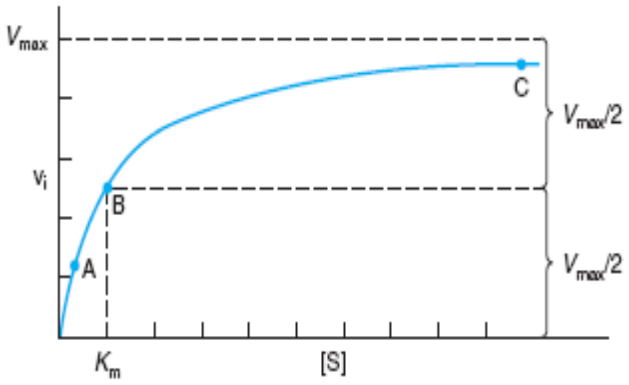
٣– الصفات الايونية لوحدات الاحماض الامينية الكائنة في الموقع الفعال والموقع المسؤول عن التحفيز

## 3. تأثير تركيز المادة الاساس :

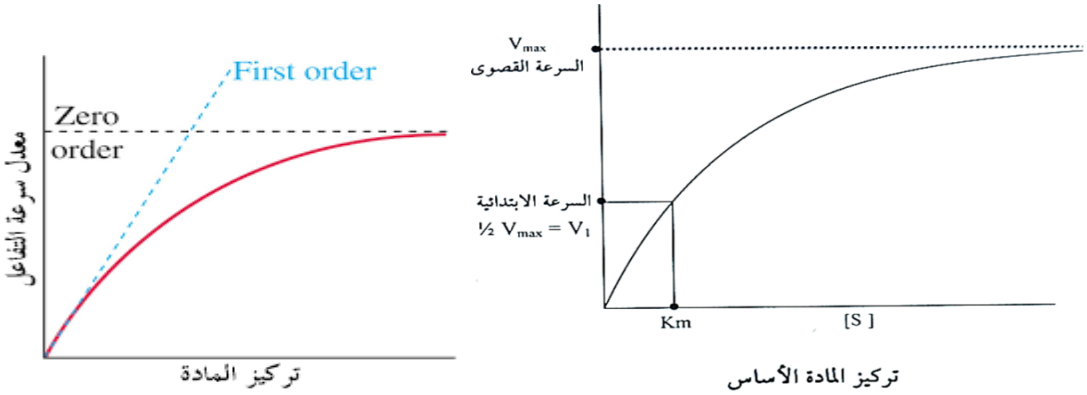
عند ابقاء تركيز الانزيم ثابتا ، فأن الزيادة في تركيز المادة الاساس ( **S** ) تسبب في البداية ارتفاعا سريعا في معدل سرعة التفاعل **V** ولكن عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الاساس فأن الزيادة في معدل سرعة التفاعل تبطؤ الى ان تصبح السرعة ثابتة مهما زاد تركيز المادة الاساس ويطلق على السرعة عند اعلى تركيز للمادة الاساس **السرعة القصوى ويرمز لها $V_{max}$**

**لقد قام العالمان مكيلس منتن بتفسير العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس افترض هذان العالمان بأن الانزيم E يتحد أولا بصورة عكسية مع المادة الأساس S ليكون مركب معقد من الانزيم والمادة الاساس ES في تفاعل سريع ثم يتفكك المركب المعقد ES بعد ذلك بتفاعل عكسي ثان والذي يكون أبطأ من الأول ليولد مرة أخرى الأنزيم الطليق وناتج التفاعل P .**

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$




عندما تكون تراكيز المواد الاساس قليلة ويكون الانزيم غير مشبع فان سرعة التفاعل تكون معتمدة على تركيز المادة الاساس ويعبر عنها **بحركية احادية الرتبة** وعند زيادة التركيز الى درجة كبيرة وتصبح المواقع الفعالة للأنزيم كلها مشبعة بصورة دائمة ( حيث تقترن بصورة مستمرة جزيئات المادة الاساس الموجودة بوفرة بالمواقع الفعالة لجزيئات الانزيم حيث حالما تتحرر جزيئات الناتج من الانزيم وهكذا يكون الانزيم بحالة تشبع دائما ) وتكون في هذه الحالة سرعة التفاعل غير معتمدة على تركيز المادة الاساس ويعبر عنها **بحركية صفر الرتبة** . وان العلاقة يتم التعبير عنها بالرسم البياني بين تركيز المادة الاساس وسرعة التفاعل يكون بشكل منحني ذي قطع مخروطي




**وان المعادلة الرياضية التي توضح العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس والتي تحقق الشكل المنحني يطلق عليها معادلة مكيلس منتن وهي كما يلي :**

$$V = \frac{Vmax\,[S]}{Km + [S]}$$

**حيث ان**

**V = معدل سرعة التفاعل**

**Vmax = السرعة القصوى عند تركيز عال من المادة الأساس**

**[s] = تركيز المادة الاساس**

**Km = ثابت مكيلس : وهو عبارة عن تركيز المادة الاساس عندما يكون معدل سرعة التفاعل تساوي نصف السرعة القصوى Vmax أي**

$$V = \frac{1}{2}\ V_{max}$$

وعندما يكون ثابت مكيلس يساوي تركيز المادة الأساس Km =[S] ، فأن معادلة مكيلس – منتن تصبح كالاتي :

$$V = \frac{Vmax\ Km}{Km+Km} = \frac{Vmax}{2}$$

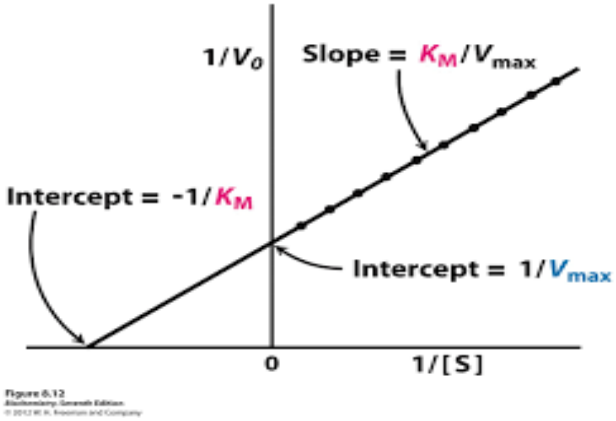
– ثابت مكيلس لا يتغير بتغير تركيز الأنزيم ، وتكون لكل أنزيم ومادة أساس خاصة به ، قيمة لثابت مكيلس معينة هذا الثابت يعكس سهولة أو صعوبة ارتباط الأنزيم بالمادة الأساس أي ميل الأنزيم للارتباط بالمادة الأساس .

اذا كانت Km عالية للأنزيم فأنها تعكس ميل الأنزيم الضعيف للمادة الاساس . اما اذا كانت Km صغيرة تعكس ميل الانزيم القوي للمادة الاساس . تعتبر هذه المعادلة اساسية وصحيحة لكافة اختلافات فعالية الانزيم في تحفيز التفاعلات ، واذا كان كل من Km و Vmax معلومة والتي يمكن استنتاجها بسهولة من تجارب بسيطة نستطيع احتساب سرعة التفاعل لأي تركيز معين للمادة الاساس .

ان قيمة ***Km*** تعتمد على نوعية المادة الأساس والاس الهيدروجيني للمحلول ودرجة الحرارة وتتراوح قيمة ***Km*** لمعظم الانزيمات مابين $10^{-1} - 10^{-7}$ مولاري ( **وحدة *Km* هي وحدة المادة الأساس المستخدمة في التفاعل الانزيمي** )

## رسم لاينويفر – برك البياني Line – Weaver Burk Plot

عند اخذ القيمة العكسية لطرفي معادلة مكيلس – منتن اعلاه واعادة ترتيبها نحصل على علاقة خطية تعرف بمعادلة لاينويفر–برك ويمكن بواسطتها Km و Vmax . بدقة من هذا الرسم دون الحاجة لإيجادها بالطرق المختبرية




$$\frac{1}{V_o} = \frac{K_m}{V_{max}}\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

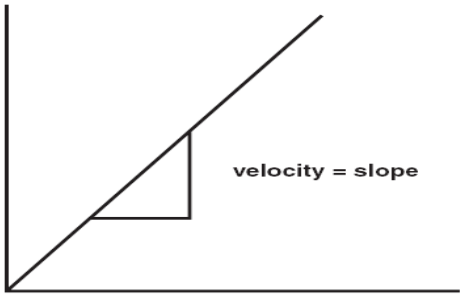
أي يمكن بواسطة المعادلة اعلاه وبمساعدة الرسم الحصول على قيم Km و Vmax

ان أهمية رسم لاينويفر – برك تكون في :

- تكون قيم Km و Vmax الناتجة من الرسم البياني دقيقة نسبيا
- يستفاد من الرسم لايجاد نوعية المثبط عند دراسة تأثير المثبطات على فعالية الانزيم

## 4. تأثير تركيز الأنزيم :

ان معدل سـرعة التفاعل المحفز بالأنزيم يتناسـب طرديا مع تركيز الانزيم عندما تكون المادة الاسـاس بوفرة في محيط التفاعل ويمكن اسـتخدام هذه العلاقة لقياس كمية الانزيم ( فعالية الانزيم ) في عينة معينة ( مصـل ، بول ، دم ، وغيرها ) بعد تثبيت الظروف من درجة الحرارة والاس الهيدروجيني ومادة الاسـاس ، حيث تتناسـب سـرعة التفاعل طرديا مع زيادة تركيز الانزيم وتستقر سرعة التفاعل على حد معين رغم اضافة– الانزيم تبقى السرعة ثابته وهذا يعود للمادة الاساس لأنها اصبحت مرتبطة كليا فإضافة انزيم اكثر لن يجد ماده اساس ليعمل عليها.




## 5- تأثير تثبيط الانزيم :

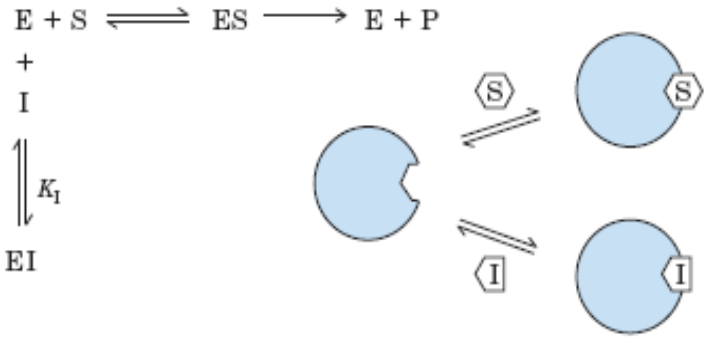
المثبطات هي مركبات كيميائية ( قد تكون ايونات معدنية او مركبات جزيئية عضـوية صـغيرة ) تخفض من معدل سرعة التفاعل الانزيمي او توقفه من خلال تأثيرها على عامل واحد او اكثر من العوامل التي تكون تركيب او مرافق الانزيم وهي : الموقع الفعال ، الجزء البروتيني من الانزيم والمسـمى ابو انزيم ( الانزيم المجرد ) Apoenzyme ، المرافقات الانزيمية ، المجموعة الرابطة في الانزيم . فضـلا عن ذلك يمكن خفض نشـاط الانزيم ( فعاليته) وفي بعض الاحيان يتوقف نشاط الانزيم كليا.

استخدمت المثبطات في العديد من التفاعلات الانزيمية وذلك لمعرفة ودراسة المسارات الايضية المختلفة في الجسم ودراسة تأثير بعض العقاقير والمواد السامة على التفاعلات الانزيمية في الجسم

**يمكن تصنيف مثبطات الانزيم الى ثلاثة اصناف :**

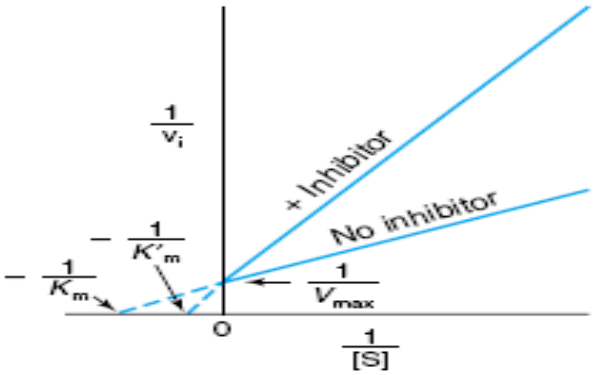
### أ – التثبيط التنافسي Competitive inhibitor

في هذا النوع من التثبيط يتنافس المثبط Inhibitor ( I ) والمادة الاسـاس Substrate (S) على الاتحاد مع الموقع الفعال للأنزيم ، ويكون هذا النوع من التثبيط عكسـيا ( اذ ان المثبطات العكسـية هي التي تتحد مع الانزيم مباشرة ويمكن ازالتها بالتخفيف وبهذا تسترجع الفعالية الانزيمية ) لذلك سوف تقل فعالية الانزيم بسبب قلة نسـبة جزيئات الانزيم التي تتحد مع المادة الاسـاس. ويعتمد هذا التثبيط التنافسـي العكسـي على تركيز المثبط والمادة الأساس والالفة النسبية بين المثبط والمادة الأساس ، فبزيادة تركيز المادة الأساس يمكن تقليل نسبة التثبيط الذي يكون تركيبه ( المثبط ) في الغالب مشابها لتركيب مادة الأساس




**نلاحظ بالرسم البياني لمعادلة لاينويفر – برك بوجود او عدم وجود المثبط التنافسي :**

- **تبقى السرعة القصوى ثابتة**
- **تزداد قيمة Km ( تنخفض الفة الانزيم للمادة الأساس )**
- **يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس**




## ب– التثبيط غير التنافسي Noncompetitive inhibitor

في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الاساس او قد يشابهه قليلا ، ويرتبط المثبط غير التنافسي عادة مع الانزيم في موقع اخر يختلف عن الموقع الفعال أي لا يوجد تنافس بين المثبط والمادة الاساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للأنزيم لذلك فأن زيادة تركيز المادة الاساس لا يلغي تأثير عمل هذه المثبطات .

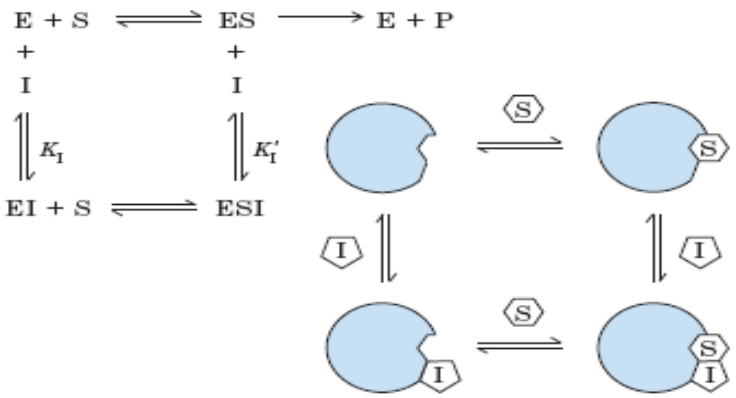
يقسم المثبط غير التنافسي الى نوعين :

١. **المثبط غير التنافسي العكسي Reversible noncompetitive inhibitor**

٢. **المثبط غير التنافسي غير العكسي Ir reversible noncompetitive inhibitor**

**وفي مايأتي وصف للنوعين من المثبط الغير تنافسي :**

١– **المثبط غير التنافسي العكسي :** يتكون معقدان بوجود المثبط وهما معقد الانزيم – المثبط ( **EI** ) ومعقد الانزيم – المثبط – المادة الأساس ( **EIS** ) كما في الشكل :




ان المعقد EIS يمكن ان يتحلل ليعطي الناتج ولكن بمعدل سرعة اقل مما هو عليه لتحلل ES وبهذا يكون التفاعل الانزيمي ابطا مما هو عليه بغياب هذا النوع من المثبطات .

٢- المثبط غير التنافسي غير العكسي : يرتبط المثبط مع وحدة الحامض الاميني للانزيم بواسطة اصرة تساهمية بحيث لايمكن فصل المثبط عن الانزيم بواسطة التخفيف او الديلزة والتي تسمى هذه الحالة في بعض الأحيان تسمم الانزيم . ان هذا الارتباط يعمل على تحوير الانزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كليا لذلك يقال عن الانزيم بأنه تسمم بالمثبط . ويمكن توضيح الاتحاد كما يلي :

$$\mathbf{E} + \mathbf{S} \rightleftharpoons (\boldsymbol{ES}) \rightarrow \mathbf{E} + \mathbf{P}$$

\+

**I**

↓

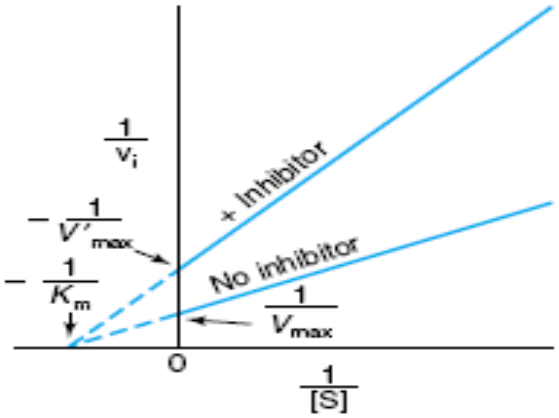
**ES**

ان الرسم البياني لمعادلة لاينويفر – برك بوجود او عدم وجود المثبط غير التنافسي ( الغير عكسي ) يمكن استنتاج المعلومات الاتية منه :

١. **تنخفض السرعة القصوى $V_{max}$**

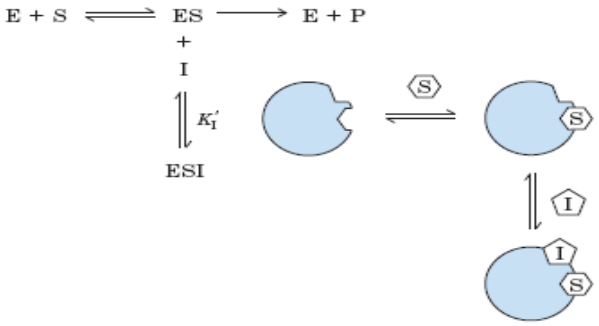
٢. **تبقى قيمة $K_m$**

٣. **لايمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس**




## ج-التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive Inhibition

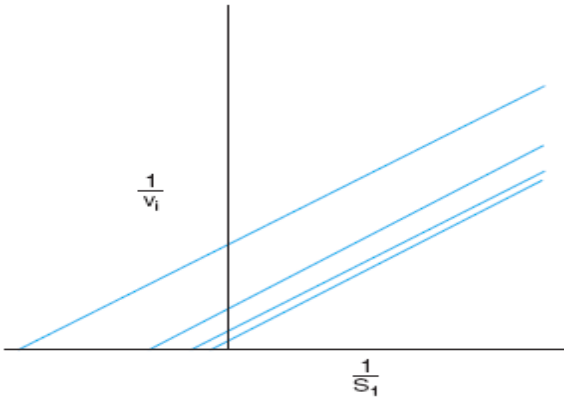
يعد المثبط اللاتنافسي جزءا من المثبط التنافسي العكسي اذ كلاهما يحتويان على المعقد EIS فالمثبط اللاتنافسي يتحد مع المعقد ES فقط ليكون EIS




**ان المثبط اللاتنافسي يرتبط بموقع يختلف عن موقع ارتباط مادة الأساس بالانزيم .**

الرسم البياني لمعادلة لاينويفر – برك بوجود المثبط اللاتنافسي او عدم وجوده . يوضح بالمعلومات الاتية :

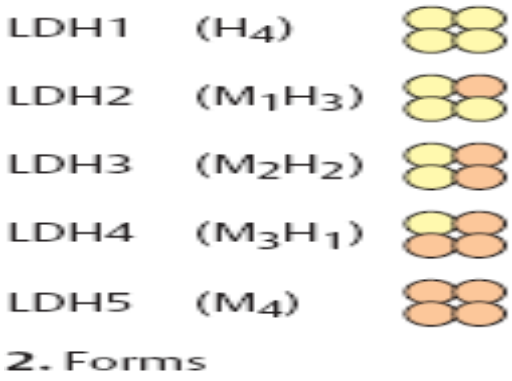
١. **انخفاض قيمة السرعة القصوى $V_{max}$**
٢. **انخفاض قيمة $K_m$**
٣. **لايمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس**



## الانزيمات المتماثلة ( المتناظرة ) الأصل Isoenzymes

تعرف الإنزيمات المتماثلة الأصل بأنها انزيمات تتشابه في عملها على نفس المادة الأساس ولكنها تختلف فيما بينها بالنسبة لعدة أمور : ١.**السرعة القصوى $V_{max}$**، ٢.**ثابت مكيلس $K_m$** ، ٣. **قيمة $R_f$ ( وهي المسافة التي يقطعها الانزيم من نقطة البداية عند فصلها بواسطة تقنية الهجرة الكهربائية Electrophoresis** ، ٤. **طبيعة سلاسل متعدد الببتيد ( عدد الوحدات ) التي يحتويها اذ قد يحتوي على سلسلتين او اكثر من سلاسل متعدد الببتيد والتي تختلف فيما بينها بما تحويه من الاحماض الامينية وانواعها وتسلسلها** ، ٥. **الصفات الفيزيائية والكيميائية والمناعية .**

الإنزيمات المتماثلة الأصل قد توجد بشكلين او اكثر اعتمادا على طبيعة سلاسل متعدد الببتيد التي يحتويها والتي يمكن فصلها بواسطة الهجرة الكهربائية والكروماتوكرافيا ومن الأمثلة على هذا النوع من الانزيمات هو ( إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز lactate dehydrogenase ) ( LDH ) الذي يعمل على تحفيز التفاعل العكسي بين البايروفيت واللاكتيت اذ يوجد بخمسة أشكال في مصل دم الإنسان امكن فصلهم بتقنية الهجرة الكهربائية وكل شكل يحتوي على اربع من سلاسل متعدد الببتيد الموجودة في العضلات الهيكلية ( M ) Skeletal muscle وفي القلب ( H ) Heart . اذ ان الانزيم المتماثل الاصل ( لاكتيت ديهيدروجينيز ) السائد في العضلات يحتوي على اربع وحدات متطابقة ويرمز لها $M_4$ ، اما في القلب فالأنزيم السائد يكون اربع وحدات متطابقة من نوع $H_4$ وفي الانسجة المختلفة فيوجد الانزيم على شكل مزيج هجين من سلاسل **M** و **H** اي **$M_3H$** و **$M_2H_2$** و **$MH_3$** والاشكال الخمسة لأنزيم لاكتيت ديهيدروجينيز هي :

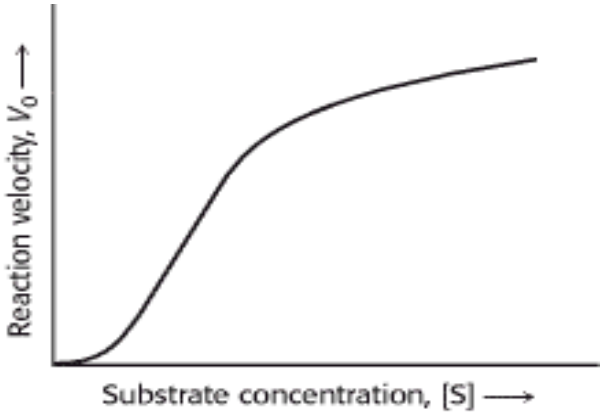



والانزيمات المتماثلة الاصل وفصلها اهمية تشخيصية في مجال الطب وهذه الاهمية ناتجة من ان الانزيمات المتماثلة تتأثر بالحالات المرضية المختلفة ، اذ يختلف توزيعها وتعطي اشكالا مختلفة استنادا الى المرض وشدته وذلك من خلال استخدام تقنية الهجرة الكهربائية Electrophoresis

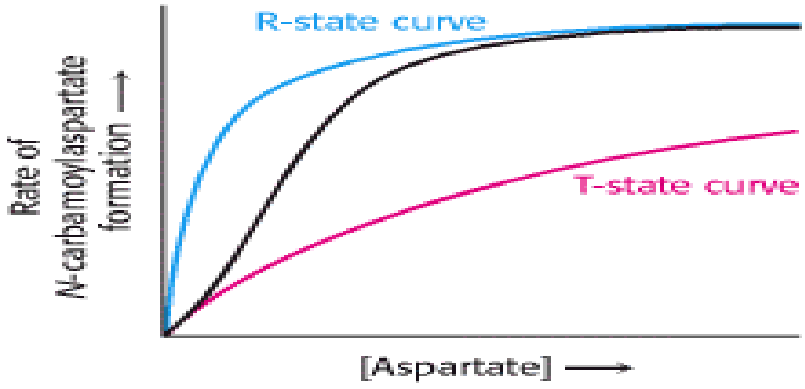
## الانزيمات المنظمة Regulatory ( او الانزيمات الالوستيرية Allosteric Enzymes )

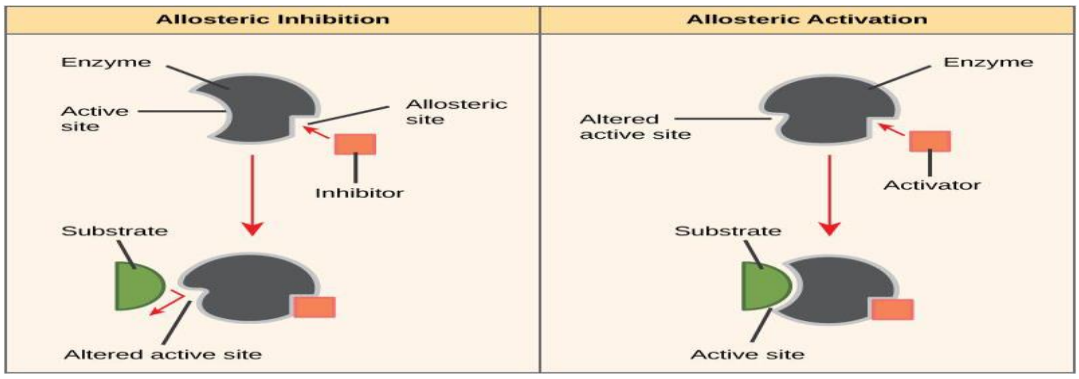
الإنزيمات المنظمة ( الالوستيرية ) هي الانزيمات التي تمتلك عدد من الجهات الفعالة التنظيمية الاضافية لجزيئات مؤثرة منظمة يطلق عليها المنظمات وهي عبارة عن مواد ذات وزن جزيئي صغير تتاصر الى جهات التنظيم وتسيطر على الفعاليات البايولوجية الانزيمية ، لذلك تتميز الانزيمات المنظمة عن بقية الانزيمات بعدة مميزات منها :

- تتميز باحتوائها على موقع منظم يختلف عن الموقع الفعال ( المحفز) ترتبط فيه المواد المعدلة او المؤثرة التي هي عبارة عن مواد اما ان تعزز ارتباط المادة الاساس بالأنزيم وتسمى المؤثر الموجب Positive effector او تقلل من ارتباط المادة الأساس بالأنزيم وتسمى المؤثر السالب Negative effector
- تعمل الانزيمات المنظمة على تنظيم المسارات الايضية استنادا الى حاجة الخلية والتي تقع تحت تأثير الهرمونات بطريقة غير مباشرة
- تمتلك طاقة حرة قياسية ( $\Delta G^{\circ}$ ) سالبة وبالتالي فالتفاعلات التي تحفزها تكون تلقائية وبأتجاه واحد فقط
- لاتخضع لحركة مكيلس – منتن فالرسم البياني لتركيز المادة الأساس مقابل معدل السرعة للانزيم لايكون بشكل منحني ذو مقطع مخروطي بل تعطي الانزيمات المنظمة منحنيين الأول شبيه بالحرف الإنكليزي S والأخر منحني مسطح ، كما في الشكل التالي :




- تتأثر فعالية الانزيمات المنظمة بتركيز المادة الاساس حيث تكون سرعة التفاعل في البداية بطيئة ولكن عند زيادة تركيز المادة الاساس قليلا تعقبها زيادة كبيرة في السرعة الى ان تبلغ السرعة القصوى $V_{max}$ ويطلق على التأثير الإيجابي للمادة الأساس في نشاط الانزيم التنسيق الإيجابي وقد تكون زيادة تركيز المادة الاساس لاتؤدي الى بلوغ السرعة القصوى ويدعى هذا التأثير التنسيق السلبي ، نلاحظ ذلك في الشكل التالي الذي يوضح التنسيق الايجابي ( A ) والتنسيق السلبي الممثل في ( B )




**معدل ذو تأثير ايجابي على الانزيم**
**تغير الموقع الفعال نتيجة ارتباط المادة**
**المعدلة ليصبح مناسب للمادة الاساس**

**معدل ذو تأثير سلبي على الانزيم**
**تغير الموقع الفعال نتيجة ارتباط المادة**
**المعدلة ليصبح غير مناسب للمادة الاساس**

## التثبيط بالتغذية المرتدة Feedback inhibition

وفي هذا التثبيط فان الناتج النهائي للمسار الايضي يعمل كمؤثر تنظيمي سلبي للأنزيم الاول في المسار وبالتالي يمكن السيطرة على المسار. اذ عند تكون الناتج النهائي ينتشر diffuse ويصل الى التفاعل الأول ويعمل كمثبط مما يؤدي الى غلق الانزيم وايقاف انتاج الناتج النهائي .

## الانزيمات وتشخيص الامراض Enzyme and the diagnosis of disease

معظم الانزيمات تكون موجودة بصورة طبيعية بتراكيز عالية في عضو معين فاذا ما تعرض العضو لمرض معين فعندها نجد كميات زائدة من انزيمات معينة في الدم وبالإمكان تشخيصها بواسطة فحوص انزيمية خاصة لذلك فان للأنزيمات أهمية كبيرة في تشخيص بعض الامراض و متابعة تطور بعضها كما تساهم بشكل كبير في تقدير العلاج الناجح في معالجة الحالات المرضية المختلفة ، تقسم الأنزيمات إلى مجموعتين :

**1- الأنزيمات الخاصة بالبلازما :** هي انزيمات وظيفية أي انها التي تقوم بوظائف معينة في الدم حصرًا مثل عوامل التخثر المنتجة في الكبد و عوامل المتممة المسؤولة عن تعزيز الجانب المناعي اتجاه المستضدات و منظومة الرينين المفرزة من الكلية.

**2- الأنزيمات الغير خاصة بالبلازما :** هي انزيمات لا وظيفية التي تنتقل الى الدم من أنسجة محددة ، أي انها توجد بتراكيز قليلة جدا في الدم وتزداد هذه الانزيمات في حال اصابة العضو بمرض او جرح و منها مثلا ناقلات الأمين ( ALT,AST,GGT التي تزداد في حالة اصابة الكبد).

### بعض الانزيمات المستخدمة لأغراض التشخيص السريري

| الإنزيم | التشخيص الرئيسي للأمراض |
|---|---|
| أسبارتيت أمينوترانسفزيز (AST or GOT) | إحتشاء العضلة القلبية Myocardial infraction |
| ألانين امينوترانسفريز (ALT or GPT) | التهاب الكبد الفايروسي Acute hepatitis |
| أميليز Amylase | التهاب البنكرياس الحاد Acute pancreatitis |
| سيليروبلازمين Ceruloplasmin | مرض ويلسن (تحطم الكبد) Wilson's disease |
| إنزيم كرياتين كاينيز Creatine Kinase | اضطرابات العضلة Muscular disorders وإحتشاء العضلة القلبية |
| لاكتيت ديهيدروجينيز Lactate Dehydrogenase | إحتشاء العضلة القلبية |
| الفوسفاتيز الحامضي Acid phosphatase | سرطان البروستات Prostate cancer |
| الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase | اضطرابات العظام المختلفة وأمراض الكبد الإنسدادي |