الانزيمات:-

وهي عبارة مركبات بروتينة تخلق داخل الخلايا الحية وتعمل كمحفزات تزيد من سرعة التفاعلات الكيمياوية الحياتية في المحاليا المائية للجسم تحت ظروف حرارة وPH فسيولوجية ولكنها لا تؤثر على حالة الاتزان. فقد تزيد هذه المحفزات من سرعة التفاعلات بملايين المرات ( ) بالمقارنة مع سرعة هذه التفاعلات بدون هذه العوامل المساعدة المحفزة .

الخواص العامة للانزيمات:

١- تتكون جميعها من البروتينات والتي تتميز بوزنها الجزيئي العالي
٢- تكون اكثر حساسية وغير ثابتة عند تغير الظروف الفسيولوجية من حرارة و PH حيث تعمل بنطاق معين من الحرارة وال PH حيث انها تتلف في الحوامض والقواعد والحرارة العالية.
٣- تكون الانزيمات في اغلب الاحيان غير فعالة بدون مساعدات انزيمية
٤- تزيد من سرعة التفاعلات ولكنها لاتؤثر على حالة الاتزان
٥- تزيد من سرعة التفاعلات من خلال تقليل التنشيط لتلك التفاعلات التي تحفزها .
٦- تختلف قابلية خصوصية المادة الاساس من انزيم لاخر
٧- يشمل عملها تكوين مركب وسطي وهو معقد انزيم-المادة الاساس .
٨- اغلب تفاعلاتها عكسية
٩- نكون كمياتها قليلة في التفاعلات مقارنة بالتفاعلات غير الانزيمية
١٠-تتميز التفاعلات الانزيمية بقلة النواتج الرضية غير المرغوبة

دور الانزيم كعامل مساعد :

يكون دور الانزيم في العمليات (التفاعلات) الحياتية هو يجعل تلك التفاعلات اسرع بكثير مما لو كانت تحدث بدون عامل مساعد (الانزيم) فالفرق بين ظروف التفاعلات الكيمياوية بدون انزيم عن التفاعلات الحياتية الانزيمية ، يتميز في السرعة الفائقة لتلك التفاعلات الكيمياوية الحياتية والانزيمية

ولتوضيح ذلك ناخذ تفاعلات تحول B+A الى النواتج D+C بوجود الانزيم وبدون الانزيم

كما في الشكل يلاحظ ان المواد المتفاعلة B+A في مستوى طاقة اعلى من D+C وعلية يجب ان تتحول تلقائيا الى نواتج ولكن قبل بدء التفاعل فان المواد المتفاعلة الاولية تحتاج الى طاقة اضافية تسمى طاقة التنشيط لكي تصل الى الحالة الانتقائية المنشطة والتي تقود الى تكوين النواتج . فكلما كانت طاقة التنشيط عالية فان نسبة قليلة من الجزيئات سوف تمتلك القدرة على الوصول الى الحالة الانتقالية وبذلك يكون التفاعل بطيء (ابطاء من التفاعل الانزيمي) ويحناج الى وقت اطول (وقد لا يحدث الا بمزيد من الطاقة).

اما في حالة التفاعلات الانزيمية فان الانزيمات فان الانزيمات تعمل على خفض طاقة التنشيط بصورة كبيرة جدا وتحقيق وصول المواد المتفاعلة الى الحالة الانتقالية عن طريق ارتباط الانزيم بالمواد المتفاعلة وتكوين اصرة انزيمية تحتاج طاقة تنشيط اقل للوصول الى الحالة الانتقالية وتكوين الناتج.

وعليه فان الانزيم يعمل على تجهيز طريق خاص للتفاعل تكون فيه طاقة التنشيط اوطا مما هو عليه للتفاعل بدون عامل مساعد انزيمي حيث تملك الانزيمات طاقة هائلة كعامل مساعد لزيادة سرعة التفاعلات.

فاذا كنت تريد ان تصل الى جهة الثالثة من سلسلة جبال عالية عليك صعود الجبل والنزول الى الجهة الثانية وهي عملية تحتاج الى طاقة عالية ووقت طويل. وقد لا يستطيع اي شخص من عملها

اما اذا كان هناك مساعد يعرف (او يستطيع حفر) نفق يصل بين جهتي الجبل سوف يقودك بوقت قياسي للجهة الاخرى.

ان المادة الاولية التي يعمل عليها الانزيم ويحولها الى ناتج تسمى المادة الاساس (او التركيز).

وطريقة التفاعل الانزيمي تتخلص باتخاذ الانزيم بالمادة الاساس (المتفاعلة) وتكوين مركب وسطي معقد الانزيم المادة الاساس ثم يحلل هذا المركب المعقد الوسطى مكونا النواتج من تحرر انزيم ليعود كي يعمل جزيئة من المادة المتفاعلة (الاساس)

ان امتلاك الانزيمات طاقة هائلة تجعلها كعوامل مساعدة مسرعة للتفاعل تظهر في انزيم والذي يعمل على اتحاد $CO_2$ مع $H_2O$ الماء داخل الانسجة الحية (الخلايا) ثم ينتقل الى الدم ومنها الى الحويصلات الرئوية والهوائية حيث يتحرر $CO_2$ مرة ثانية من ارتباط بالماء (من حامض الكاربونيك) ليخرج من الزفير

وان هذا الانزيم هو اسرع الانزيم المعروفة. حيث ان كل جزيئة انزيم تساعد على اتحاد جزيئة من co2 بالماء في الثانية الواحدة. وهذه السرعة تعادل اكثر من مليون مرة بدون العامل المساعد الانزيمي

تسمية الانزيمات Nomenclature :-

تعني كلمة انزيم بالاتينية فب الخميرة inyeast وذلك لاكتشافها لاول مرة في الخمائل لذلك خطا سمتها بعض المصادر بالخمائر.

اما طرق تسمية الانزيمات فهي ١- التسمية العامة الشائعة والتي تعتمد على

أ- اضافة المقطع ase في النهاية اسم المادة الاساس التي يعمل عليها الانزيم فمثلا يسمى الانزيم الذي يعمل على التحلل المائي للمادة الاساس السكروز بالسكريز

ب-التسمية حسب خاصية الانزيم في التفاعل مثل ومسبوقة باسم المادة الاساس.

٢-وهناك طريقة التسمية النظامية وهي المعتمدة من الاتحاد الدولي للكيمياويين الحياتين وهنا قسمت الانزيمات الى ست مجاميع رئيسية حسب طبيعة التفاعلات الانزيمية وكل منها يقسم الى مجاميع ثانوية والتي بدورها تقسم الى مجاميع اخرى ورقم تسلسل. حيث يكون لكل انزيم اربعة ارقام يفصل بين كل رقم ورقم نقطة ويسبق هذا الاختصار بعلاقة E.C وتعني هيئة الانزيم Enzyme commission

ان التسمية الى وضعها INB تعطي الانزيم رقم (يتكون من اربعة ارقام) مسبوقة بـE.C وهكذا يكون لكل انزيم رقمه المميز الخاص به وكالاتي Ec.X.Y.Z.W

حيث الرقم X(الرقم الاول): يشير الى الاصناف الستة من الانزيمات حيث قسمت الانزيمات الى ستة مجاميع رئيسية حسب التفاعلات العامة التي تقوم بها في الخلية الحية واسماء هذه المجاميع الستة هي

1-Oxidoreductases انزيمات التاكسد والاختزال

2-Transferases انزيمات النقل

3-Hydrolases انزيمات التحلل المائي (التميؤ)

4-Lyases انزيمات الحذف والاضافة الى الاصرة المزدوجة

5-Isomerases انزيمات الاشباه الجزيئية

6-Ligases انزيمات الربط او انزيمات الصنع الحيوي

وهي تساعد على ربط جزيئين بتكوين اصرة بينهما وتكوين جزيئة جديدة واحدة ويصاحب ذلك استخدام طاقة لهذه العملية ويتم اخذ الطاقة من جزيئة ATP عن طريق كسر اصرة فوسفاتية للATP. لذلك تسمى ايضا Synthetases مثل Glutamine synthetase.

*وهناك بعض الانزيمات تقوم على ربط الجزيئات تسمى Synthase لانها تقوم بالربط وتخلق جزيئات جديدة بدون الحاجة الى طاقة بكسر اصرة الفوسفات من ATP.

الرقم الثاني y: ويشير الى نوع المجاميع او الاواصر التي طرا عليها التفاعل وهي تحت نصف Snbclass تصنيف ثانوي للمجاميع الستة للتفاعلات.

الرقم الثالث Z: وهو يشير بدقة اكثر الى طبيعة التفاعلات للمجاميع وهو يسمى تحت-تحت الصنف Sub-subclass

الرقم الرابع W: وهورقم يشير الى تسلسل الانزيمات حسب اسبقية اكتشافه

طبيعة الانزيمات الكيمياوية

(تركيب الانزيمات):-

ان الانزيم هو بروتين في مستوى البناء الثالثي (البناء الكروي) مما يعني انه يكون بشكل متماسك بصلابة ويحتوي هذا التركيب على مكان محدد على سطح الانزيم وهذا المكان معقد الشكل وبشكل فجوة يسمى الموقع الفعال، او الموقع النشط (active site) ويسمى في بعض المصادر الجانب النشط

يحتوي هذا الموقع على مجاميع الفعالة للسلاسل الجانبية لبعض الحوامض الامنية وهي التي تعمل على ربط المادة الاساس التي يعمل عليها الانزيم اذا ترتبط هذه المجاميع مع المادة الاساس التي يعمل بعمل عليها الانزيم والتي تسمى (Substrate) . ان هذه المجاميع الفعالة هي التي تحفز المادة الاساس على الدخول في التفاعلات الحياتية.

وعلى الرغم من فعالية الانزيم التحفيزية تعتمد على التداخل الذي يحصل بين المجاميع الفعالة للحوامض الامينية في الموقع النشط والمادة الاساس الا ان الكثير

من الانزيمات تتطلب وجود بعض الجزيئات غير البروتينة كي تكتمل فعاليتها الانزيمية (بدونها لا تعمل الانزيمات) وعليه تكون الانزيمات على نوعين

أ- بروتينات بسيطة:-وهي الانزيمات التي تتألف من جزء بروتيني فقط ولا تحتاج الى جزيئات مساعدة اخرى لتقوم بعملها مثل انزيم Urease، Anylase

ب-بروتينات مزدوجة:- وهي الانزيمات التي تتألف من جزء بروتيني يمسى الانزيم(Apo-enzyme) وجزء غير بروتيني يساعد الانزيم يسمى(Co-enzyme) ويطلق على مجموع الانزيم المتكون من جزئين بالانزيم الكامل

العوامل المساعدة للانزيمات Cofactors:- وعي عبارة عن مواد غير بروتينة ظرورية لنشاط الانزيم والتي ترتبط بالانزيم لتحقيق والتي ترتبط بالانزيم لتحقيق فعاليته الانزيمية لذلك تسمى ايضا مجموعته المرتبطة prosthetic group.

وهذه المواد المحفزة اما ان تكون ايونات فلزية (او لافلزية) وهي التي تسمى Cofactors. مثل

او تكون عبارة عن مركبات عضوية غير بروتينة والتي تسمى Co-enzyme

*في بعض الاحيان يحتاج الانزيم كلا من العوامل اعلاه.

ومن العوامل المساعدة العضوية غير البروتينة NAD،ATP ، FAD والتي تشارك في تحرير الطاقة وكذلك CoA وغيرها

تخصص عمل الانزيم Enzymes specificity:-

يفصد به تخصص او خصوصية الانزيم للمادة الاساس (وما هي المادة الاساس التي يعمل عليها الانزيم او ما هو جزء المادة الاساس التي يعمل عليها الانزيم) حيث ان للانزيمات تخصص في التفاعلات الكيمياوية الحياتية ويعتمد هذا التخصص على الموقع النشط للانزيم وعلى تركيب المادة الاساس (او طبيعة المادة الاساس) اي نوعية الاصرة الكيمياوية للمادة الاساس واحتواء المادة الاساس على مجاميع تربطها بالانزيم.

وعليه فان مجالات تخصص عمل الانزيم تشمل:-

١- التخصص المطلق Absolute specificity :-

وهنا يعمل الانزيم على نوع واحد من المواد (مادة خاضعة واحدة معينة) ولا يعمل على اي مادة اخرى حتى لو كانت ذات جزيئة تشابه المادة الاصلية ومن امثله هذه الانزيمات انزيم اليوريز urease الذي يعمل على التحلل المائي لليوريا فقط.

كذلك انزيم arginase الذي يحول الحامض الاميني L-arginine الى اورنثين ويوريا

فهذا الانزيم لا يعمل D.Arginine او على L-arginine اذا استبدلت اي جزء بها كذلك glucokinase الذي يعمل نقل مجموعة فوسفات من ATP الى الكلوكوز.

٢- تخصص المجموعة المقاربة Relative group specifity:-

وهنا تخصص الانزيم على مجموعة معينة ذات نوع محدد من الروابط مثل انزيم الفا كلوكوسايديز فيشترك عمل هذا الانزيم وجود جزيئة انزيم كلوكوز (مجموعة كلوكوز) مرتبط باصرة كلايكوسيدية نوع الفا بغض النضر عن مجموعة الثانية المتصلة بالجانب الاخر من الاصرة

كذلك انزيم الذي يعمل على نقل مجموعة فوسفات من ATP ال اي سكر سداسي في الموقع 6.

٣- تخصص الرابطة (الاصرة):-

وهو تخصص اوسع من التخصص السابق،حيث ان الانزيمات تتخصص على نوع معين من الاواصر بغض النظر عن المجاميع المجاورة للاصرة (المكونة

للاصرة) والموجودة على طرفيها مثل انزيم peptidase الذي يحلل الاواصر الببتيدية بغض النظر عن الحوامض الامينة المكونة لها.كذلك(protease ) .

او انزيم Lipase الذي يعمل على الاواصر الاستر للدهون

٤- تخصص الاشباه الجزيئية :-

٥- وهنا يتخصص الانزيم للعمل على شبه (ايزومر) معين ولا يعمل على الشبيه (الايزومر) الاخر مثلا L-Aminoacid oxidase فهو يحفز فقط اكسدة الحوامض الامينية نوع -L ولا يمكنه العمل على الاحماض الامينية نوع D

كذلك الانزيمات التي تعمل على الاشباه Trans ولا تعمل علىCis وبالعكس.

الانزيمات متماثلة الاصل(المتناظرة):-

وهي عبارة عن صور مختلفة لانزيم واحد جميعها تعمل على اداء نفس التفاعل. ويعود الاختلاف الى طبيعة التركيب الرباعي لجزيئة بروتين الانزيم مثلا انزيم اختزال حامض اللاكتيك

ان هذا الانزيم يوجد على خمس اشكال والتي تتكون من نوعين من السلاسل الببتيدية هما M، H ويدخل في تركيب الانزيم اربعة سلاسل telramerc enzyme

وتوجد جميع هذه الانواع في العضلات الهيكلية. اما في القلب فالانزيم السائد هو $H_4$ اما في الكبد فالانزيم السائد هو $M_4$ وتختلف حركيات كل منها بالنسبة لقيمة Kmو Vmax السرعة القصوى للتفاعل التي سناتي على تعريفها لاحقا

ميكانيكة عمل الانزيم :- يكون عمل الانزيم من خلال ارتباطه بالمادة الاساس من خلال الموقع الفعال ليكون معقد وسطي وهو معقد Enzyme substrate

ويرمز له ES وهناك طريقتان لتفير طريقة عمل الانزيم لتكوين هذا المعقد وهي:-

١- نظرية القفل والمفتاح :-

في هذه النظرية يفترض ان يكون جانبا من المادة الاساس مطابقا لشكل الموقع او الجانب الفعال للانزيم اي ان المادة الاساس والانزيم يمتلكان تراكيب مكملة الواحدة للاخرى.

وطبقا لهذه النظرية فان التراكيب للمادة الاساس والموقع الفعال للانزيم تبقى ثابتة خلال عملية الارتباط . وهي لم تاخذ بنظر الاعتبار مرونة البروتينات اي انها تعتبر كون الموقع الفعال صلدا.

٢- نظرية التوافق المستحث:- وهي تفرض ان المواقع النشطة للانزيمات تعاني تغيرات عند الارتباط بالمادة الاساس بحيث يصبح الجانب النشط مكملا او متما لشكل المادة الاساس حيث بينت درسات الاشعة السينية وجود فروقات في تركيب الانزيم الحر وتركيب (شكل) الانزيم بعد ارتباطه بالمادة الاساس. وعليه فان تركيب المادة الاساس حسب النظرية ليس بالضرورة ان يكون ملائما او متما لشكل تركيب الموقع الفعال للانزيم ولكن عند اقتراب المادة الاساس من الموقع الفعال للانزيم وتكوين اواصر لاتساهمية (ترابطات وتجاذبات) تؤدي الى حدوث تغير في التركيب الثلاثي للموقع الفعال تجعاه ملائما وموافقا لشكل المادة الاساس . اي ان المادة الاساس يكون لها تاثير حاد على تغير شكل الموقع الفعال للانزيم ليكون ملائما للارتباط بها. وعليه تشرط النظرية بان الموقع الفعال يكون مرنا Floppy وان المادة الاساس تكون صلدة تسمح للانزيم ان يلتف حولها مثل اليد والقفاز وهذه النظرية تطبق على اكثر الانزيمات.

## حركيات الانزيمات : Enzymes Kinetics

يقصد بحركيات هو دراسة مدى فعالية الانزيمات تحت ظروف وعوامل مختلفة، اي دراسة العوامل التي توثر على فعالية وسرعة التفاعلات الحياتية واهم العوامل التي توثر على فعالية الانزيمات هي:

١-تاثير الاس الهيدروجيني (PH)

٢-تاثير درجة الحرارة Temperature

٣-تاثير تركيز المادة الاساس Substrate concentration

٤-تاثير تركيز الانزيم Enzyme concentration

٥-تاثير المثبطات Inhibitors

### ١-تاثير الاس (الرقم)الهيدروجينيPH:

لكل انزيم قيمة معينة من الPH والتي عندها يعمل الانزيم بنشاطه وفعاليته القصوى وتدعى هذه القيمة بالPH الامثل لفعالية الانزيم .حيث تزداد اوتقل فعالية الانزيم بزيادة او نقصان هذا الرقم الهيدروجيني.

ويعود بسبب ذلك الى ان الPH له تاثير على الطبيعة الايونية للاحماض الامينية في الموقع الفعال (اي ان الPH الامثل يعتمد على قيم PK للحوامض الامينية في الجانب النشط).كما انه يوثر على الطبيعة الايونية للمادة الاساس .

لذلك فان التغير ال PH الامثل للانزيم سوف يؤثر بشكل كامل على الصفات الايونية للحوامض الامينية على الموقع الفعال والتي تشارك في الارتباط بالمادة الاساس وبذلك يتغير هيئة وشكل الانزيم. بالاضافة الى ان قيم الPH العالية قد تؤدي تحرير

٠فسخ) طبيعة النزيم البروتينة وبذلك تفقده فعاليته وعليه عند دراسة حركيات الانزيم يجب استخدام محلول منظم (بفر Buffer ) معين عند الPH المثل للانزيم تحت الدراسة.

يمكن تمثيل العلاقة بين ال PH وفعالية الانزيم بالشكل البياني الاتي

٢-تاثير درجة الحرارة:-

عموما تزاد سرعة التفاعلات الانزيمية بزيادة درجة الحرارة الى حد معين حيث ينطبق هذا الكلام على عمل الانزيم في نطاق محدود نظرا لكون الانزيمات هي بروتينات وان ارتفاع الحرارة عن درجة الحرارة المثلى ( optimum temperature) يؤدي تحرير الانزيم وبالتالي يفقد الانزيم فعاليته.

فلكل انزيم درجة حرارة تكون فعالية الانزيم عند اقصاها.حيث ان تغير الحرارة يؤدي الى تغير طاقة التنشيط فارتفاع درجة الحرارة يؤدي الى زيادة فعالية الانزيم حتى تصل الى درجة الحرارة المثلى وذلك لان ارتفاع درجة الحرارة يؤدي الى زيادة حركية الانزيم والجزيئات وبالتالي زيادة الاحتكاك بينهما وتكوين مغقد. ES. علما ان لمعظم الانزيمات حرارة مثلى هي بين 15-45م تقريبا اما اذا زادت درجة الحرارة عن 55م فان الانزيم يتحور ويفقد فعاليته بسبب تحطم الاواصر الهيدروجينة . ويمكن بيان تاثير درجة الحرارة على التفاعلات الانزيمة بالرسم البياني التالي:-

٣-تأثير تركيز المادة الاساس:-

في حالة تثبيت كل من درجة الحرارة والPH المثاليين فان سرعة التفاعلات الانزيمية تزداد الى حد معين بزيادة تركيز المادة الاساس وعند الوصول الى الحد المعين لزيادة سرعة التفاعل والتي تعرف بالسرعة القصوى Vmax فان اي زيادة في تركيز المادة الاساس سوف تسبب زيادة في سرعة التفاعل الانزيمي اي ان سرعة التفاعل الانزيمي تبقى ثابتة وكما قلنا يطلق عليها السرعة القصوى Vmax وكما موضح بالشكل التالي

في الحالة PH وt ثابتة فان سرعة التفاعل الانزيمي تعتمد على ١-تركيز المادة الاساس وعلى تركيز الانزيم.

في حالة بقاء كمية الانزيم ثابتة فان سرعة التفاعل تزداد بازدياد كمية المادة الاساس الى ان تصل الى درجة اشباع الجانب النشط حيث تصل سرعة عمل الانزيم العظمى Vmax=Maximum velocity

يعبر عن التفاعل الانزيمي(انزيم المادة الاساس) على النحوالتالي

فعندما يكون تركيز (S) قليلا حسب المخطط اعلاه فهذا يعني ان المراكز النشطة

للانزيم تكون غير مشبعة بالمادة الاساس لذلك فان سرعة التفاعل لا تكون في طاقتها القصوى وعليه فان سرعة التفاعل تعتمد على تركيز المادة الاساس والتفاعل

تحت هذه الظروف من المرتبة الاولى Firstorder reaction. وعند زيادة تركيز المادة الاساس سوف نصل الى حالة الاشباع جميع المراكز النشطة للانزيم وعند هذه الحالة فان الانزيم سوف يعمل بطاقته القصوى وتكون سرعة التفاعل مستقلة عن تركيز المادة الاساس وعليه فان التفاعل يكون من المرتبة صفر zero order reaction.

لقد اشتق العالمان ميكاليس ومنن سنة ١٩١٣ العلاقة الرياضية التي تبين العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة والتي تسمى معادلة ميكاليس –منتن Mechaelis-menten eguation والتي تعطي علاقة زائدية المقطع Hyperbolic shape الذي تم ملاحظته في الرسم البياني السابقز ويمكن تمثيل المعادلة بالعلاقة الرياضية التالية:-

ويمكن تاثير ثلاث حالان لتأثير تركيز المادة الاساس للتفاعل (S) على معادلة ميكاليس-منتن:

١-عندما يكون تركيز المادة الاساس عالي {S} >Km

فان قيمة Km تهمل لانها صغيرة (قليلة) وتصيح المعادلة بالشكل التالي

وهذا يعني ان سرعة التفاعل الانزيمي قد وصلت الى سرعتها القصوى ويكون التفاعل تحت هذه الظروف من المرتبة الصفرية.

٢-عندما يكون {S}=Km تصبح المعادلة كالاتي

وهذا يعني ان التفاعل عند هذه النقطة (تحت هذه الظروف) يكون مريحا من مرتبة الصفر والاولىز وان ثابت ميكاليس Km يمثل تركيز المادة الاساس عند منتصف السرعة القصوى (نصف الرعة القصوى 0.5Vmax )

٣- عندما تكون [s] صغيرة Km>>[s]
فانها تهمل من المقام وتصبح المعادلة كالاتي

وهذ يشير على ان السرعة الابتدائية للتفاعل الانزيمي تتناسب طرديا مع تركيز المادة الاساس وان التفاعل من المرتبة الاولى.

عليه فان ثابت ميكاليس Km هو تركيز المادة عند نصف السرعة القصوى.
فعندما تكون قيمة Km واطئة فهذا يشير الى ان الانزيم له الفه عالية مع المادة الاساس اي ان كمية قليلة من المادة الاساس يمكنها اشباع الانزيم
والعكس عندما تكون Km عالية
بينما Vmax=السرعة القصوى للانزيم وهي صفة خاصة لفعالية الانزيم وهي مقدار ما يحوله مقدار معين من الانزيم من مادة اساس الى ناتج في فترة زمنية معينة . او هي مقدار ما يحوله مقدار معين من الانزيم من مادة اساس الى ناتج في فترة زمنية معينة.
تعين قيم Kmو Vmax:-
يصعب تعين قيم Kmو Vmax للتفاعلات الانزيمية بواسطة منحنيات V مقابل [s] التي مرت سابقا بسبب كون المنحني الناتج زائدي المقطع Hyperbolic لذلك يستخدم رسم لينويفر-بورك معادلة الخط المستقيم الذي يربط V/1 وS/1 والتي امكن اشتقاقها من معادلة ميكاليس منتن بعد قلبها كالاتي:-

يرسمV/1 مقابل 1/[s] نحصل على خط مستقيم ميله يساويVmax/Km وتقاطع ميل الخط المستقيم مع V/1 نحصل على1 /Vmax ومنه نحصل

على Vmax وتقاطع ميل الخط المستقيم مع 1/[s] نحصل على 1-/Km ومنها يمكن حساب Kmو Vmax

تعريف بعض المصطلحات في حركيات الانزيم:-

أ- الفعالة الخاصة specific activity:-هي عدد وحدات الانزيم الموجودة في مليغرام واحد من البروتين

ب-رقم الانقلابTurnover number :- وهو عدد جزيئات المادة الاساس (s) التي تتحول الى ناتج في الدقيقة الواحدة بتاثير جزيئة انزيم واحدة

ج-

هي كمية الانزيم التي تساعد على تحويل (1mmole) ١مايكرومول من المادة الاساس في الدقيقة وتحت ظروف معينة او هي كمية الانزيم التي تساعد على تحويل اموال بالثانية من المادة الاساس

٤-تأثير تركيز الانزيم: ان معدل سرعة التفاعلات الانزيمية تتناسب طرديا مع كمية الانزيم في حالة وجود كميات وفيرة زائدة من المادة الاساس،وذلك لان رقم الانقلاب يزداد بازدياد عدد جزيئات الانزيم ويحول كمية اكبر من المادة الاساس المتواجدة بكميات كبيرة الى ناتج.

اي تزداد سرعة التفاعل مع زيادة تركيز الانزيم بوجود كميات وفيرة من المادة الاساس.

اما الحالة الثانية فهي عند استعمال كميات مضاعفة من الانزيم مع عامل الزمن ايضا نلاحظ انه كلما زادت كمية الانزيم زادت سرعة التفاعل في حالة وجود كميات وفيرة من المادة الاساس.

٥-تأثير المثبطات Effect of inhibitors:-

كما تم بيانه سابقا فان ارتفاع درجة الحرارة عند الحد الامثل (خصوصا عن ٥٥م) او تغير قيمة الPH المثالي او اضافة المرسبات (+Ag،+Hg ) يمكن ان تفقد البروتينات خصوصيتها وبالتالي تفقدها فعاليتها.

كما ان هناك مركبات لها القابلية على الارتباط مع الانزيمات (لكنها لا تعمل كمواد اساس) بل تبطل عمل الانزيمات وتفقد الانزيم فعاليته . تعرف هذه المواد بالمثبطات.

اذ هي المواد التي لها القابلية على الارتباط مع الانزيم او معقد الانزيم-المادة الاساس(وهي لا تعمل كمواد اساس) وتبطل عمل الانزيم.

ويمكن تقسيم المثبطات الى قسمين رئيسيين هما:-

أ- المثبطات غير العكسية Irreversible inhibitors :- لا يمكن عكس مفعول هذه المثبطات بزيادة تركيز الانزيم.وينتج هذا التثبيط بسبب تكون اواصر تساهمية بين المثبط والمجموعة الفعالة في الانزيم ولا يمكن فصل المثبط عن الانزيم بواسطة التخفيف او الفرز الغشائي المعروف بالديلزة(Dialysis). كما ان للمثبط القابلية على الارتباط مع انزيم مع اماكن غير الموقع الفعال وبالتالي يؤدي الى وقف عمل الموقع الفعال اي وفق عمل الانزيم.

وان ارتباط المثبط بالانزيم يكون قويا كونه ارتباط تساهمي لا يمكن عكسه.

ب-المثبطات العكسية Revcrsible inhibitors :-

وهنا يتحد المثبط مع الانزيم او مع معقد الانزيم-المادة الاساس ES ويكون عادة الارتباط غير تساهمي لذلك يمكن عكسه وهنا تخضع العلاقة لنظرية ميكاليس منتن(يمكن ان توصف العلاقة بواسطة نظرية ميكاليس منتن)

ويمكن تقسي المثبطات العكسية الى ثلاث انواع

١-المثبطات التنافسية compititve inhibitors

٢-المثبطات غير التنافسية Noncompititive inhibitors

٣-المثبطات اللاتنافسية Uncompititve inhibitors

١-المثبطات التنافسية compititve inhibitors :-وهي عبارة عن مركبات تشابه في اكثر الاحيان (شكل)المادة الاساس مع اختلاف بسيط لذلك قد تسمى

احيانا مشابهات او مماثلات المادة الاساس(Substrate analoges) والتي تنافس المادة الاساس على الموقع الفعال للانزيم.واحيانا تكون غير مشابهة لتركيب (شكل) المادة الاساس وترتبط بالقرب من الجانب النشط لتؤثر عليه وتقلل فعالية الانزيم.

وتعتمد درجة التثبيط على كمية(تركيز) المثبط التنافسي وعلى كمية (تركيز) المادة الاساس.

وقد يكون هذا المثبط مشتق من المادة الاساس او احد المواد الموجودة في الخلية او من ناتج التفاعل.

ويمكن تمثيل التثبيط التنافسي بالمعادلة التالية

ومعادلة ميكاليس منتن للتثبيط التنافسي هي

وعند رسم ميل لبنويفر نلاحظ ان Vmax لا تتغير بوجود المثبط التنافسي حيث ان تاثيره يمكن التغلب عليه بزيادة تركيز المادة الاساس. اما قيمة Km فتلاحظ انها تزداد بوجود المثبط التنافسي وهذا يعني ان الفه الانزيم للمادة الاساس تقل.

٢-المثبطات غير التنافسية Non-compititive inhibitors:-

في هذا النوع من المثبطات يكون المثبط غير مشابه لتركيب المادة الاساس حيث انه يرتبط مع الانزيم في مواقع مختلفة غير الجانب النشط (الموقع الفعال)

الذي ترتبط به الانزيم مع المادة الاساس وعليه فان المثبط غير التنافسي يمكنه الارتباط مع الانزيم الحر[E] او مع معقد الانزيم – المادة الاساس [ES]

لذلك فان درجة التثبيط لا تعتمد على تركيز المادة الاساس لذلك لا يمكن التغلب على هذا التثبيط بزيادة تركيز المادة الاساس. فالمثبطات غير التنافسية تتحد بقوة مع

احد جانبي سطح الانزيم في مكان غير الموقع النشط ، حيث ان المادة المثبطة لا تؤثر على اتصال الانزيم بالمادة الاساس ولكن تعمل على تقليل صنع الناتج.

لذلك يلاحظ هنا ان الفه الانزيم للمادة الاساس تبقى ثابتة اي Km تكون ثابتة بينما قيمة Vmax تقل بزيادة تركيز المثبط غير التنافسي لذلك يعتمد هذا التثبيط على تركيز المثبط والفه الانزيم للمثبط وتكون معادلة Linewewer-Burk plot في حالة المثبط غير التنافسي كالاتي:-

٣-المثبطات اللاتنافسية Uncompititve inhibitors:- ان هذه الانواع من المثبطات تتفاعل فقط مع انزيم المعقد –المادة الاساس ES مكونا المعقد الخال [ESI]، ولا يرتبط مع الانزيم الحر. لذلك هذ النوع من التثبيط لا يمكن التغلب عليه بزيادة تركيز المادة الاساس.

وفي هذه الحالة من المثبطات اللاتنافسية يلاحظ ان قيمة Vmaxو Km تكون اقل مما هي عليه بدون مثبط. وان قيمة Km الواطئة تدل على ان المادة الاساس اكثر كفائة(الفة) للارتباط للانزيم بوجود المثبط. ويعمل المثبط اللاتنافسي على تغيير رقم الانقلاب للانزيم بدلا من تقليل جزيئات الانزيم المرتبطة بالمادة الاساس

وكملخص لتأثير الانواع المختلفة من المثبطات على حركيات الانزيم ندرج الجدول التالي

٦-تاثير المثبطات Activators:- ان فعالية بعض الانزيمات تزداد بصورة واضحة عند وجود مواد او ايونات معينة في الوسط الذي يعمل فيه الانزيم وتسمى هذه الايونات او المواد بالمثبطات.

وتجد الاشارة الى ان الانزيم يعمل في غياب هذه المنشطات ولكن فعاليته تزداد وكثيرا عند وجودها. وهناك فرق بين مرافق الانزيم (Coenzymes) والمنشطات (Activator) ، اذ انه بغياب مرافق الانزيم لا يعمل الانزيم مطلقا لان مرافق الانزيم جزء لا يتجزء من الانزيم الكامل اما المنشطات فيمكن للانزيم الاستغناء عنها . ويمكن للتفاعل الانزيمي ان يستمر بدونها ولكنه في هذه الحالة يكون بطيئا ولكن يتشابه المرافق الانزيمي مع المنشط بانهما لا يتصفان بميزة التخصصية المطلقة فمثلا انزيم اللعاب Ptyalin يتنشط بال Clو Brو I .بالمثل فانه المرافقات الانزيمية قد تتدخل في تنشيط عدة تفاعلات انزيمية مختلفة. اما طريقة عمل المنشطات فهي:-

أ- قد يعمل المنشط على تجزئة المادة الاساس تجزيئا دقيقا مثلا (استحلايها

تنظيم النشاط الانزيمي Regulation of enzyme activity:-

لكي تقوم الخلايا الحية بفعاليتها المختلفة بشكل جيد يجب ان يكون هناك تناسق منتظم ومنظم، مع التفاعلات الكيمياوية الحياتية الانزيمية وعليه توجد عدة حالات يتم بها السيطرة على النشاط الانزيمية هذه الحالات هي:-

١-مولدات الانزيمات Proenzymes:- تفرز اغلب الانزيمات الهضمية بصورة غير فعالة بشكل بروتين غير فعال يسمى زايموجين (Zymogen) (مولد الانزيم) من الغدة المنتجة لها ثم تتحول الى الشكل الفعال (انزيمات فعالة) يحدث تغير في تركيبها الكيمياوي حيث تفقد على الاكثر جزء ببتيدي وهذا التحول الكيمياوي الحياتي غير عكسي.

وتعتبر هذه العملية وسيلة لحماية الانسجة المنتجة لهذه الانزيمات في الغدد من عملية الهضم الذاتي Aytadigestion.

ومن المثلة على ذلك الانزيم انزيمات التربيسين والكيموتربيسين والتي تخلق في البنكرياس بشكل Zymogen تسمى Trypsinogenو Chemitrypsinogen

وتفرز الى الامعاء لغرض هظم البروتينات لذلك يجب ان تتحول هذه الانزيمات الى الشكل الفعل.حيث يفقد التريسيوجين ببتيد سداسي بواسطة انزيم enteropeptidase او انزيم تربسين فعال موجود سابقا في الامعاء.

وكذلك يتحول الكيموتربينوجين الى كيموتربسين فعال بفعل انزيم التربيسين

وكذلك انزيم الببسين الذي يعمل على هظم البروتينات في المعدة فانه يفرز بصورة غير فعالة pepsinogen يتحول الى الصورة الفعالة pepsin بواسطة كمية من انزيم الببسين النشط الموجود في المعدة سابقا في محيط حامظي

-كذلك يوجد الانزيم الخامل prothrombin في الدم في الحالة الطبيعة ولكن عند حدوث جرح سوف تتكبر الصفائح الدموية ويتحرر منها انزيم يسمى thrombokinase (ثرموبلاستين) وهو انزيم فعال ينشط بايونات الكالسيوم يعمل على تحويل البروثروبين الخامل prothronbine الى انزيم الثروبين الفعال

ويقوم انزيم ال Thrombin الفعال بتحويل بروتين الفايبرينوجين Fibrinogen الذائب في الدم الى بروتين الفايبرين Fibrin غير الذائب(وذلك بحذف سلسلة ببتيدية منه) وبذلك يترسب الفايبرين على شكل خيوط بيضاء متقاطعة تحسر بينها كريات الدم الحمراء وتكون ما يسمى الخثرة Clotting (او تسمى الجلطة) وبذلك تحدث عملية التخثر Coagulation.

٢-تغيير الاواصر التساهمية للانزيم:- Covalentmodification of enzyme

وهذا النوع من التحكم في نشاط الانزيم يتم بادخال مجاميع معينة خاصة على الانزيم مثل مجاميع الاستيات acctate ، الفوسفات Phosphate ،الادينالات Adenylate من (ATP) ترتبط باواصر تساهمية. مثل انزيم glycogen phosphorylase الذي ينشط بواسطة الفسفرة (ادخال مجموعة فوسفات على الانزيم) . ويثبط بسحب مجموعة الفوسفات. او يتم التحكم بنشاط الانزيم بازالة مجاميع من الانزيم (تكسير اواصر تساهمية للانزيم مع مجاميع معينة. مثل انزيم glycogen synthetase الذي ينشط بسحب مجموعة فوسفات منه ويثبط بعملية الفسفرة(ادخال مجموعة فوسفات عليه)

٣-التداخل البروتيني protein-protein interaction:-

في هذا النوع من تنظيم للنشاط الانزيمي يتم من خلال تغيير خصوصية الانزيم من شكل غير فعال الى فعال او بالعكس باتصال غير تساهمي بين وجزء بروتيني يغير فعاليته.

٤-الانزيمات المنظمة (الالوستيرية):

هذا النوع من تنظيم النشاط الانزيمي هو اوسع انواع السيطرة الانزيمية التي تم بها تنظيم نشاط الانزيم في الخلايا فالانزيم المنظم يمكن تغيير فعاليته من خلال ارتباط لا تساهمي للانزيم مع مركبات ذات اوزان جزيئية واطئة تسمى الموثرات المنظمة (الموثرات الالوستيرية Allosteric effectors).

تشمل الموثرات الالوستيرية انواع متعددة من المركبات وعلى الاغلب ترجع هذه المركبات الى نواتج تفاعلات الانزيم.(حيث تسمى عملية ايقاف عمل انزيم الانزيم بواسطة نواتج تفاعله بالتثبيط بالتغذية المرتدة (Fad back in hibition) ان كلمة Allosteric تعني الموقع الاخر (other site) وهذا يعني ان الموثرات المنظمة ترتبط بمكان اخر غير الموقع الفعال للانزيم.ويوثر هذا الارتباط على الجانب النشط

سلبا او ايجابا وذلك نتيجة تغير التركيب الرباعي للانزيم (معظم الانزيمات الالوستيرية تكون عند مستوى البناء الرابعي).

ويحدث التثبيط الالوستيري Allosteric inhibition من خلال تخفيض قابلية ارتباط الانزيم بالمادة الاساس وينشا عن ذلك زيادة قيمة Km.

وبالعكس فان عملية التنشيط الالوستيري Allosteric activation ينشا عنها زيادة قابلية الانزيم للارتباط بالمادة الاساس cooperative binding رجوع قيمة Km.

بينما قيمة Vmax ثابتة لجميع الحالات.

شكل رقم(١)

مقارنة بين بياني سرعة التفاعل لنوعين من الانزيمات

١-الانزيمات الطبيعة (N) والتي لها حركيات زائدة المقطع Hyperbolic Curve

٢-الانزيمات اللوستيرية A والتي لها منحنيات حركة سينية (S) المقطع sigmoidal Curve

شكل رقم(٢) منحنيات حركة الانزيم الوستيري

a-الانزيم بدون اي مؤثر

b-الانزيمات مع وجود منشطات الوستيرية موجب

c-الانزيم مع وجود المثبطات الوستيرية سالب

ان جميع الانزيمات اللالوستيرية تكون متعددة الوحدات Multi-Subunit وتتصف بالمنحنيات سينية المقطع حسب حركيات معادلة ميكاليس منتن Sigmoidal Michaelis –Meuten kinetics وهذا يشير الى وجود عدة جوانب (مواقع) ارتباط للانزيم مع المواد الاساس، على عكس الانزيمات الطبيعة غير المنظمة nonregulated enzymes حيث يعمل فيها (الجانب النشط) جانب ارتباط المادة الاساس مستقلا بدون تأثير ويكون لها حركيات زائدية المقطع لميكاليس Hyperbolic M-Mkinetic

-ان ميزة الحركات السينية المقطع Sigmoidal هي انها عندما تزداد السرعة من 0.1 الى 0.75 تحتاج الى زيادة ضعف 2.3 من المادة الاساس.

-اما الحركة زائدية المقطع فتحتاج زيادة المادة الاساس 27 مرة لتصل الى نفس الزيادة في قيمة السرعة

انواع الانزيمات الالوستيرية:- ويوجد ثلاثة انواع من الانزيمات الالوستيرية:-

١- انزيمات ذات النزعة المتشابهة Homotropic enzyme وهي التي تكون المادة الاساس بالذات هي المنظم سلبا او ايجابا (فعند زيادتها تزداد فعالية الانزيم وعند نقصانها تقل فعالية الانزيم).
٢- انزيمات ذات النزعة المختلفة Heterotropic enzyme:- وهي التي يكون فيها الؤثر النظم يختلف عن المادة الاساس كان يكون الناتج النهائي لمسيرة التفاعل (مسار التفاعل)
٣- انزيمات مختلفة النزعة Mixedtropic enzyme:- وهي التي تكون فيها المادة الاساس احد اثنين او اكثر من المواد المؤثرة المنظمة لعمل الانزيم

وقد اقترح العالم مونود Monod النموذج المتناسق Symmetrical model للانزيمات الالوستيرية والذي ينص على وجوده بشكلين بشكل متوازن

-الشكل T الذي له الفه واطئة للمادة الاساس

-الشكل R الذي له الفه عالية للمادة الاساس

ففي حالة عدم وجود المادة الاساس يكون الشكل T هو السائد وتزداد نسبة R كلما زادت نسبة المادة الاساس S.

-اما عمل المؤثرات الالوستيرية فان المثبطات الالوستيرية فهي ترتبط بالشكل T وتمكنه من التحول الى R كما في التثبيط بالتغذية المرتدة.

اما المنشطات الالوستيرية فهي ترتبط بالشكل R وتزيد نسبته.

عليه المثبطات الالوستيرية تغير التوازن ( ) نحو الشكل T، بينما المنشطات الالوستيرية فتغير التوازن نحو الشكل R.