كيمياء الانزيمات

مقدمة و تعاريف

الأنزيمات هي محفزات بيولوجية متخصصة ذات طبيعة بروتينية (أي كل الأنزيمات هي عبارة عن بروتينات باستثناء أنزيمات الـRNA).

و المحفز هو أية مادة تزيد من معدل و سرعة التفاعل الكيميائي ، دون أن يطرأ عليه أي تغيير أو تبدل (أي أنها لا تستهلك لا جزئياً ولا كلياً) خلال التفاعل الكيميائي

المادة التي يعمل عليها الأنزيم تدعى الركازة Substrate ، و الركازة هي التي ترتبط مع الموقع الفعال للأنزيم بطريقة تكاملية Complementary حيث يبدو الأنزيم المرتبط بركازتهِ كأنه كتلة واحدة تعطي الشكل الكامل للأنزيم.

تحفز الأنزيمات التفاعلات الكيميائية الحيوية من خلال بنية هي جزء من الأنزيم يطلق عليها اسم الموقع الفعال للأنزيم Active site ، هذا الموقع هو جيب صغير ضمن بنية الأنزيم له بنية ثلاثية الأبعاد و هو مسؤول عن تحفيز ربط الأنزيم بالركازة.

للأنزيمات قوة نحفيزية فوق عادية ، و غالباً ما تكون قوتها التحفيزية أكبر بكثير من المحفزات غير البيولوجية .

كما أنها تتمتع بدرجة عالية من النوعية ، فلكل أنزيم ركازة خاصة به ، أو بضع أنواع من الركازات.

للأنزيمات أدوار تنظيمية أيضاً Regulatory مثل دور أنزيم (فوسفوفركتوكيناز Phosphofructokinase) في تنظيم تفاعلات تحلل السكر .

الأنزيمات عادةً تعمل بشروط مثالية من الحرارة (37)و ال PH (7.4)، و من النادر أن تعمل أنزيمات في القيم المتطرفة من هذه المتغيرات و إذا حدث اختلاف في هذه الشروط سوف يضطرب عمل الأنزيمات، مما يعني سرعة تفاعل عالية أو العكس، و بالتالي حالة مرضية.

تسمية الأنزيمات

النوع الأول : التسمية المفضلة (الشائعة – Recommended):

تسمى الأنزيمات بطريقة التسمية الشائعة (القصيرة) بحسب نمط التفاعل الذي تنجزهُ أو وفق الركازة التي يعمل الأنزيم عليها ، حيث تضاف اللاحقة ase إلى اسم الركازة ، مثالها: أنزيم Urease الذي يعمل على البولة (اليوريا) ، و أنزيم اللاكتاز Lactase الذي يعمل على اللاكتوز ، و قد تضاف اللاحقة ase إلى اسم التفاعل مثل:الأنزيم المسؤول عن بلمرة الرنا و يدعى رنا بوليميراز (RNA – Polymerase)

. النوع الثاني : التسمية العلمية (التفصيلية - Systematic) :

و هي التسمية التي اعتمدت من قبل الاتحاد العالمي للكيميائيين الحيويين ، و تعتمد على التصنيف العالمي للأنزيمات International Classification (حسب وظيفة الأنزيم) ، حيث تقسم حسب هذا التصنيف إلى 6 أصناف ، و لكل صنف أصناف فرعية وتحت أصناف و تحت تحت أصناف أو أصناف تحت فرعية.

أما الأصناف الرئيسية الستة فهي :

١. أنزيمات الأكسدة والإرجاع (أنزيمات الإكسرجاع-Oxidoreductase):

تشتمل على أنزيمات الأكسدة و أنزيمات الإرجاع ، وكلها تؤدي إلى أكسدة أو إرجاع الركازة ، أي أن الأنزيمات تنقل الإلكترونات من مركب مانح إلى آخر متقبل مثل أنزيم (لاكتات ديهيدروجيناز Lactate dehydrogenase) و أنزيم (بيروفات ديهيدروجيناز Pyruvate dehydrogenase).

$$BH2 + A \rightleftarrows A^{+} + AH2$$

٢. الأنزيمات الناقلة(Transferase) :

تقوم بنقل زمرة وظيفية من مركب مانح إلى آخر متقبل ، مثل:

ناقلات الأمين.

$$D - B + A - H \rightleftarrows D - H + A - B$$

نقل المجموعة B من المعطي D إلى المستقبل A

٣. الأنزيمات المحلمهة(Hydrolase) :

حيث يتم انتزاع مجموعة من الركازة بوجود ماء ، مثل أنزيم الكيمو تربسين Chymotrypsin ، و الأنزيمات الهاضمة بشكل عام هي أنزيمات محلمهة تقوم بتفكيك الروابط البروتينية (حلمهة البروتين) ، مثال حلمهة اللاكتوز عن طريق أنزيم لاكتاز و ماء .

$$A - B + \ H2O \ \rightleftarrows \ A - H \ + \ B - OH$$

٤. الأنزيمات المحطمة(الشاطرة - Layase):

تقوم بتحطيم الروابط بدون أي وسيط ، مثال : أنزيم الفيوماراز Fumarase و أنزيم الفوسفوريلاز(الذي يفكك الروابط α1-4) الموجودة في الغليكوجين دون الحاجة إلى الماء.

$$A - B \ \rightleftarrows \ A` + \ B`$$

٥. أنزيمات المصاوغة(Isomerase) :

تتقوم بنقل مجموعة وظيفية ضمن نفس الجزيئة، و بالتالي تسهل استعمال المركب من قبل العضوية.

مثل: أنزيم تريوز فوسفات إيزوميراز Triose Phosphate isomerase .

و الموتاز الذي ينقل مجموعة الفوسفات من الموقع 6 في غلوكوز 6 فوسفات إلى الموقع 1 ليصبح غلوكوز 1 فوسفات الذي يجري عليه التفاعل و ينقل المجموعة الوظيفية في ثنائي هيدروكسي أسيتون فيحوله إلى غليسر ألدهيد.

$$R - A - B \ \rightleftarrows \ A` - B` - R$$

٦. الأنزيمات الرابطة (Ligase) :

عكس أنزيمات التحطيم (Layase) ، يندرج تحت هذا التصنيف كل أنزيم قادر على تصنيع روابط مهما كان نوعها (غليكوزيدية ، ببتيدية ، استرية ،....) ، و تقوم بتشكيل الروابط بين الكربون و كل من N,O,S و يتم ذلك بالتزامن مع حلمهة ATP ($ATP \ \rightarrow ADP + pi$)، مثل أنزيم Aminoacyl tRNA Synthestase و صانعات الغليكوجين التي تشكل روابط من نوع α1-6 بين جزيئات الغلوكوز

$$A - OH \ + BH \ \rightarrow \ A - B$$

مثال على تسمية الأنزيمات حسب التسمية التفصيلية:

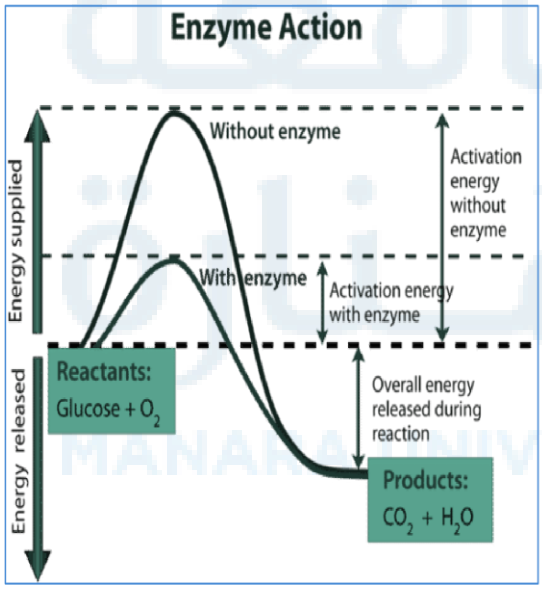
أنزيم اللاكتات ديهيدروجيناز Lactate dehydrogenase ، هو من أنزيمات الأكسدة و الإرجاع ، يستخدم اللاكتات كركيزة ، عامله المرافق هو NAD^+ ، فيسمى حسب طريقة التسمية التفصيلية:

EC.1.1.1.27

- EC هي اختصار لكلمة (Enzyme Comission)والتي تعني الهوية الانزيمية
- الرقم الأول يدل على صنف الأنزيم الأساسي و هو هنا أنزيم الأكسدة و الإرجاع فالرقم 1 .
- الرقم الثاني يشير إلى ما تحت صنف (صنف فرعي) و هو نوع الركازة المستخدمة لهذا الأنزيم ، و هي هنا اللاكتات و تأخذ الرقم 1 .
- الرقم الثالث يشير إلى ما تحت-تحت صنف (تحت صنف فرعي)و هو نوع العامل المرافق للأنزيم (NAD , FAD ، فيتامين B12 ، فيتامين B6) و هو هنا NAD^+ و له الرمز 1 .
- الرقم الرابع يشير إلى الأنزيم النوعي ضمن ما تحت-تحت الصنف ، و هو هنا يأخذ الرقم 27 .

كيفية عمل الأنزيمات

في أي تفاعل كيميائي ، تتحول المواد المتفاعلة إلى مواد ناتجة ، و يمر التفاعل بمرحلة وسيطة تدعى المرحلة الانتقالية ، و لتتحول المواد من المرحلة الانتقالية إلى النواتج تحتاج إلى كمية من الطاقة تدعى طاقة التفعيل أو طاقة التنشيط – Activation Energy) و دور الأنزيمات الأساسي هو تخفيض هذه الطاقة لتسريع التفاعل الكيميائي .



الصورة المجاورة توضح بيانياً طاقة التنشيط مع و بدون وجود الأنزيم في تفاعل أكسدة الغلوكوز .

- **تتمتع بقدرة تحفيزية عالية : High catalytic efficiency**

تزيد الأنزيمات سرعة التفاعل من 10^3 إلى 10^{17} (تقريباً ٥ ل٦ مرات) مقارنة بحالة عدم استخدام الأنزيمات ، تجدر الإشارة إلى أن كل أنزيم يختلف بفعاليته التحفيزية عن غيرهِ .

مثال: تفاعل هدرجة ثنائي أوكسيد الكربون CO2 إلى البيكربونات CO3 و شوارد الهيدروجين

$$H2O + CO2 \rightarrow H2 + CO3^-$$

يتم تحفيز هذا التفاعل بواسطة أنزيم كاربونيك انهيدراز.

تصل سرعة التفاعل إلى 10^7 مقارنة مع عدم وجود الأنزيم.

أي أن هذا الأنزيم قادر على هدرجة $CO2$ بمعدل 10^5 لكل جزيئة من CO2 في الثانية.

أمثلة على القدرة التحفيزية:

الكربوكسي هيدراز 10^{11}

اليورياز المسؤول عن تفكيك البولة 10^{14}

- **الأنزيمات تتمتع بنوعية عالية Specificity :**

فالأنزيم الواحد يؤثر على ركيزة واحدة أو عدد قليل من الركائز من أجل تحفيز بعض العمليات الكيميائية الحيوية ، و النوعية نوعان : مطلقة أو نسبية.

✓ **النوعية المطلقة Absolute Specificity**

إذ يحفز الأنزيم تفاعل واحد فقط دون غيرهِ أبداً ، مثل أنزيم Urease الذي يحفز فقط تفاعل واحد فقط وهو تفاعل تفكك البولة (اليوريا) إلى نشادر و ثاني أوكسيد الكربون.

$$\begin{matrix} NH2- \\ NH2- \end{matrix} C = O \rightarrow CO2 + 2NH3$$

ملاحظة: في حالة النوعية المطلقة لا يتطلب الأنزيم عوامل مرافقة بينما في حالة النوعية النسبية يتطلب عوامل مرافقة و ممكن أكثر من عامل للأنزيم مثل انزيم البيروفات ديهيدروجيناز الذي يحتاج إلى 5 مرافقات

......., NAD $^{+}$,Co-enzyme A , FAD^{+}

✓ **النوعية النسبية Relative Specificity**

يقوم الأنزيم بالعمل على مركبات تشترك بـ مجموعة وظيفية معينة Specific functional group كأن يعمل الأنزيم على المجموعات الأمينية ، أو على المجموعات الكبريتية أو الفوسفاتية.

و هنالك نمط آخر للنوعية حيث يقوم الأنزيم بالعمل على مركبات تشترك بـ نوع الرابطة الكيميائية Type of chemical bond ، كأنزيم الإستراز Esterase ، الذي يعمل على كل المركبات التي تحوي على رابط أسترية .

و النمط الآخر للنوعية النسبية يقوم فيه الأنزيم بالعمل على مركبات تشترك بـ البنية الفراغية (النوعية الفراغية Stereospecificity)مثل أنزيم Fumarate Hydrolase الذي يعمل على حلمهة حمض الفيوماريك إلى مالتات (أي يعمل على نمط cis و trans).

$$ {}^{COOH-}_{H-}C = C^{-H}_{-COOH} + H2O \rightarrow HOOC - CH2 - CH^{-COOH}_{-OH} $$

الموقع الفعال Active site : هو جزء صغير جداً من الأنزيم ، عبارة عن سطح ثلاثي الأبعاد يكون جيبياً في مكان ما من الأنزيم ، يتكون من سلاسل أحماض أمينية لذلك خواصه تنبع منها . و هو المكان الذي يحدث فيه الارتباط بين الركيزة و الأنزيم بدرجة عالية من النوعية حيث يتشكل معقد (ركيزة-أنزيم ، ES) ، فلهُ خاصيتان :

الربط (ربط الركيزة) و التحفيز (تحفيز التفاعل).

إن تخريب الموقع الفعال يؤدي إلى تعطيل الأنزيم.

خطوات التفاعل الكيميائي المحفز أنزيمياً :

اقتراب الركيزة Substrate من الموقع الفعال Active site و لا يحدث العكس .

تشكل معقد (ركيزة-أنزيم ، ES) نتيجة ارتباط الركيزة بالموقع الفعال .

تحول الركيزة إلى نواتج (و هي الخطوة الأطول).

تحرر النواتج.

عودة الأنزيم و ارتباط ركيزة أخرى بموقعهِ الفعال ليحدث تفعل آخر ، و هكذا .... .

نظريات تفسير نوعية الأنزيم

وضعت عدة نظريات لتفسير تحديد الأنزيم لركازته (نوعية الأنزيم) و منها:

١. **نظريقة القفل و المفتاح Lock and key model :**

وضعها العالم فيشر عالم 1894 ، حيث تلعب الركازة دور المفتاح و يلعب الأنزيم دور القفل . يكون شكل الموقع الفعال متناسب بشكل كلي و متكامل مع الركيزة مما يسمح بارتباطه بها و لا يتغير شكل الموقع الفعال إطلاقاً، فتتجه الركازة باتجاه الأنزيم و ترتبط معه بشكل مشابه لآلية ارتباط المفتاح بالقفل المناسب لهُ .

٢. **نظرية التناسب Induced-Fit Model :**

عام 1958 وضعها العالم كوشلاند ، و تعتبر هذه النظرية أن الأنزيم هو الذي يقوم بمناسَبةِ الركيزة ، حيث تتجه الركيزة باتجاه الأنزيم ، و يكون الموقع الفعال للأنزيم في البداية لا يتوافق مع الركيزة ، لكنه يقوم بتبديل شكلهِ بحيث يتوافق مع الركيزة ، و يؤدي لارتباط الركيزة بالأنزيم حيث الركيزة لا تتغير.

إن التغير في شكل الأنزيم لا يعود للشكل الأساسي للأنزيم و إنما يعود للبنى المرافقة حيث يتغير شكل الموقع الفعال بمساعدة العوامل المرافقة.

قد يتوضع العامل المرافق بموقع بعيد عن الموقع الفعال و يكون قادر على تغيير شكل الأنزيم أو قد يتوضع ضمن الجيب الفعال فيشغل حيز ضمنه مغيراً شكله بما يناسب الركازة.

العوامل المر افقة (المساعدة – Cofactors)

بعض الأنزيمات لا تبقى فعالة دائماً في البدن ، بل تأخذ شكلين : فعال و غير فعال ، الشكل غير الفعال للأنزيم هو عندما يكون بشكلهِ البروتيني الصرف ، و لكن عندما يضاف إليهِ جزء آخر غير بروتيني(و هو العامل المساعد)؛ يتحول الأنزيم إلى شكلهِ الفعال (Holo-enzyme) ، و يصبح قادراً على القيام بوظائفهِ .

من الأمثلة على ذلك أنزيم التربسين ، و شكلهُ غير الفعال يسمى تربسينوجين ، يتحول إلى شكلهِ الفعال عندما تكون الـ PH مناسبة ، و كذلك أنزيمات التخثر ، فإذاً:

Apoenzyme : هو الجزء البروتيني الصرف من الأنزيم بشكلهِ غير الفعال غير المرتبط بالعامل المساعد.

Cofactor : هو الجزء غير البروتيني من الأنزيم – العامل المساعد للأنزيم.

Holoenzyme : هو الأنزيم بجزئهِ البروتيني و غير البروتيني (Cofactor +Apoenzyme) و هو الأنزيم بشكلهِ الفعال .

العامل المرافق حسب نوع ارتباطهِ بالأنزيم لهُ نمطان :

١. **Coenzyme**: و هو مركب يترابط بالأنزيم ارتباطاً ضعيفاً غير تساهمي يمكن فصله.

٢. **Prosthetic group(الزمرة الضميمة):** و هي عبارة عن جزء لا يتجزأ من الأنزيم مرتبطة بالأنزيم برابطة قوية تساهمية ، و كل أنزيم تخربت فيه الزمرة الضميمية لا يعمل.

و للعامل المرافق حسب بنيته الكيميائية نمطان:

١- **مركبات معدنية لا عضوية:** مثل النحاس Cu^{+2} بالنسبة لأنزيم سيتوكروم أوكسيداز Cytochrome Oxidase ، كما يبين الجدول التالي:

TABLE 6–1 Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

٢- **مركبات معدنية عضوية:** مثل البيوتين ، كوأنزيم A ، ثيامين بيروفوسفات ، حمض الليبوئيك ، هذه المركبات تعمل كمرافقات أنزيمية لنقل بعض الزمر و هي موجودة في الفيتامينات و من أهمها

الفيتامين B .كما يبين الجدول التالي:

TABLE 6-2 Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

Coenzyme	*Examples of chemical groups transferred*	*Dietary precursor in mammals*
Biocytin	CO_2	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5′-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B_{12})	H atoms and alkyl groups	Vitamin B_{12}
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B_2)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion ($:H^-$)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B_6)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B_1)

دور المرافقات الأساسي يكون : إما تبديل شكل الموقع الفعال بما يناسب شكل الركيزة ، أو عامل يربط بين الركيزة و الأنزيم.

الفعالية الأنزيمية

لا يتم التعبير عن الأنزيمات من حيث تركيزها أبداً و لكن يتم التعبير عنها حسب نشاطها (فعاليتها) فقط.

يعبر عن هذه الفعالية بنسبة الانزيمات في الدم، حيث الانزيمات تعمل داخل الخلية وبحسب عمل الانزيمات تطرح الخلية نواتج عملها في الدوران.

تعرف بأنها عدد المولات أو عدد ميلي غرامات من الركازة التي تتحول إلى نواتج بوحدة الزمن(...s.min.h) ، أو أن يعبر عنها بمعدل ظهور كامل الناتج ، و إما بمعدل اختفاء المتفاعلات كاملا (و هما متساويان) ، تصل الفعالية الأنزيمية إلى أعلى طاقتها عندما تزول الركيزة كلياً و تتحول كلها إلى نواتج ، و تقاس الفعالية الأنزيمية بوحدات يطلق عليها اسم الوحدات الدولية (IU): التي تعرف بانها الفعالية الانزيمية التي تحول ١ ميكرومول من الركيزة في الدقيقة ، و جهاز قياس الفعالية هو السبيكتروفوتومتر Spectrophotometer.

و أيضاً هناك واحدة أخرى هي Kat و تشير إلى تحول ١ مول من الركازة في الثانية (Mol/Sec)

العوامل المؤثرة على فاعلية الأنزيم هي : درجة الحرارة ، و تركيز الركيزة ، و تركيز الأنزيم ، و درجة الحموضة PH ، المنشطات ، المثبطات .

تعرف سرعة التفاعل بأنها عدد المولات من الركيزة التي تتحول إلى ناتج في وحدة الزمن ، تجدر الإشارة إلى أن سرعة التفاعل تتغير أثناء التفاعل ، و تبدأ بسرعة ابتدائية تسمى (V_0) ثم تتناقص بمرور الزمن بسبب عوامل مختلفة .

- يعبر عن القدرة التحفيزية للأنزيم بسرعة التفاعل الذي يجريه (فعالية أنزيم = سرعة تفاعل)، و بما أن هذه السرعة تتغير أثناء التفاعل بسبب عوامل عدة مما يجعل من الصعوبة بمكان دراستها ، لذلك يتم التعبير عن القدرة التحفيزية بالسرعة الابتدائية(V_0).
- سرعة التفاعل الأنزيمي تتناقص مع مرور الزمن بتأثير عدة عوامل :

- كلما نقص تركيز الركيزة [S] ، تقل سرعة التفاعل الأنزيمي ، و كذلك كلما كانت هنالك نواتج أكثر يتثبط التفاعل الأنزيمي و تنقص سرعة التفاعل .

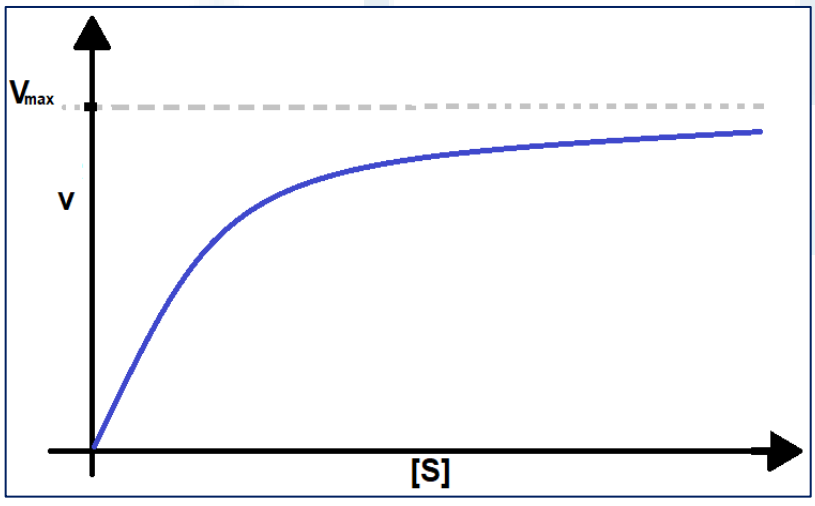
- من النادر أن تبقى درجة PH ضمن مجال محدود معين بل تتغير مع مرور الزمن مما يغير من سرعة التفاعلات المحفزة أنزيمياً .

- المرافقات الأنزيمية تتناقص مع مرور الزمن (لأنه يمكن للجسم أن يستهلكها) فتتناقص سرعة التفاعل الأنزيمي ، لذا يؤثر وجود أو عدم وجود co-factors .

- الأنزيم بحد ذاته يقل نشاطه مع مرور الزمن فتتناقص السرعة

العوامل المؤثرة في سرعة تفاعل انزيمي:

١.تركيز الركيزة:



إن تركيز الركيزة هو العامل الأساسي الذي يؤثر في سرعة التفاعل ، و من خلال الدراسات التي أجريت لمعرفة تأثير تركيز الركيزة [S] على سرعة التفاعل

وجد أنها علاقة خطية بشكل عام تأخذ ثلاث وجوه:

- من أجل التراكيز المنخفضة جداً : تزداد سرعة التفاعل الابتدائية بازدياد التركيز و بشكل خطي .
- من أجل التراكيز الأعلى : تزداد سرعة التفاعل الابتدائية بازدياد التركيز و لكن بمعدل أقل ، لأن هناك جزء من الجيب الفعال مشبع بالركيزة.
- من أجل تراكيز الركيزة المرتفعة : سرعة التفاعل لا تزداد مع زيادة التركيز بل تبقى ثابتة (تسارع ثابت =سرعةثابتة)، و تسمى عندها بالسرعة القصوى V_{max} ؛ و هي أكبر قيمة ممكنة لسرعة التفاعل الأنزيمي المدروس ، و يعلل عدم تأثر السرعة بتركيز الركيزة في هذه الحالة بأن الأنزيم يكون مشبعاً بشكل كلي بركيزتهِ ، و بالتالي فإن زيادة تركيز الركيزة لن يؤثر على سرعة التفاعل .

معادلة ميكائيليس- مينتين Michaelis-Menten equitation (١٩١٣) :

درس هذان العالمان العلاقة ما بين سرعة التفاعل الأنزيمي و تركيز الركازة ، و أوجدا علاقة رياضية أطلقا عليها معادلة ميكائيليس-مينتين ، إذ وجد العالمان أن ارتباط الأنزيم بالركازة يؤدي إلى تشكل معقد (أنزيم ركازة) و هو الذي يحرر النواتج و الأنزيم الحر الذي يعود للارتباط بركيزة أخرى ، و هكذا ...

حيث رؤوا أن العلاقة قد تكون ١- طردية ٢- بسيطة ٣- طردية مطلقة

اصطلح العالمان الثوابت الآتية :

- ارتباط الركيزة بالأنزيم وتحولها الى معقد (انزيم_ركيزة) يتم بمعدل ثابت اطلق عليه K_1
- في كثير من الاحيان لا ينجز التفاعل بشكل كامل ممكن في المرحلة الوسيطية (مرحلة تشكل المعقد) ان تنفصل الركازة عن الأنزيم ويتوقف التفاعل اشاروا الى هذه الحالة بالثابت K_2 (التفاعل العكوس للتفاعل السابق) ، كما يمكن أن يعبر عنه ب K_{-1} .
- كمية معقد(انزيم_ركيزة) المتحولة الى ناتج مع انزيم حر ثابتة يشار اليها بالثابتة K_3

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\rightleftarrows}} ES \xrightarrow{K_3} E + P$$

حيث أن : S هي الركيزة ، E الأنزيم ، ES معقد أنزيم ركيزة ، P ناتج تفاعل .

اوجدو علاقة تجمع بين هذه الثوابت تعطى ب: $Km=(K_{2(k-1)}+K_3)/K_1$ (حيث Km هو ثابت ميكائيليس)

توصل ميكائيليس و مينتين من خلال دراستهما للتفاعلات الأنزيمية و باسخدام العلاقات الرياضية الجبرية العديدة إلى معادلة تصف تأثير الركيزة على السرعة الابتدائية بدلالة Km و هي :

$$V_0=V_{max}\left(\frac{[S]}{[S]+Km}\right).$$

من العلاقة السابقة نستنتج علاقة تركيز الركيزة بـKm :

- عندما تكون[S] صغيرة جداً مقارنةً ب Km ([S]<<Km): فإن العلاقة بإهمال [S] في المقام لصغرها تؤول إلى: $V0=(Vmax/Km)[S]$ و لدينا المقدار Vmax/Km ثابت اي في هذه الحالة تكون سرعة التفاعل معتمدة اعتماد مطلق على تركيز الركيزة، و هذا ما يفسر أنه عند التركيز المنخفض للركيزة فإن سرعة التفاعل تزداد بشكل خطي مع زيادة [S] .(التفاعل من النمط الأول)
- عندما تكون [S]=Km فإن : $V=(1/2)(Vmax)$.
- عندما تكون [S] كبيرة جداً مقارنةً ب Km (Km <<[S]) فإن العلاقة و بإهمال Km لصغرها ؛ تؤول إلى : $V0=Vmax$ و هذا ما يفسر أنه و من أجل التراكيز العالية من الركيزة فأن سرعة التفاعل تكون مستقلة عن [S] اي ان سرعة التفاعل ثابتة مهما كان تركيز الركيزة وهي السرعة القصوى.(التفاعل من المرتبة صفر 0) .

ملاحظات حول Km :

- إن Km هو ثابت أنزيمي بالنسبة لركيزة ما .

- إن Km يعبر عن إلفة الأنزيم للركيزة ، فقيمة Km المنخفضة تعبر عن ألفة كبيرة بين الأنزيم و الركيزة ، و قيمة Km الكبيرة تعبر عن ألفة منخفضة بين الأنزيم و الركيزة .(علاقة عكسية بين قيمة Km والفة الانزيم لركيزته)

- هناك انزيمات تعمل على قيم منخفضة لKm واخرى على قيم مرتفعة ذلك حسب تركيز الركيزة

مثال: انزيم غلكوكيناز يقوم بفسفرة الغلكوز فقط لتستطيع الخلية استهلاكه ، يتحسس للتراكيز العالية من الغلكوز في الدم بالتالي Km منخفضة وتساوي ٥٠٠ وذلك دليل على اهميته في تخفيض سكر الدم

انزيم الهكسوكيناز : يقوم بفسفرة السكاكر الاحادية ولاسيما الغلكوز والفركتوز Km=٠.٤

- ان لكل انزيم قيمة Km خاصة به و انخفاض قيمتها دليل على اهمية الانزيم

TABLE 6–6 K_m for Some Enzymes and Substrates

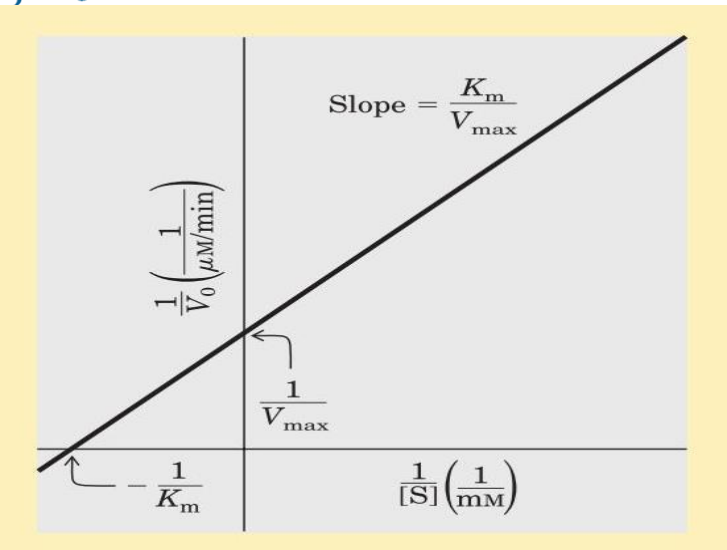
Enzyme	*Substrate*	K_m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

ملاحظات حول V_{max} :

- V_{max} قيمة ثابتة .

- V_{max} قيمة نظرية تعبر عن القدرة التحفيزية للأنزيم والسرعة القصوى التي ممكن لتفاعل انزيمي ان يبلغها، لكنها لا تتحقق أبداً في أي تفاعل ، فالسرعة الابتدائية تسعى إلى V_{max} لكنها لا تصلها أبداً .

- عندما $V=V_{max}$ يكون $S>>Km$ وعندها لا يكون لتركيز الركيزة تأثير على سرعة التفاعل كونها ثابتة من خلال قوانين ميكائيليس_مينتين لا يمكن حساب سرعة تفاعل انزيمي في حال التراكيز المنخفضة جدا للركيزة لذلك اقترح :



المنحني التبادلي المزدوج- The double-reciprocal ، منحني لين ويفر-بيرك :

قامت العالمة لين ويفبرك بدراسة حولت فيها معادلة ميكائيليس $V_0=V_{max}\frac{[S]}{[S]+Km}$ إلى معادلة من الشكل:

$$\frac{1}{V}=\left(\frac{Km}{Vmax}\right).\frac{1}{[S]}+\frac{1}{Vmax}$$

حيث غيرت من محاور الإحداثيات في المخطط ، بدلاً أن تكو $x=[S]$ و $y=V_0$ أصبحت : $x=\frac{1}{[S]}$ و $y=1/V_0$

فأصبحت المعادلة من الشكل : $y=a\,x+b$

سمح ذلك بدراسة تأثير تركيز الركيزة على السرعة مهما كانت قيمة تركيزها كبيرة أو صغيرة .

منحني لين ويفر_بيك و منحني ميكائيليس_منتين يعبران عن سرعة التفاعل بشكل كامل مهما كانت التراكيز لأنه متعلق بشكل أساسي ب Km و Vmax .

٢. تركيز الأنزيم Enzyme concentration :

السرعة الابتدائية للتفاعلات المحفزة أنزيمياً تتناسب طرداً مع تركيز الأنزيم المرمز لهُ [E] ، لأنه كلما زادت كمية الأنزيم كلما زادت التفاعلات الكيميائية المحفزة (بسبب زيادة المواقع الفعالة) .بعض الأنزيمات موجودة في الدوران و بعضها الآخر موجود في الخلايا ، و الأنزيمات الموجودة في الدوران بنسبة أكبر مما هي عليه في الخلايا هي فقط الأنزيمات المتعلقة بتخثر الدم ، فيما عدا ذلك فإن معظم الأنزيمات ذات نسبة مرتفعة في الخلايا مقارنة مما هي عليه في الدوران ، لذلك تستخدم هذه الخاصية لتشخيص بعض الأمراض ، كالأمراض التي يكون فيها تخريب نسيجي، حيث يرافق هذا التخرب ازدياد في الأنزيمات التي تقوم خلايا النسج المتأذية بإنتاجها ، فكمية الأنزيمات الجائلة في الدوران غالباً ما تعبر عن المرض الذي أدَّى إلى تخريب الخلايا .

لذلك تكون العلاقة بين تركيز الأنزيم و سرعة التفاعل الأنزيمي بشكل خط مستقيم (طردية).

مثال: استخدام أنزيم الأميلاز كمؤشر للإصابة بالتهاب البنكرياس الحاد .

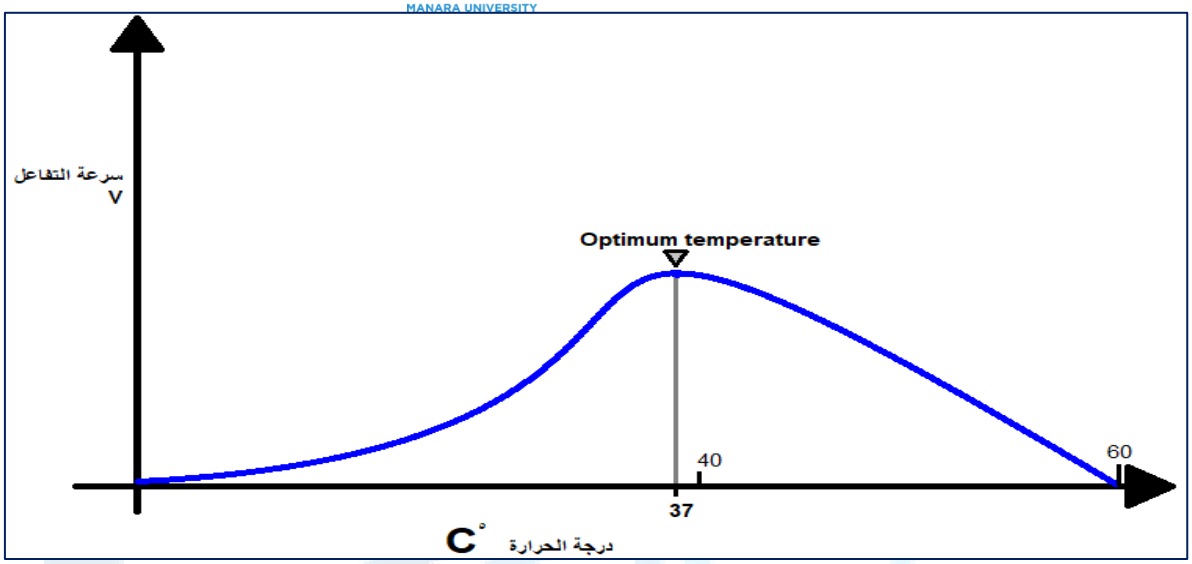
ملاحظة: ليس كل ارتفاع في معدل الانزيمات يعني حالة مرضية ، القيم التشخيصية ذات الاهمية للانزيمات في الدم يجب ان تكون ضعفين الى ثلاثة اضعاف عن الطبيعي.

٣.درجة الحرارة Temperature:

تتم التفاعلات الأنزيمية بشروط مثلى من درجة حرارة (في الدرجة ٣٧° مئوية) ، إن ازدياد درجة الحرارة (نحو ٣٧°) تزيد من سرعة التفاعل الأنزيمي لأنها تنقص من طاقة التفعيل ، حتى الوصول إلى مرحلة معينة Optimum temperature ، و هي درجة الحرارة ٣٧° التي عندها تكون فعالية الأنزيمات عظمى .

عندما تزداد درجة الحرارة عن ٣٧° مئوية تنقص سرعة التفاعل الأنزيمي ، حيث تصل إلى مرحلة لا يتم فيها التفاعل أبداً لأن الأنزيمات تتمسخ و تتخرب بسبب درجة الحرارة العالية. (البروتينات تتخرب)

علاقة طردية حتى ٣٧° وعكسية بعدها يأخذ المنحني البياني الممثل لتأثير درجة الحرارة على سرعة التفاعل شكل الجرس **(انظر الشكل في الأسفل)** و من أهم الأمثلة : الأميلاز اللعابي .

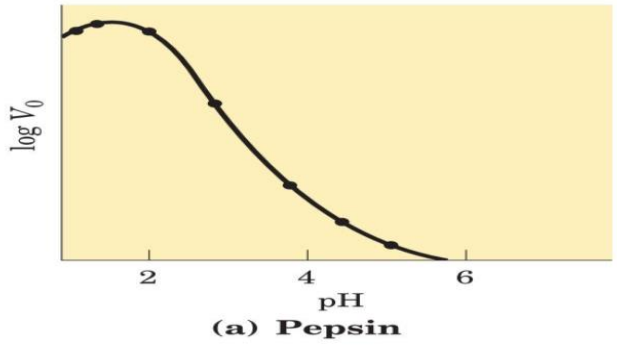


٤.تاثير درجة الحموضة PH :

إن PH الطبيعية عند الإنسان هي ٧.٤ ، و كل أنزيم له درجة حموضة PH خاصة بهِ ، و الأنزيمات منها ما يعمل في الوسط القلوي و منها ما يعمل في الوسط الحمضي ، إن تأثير درجة PH على الأنزيم يتعلق بعلاقة الركيزة بالموقع الفعال ، حيث أن تبدل ال PH يؤثر على الحالة التشردية للموقع الفعال و بالتالي على ارتباط الموقع الفعال مع الركيزة.

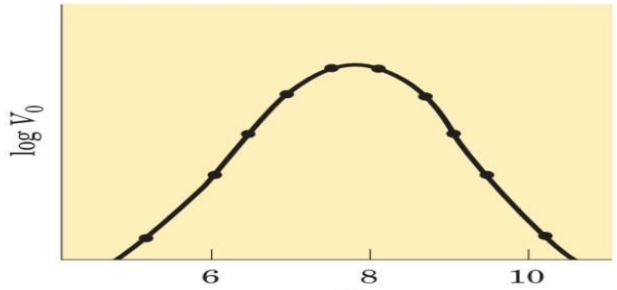
علاقة سرعة التفاعل مع درجة الPH حسب مكان عمل الانزيم (حمضي تزداد السرعة بنقصان ال PH ، قلوي تزداد السرعة بزيادة الPH) . إن معظم الأنزيمات تعمل في درجة ال PH من ٦ إلى ٨ ، تستثنى منها الأنزيمات المعدنية التي تعمل في وسط حمضي من ٢ إلى ٤ .

أمثلة :



١- **أنزيم البيسين Pepsin** من أنزيمات المعدة سرعته التفاعلية العظمى عند درجة PH=3 ، و تقل بازديادها حتى تنعدم عند PH=6 .

(a) Pepsin



٢- هناك أنزيمات البنكرياس التي تعمل بوسط قلوي، و إذا زدنا الحموضة أو أنقصنا PH يتوقف عملها.

٣- و **أنزيم غلوكوز-٦-فوسفاتاز Glucose-6-phosphatase** المسؤول عن تحلل السكر يعمل في درجة PH بين ٤ إلى ١٠ ، و هو مجال واسع لكي يتم الاستفادة من الغلوكوز الموجود في الكبد و العضلات بشكل كلي و في جميع الظروف .

(b) Glucose 6-phosphatase

المنشطات activators:

- هي جزيئات ترتبط بالأنزيمات وتزيد من الفعالية الإنزيمية وقد تكون:

- **مركبات غير عضوية**: كالشوارد المعدنية (Na^{2+}, Fe^{2+} , Zn^{2+}, Cu^{2+}, Ca^{2+}, Mg^{+}, K^{+}) أو شوارد أخرى غير معدنية (Cl^{-}, CN^{-}, I^{-},Br^{-})
- **مركبات عضوية مرجعة**: سيستيئين Cys – غلوتاتيون بشكله المرجع GSH
- **بروتينات.**

- كلما كانت المنشطات أكثر كانت سرعة التفاعل أكبر (أي العلاقة بينهما طردية)
- إذا أعطينا منشطات بكمية كبيرة قد تطرح و قد تخزن .

المثبطات Inhibitors :

- هي جزيئات تؤدي إلى نقصان معدل التحفيز الأنزيمي أي تثبيط التفاعل المحفز أنزيميا ، تستثنى منها الماسخات، وهي بروتينات تؤدي إلى تخريب(مسخ) Denaturation الأنزيمات، وهي ليست مثبطات.
- المثبطات قد تكون:

- مستقلبات وسيطة طبيعية في البدن(أي ناتج لتفاعل الأنزيمي)تعود لتثبط التفاعل نفسه، وبالتالي فهي تعمل بآلية تلقيم راجع سلبي.

مثل تحول الغلوكوز إلى غلوكوز- 6 -فوسفات فعند زيادة هذا الأخير في البدن يقوم بتثبيط فسفرة الغلوكوز(تثبيط أنزيم الهيكسوكيناز Hexokinase)

- وقد تكون المثبطات مواد غريبة غير طبيعية كالأدوية والسموم، وبناء على هذا تم صنع أدوية اعتمادا على دورها المثبط للأنزيمات.

- إن دراسة المثبطات تساعد في توضيح العلاقة بين الأنزيمات ووظائفها، بالإضافة لتوضيح آلية التفاعلات الأنزيمية، فضلا عن دورها في صنع الكثير من الأدوية مثل بعض الأدوية الخافضة للضغط من زمرة مثبطات حميرة الأنجيوتنسين.

- **يقسم التثبيط الأنزيمي إلى نوعين:**

i. تثبيط غير عكوس irreversible inhibition : تثبيط دائم(نهائي)

ii. تثبيط عكوس Reversible inhibition :يكون مؤقت(قابل للعودة) وله ثلاثة أنواع:

   - تنافسي Competitive
   - غير تنافسي Noncompetitive
   - لا تنافسي Uncompetitive

١. التثبيط غير العكوس: Irreversible

- في هذا النوع يكون المثبط مشابه تماماً للبنية الفراغية للركازة و بالتالي تتنافس الركيزة والمثبط على الموقع الفعال للأنزيم الحر، يكون ارتباط المثبط بالموقع الفعال ارتباطا متينا تساهمياً.
- مثال Diisopropyl flurophosphate (DFP) هو عبارة عن فوسفات عضوية تثبط بروتيازات السيرين، يمكنها أن تتفاعل مع الموقع الفعال السيرين (Ser-195) للأنزيم لتشكيل DFP-E .
- مثال آخر عن ذلك هو الانسمام بال دي ايزو بروبونيل ايزوفوسفات، وهي مادة موجودة في المبيدات الحشرية، ترتبط مع الأستيل كولين دي إستراز Acetylcholine diesterase وتؤدي إلى تثبيطه بشكل تام لهذا فإن المصابين بهذا التسمم يصابون بالشلل الناجم عن انعدام الفعالية العصبية وقد ينتهي

الأمر بالموت في حال لم يتم تشخيصه، أما في حال تم الكشف المبكر عنها يكون علاج هذه الحالة بإعطاء مادة أتروبين Atropine .

- هذه المثبطات هي سموم لأنها تثبط الأستيل كولين استيراز. (بروتياز السيرين يحلل الناقل العصبي للأستيل كولين)
- النوع الآخر من المثبطات غير العكوسة هي المعادن، وأهمها+Ag 2+, Pb2+,Hg

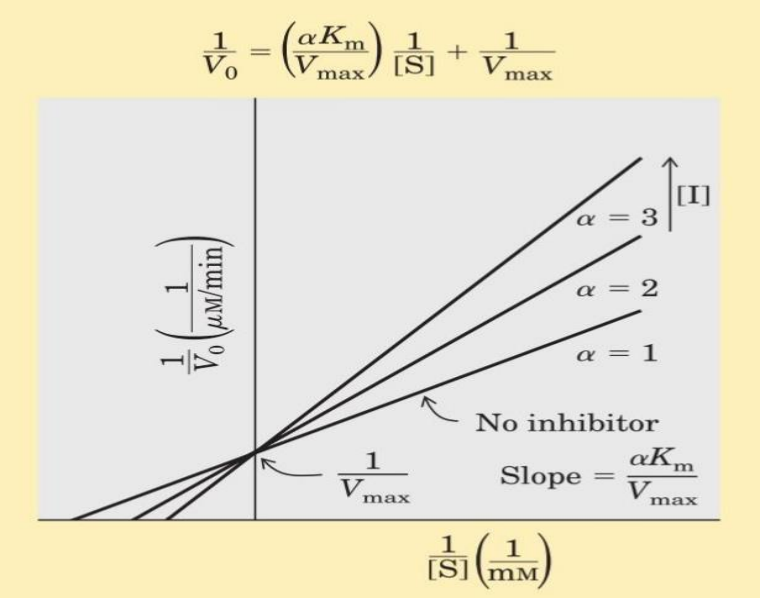
وهذه المعادن تملك ألفة قوية لمجموعات السلفهدريل (-SH) و عندما تملك الأنزيمات مجموعة السلفهدريل كجزء من موقعها الفعال فإن أي مادة كيميائية يمكنها التفاعل معهم تتفاعل كمثبط غير عكوس.

٢. التثبيط العكوس: Reversible

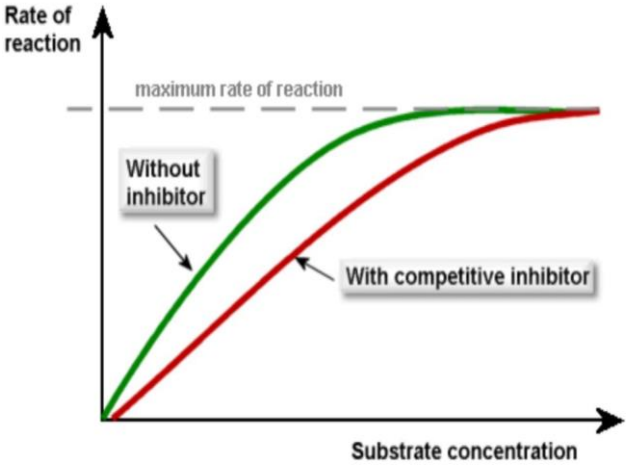
إما إن يرتبط المثبط مع الانزيم مشكلا معقد(أنزيم -ركيزة)، أو يرتبط المثبط مع المعقد نفسه ليمنع تفككه إلى ناتج وأنزيم حر، يكون الارتباط هذا لا تساهميا ضعيفا ، وبالتالي من السهل فصل المثبط عن الانزيم ليكمل الأنزيم عمله، أنواع التثبيط العكوس:

❖ التثبيط التنافسي Competitive :

- في هذه الحالة لا يرتبط المثبط إلا مع الأنزيم، ولا يرتبط مع المعقد حيث يتنافس المثبط مع الركيزة على الارتباط بالموقع الفعال للأنزيم الحر، وبناء على هذا فإنه بزيادة تركيز الركيزة يمكن التغلب على تأثير المثبط .
- من أمثلته :المالونات(مثبط تنافسي)تتنافس مع السوكسينات(ركيزة)للارتباط بأنزيم سوكسينات ديهيد روجيناز.
- أهمية هذا التثبيط السريرية تكمن في صنع الكثير من المركبات الدوائية لتثبط عمل مركبات لها دور ضار في البدن، من أمثلتها الأدوية التي



تساهم في علاج السرطانات، ومن الأمثلة اصطناع مركبات السولفاميدات وهي مثبطات تنافسية لحمض البارا أمينوبنزونئيك (PABA)



- عمل السولفاميدات لتثبيط البارا أمينو بنزونئيك :

✓ اكتشفت مركبات السولفاميدات عام ١٩٣٢ و هي أول العوامل الفعالة المضادة للبكتيريا النظامية.

✓ PABA مطلوب من قبل العديد من البكتيريا لإنتاج عامل مساعد هام للأنزيم THF حيث تحتاج هذه البكتيريا للأنزيم THF لنموها و انقسامها.

✓ السولفاميد يعمل كمثبط تنافسي للأنزيمات التي تحول PABA إلى حمض الفوليك مما أدى إلى استنزاف هذا العامل المساعد.

✓ هذا الاستنزاف للعامل المساعد ينتج عنه الموت النهائي للبكتيريا.

- انعكاس هذا التثبيط على معادلة ميكائيليس مينتين:

a. تبقى maxV كما هي.

b. يزيد ثابت ميكائيليس Km لأنه ينقص الألفة.

❖ **التثبيط غير التنافسي Noncompetitive :**

- في هذه الحالة يمكن أن يرتبط المثبط مع الأنزيم أو مع المعقد، ويكون الارتباط بين الأنزيم والمثبط في مكان بعيد عن الموقع الفعال، ولا يمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز الركيزة.

- انعكاس هذا التثبيط على معادلة ميكائيليس مينتين:

a. تنقص maxV لأن الانزيم بحد ذاته أبطأ عمله.

b. ليس له أي تأثير علىKm

❖ التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive :

- في هذه الحالة يرتبط المثبط مع المعقد فقط ولا يرتبط مع الأنزيم الحر، ويكون الارتباط أيضا في مكان بعيدة عن الموقع الفعال، إن زيادة تركيز الركيزة تزيد من التثبيط، هذا النوع من التثبيط يحدث في التفاعلات التي تشتمل على أكثر من ركيزة انعكاس هذا التثبيط على معادلة ميكائيليس مينتين:

a. تنقص كل من Vmax و Km.

تنظيم الفعالية الأنزيمية

- لايتم العمل الانزيمي بشكل عشوائي بل هناك ضوابط و يتم عن طريق ثلاث آليات:

✓ الأنزيمات الألوستيرية(المتفارغة Allosteric Enzymes) و هما نوعان:

- فعال: يرتبط بمادة محفزة للأنزيم
- غير فعال: يرتبط بمادة مثبطة للأنزيم

✓ التحوير التساهمي(التعديل المتكافئ Reversible Covalent modification)

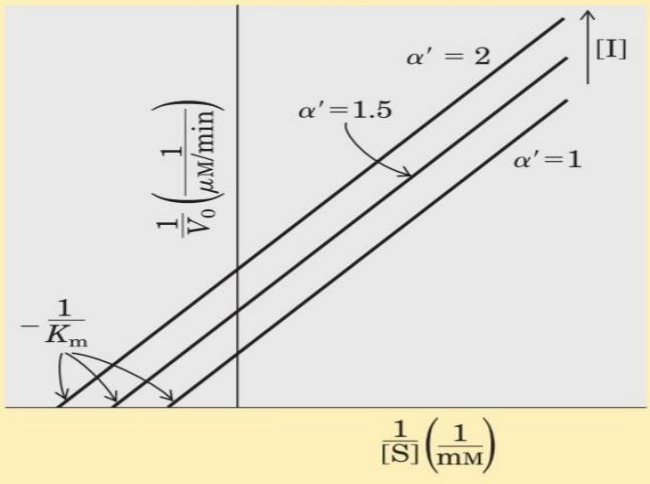
✓ الفعالية الحالة للأنزيمات Proteolytic activation

❖ الأنزيمات المتفارغة :هي أنزيمات لها شكلان :فعال وغير فعال، فالتأثير الألوستيري يعني تنظيم حالة الأنزيمات المتفارغة بين الفعالة وغير الفعالة، اعتمادا على التبدل في شكلها، فالأنزيمات الألوستيرية تحتوي – بالإضافة إلى الموقع الفعال -على موقع ألوستيري ترتبط به إما مثبطات ألوستيرية أو مفعلات ألوستيرية ويكون ارتباطها به ضعيفا(غير تساهمي)، ومن خلال الارتباط بهذا الموقع يتغير شكل الموقع الفعال للأنزيم فإما أن يصبح فعالا أو مثبّطا ، يبقى أن نذكر أن هذا التحول بين الشكل الفعال وغير الفعال للأنزيم يكون سريعا.

❖ التحوير التساهمي :

- تكون هنا الأنزيمات غير فعالة ولا تتفعل إلا بإضافة زمرة تفعيل خاصة modification،
- هذه الزمرة تكون غالبا(فوسفوريل -

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{\alpha'}{V_{max}}$$



أدنيل -ميتيل – هيدروكسيل – سولفات ADP -ريبوزيل)، هذه الزمر ترتبط وتنفصل عن أنزيماتها بوساطة أنزيمات خاصة تسمى separate Enzymes .

- أكثر مثال شائع هو إضافة أو إزالة زمرة فوسفات وهذا مايطلق عليه(الفسفرة ونزع الفسفرة)

Phosphorylation and dephosphorylation حيث يتم تعديل الفعالية على حمض أميني أو أكثر من جزيئة أنزيم.

١- **الفسفرة Phosphorylation :** هي إضافة زمرة فوسفات إلى مادة ما، ويتوسط هذه العملية أنزيم

بورتين كيناز Protein kinase ، كما يتم فيها استخدام ATP كمانح للفوسفات.

٢- **نزع الفسفرة dephosphorylation :** هي نزع زمرة فوسفات من مادة ما، ويتوسط هذه العملية أنزيم

بروتين فوسفاتاز Protein phosphatase .

- وحسب نوعية الأنزيم، فإن الشكل المفسفر له قد يكون أكثر أو أقل فعالية من الشكل غير المفسفر، فمثلا أنزيم glycogen phosphorylase وهو الأنزيم الحال للغليكوجين يكون الشكل المفسفر منه هو الفعال،بينما أنزيم glycogen synthase وهو الأنزيم المصنع للغليكوجين يكون الشكل المفسفر منه هو غير الفعال.

❖ اصطناع الأنزيم بشكله الفعال أو غير الفعال يعتمد بشكل أساسي على العمل الهرموني على خلية تملك مقدار محدد من الأنزيمات تفيد معايرتها في الكشف عن الأمراض التي تصيب الخلية و ذلك لأن الخلية المريضة تملك فائض أنزيمي تطرحه في الدوران مما يفيدنا في تشخيص العديد من الأمراض المرتبطة بالفعالية الأنزيمية.

الأنزيمات والإيزو أنزيمات:

- يتشابه الأنزيم مع الإيزوأنزيم بأنهما يجريان التفاعل نفسه، بينما يختلفان في تسلسل الأحماض الأمينية المكونة لكل منهما (التوضع الفراغي).
- مثلا أنزيم Lactate dehydrogenase (LDH) له نمطين من تحت الوحدات (تحت الوحدات H و تحت الوحدات M) و خمسة نظائر أنزيمية(إيزوأنزيمات) وهي:

M4, HM3, H2M2, H3M, H4

ويتم تحديد هذه النظائر عن طريق الرحلان الكهربائي وهي تفيد في التشخيص السريري فهي لها مدلولات في الكثير من الأمراض و تتأثر تراكيزه بالأمراض العضلية و أمراض العضلة القلبية ويمكن فحصها في الدم أو بقية سوائل الجسم .