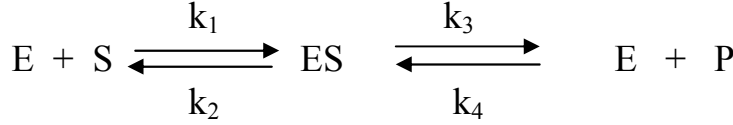


### (6.4) حركية التفاعلات المشتملة على الإنزيمات:

العملية المساعدة التي يساهم فيها الإنزيم تبدأ باتحاد الإنزيم E بالمادة الأساسية S في التفاعل لتكوين المعقد ES. والخطوة المقررة لسرعة التفاعل تشتمل على تفكك المعقد لتكوين ناتج التفاعل P. ويعبر عن ميكانيكية المشتمل على الإنزيم بالخطوات التالية :-



والتفاعل العكسي بين E و P يكون في الغالب بطيئا لدرجة إهمال دوره في التفاعل العام، لاسيما في بداية التفاعل عندما يكون تركيز الناتج P صغيرا. و التفاعل لا يلبث أن يصل إلى حالة الاطراد بحيث يمكن كتابة :-

$$- \frac{d[ES]}{dt} = k_1 [E][S] - k_2 [ES] - k_3 [ES] = 0 \quad (60.4)$$

ويبلغ تركيز [ES] عند حالة الاطراد:-

$$[ES] = \frac{k_1 [E][S]}{K_2 + k_3} = \frac{[E][S]}{k_m} \quad (61.4)$$

حيث  $k_m = (K_2 + k_3) / k_1$  ويدعى  $k_m$  ثابت ميجالس Michaelis Constant ويعبر عن سرعة التفاعل (v) بالعلاقة :-

$$v = - \frac{d[S]}{dt} = k_3 [ES] = \frac{k_3 [E][S]}{k_m} \quad (62.4)$$

وهذه المعادلة بوضعها الحالي غير عملية لأنها تشتمل على تركيز الإنزيم الحر [E] بينما التركيز المطلوب عمليا هو ( $E_0$ ) التركيز الكلي للإنزيم بشكله الحر والمتحد، أي أن :-

$$[E_0] = [E] + [ES] \quad (63.4)$$

وبإدخال هذه العلاقة في المعادلة (62.4) سيتحصل على :-

$$[ES] = \frac{[E_0][S]}{k_m + [S]} \quad (64.4)$$

وتكون سرعة التفاعل كما يلي :-

$$v = - \frac{d[S]}{dt} = k_3 [ES] = \frac{k_3 [E_0][S]}{k_m + [S]} \quad (65.4)$$

ومن المفيد إعادة كتابة هذه المعادلة بدلالة السرعة القصوى  $V_{max}$  التي يصل إليها التفاعل ، وذلك عندما يصبح  $[S] \gg k_m$  ، ولذا تتحول المعادلة إلى :-

$$V_s = k_3 [E_0] \quad (66.4)$$

وبربط المعادلتين (65.4) و (66.4) معا سيتحصل على :-

$$\frac{V}{V_s} = \frac{[S]}{[S] + k_m} \quad (67.4)$$

ويبين الشكل (8.4) العلاقة بين قيم  $V$  مع  $[S]$  عندما تكون قيمة الثابت  $k_m = 0.2$  .  
ويلاحظ من المعادلة (67.4) أنه عندما يكون  $[S] = k_m$  فان  $(V = V_s / 2)$  .  
وعمليا يفضل تحويل المعادلة (67.4) إلى معادلة خطية بالأنماط التالية :-

$$\frac{1}{V} = \frac{k_m}{V_s} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_s} \quad (68.4)$$

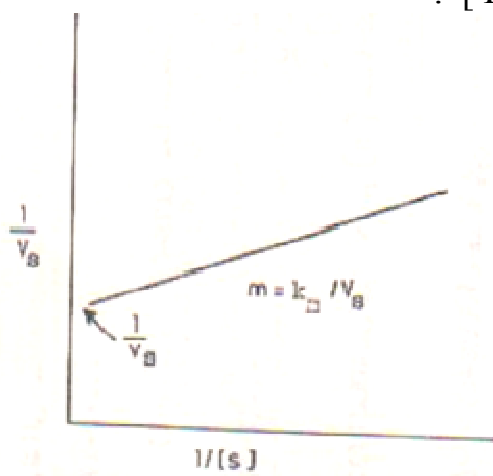
وتدعى بمعادلة لاين ويفر - برك ، Lineweaver-Burk ، أو

$$V = \frac{V_s [S]}{[S] + k_m} \quad (69.4)$$

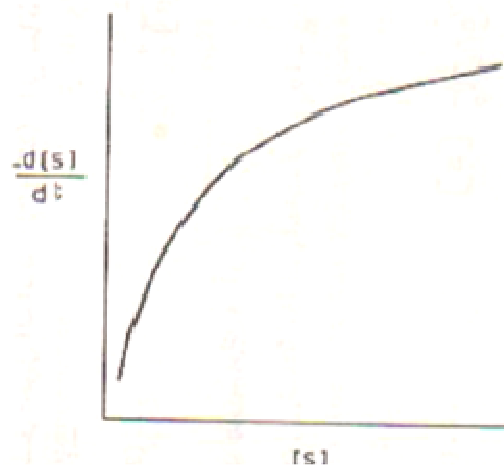
وهي معادلة ايادي Eadie-Hofstee ، ونحصل عليها عند ضرب طرفي المعادلة (68.4) بـ  $V \cdot V_s$  ومن ثم إعادة ترتيبها .

$$[S] / V = k_m / V_s + \frac{1}{V_s} [S] \quad (70.4)$$

وتدعى بمعادلة ديكسون Dixon . والنتيجة من ضرب طرفي المعادلة (68.4) بـ  $[S]$  .  
ويمكن رسم قيم  $1/V$  مقابل  $1/[S]$  كما في الشكل (9.4) . ويستحصل على  $V_s, k_m$  من ميل ومقطع المستقيم الناتج . وباستخدام قيمة  $[E_0]$  فإنه يصبح بالإمكان إيجاد قيم  $k_3$  ، ومن ثم إيجاد ثابت الاتزان المتعلقة بتكوين المعقد  $[ES]$  .



الشكل (9.4) علاقة  $1/V_s$  بالمقدار  $1/[S]$  في تفاعل انزيمي



الشكل (8.4) علاقة سرعة التفاعل مع تركيز المادة الأساسية  $[S]$

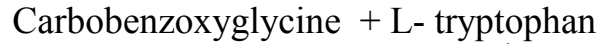
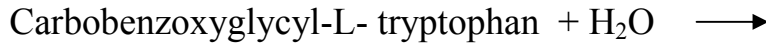
ويمكن حساب  $K_M$ ,  $V_{max}(V_S)$  لقيمتين تجريبيتين لكل من السرعة  $V_0$  وتركيز المادة الأساس  $[S]$  وذلك بتطبيق المعادلتين أدناه:

$$V_{max} (V_S) = \frac{V_{01}V_{02}([S]_2 - [S]_1)}{[S]_2V_{01} - [S]_1V_{02}} \quad (71.4)$$

$$K_M = \frac{[S]_1[S]_2 (V_{02} - V_{01})}{[S]_2V_{01} - [S]_1V_{02}} \quad (72.4)$$

وبذلك يمكن إيجاد المتوسط لـ  $V_{max}(V_S)$ ,  $K_M$  من القيم العديدة المحسوبة لـ  $K_M$ ,  $V_S$ . إن الطريقة العادية للحصول على قيم  $K_M$ ,  $V_{max}$  هي أن نحصل على المربعات الصغرى (least-squares-fit) الملائمة إلى البيانات والتي تنتج الرسوم الخطية.

مثال (4.4): التحلل المائي لـ Carbobenzoyglycyl-L- tryptophan المحفز بواسطة Pancreatic carboxypeptidase تم طبقاً للتفاعل الآتي :-



البيانات أدناه تمثل سرعة تكوين L- tryptophan عند  $P^H = 7.5$ ,  $25^\circ\text{C}$ ، تم الحصول عليها من قبل

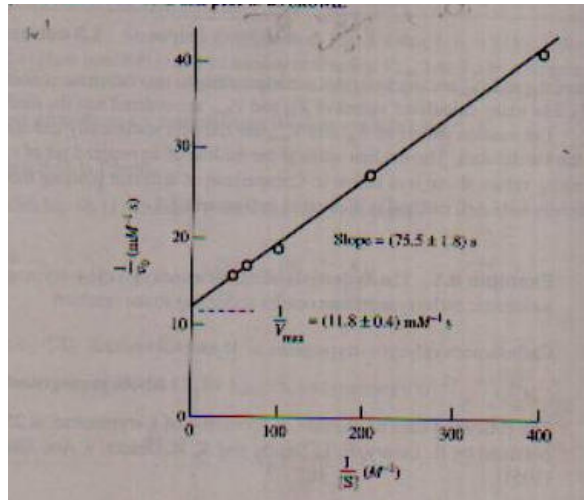
R.Lumry, E.L.Smith, and R.R.Glantz., .Am.Chem.Soc.73,4330(1951).

Substrate concentration(m M)	2.5	5.0	10.0	15.0	20.0
Rate (m M s <sup>-1</sup> )	0.024	0.036	0.053	0.060	0.064

- 1- ارسم هذه البيانات طبقاً إلى طريقة Lineweaver-Burk ثم عين قيم  $K_M$ ,  $V_{max}(V_S)$ .
  - 2- إعادة المطالب أعلاه بتطبيق طريقة Eadie-Hofstee.
  - 3- جد المتوسط median لكل 10 قيم محتملة من  $K_M$ ,  $V_{max}(V_S)$ .
- الحل  
لغرض إجراء هذه الرسوم ، يعاد صياغة البيانات كما مبين في الجدول أدناه.

$[S](m M)$	2.5	5.0	10.0	15.0	20.0
$1/v_0(m M^{-1}s)$	14.7	27.8	18.9	16.7	15.6
$1/[S] (M^{-1})$	400	200	100	66.7	50
$10^3 \times v_0/[S](s^{-1})$	9.6	7.2	5.3	4.0	3.2

1- إن الرسم بطريقة Lineweaver-Burk مبين أدناه .



الرسم بطريقة Lineweaver –Burk

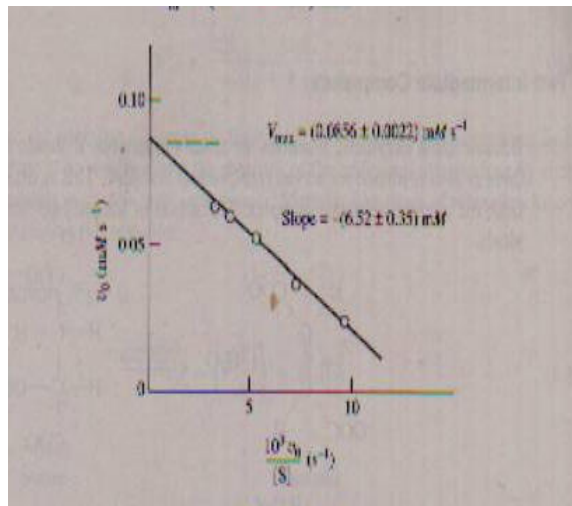
$$V_{\max} = (0.0847 \pm 0.0027) \text{ m Ms}^{-1}$$

$$K_M / V_{\max} = (75.5 \pm 1.8) \text{ s} \text{ and } K_M = (6.39 \pm 0.36) \text{ m M}$$

2- يعطي الرسم بطريقة Eadie -Hofstee ما يلي:

$$V_{\max} = (0.0856 \pm 0.0022) \text{ m Ms}^{-1}$$

$$K_M = (6.52 \pm 0.35) \text{ m M}$$



الرسم بطريقة Eadie –Hofstee

3- بتطبيق المعادلات (71.4) و (72.4) على البيانات المعطاة نحصل على عشرة قيم لـ

$K_M, V_{\max}$ .

$V_{\max}$	0.0720	0.0800	0.0808	0.0815	0.0840	0.0857	0.0864	0.0887	0.0900	0.1004
$K_M$	5.0000	5.0000	5.2381	5.3846	6.2500	6.4286	6.7442	7.0000	7.5000	8.9474

إن قيم المتوسط هي

$$V_{\max} = 0.0848 \text{ m Ms}^{-1} \text{ and } K_M = 6.34 \text{ m M}$$