محاضرات الكيمياء الحيوية
(جزء الأنزيمات)
المستوي الثاني (عام)
المحاضرة العاشرة

اعداد

أ.د/ فرحات فودة علي فودة

أستاذ الكيمياء الحيوية

ألأنزيمات Enzymes

تتم معظم تفاعلات الكيمياء العضوية المختلفة ببطء فى المعمل تحت ظروف درجة حرارة الغرفة والضغط الجوى المعتاد وهناك الكثير من التفاعلات الكيميائية التى تحدث فى الأجسام الحية ولا يمكن تقليدها فى أنبوبة الأختبار إلا بإستخدام درجات مرتفعة من الحرارة والضغط ولكن يلاحظ أن هذه التفاعلات تتم بسرعة فى جسم الكائن الحى فمثلا لا يمكن تحليل الكربوهيدرات أو البروتين مائيا إلا بغليانها مع الأحماض أو القواعد .

ولكن فى القناة الهضمية يحدث هذا التحليل المائى بسرعة وبسهولة وتعزى قدرة الجسم على القيام بمثل هذه التفاعلات إلى إحتوائه على مجموعة من العوامل المساعدة الحيوية

تعرف بالإنزيمات Enzymes وهى مركبات ذات أصل بروتينى ولا يعتريها أى تغير أثناء التفاعل الكيميائى كذلك لا يتغير تركيزها أثناء التفاعل

وغالبا ما يتخصص كل أنزيم فى تنشيط تفاعل معين ولا يؤثر على التفاعلات الأخرى كذلك يحتاج الكائن الحى إلى العديد من الأنزيمات حتى يتمكن من إتمام عملياته الحيوية المختلفة وبالتالى يتمكن من البقاء على الحياة.

وعلى ذلك يمكن القول بأن الأنزيمات عبارة عن عوامل مساعدة حيوية تفرزها خلايا الكائن الحى لتقوم بتنشيط وأسرع التفاعلات المختلفة وتمتاز عن العوامل المساعدة المعدنية بكونها أكثر نشاطا وتأثيرا. وهى مواد بروتينية ذات وزن جزيئى مرتفع يتراوح عدد الأحماض الأمينية التى تدخل فى تركيبها من ١٠٠ إلى ١٠٠٠٠ وحدة حمض أمينى

ما هو الإنزيم Enzyme؟

- الإنزيم جزيء بروتيني ذو خواص تحفيزية (حفاز Catalyst) ناشئة من قدرته على التنشيط المتخصص لجزيئات كيميائية معينة.
- يعمل الإنزيم داخل الخلايا على تعجيل تفاعل كيميائي معين ، وذلك بزيادة سرعته بمقدار 10^{4}-10^{12}
- فيما عدا زيادة سرعة التفاعل الكيميائي، فإنّ الإنزيم لا يُغيّر من الخواص الكيميائية أو الفيزيائية للتفاعل مثل ثابت الاتزان، أو مقدار التغير في الطاقة الحُرَّة للتفاعل.
- بجميع الوسائل التي ذكرت في الحفاز، فإنّ الإنزيم يقلص كثيراً الحاجة إلى طاقة التنشيط التي يحتاجها التفاعل.

وينحصر عمل الأنزيمات فى التالى:

١. تقوم بتنشيط وإسراع التفاعلات الكيميائية دون أن تستهلك فيها.

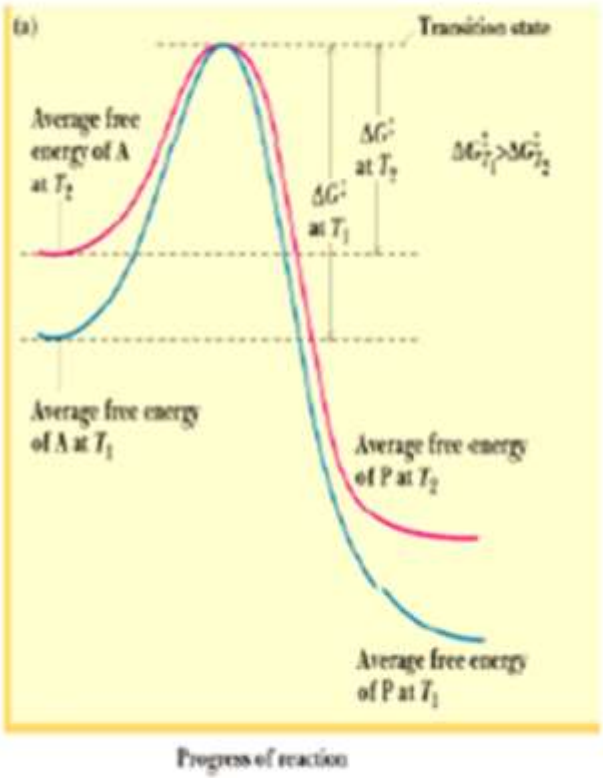
٢. لا تؤثر على نقطة الإتزان الخاصة بالتفاعل العكسى ولكن تقلل من الزمن اللازم للوصول إليها .

٣. يكفى كميات قليلة جدا منها لإتمام التفاعل.

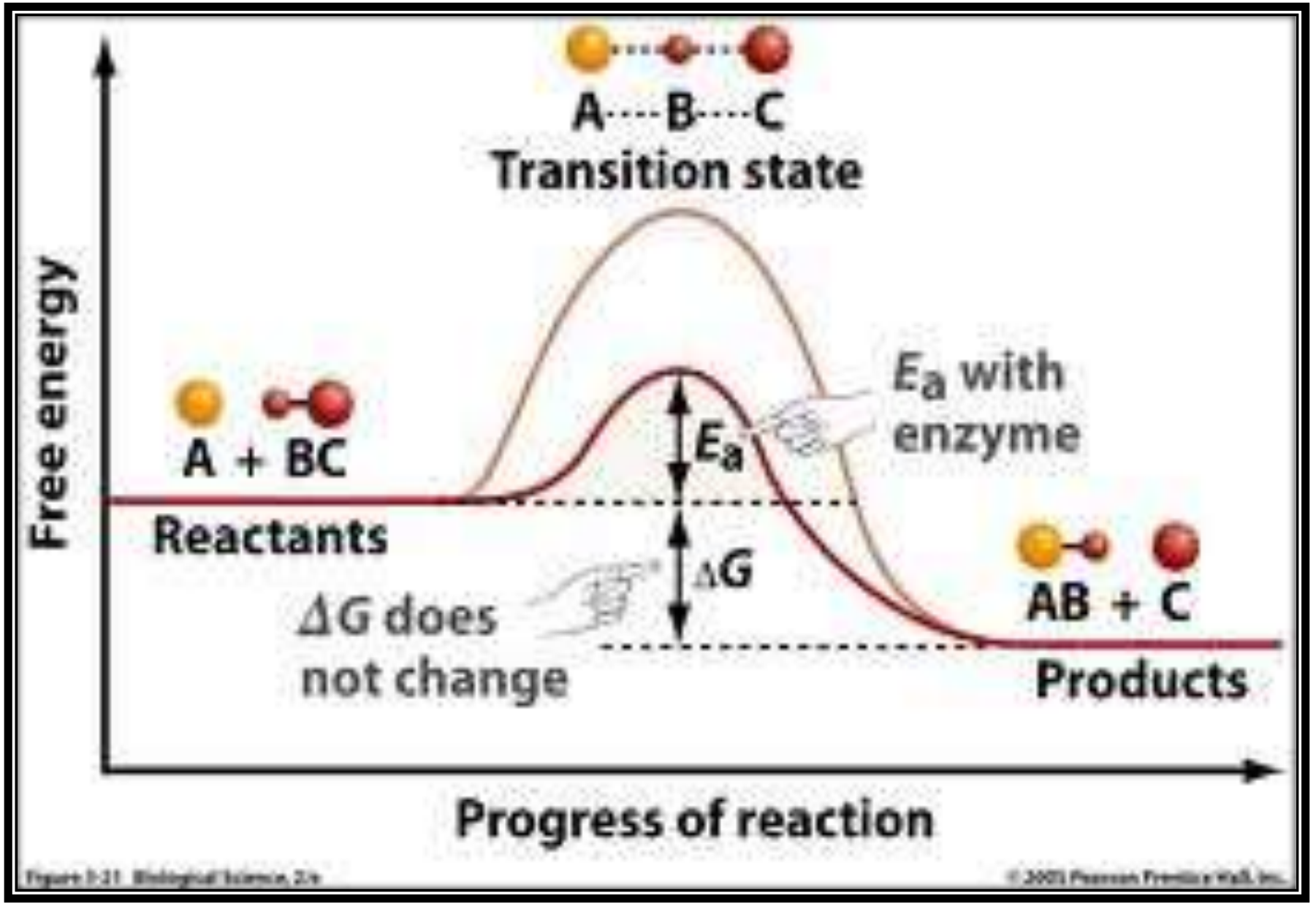
٤. يؤدى غيابها إلى حدوث خلل فى العمليات الحيوية المختلفة التى يقوم بها الجسم.

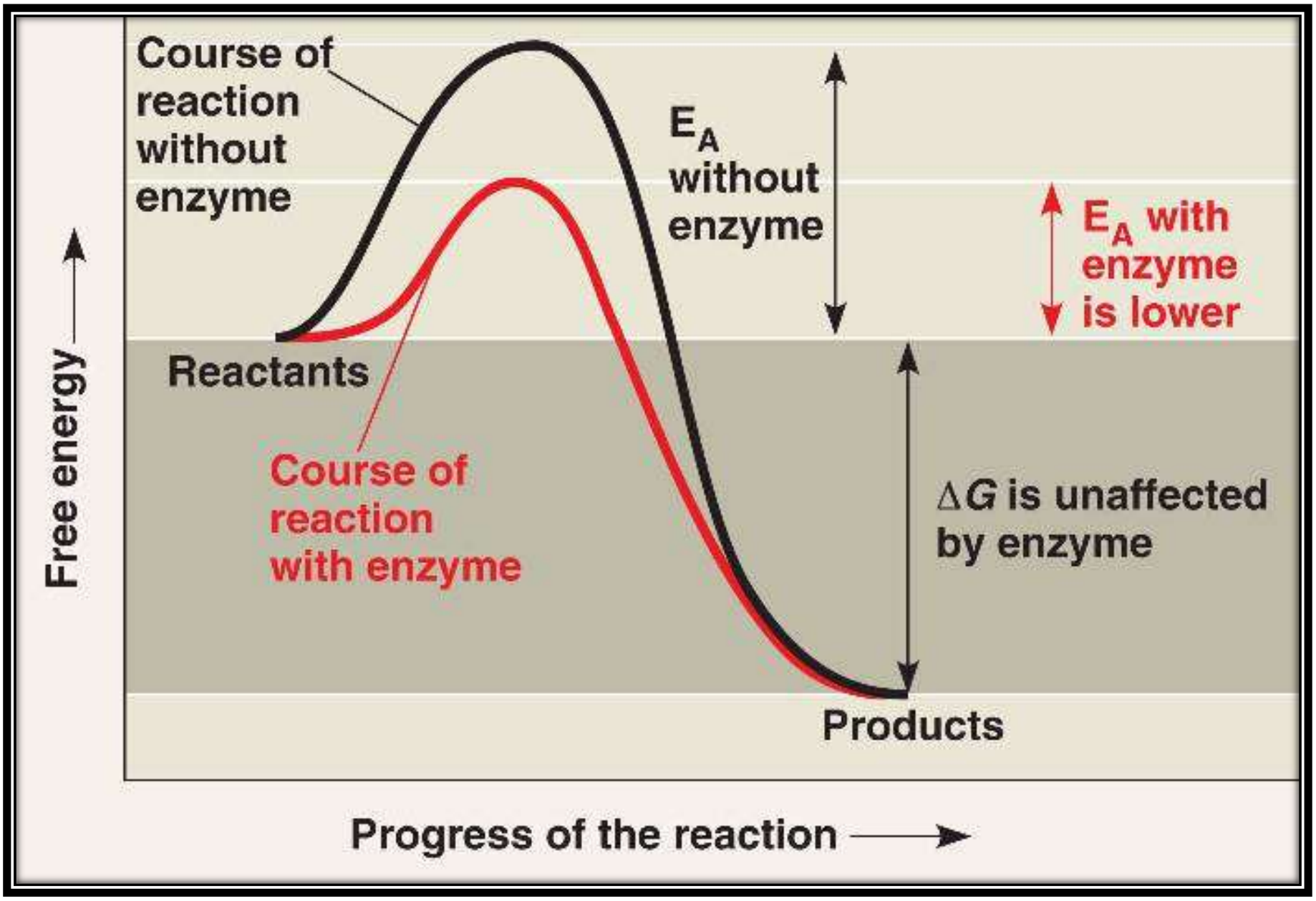
ويمكن توضيح ذلك من خلال منحنى الطاقة حيث يقوم الانزيم بتقليل طاقة التنشيط (او تقليص الوقت اللازم لاتمام التفاعل) اللازمة لتحويل مواد التفاعل الى المركبات النشطة فى المرحلة الانتقالية التى تعطى نواتج التفاعل .

Activation Energy طاقة التنشيط



- طاقة التنشيط Activation Energy هي أقل كمية من الطاقة تحتاجها المتفاعلات لبدأ التفاعل.
- طاقة التنشيط تُحَوّلْ الجزيئات المتفاعلة من الحالة المستقرة Ground State إلى الحالة الانتقالية Transition State وفيها تكون الجزيئات مالكة لطاقة حركية عالية تمكنها من التحول إلى نواتج أو العودة للمتفاعلات.
- طاقة التنشيط تضاف إلى التفاعل وتسترد بنهايته.
- طاقة التنشيط تؤثر على ثابت سرعة التفاعل فقط.


A····B····C
Transition state
Free energy
A + BC
Reactants
E_a
E_a with enzyme
ΔG
ΔG does not change
AB + C
Products
Progress of reaction


Course of reaction without enzyme
E_A without enzyme
E_A with enzyme is lower
Reactants
Course of reaction with enzyme
ΔG is unaffected by enzyme
Products
Free energy
Progress of the reaction

تحفيز التفاعلات الكيميائية و البيو كيميائية

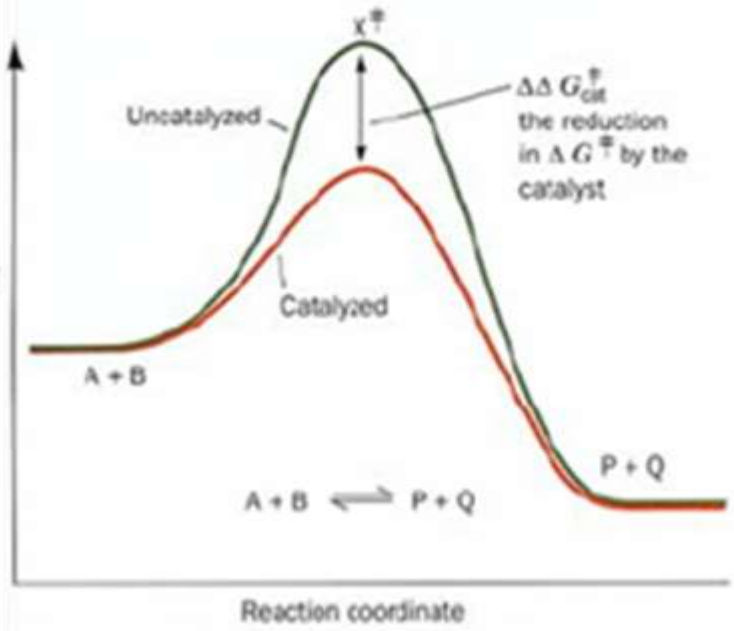
- تقسم العوامل المساعدة إلى قسمين:

١. عامل مساعد كيميائي Catalyst

٢. عامل مساعد حيوي Biocatalyst

ما هو الحَفـّاز Catalyst؟

الحفـّاز هو جزيء أو مجموعة من الجزيئات الكيميائية القادرة على تعجيل تفاعل (زيادة سرعته) أو تفاعلات كيميائية معينة وذلك بتقليص كمية طاقة التنشيط اللازمة للتفاعل، مما يزيد من سرعة هذه التفاعلات.



يجب أن يستخلص الحفاز بنهاية التفاعل بنفس الشكل الكيميائي والتركيز الذي بدأنا به التفاعل.

الحفاز لا يغير من خواص التفاعل الأخرى مثل ثابت الاتزان أو التغير في الطاقة الحرة للتفاعل.

ما الفرق بين الحفاز الكيميائي والإنزيم؟

الحفـاز غالباً:

- يعمل عند درجات حرارة عالية.
- يعجل أكثر من تفاعل!!!
- ينتج مركبات ثانوية غير مرغوب بها، ويصعب فصلها!!!
- كفائته لا تتجاوز 70%.
- لا يمكن التحكم في فعاليته إلا بالحرارة أو الضغط.

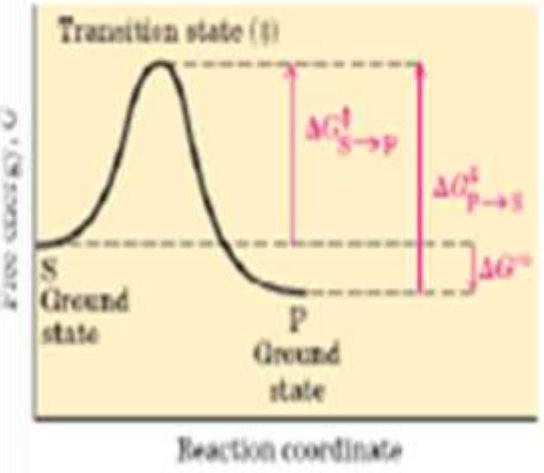
الإنزيـم :

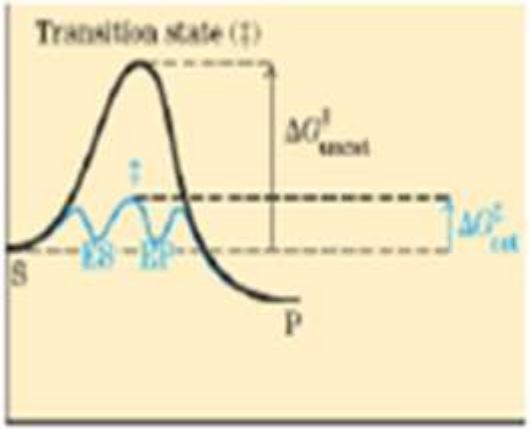
- يعمل في درجات حرارة منخفضة لا تجاوز غالباً 40 درجة مئوية.
- متخصص لجزيئ (Substrate Specific) بل وايزومر معين (Stereo Specific)، أو مجموعات كيميائية معينة بذاتها (Group Specific).
- لا يُنتج مركبات ثانوية مطلقاً.
- كفائته لا تقل عن 100% من قيمة ثابت اتزان التفاعل.
- يمكن التحكم بفعاليته سلباً وإيجاباً وبعدة وسائل تبذلها الخلية.

التحفيز الإنزيمي Enzyme Catalysis

يعمل الإنزيم على تخفيض طاقة التنشيط اللازمة لبدء التفاعل.

- بدون الإنزيم، يكون عدد الجزيئات التي تمتلك طاقة التنشيط (Activation energy) هو عدد قليل جداً، وبالتالي فإن سرعة التفاعل بطيئة جدا.
- سرعة التفاعل تتناسب طرداً مع عدد الجزيئات التي تمتلك طاقة التنشيط أو عدد الجزيئات في الحالة الانتقالية (transition state)



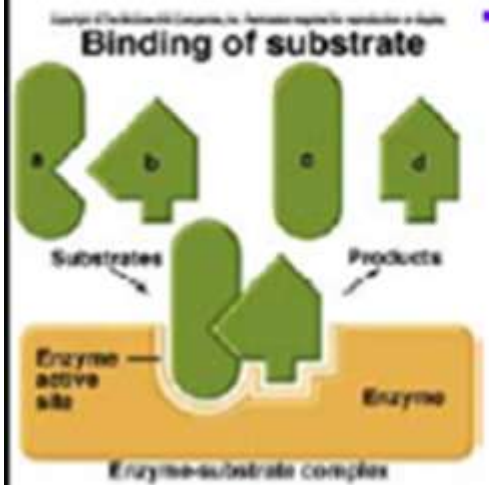


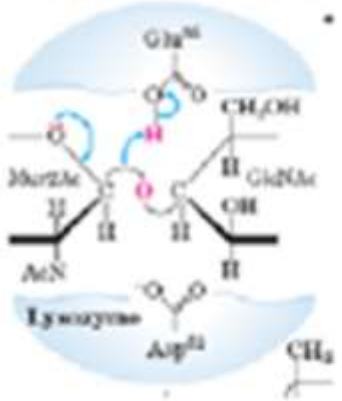
إذاً يمكن زيادة سرعة التفاعل إما من خلال:

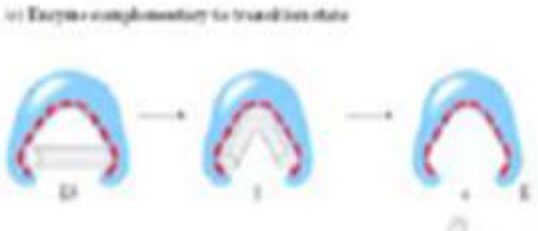
رفع درجة الحرارة للوصول إلى هذه الطاقة، ولكن هذا غير متاح في الخلية.

أو بخفض طاقة التنشيط للتفاعل، وهذا ما يقوم به الإنزيم

كيف يُعَجِّلْ الإنزيم التفاعل؟







يعجل الإنزيم التفاعل بنفس الوسائل التي ذكرت للحفاز ولكن بصورة أكثر فعالية.

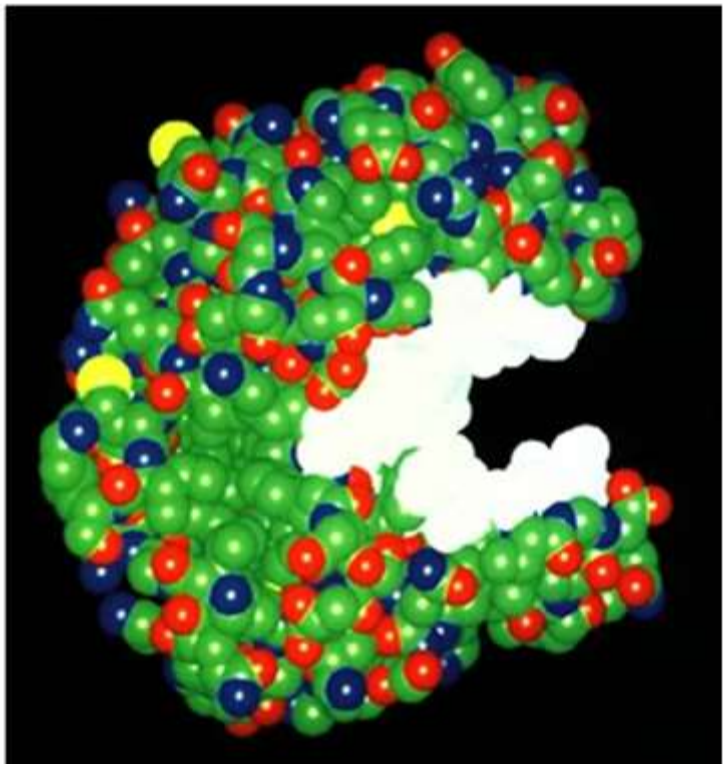
يمتلك الإنزيم منقطة خاصة تسمى بالمنطقة النشطة (active site)، يتحد من خلالها مع المتفاعلات.

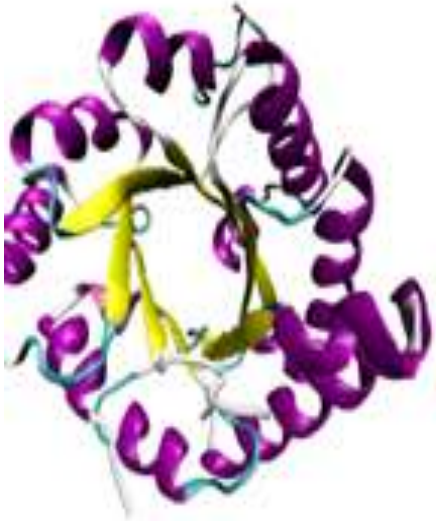
يستفيد الإنزيم من هذا الاتحاد في إما:

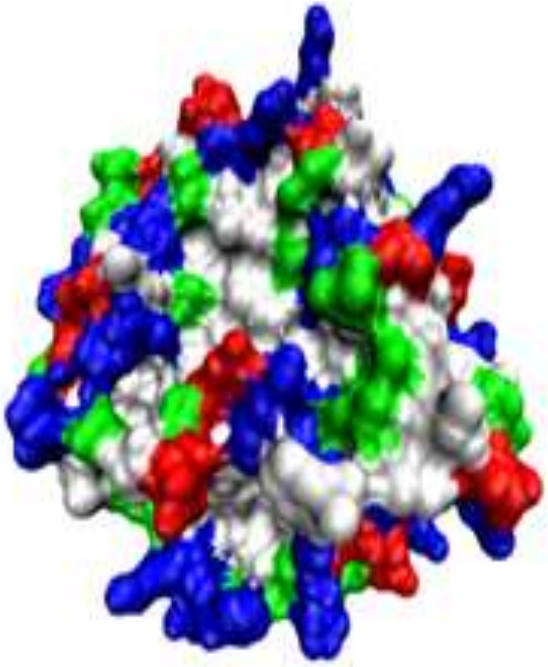
- تقريب الجزيئات المتفاعلة من بعضها البعض
- توجيه المتفاعلات الوجهة الصحيحة للتصادم المثمر
- تقديم مجموعات كيميائية لتسريع عملية الانتقال للمرحلة الانتقالية (Transition state).
- إجبار المتفاعلات على تغيير شكلها، وذلك لتسهيل التفاعل
- عزل التفاعل عن الماء

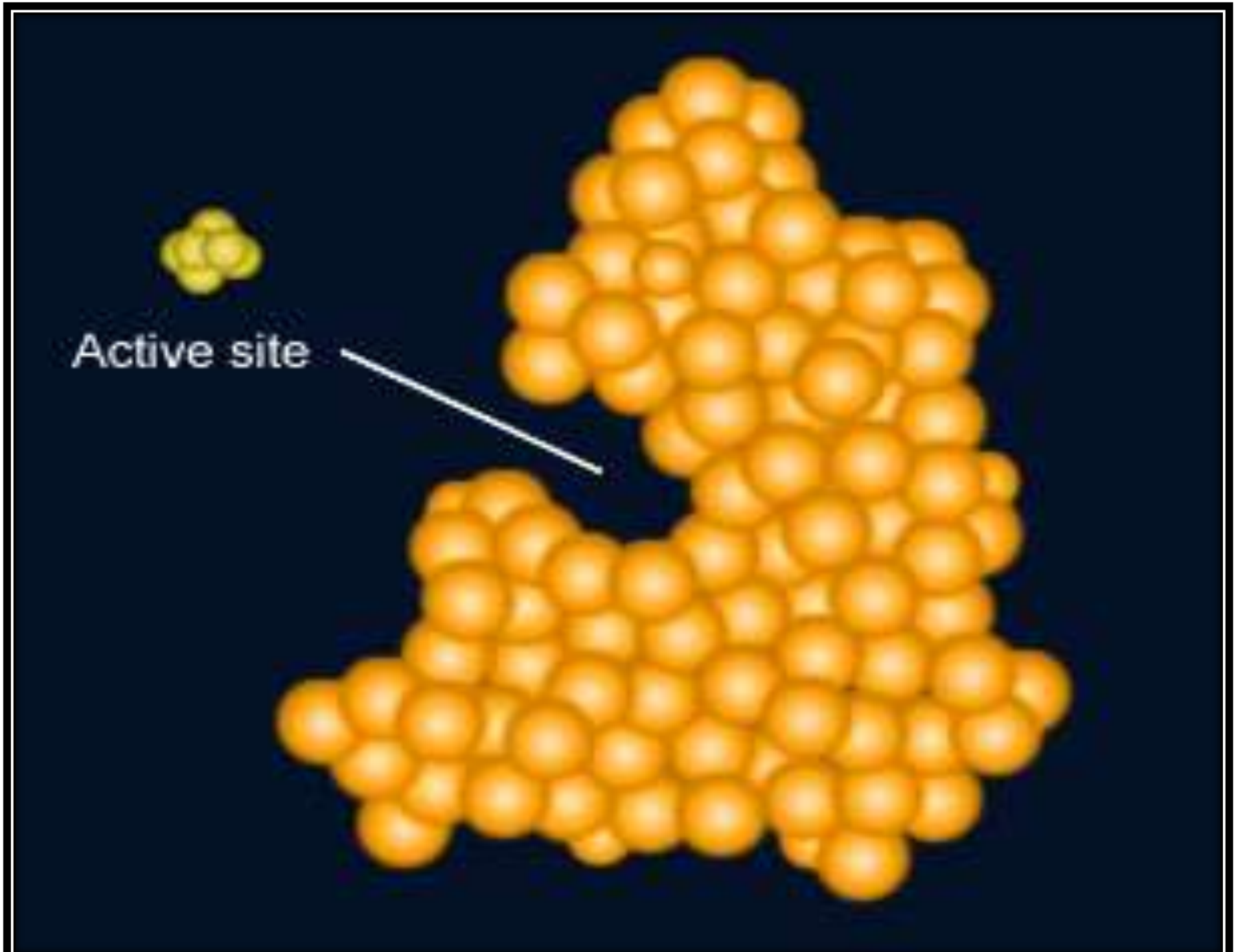
شكل الانزيمات

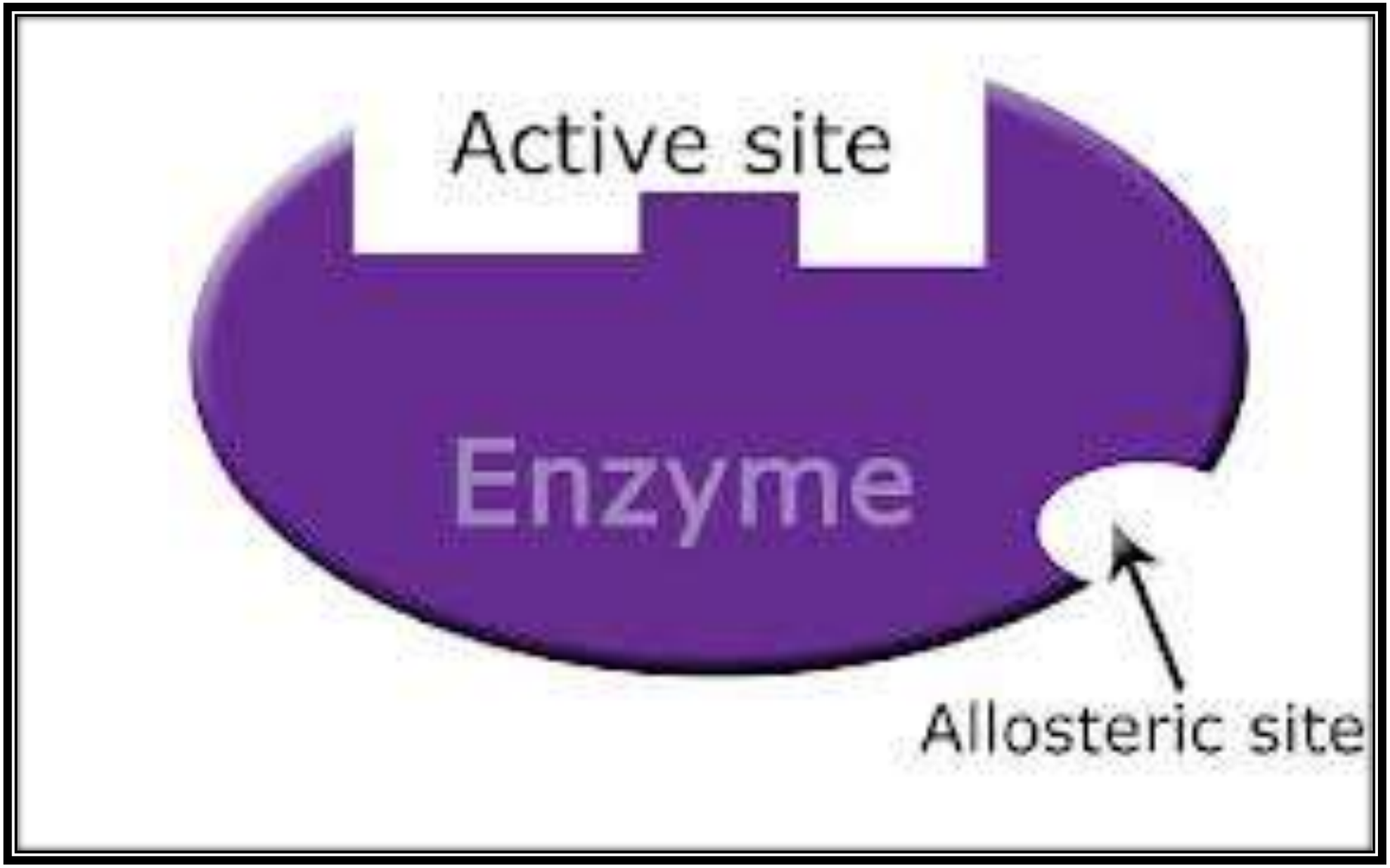
Enzymes?








Active site


Active site
Enzyme
Allosteric site

الجزيئات التي ترتبط بالإنزيمات

Ligands That Bind Enzymes

ترتبط بالإنزيمات أربع أنواع من الجزيئات هي:

1) **الحليلة (الحُليْلة) Substrate (S)**: هو الجزء الذي يعمل الإنزيم عليه بتعجيل تحويله إلى شكل كيميائي مختلف عن الشكل الذي بدأ به الإنزيم وارتبط معه.

ولتحقيق هذا اللقب يجب على الجزيئ أن:

- **يرتبط binds مع الإنزيم**
- **يتحول إلى شكل كيميائي transforms نتيجة لارتباطه مع الإنزيم**
- **يترك الإنزيم leaves بشكل كيميائي مختلف عما ارتبط مع الإنزيم**

2) **المثبط Inhibitor (I):** جزيئ يُقلِص أو يُعدِم فعالية (نشاط ، سرعة) إنزيمية قائمة، حيث يصبح تحويل الحليلة في وجود المثبط صعباً أو مستحيلاً.

- عادة يرتبط مع الإنزيم ويتركه دون أن يتحول إلى شكل كيميائي آخر.
- في حال المثبطات الغير منعكسة فإنّ المثبط يرتبط مع الإنزيم ويتحول إلى شكل كيميائي آخر ولكنه لا يترك الإنزيم إلاّ بعمليات تمسخ الإنزيم.

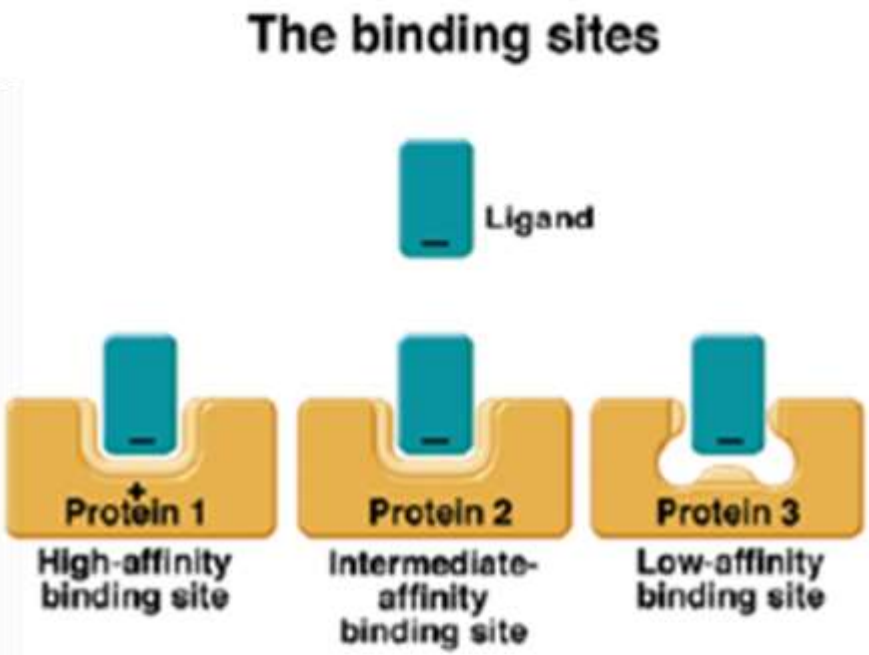
3) **المنشط Activator (A):** هو جزيئ كيميائي يزيد أو يرفع فعالية (نشاط ، سرعة) إنزيمية قائمة بحيث يعمل الإنزيم في وجود هذا الجزئي بصورة أفضل على الحليلة.

- عادة يرتبط المنشط ثم يترك الإنزيم بدون أن يتحول إلى شكل كيميائي مختلف.

4) **المرافق الإنزيمي Coenzyme:** وهي جزيئات ضرورية لظهور فعالية تلك الإنزيمات المتعاشقة الناقصة Apoenzymesوبدونها لا يمكن الحصول على ما يسمى الإنزيم الكامل الفعالية الإنزيمية Holoenzyme.

المواد المرتبطة والبروتينات Ligands and proteins

- أيّ جزيئ كيميائي يرتبط مع البروتينات يسمى المادة المرتبطة Ligand وعادة ما يكون تركيزها أعلى بكثير من تركيز البروتين
  - (الوزن الجزيئ لها صغير جداً مقارنة مع البروتينات).
- ارتباط هذه الجزيئات قد يكون قوياً أو ضعيفاً بحسب الروابط الكيميائية التي تربطه مع البروتين.



ارتباط هذه الجزيئات يتم في مناطق محددة من البروتين تسمى مناطق الارتباط Binding Site.

لمحدودية مناطق الارتباط فإنّ البروتين يتشبع تماماً بالمادة المرتبطة عند التراكيز العالية منها وتبدأ معها حركية التشبع Saturation Kinetics

تسمية الأنزيمات:

هناك طريقتان لتسمية الأنزيمات فإما أن تسمى بإسم المادة التى يؤثر عليها مضافا إلى نهاية الأسم المقطع (ase) فمثلا أنزيم المالتيز (Maltase) يحلل سكر المالتوز أو تسمى بإسم التفاعل الحادث مضافا إليه نفس المقطع السابق مثل أكسيديز حمض الأسكوربيك.

تصنيف الإنزيمات

١ـ الإنزيمات الاكسده و الاختزال oxidoreductases
يقصد بالاكسده اضافة اكسجين او فقدان هيدروجين او الكترون
2ـ الإنزيمات الناقلة (نقل المجاميع الفعاله) transferases
تنقل المجاميع الفعاله مثل نقل مجاميع نيتروجينيه او مجاميع حاويه للكبريت
٣ـ (الإنزيمات المميئه) الإنزيمات التي تحلل تحليلاً مائياً hydrolases
تقوم بتكسير لمادة الاساسي باضافة جزيئ ماء مثل تكسير المالتوز الى مكوناته وحدتين من الجلكوز

تصنيف الإنزيمات

- 4- الإنزيمات الرابطة lyases

مثل الانزيمات المكسره للرابطه C-O

- 5- إنزيمات التماثل في التركيب او الانزيمات المناظره isomerases

تفاعلات تؤدي الى التناظر

- 6- الإنزيمات المصطنِعَة او الانزيمات المكونه ligases

مثل بناء الرابطه من نوع C-N C-O C-C

تركيب الأنزيمات:

يمكن تقسيم الأنزيمات بحسب تركيبها إلى:

١ - أنزيمات بسيطة:

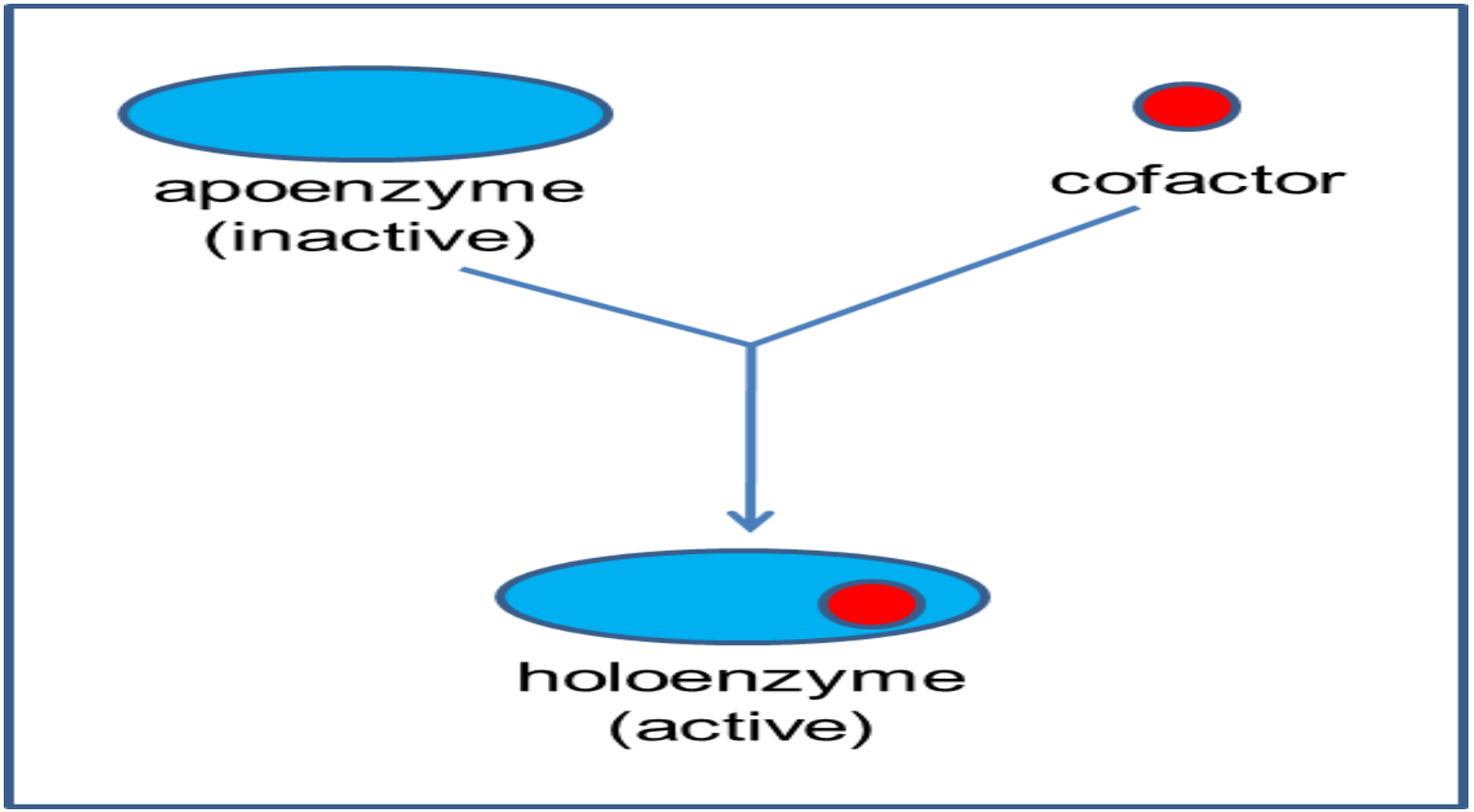
وهى تتكون من بروتين فقط وفى الغالب تتكون من سلسلة ببتيدية واحدة وهى تكون فى حالة نقية ومن أمثلة الأنزيمات التابعة لهذه المجموعة أنزيمات التحليل المائى مثل أنزيم الليبيز (Lipase) الذى يقوم بتحليل الزيوت والدهون وأنزيم الببسين (Pepsin) وأنزيم التربسين (Trypsin).

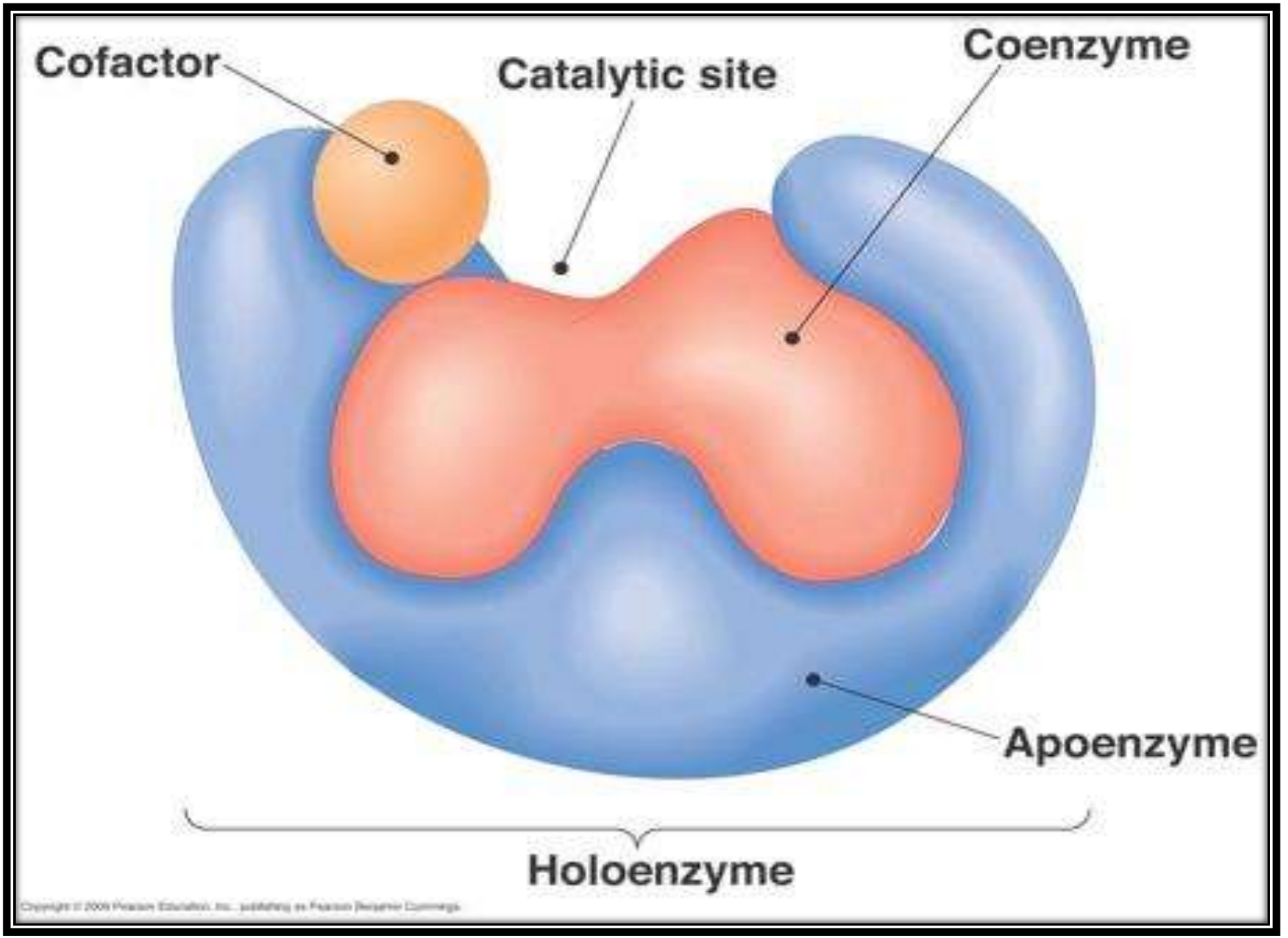
٢- أنزيمات مركبة:

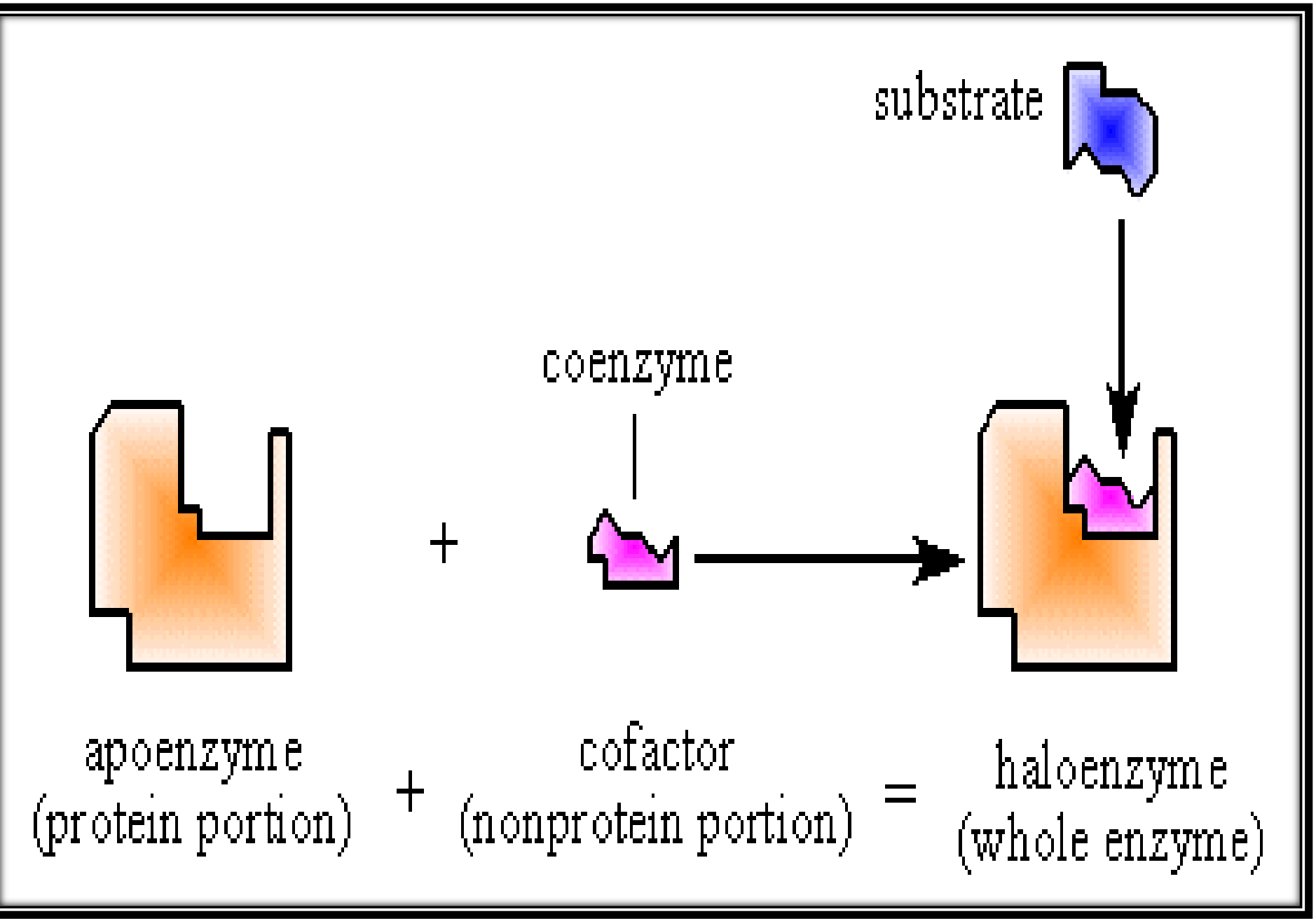
وهى عبارة عن بروتين الأنزيم نفسه مرتبط مع جزء آخر غير بروتينى ويعرف الجزء الأخير بالمرافق الأنزيمى Coenzyme ولابد من وجود الجزء الغير بروتينى حتى يحتفظ الأنزيم بنشاطه وقد يكون مرتبط إرتباطا وثيقا بالجزء البروتينى أو يسهل الإنفصال عنه وعموما يطلق على الجزء البروتينى والغير بروتينى معا إسم Haloenzyme الذى يوجد دائما فى حالة إتزان مع مكوناته.

Coenzyme + Apoenzyme ⟶ Haloenzyme

المرافق الأنزيمي الجزء البروتيني الأنزيم




Cofactor
Catalytic site
Coenzyme
Apoenzyme
Holoenzyme


substrate
coenzyme
+
apoenzyme
(protein portion)
+
cofactor
(nonprotein portion)
=
haloenzyme
(whole enzyme)

تخصص الأنزيمات:

من أهم المظاهر الحيوية فى جسم الكائن الحى هو تخصص الأنزيمات حيث يعمل كل أنزيم على مادة واحدة أو عدد من المواد المتقاربة فى التركيب أو قد يساعد الأنزيم على حدوث تفاعل كيماوى محدد أى أن التخصص الأنزيمى لا يقتصر على نوع المادة Substrate بل يمتد إلى طبيعة التفاعل الكيميائى .

ويرتكز نظام التحولات الحيوية الكيميائية فى جسم الكائن الحى على **ظاهرة التخصص الأنزيمى** **ولكل أنزيم نظامه التركيبى الخاص به الذى يميزه عن الأنزيمات الأخرى** فبينما يعمل البعض على رابطة كيميائية معينة يتطلب البعض الأخر وجود مجاميع كيميائية محددة فى المركب

ويرجع الإختلاف بين الأنزيمات وبعضها إلى ما يأتى:

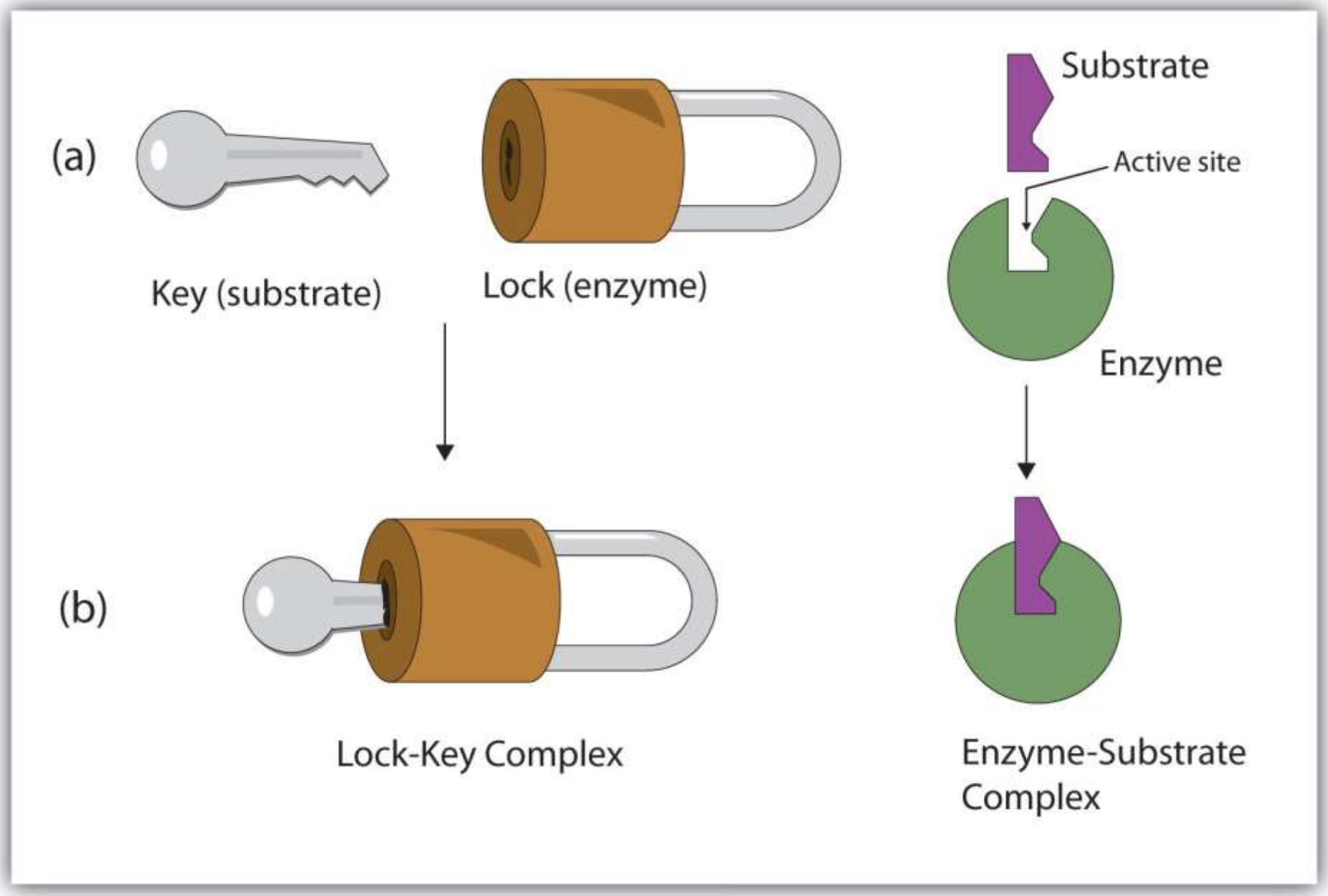
١. نوع ونسب الأحماض الأمينية الداخلة فى تكوين الأنزيم.

٢. كيفية تتابع الأحماض الأمينية داخل السلسلة الببتيدية.

٣. طريقة إلتفاف السلسلة أو السلاسل الببتيدية الخاصة بكل أنزيم - وتلتف هذه السلاسل حول بعضها بنظام خاص ودقيق بواسطة العديد من الروابط الثانوية ومن الجدير بالذكر أن أى تغيير فى هذا النظام السلسلى نتيجة لكسر بعض الروابط الثانوية مثلا يؤدى إلى فقد الأنزيم لنشاطه.

٤. يوجد على الجزء البروتينى من الأنزيم مواقع معينة تسمى بمواقع النشاط Active Centers ويتم عن طريقها إرتباط جزيئات المواد المتفاعلة مع الأنزيم كأول مرحلة من مراحل التفاعل الأنزيمى ويرتبط الأنزيم بالمادة المتفاعلة فى ثلاث مواقع على الأقل .

وقد تكون مراكز النشاط الموجودة على الأنزيم عبارة عن مجموعة (-OH) (أحماض أمينية هيدروكسيلية) أو مجموعة السلفوهيدريل (-SH) أو مجموعة ثنائي لكبريتيد (-S-S-) مثل الأحماض الأمينية الكبريتيةأو مجموعة الكربوكسيل (-COOH) بالإضافة إلى عدد من المجاميع الأخرى.


(a)
Key (substrate)
Lock (enzyme)
Substrate
Active site
Enzyme
(b)
Lock-Key Complex
Enzyme-Substrate Complex

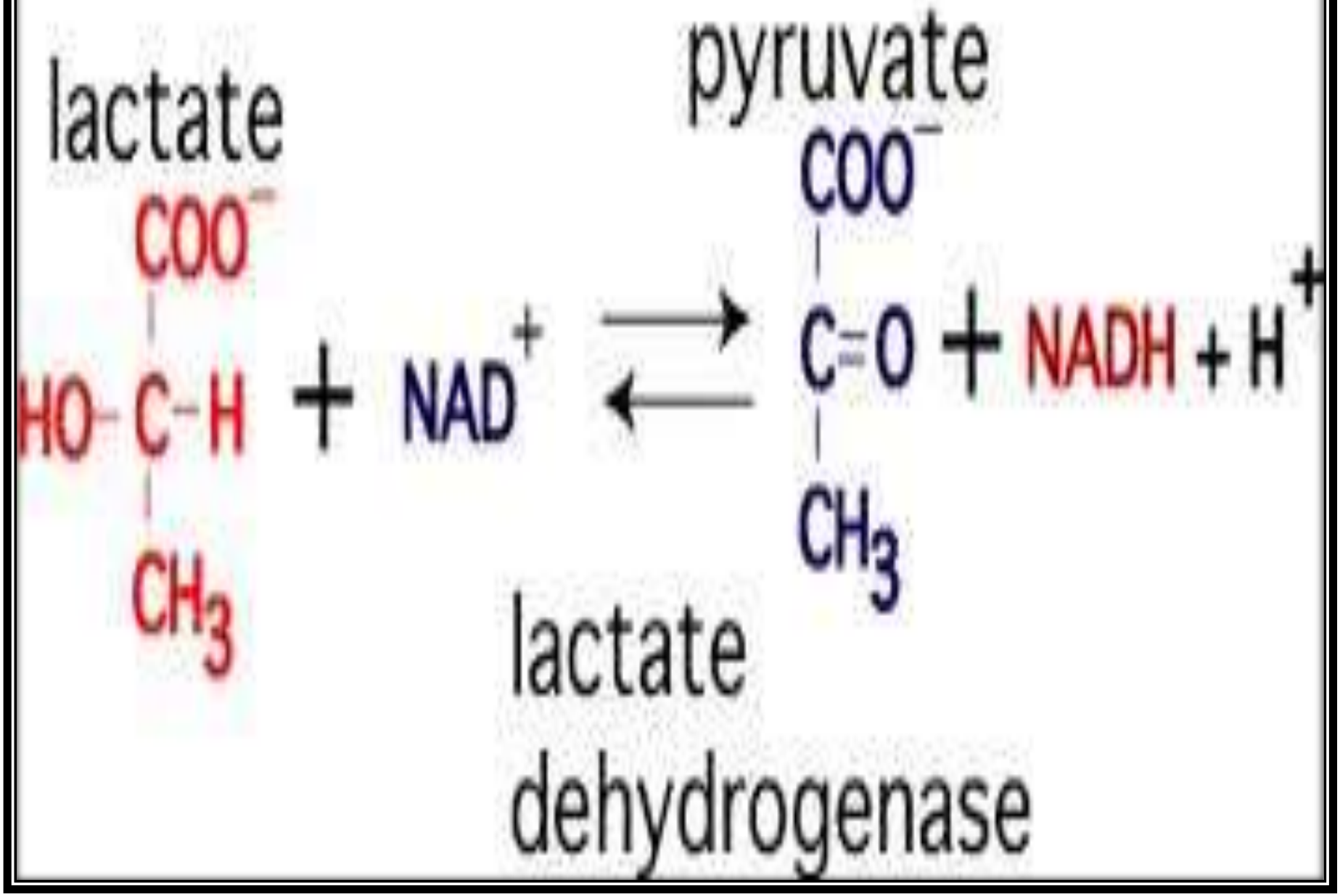
سوف نقوم بشرح بعض أنواع التخصص الأنزيمى المختلفة بإختصار حتى يتمكن الطالب من فهم طبيعة عمل الأنزيم.

١ ـ تخصص بالنسبة لنوع من المشابهات:

يتميز عدد كبير من المركبات العضوية الموجودة بالكائنات الحية بوجودها فى صورة نوع معين من المشابهات فمثلا نجد أن معظم السكريات توجد فى صورة (D) بينما الأحماض الأمينية توجد عادة فى صورة (L) ولذلك نجد أن معظم الأنزيمات العاملة على هذه المركبات لها القدرة على إختيار نوع واحد من المشابهات ولا تؤثر على النوع الأخر وهذا القسم ينقسم إلى:

أ- تخصص بصرى Optical specificty:

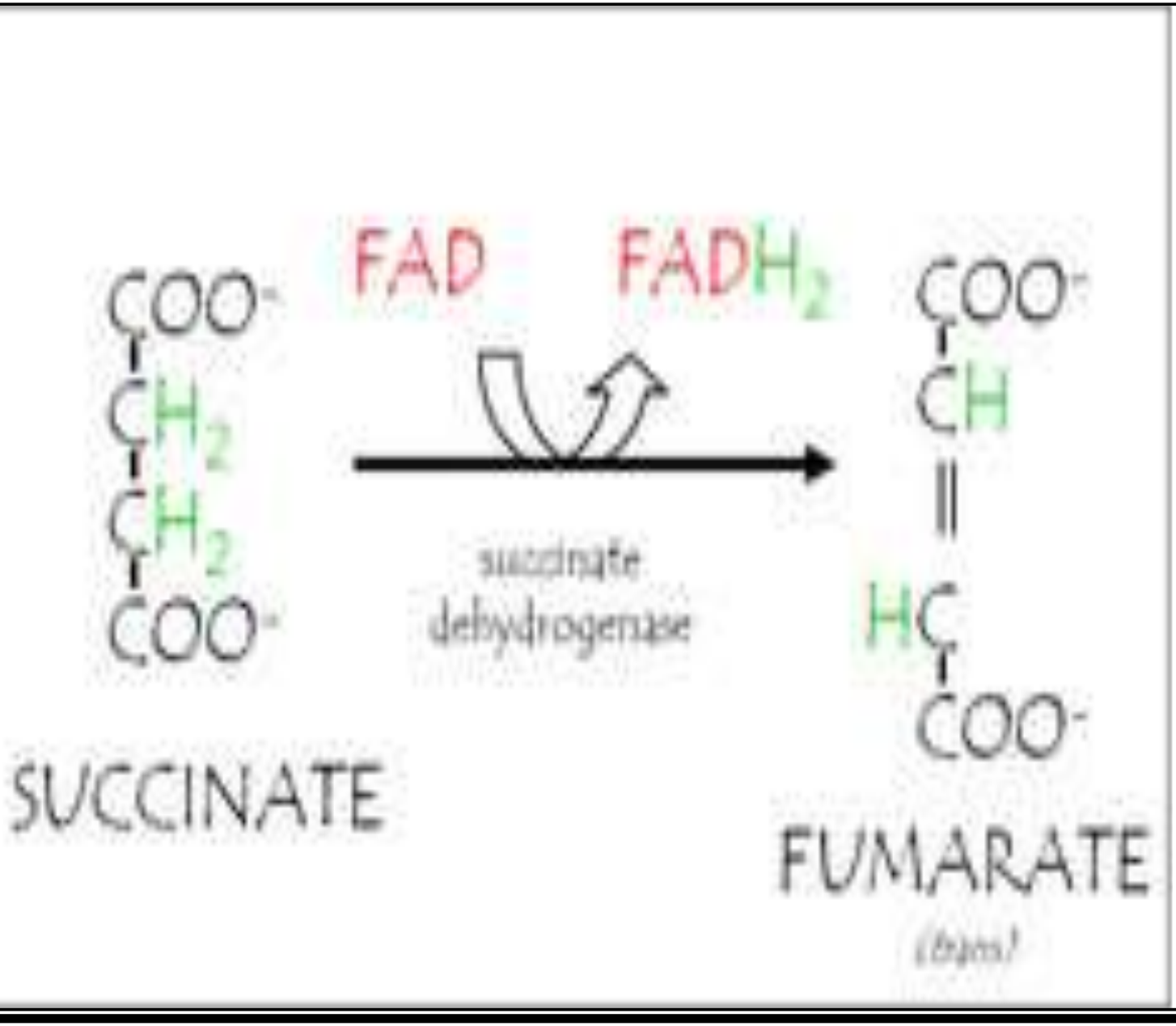
وهذه الأنزيمات تعمل على نوع واحد من المشابهات الضوئية مثل دى هيدروجينيز لاكتات Lectate dehydrogenese الذى يعمل على الصورة (+) L حمض لاكتيك ويحوله إلى حمض بيروفيك.



lactate
pyruvate
NAD+
NADH + H+
lactate dehydrogenase

ب- تخصص هندسى Geometrical specificity:

هذه الأنزيمات تعمل على نوع واحد من المشابهات الهندسية مثل دى هيدروجينيز سكسنيك الذى يؤكسد حمض السكسنيك إلى حمض فيوماريك (Trans) ولايتكون حمض الماليك (Cis).


FAD
FADH2
succinate
dehydrogenase
SUCCINATE
FUMARATE
(trans)

٢- تخصص بنائى Structural specificity:

تختلف الأنزيمات إختلاف كبيرا فى تخصصها تبعا للبناء الكيميائى للمواد التى تعمل عليها ولإيضاح هذا الإختلاف نأخذ أنزيم التحليل المائى كمثال:

$$X\text{-}Y + HOH \xrightarrow{\text{أنزيم}} X\text{-}OH + Y\text{-}H$$

ويمكن أن يوجد فى مثل هذا التفاعل ثلاثة درجات من التخصص الأنزيمى:

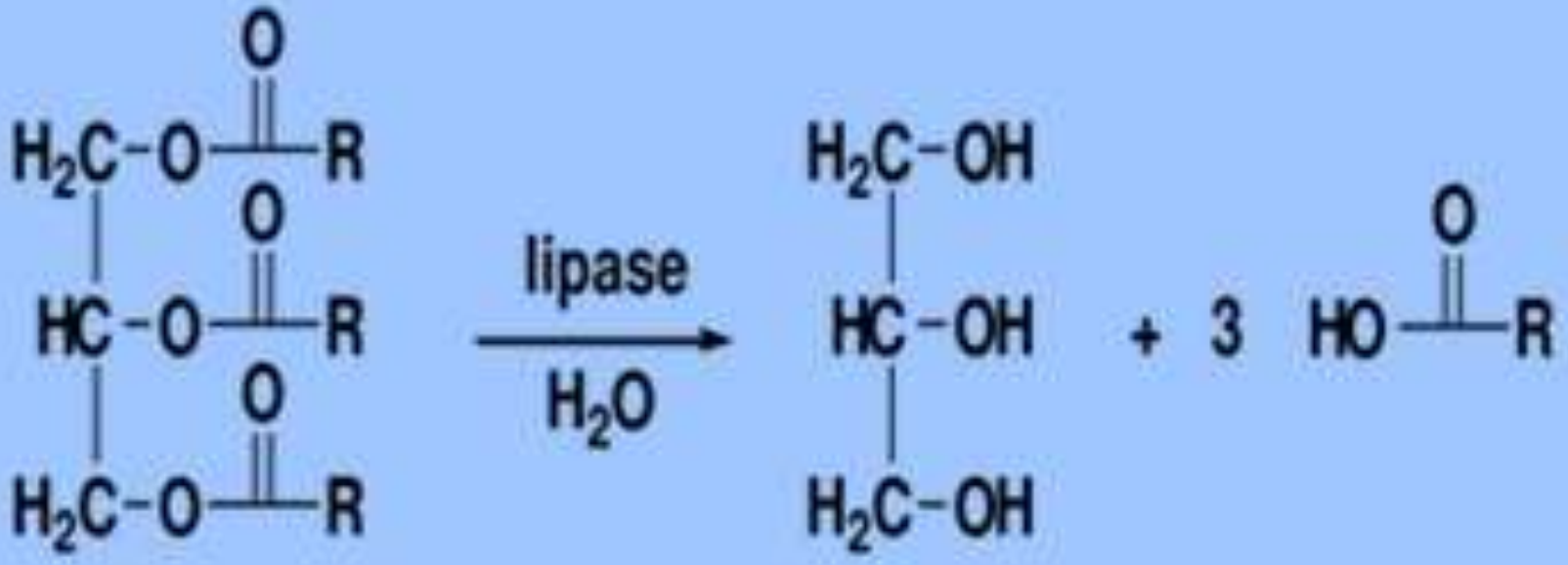
- تخصص خاص بنوع الرابطة بين X ، Y.
- تخصص خاص بنوع الرابطة مع ضروة وجود مجاميع معينة فى أحد المركبين X ، Y.
- تخصص خاص بنوع الرابطة مع ضرورة وجود المجاميع X ، Y.

وسندرس أمثلة للتخصصات السابقة:

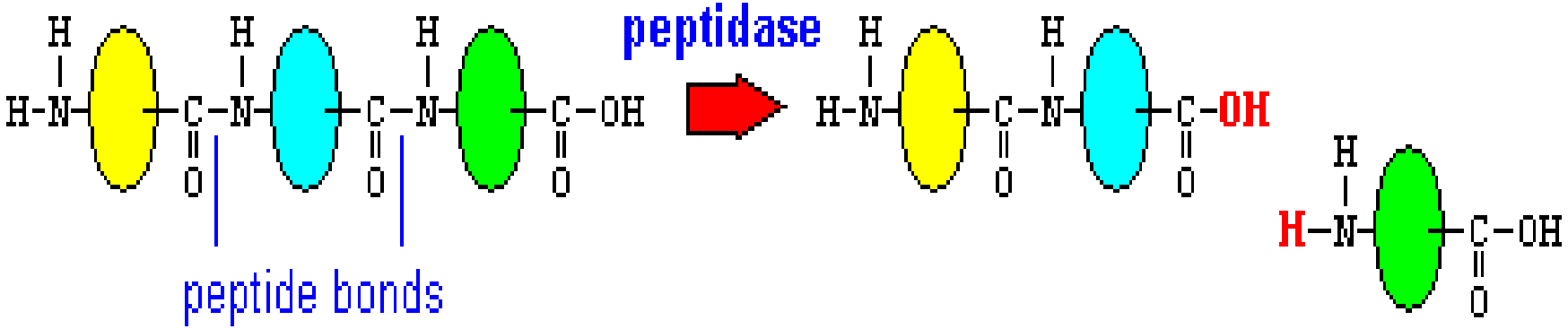
آ- تخصص الرابطة Linkage specificity:

ويعتبر هذا النوع من الأنزيمات ضعيف التخصص حيث يتطلب نوع معين من الروابط فقط وذلك بغض عن الوحدات البنائية المجاورة لتلك الرابطة ومن أنزيمات هذه المجموعة أنزيم الليبيز (Lipase) الذى يؤثر على روابط الإستر فى الزيوت والدهون مهما إختلفت أنواع الأحماض الدهنية المتحدة مع الجليسرين.

Lipases



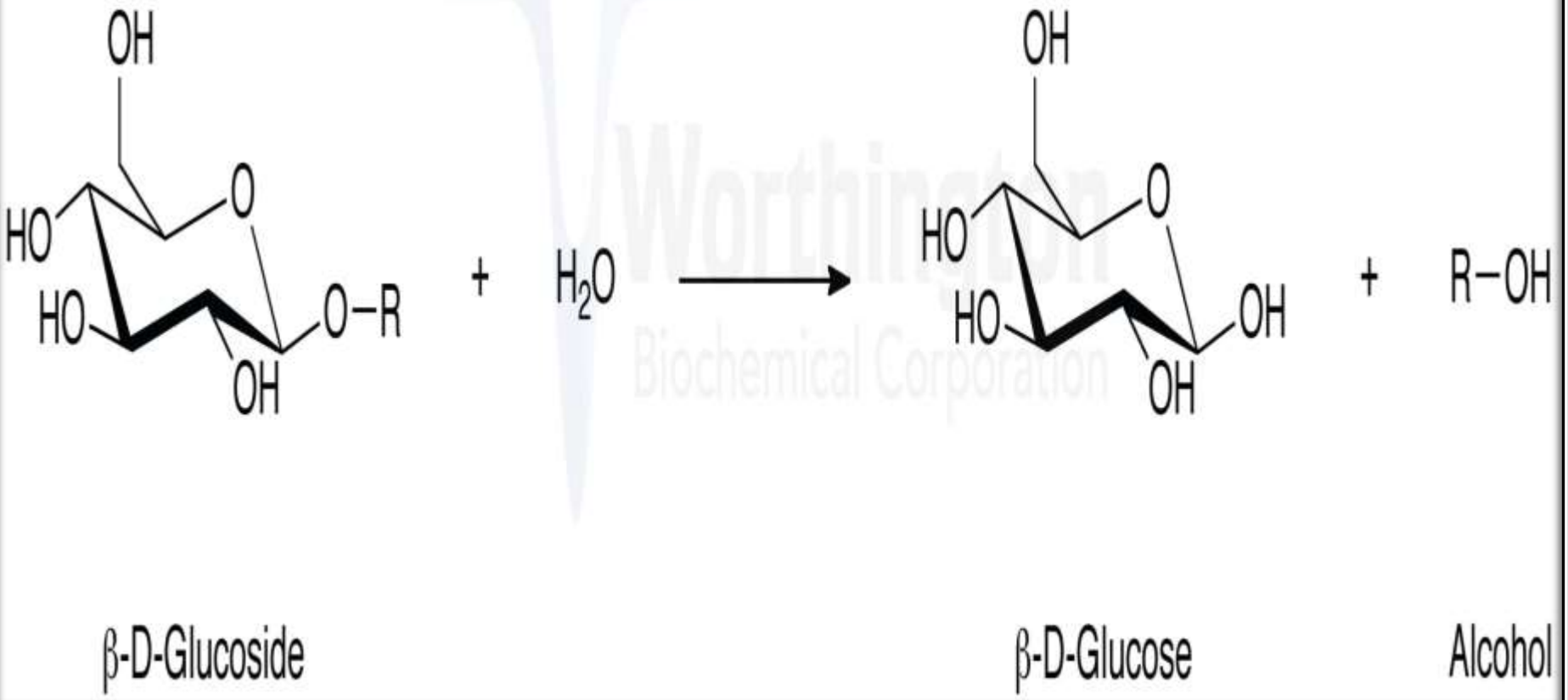
وهناك أيضا أنزيم الببتيديز (Peptidase) الذى يهاجم الروابط الببتيدية فقط أيا كان نوع الحمض الأمينى الموجودة على جانبى الرابطة ويؤدى إلى إنفراد الحمض الأمينى.



ب- تخصص المجاميع Group specificity:

وهذا النوع من الأنزيمات متخصص نسبيا أى أكثر تخصصا من الأنزيمات السابقة حيث يتطلب نوعا محددا من الراوابط علاوة على إتصال هذه الرابطة بمجموعة معينة فى المادة المتفاعلة - فنجد مثلا أن أنزيم ألفا جلوكوسيديز يشترط لعمله رابطة من نوع ألفا جلوكوسيدية مع إتصالها بجزىء جلوكوز.

β-Glucosidase



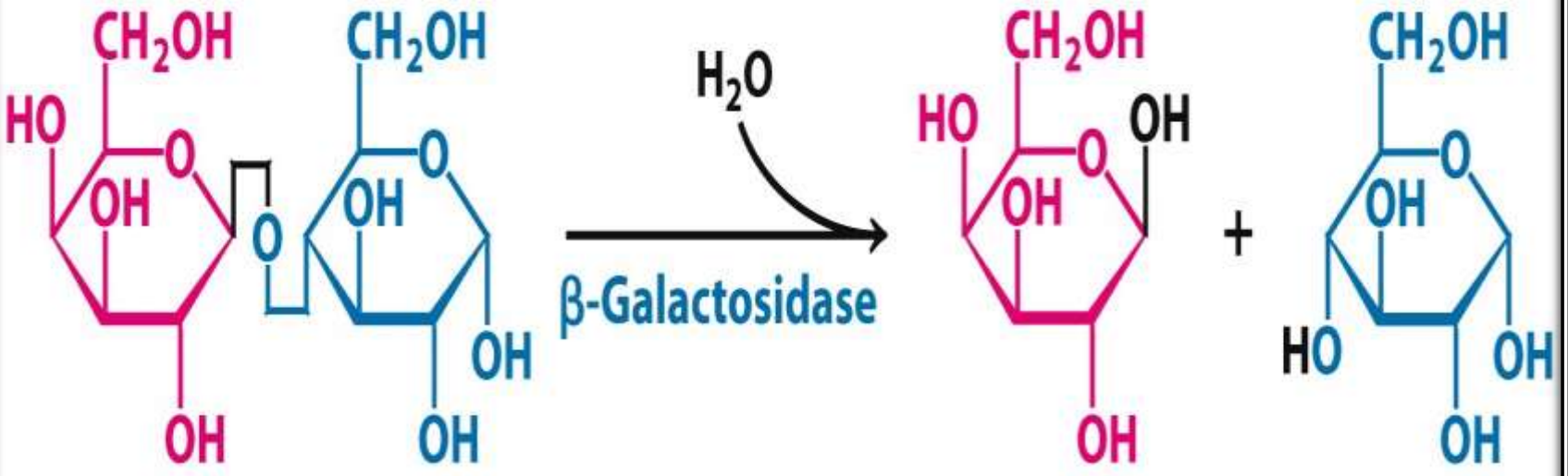
β-D-Glucoside

β-D-Glucose

Alcohol

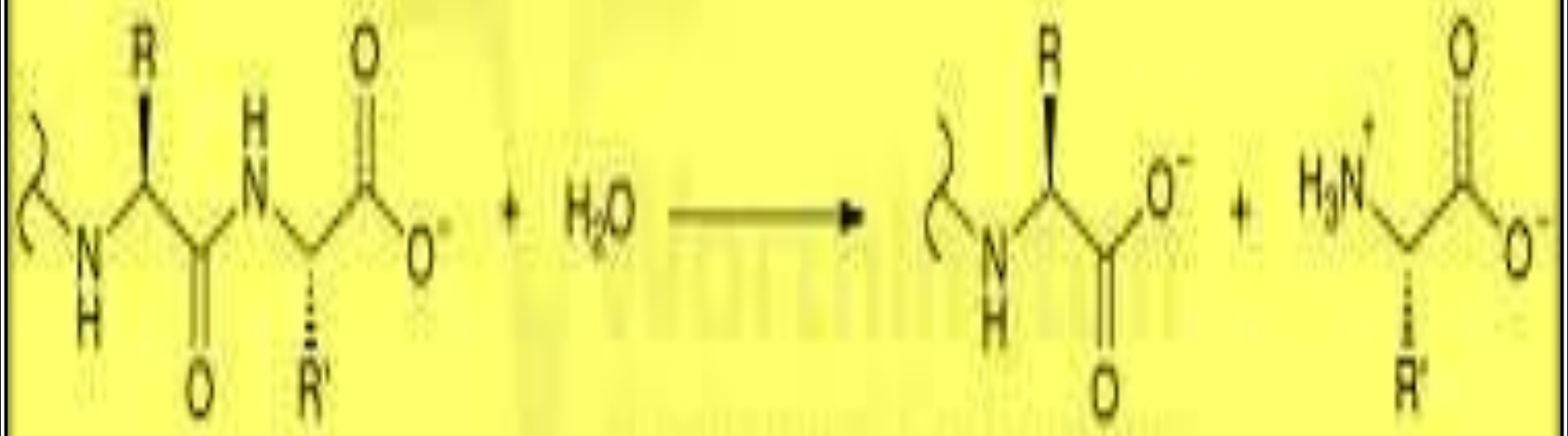
Worthington Biochemical Corporation™

وهناك أنزيمات أخرى تتطلب رابطة بيتا جلوكوسيدية وتعرف بإسم بيتا جلوكوسيديز أو تتطلب رابطة بيتا جالاكتوسيدية وتعرف بإسم بيتا - جالاكتوسيديز أى لابد من وجود جزىءالجالاكتوز.



وهناك أيضا أنزيمى الأمينوبيتيديز Amino peptidase الذى يؤثر على الرابطة الببتيدية القريبة من الطرف الأمينى والكربوكسى ببتيديز Carboxy peptidase وهو يؤثر على الرابطة القريبة من الطرف الكربوكسيلى وهذه الأنزيمات تهاجم السلسلة الببتيدية من الأطراف.

Carboxypeptidase A

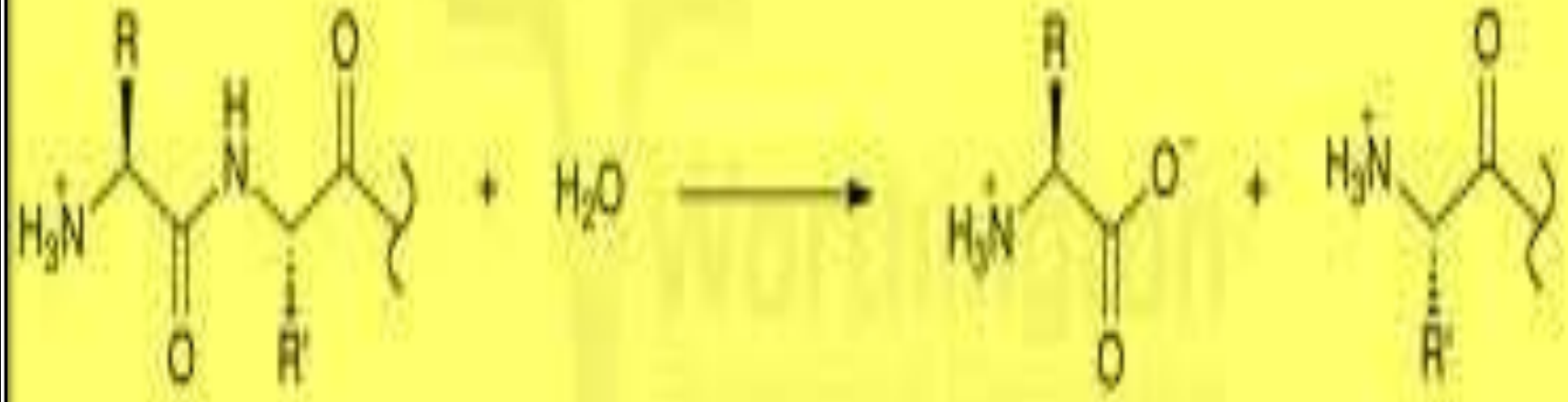


Polypeptide (n residues)

Polypeptide (n-1 residues) Amino Acid

R' = All except Arg, Pro, Lys, and hydroxyproline; aromatic or branched preferred

Leucine Aminopeptidase



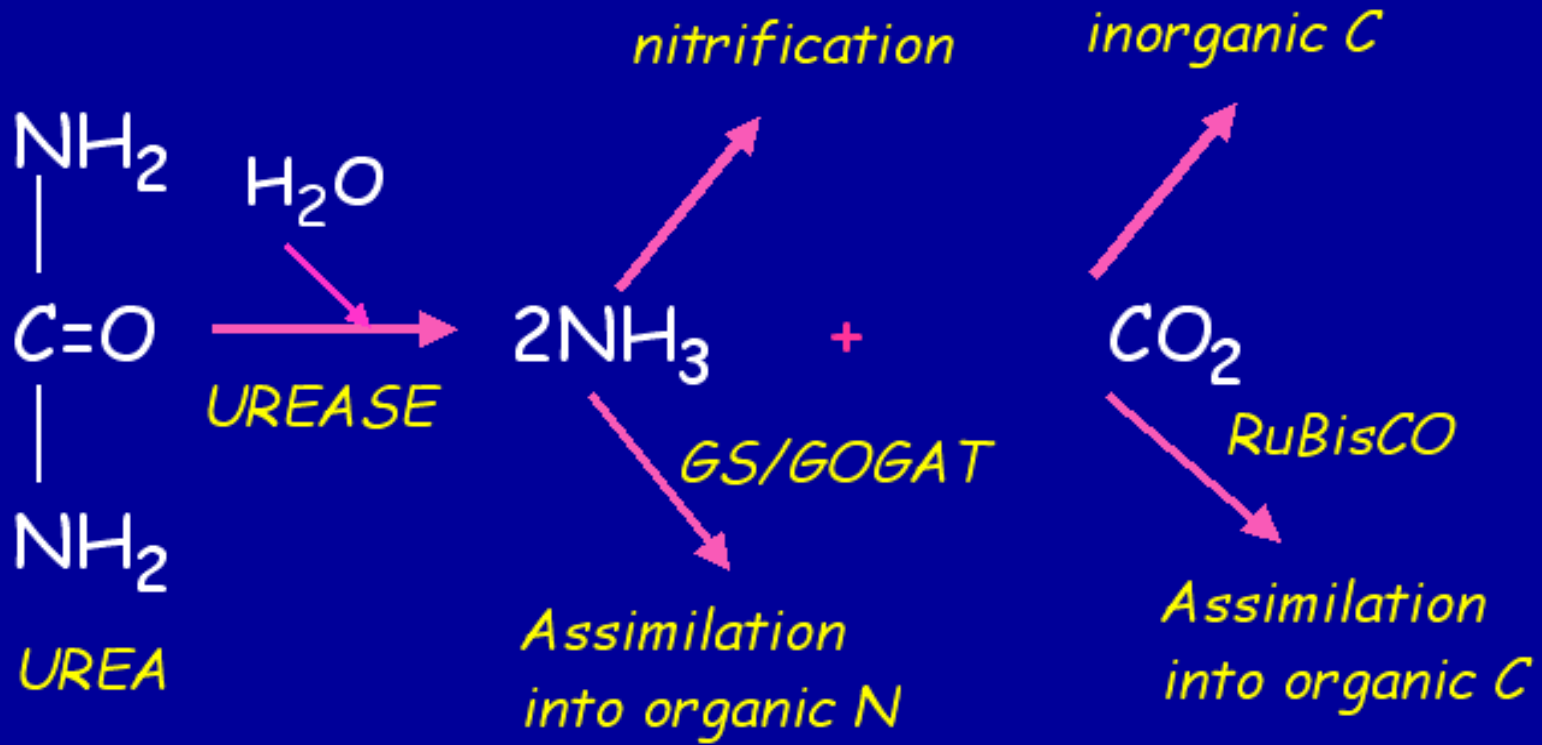
Polypeptide (n residues) Amino Acid Polypeptide (n-1 residues)

R = Leu (preferred); R ≠ Arg and Lys

ج - تخصص مطلق Absolute specificity:

وفى هذا النوع من الأنزيمات نجدها أكثر تخصصا حيث لا يؤثر الأنزيم إلا على مادة واحدة فقط Single substrate فمثلا أنزيم اليوريز Urease يساعد على التحليل المائى لليوريا إلى نشادر وثانى أكسيد كربون ولكن لا يؤثر على المواد المشابهة فى التركيب مثل ميثيل يوريا .

Urea Degradation

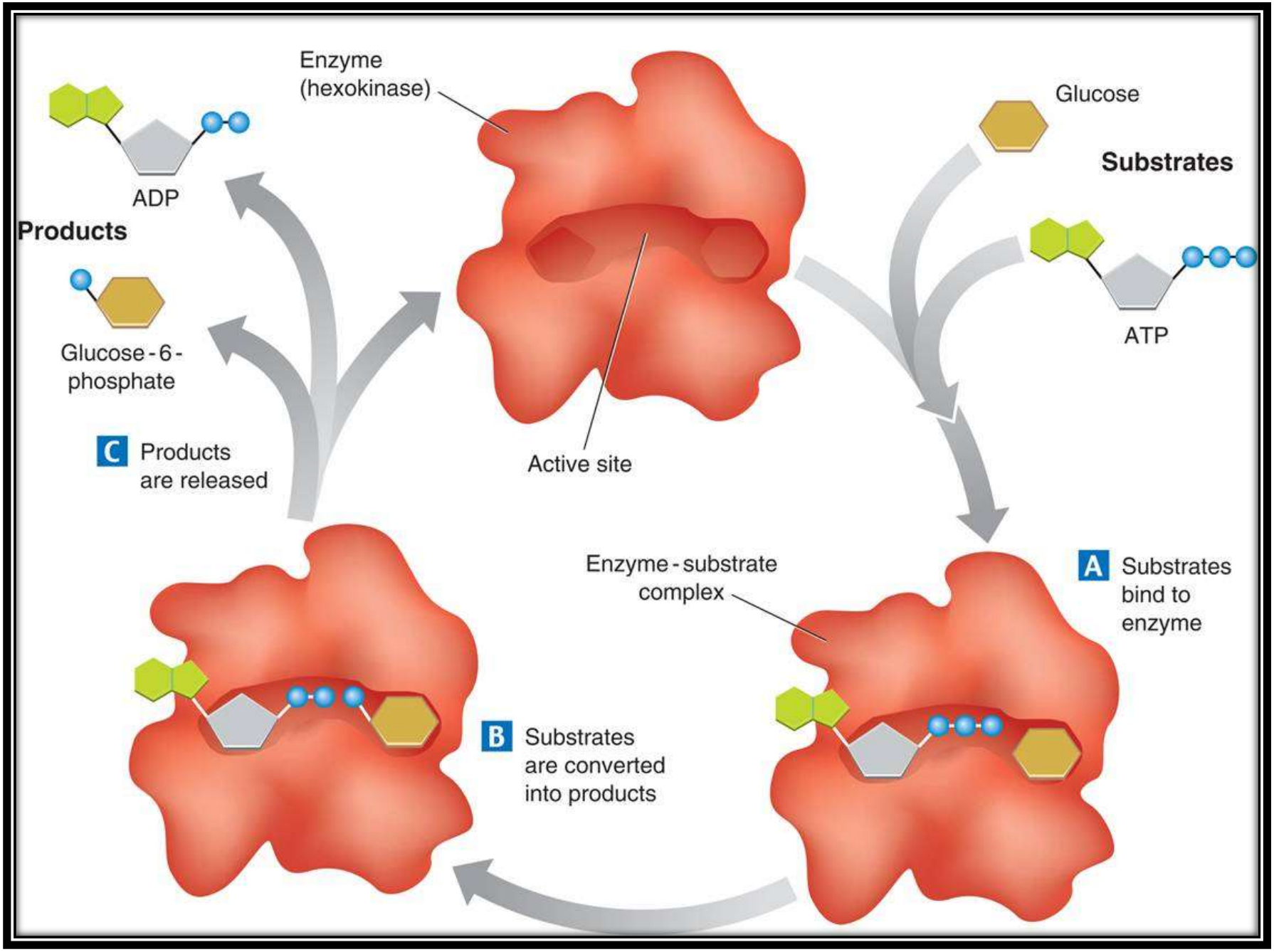


وكذلك أنزيم جلوكوكينيز Glucokinase

الذى يقوم بنقل مجموعة الفوسفات (P) من

أدينوسين ثلاثى الفوسفات (ATP) إلى سكر

الجلوكوز فقط.


Enzyme (hexokinase)
Glucose
Substrates
ADP
Products
ATP
Glucose-6-phosphate
C Products are released
Active site
Enzyme-substrate complex
A Substrates bind to enzyme
B Substrates are converted into products

محاضرات الكيمياء الحيوية
(جزء الأنزيمات)

المستوي الثاني (عام)

المحاضرة الحادية عشر

اعداد

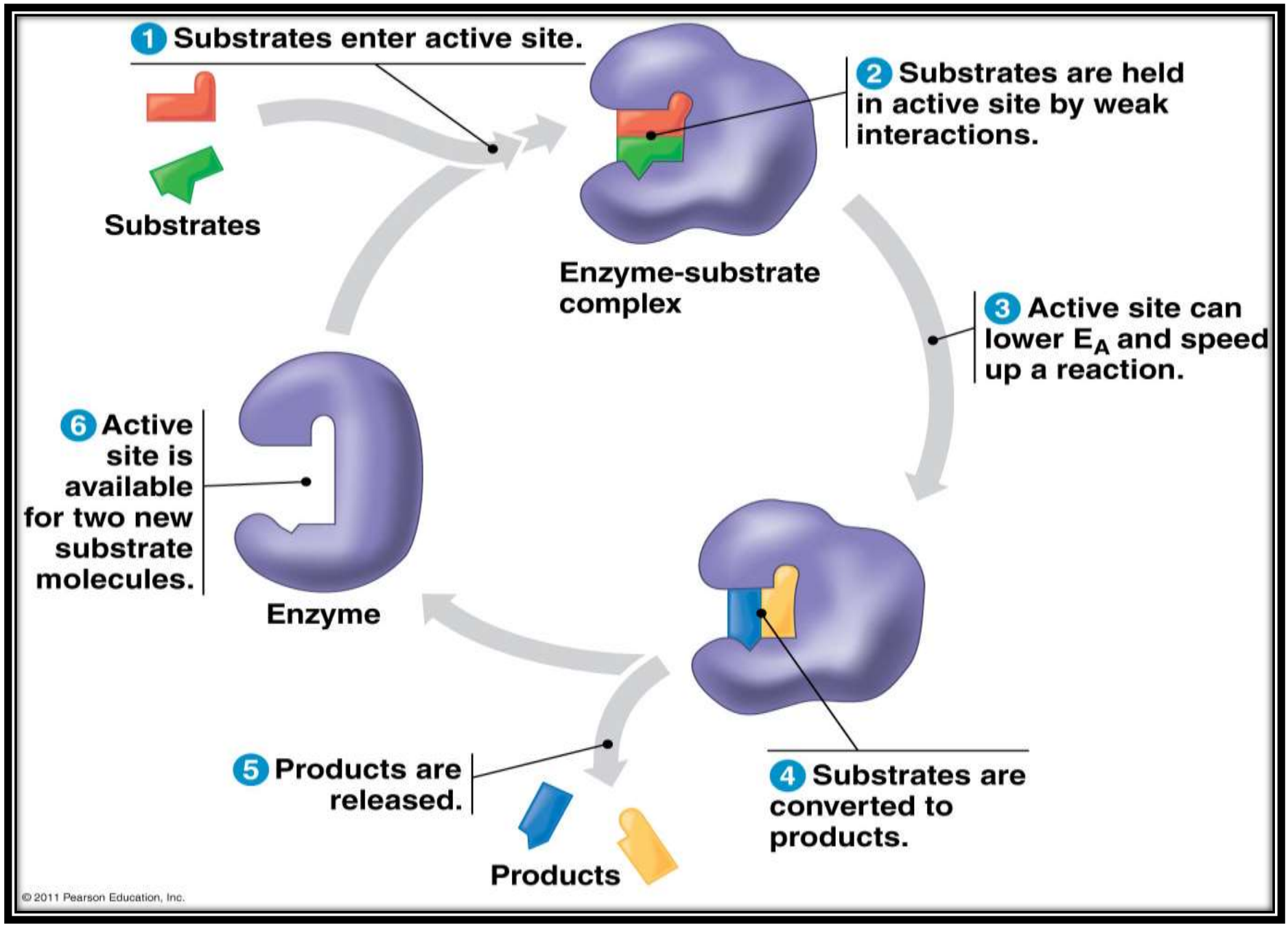
أ.د/ فرحات فودة علي فودة

أستاذ الكيمياء الحيوية

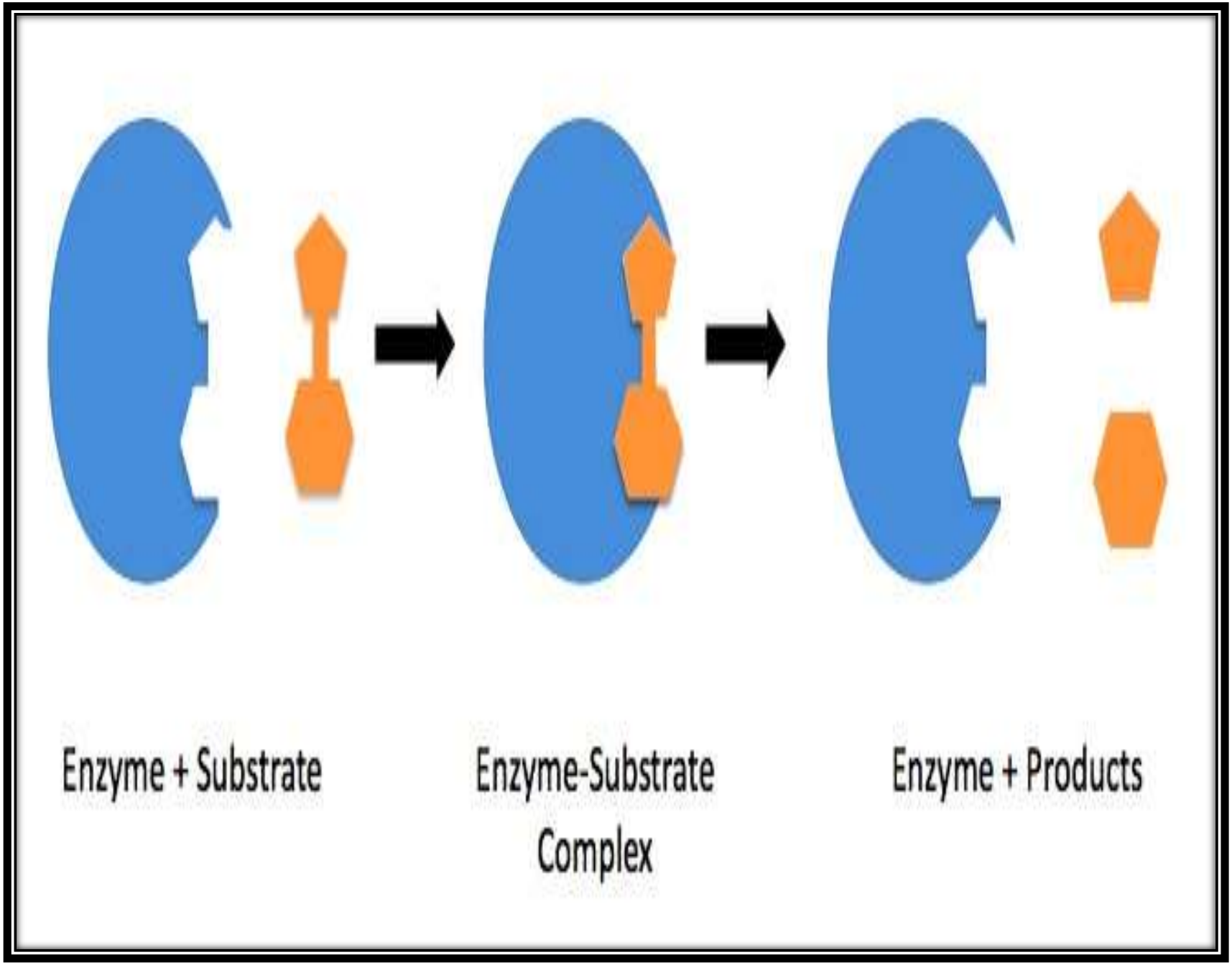
ميكانيكية عمل االأنزيم

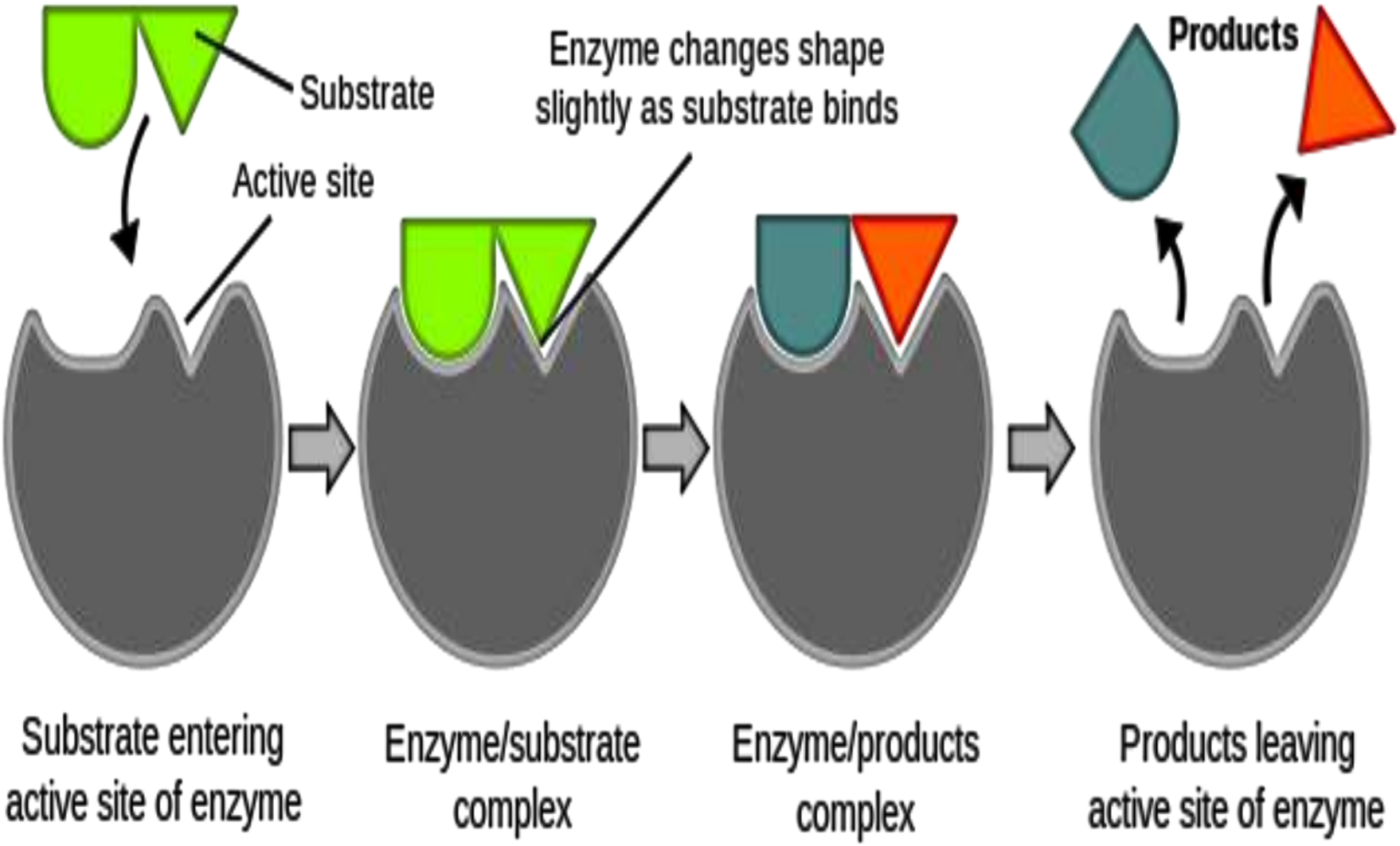
Mechanism of enzyme action

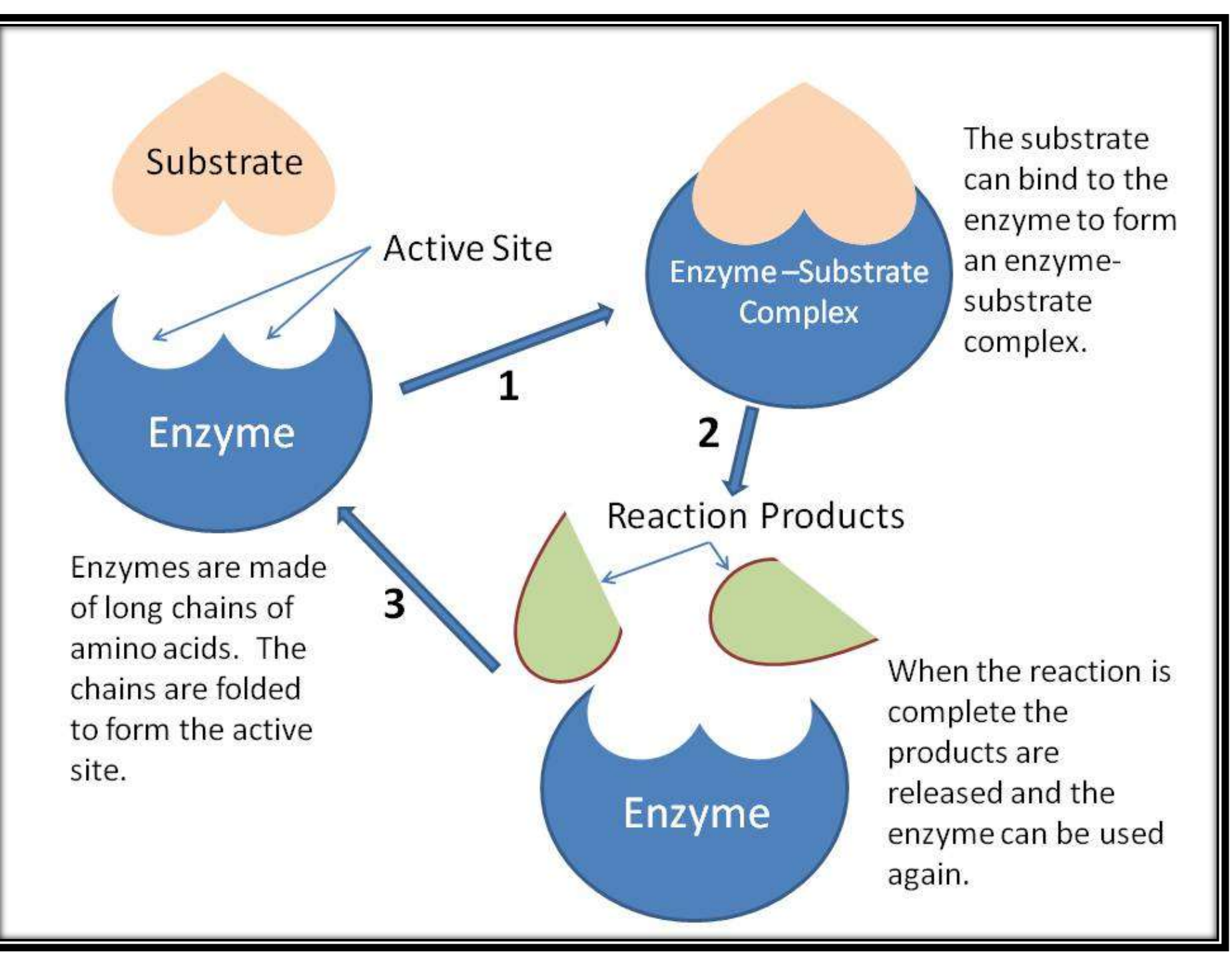
الأنزيم كأى عامل مساعد يعمل على تنشيط أو حدوث تفاعل معين حتى يصل هذا التفاعل إلى حالة إتزان دون أن يفقد خواصه أو كميته - ولقد لوحظ فى التفاعلات الحيوية والكيميائية التى تعتمد فى حدوثها على الأنزيمات كعوامل مساعدة أن زيادة درجة تركيز المواد المتفاعلة (Substrate) لا يصحبها زيادة فى درجة حدوث التفاعل بعكس التفاعلات الأخرى .



© 2011 Pearson Education, Inc.


Enzyme + Substrate
Enzyme-Substrate Complex
Enzyme + Products


Substrate
Active site
Enzyme changes shape slightly as substrate binds
Products
Substrate entering active site of enzyme
Enzyme/substrate complex
Enzyme/products complex
Products leaving active site of enzyme


Substrate
Active Site
Enzyme
1
Enzyme –Substrate Complex
The substrate can bind to the enzyme to form an enzyme-substrate complex.
2
Reaction Products
Enzymes are made of long chains of amino acids. The chains are folded to form the active site.
3
Enzyme
When the reaction is complete the products are released and the enzyme can be used again.

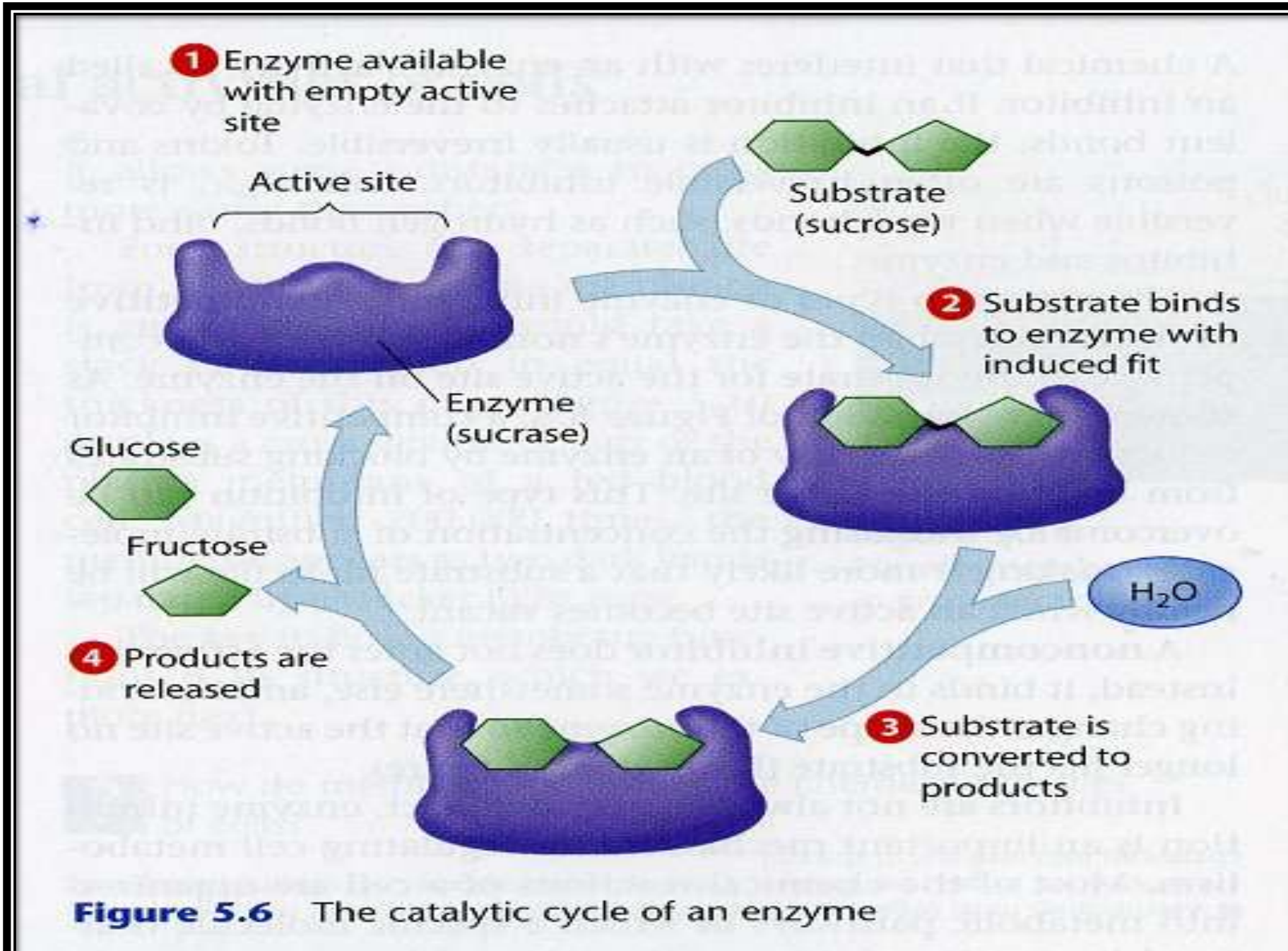
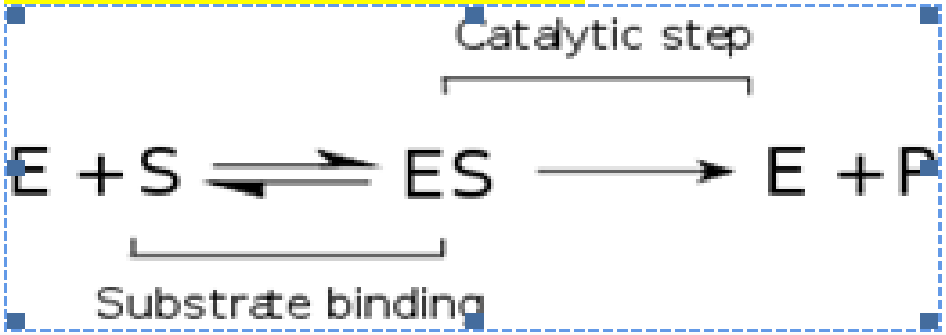


Figure 5.6 The catalytic cycle of an enzyme

ولقد تفسر هذه الظاهرة على أساس أن التفاعل الأنزيمى لا يحدث فى خطوة ولكنه يتم على عدة خطوات متتالية فإذا نظرنا مثلا إلى عملية التحليل المائى نجد أنها تتم على الخطوات التالية:

$$S + E \longrightarrow ES$$

$$ES + H_2O \rightarrow E + P_1 + P_2$$

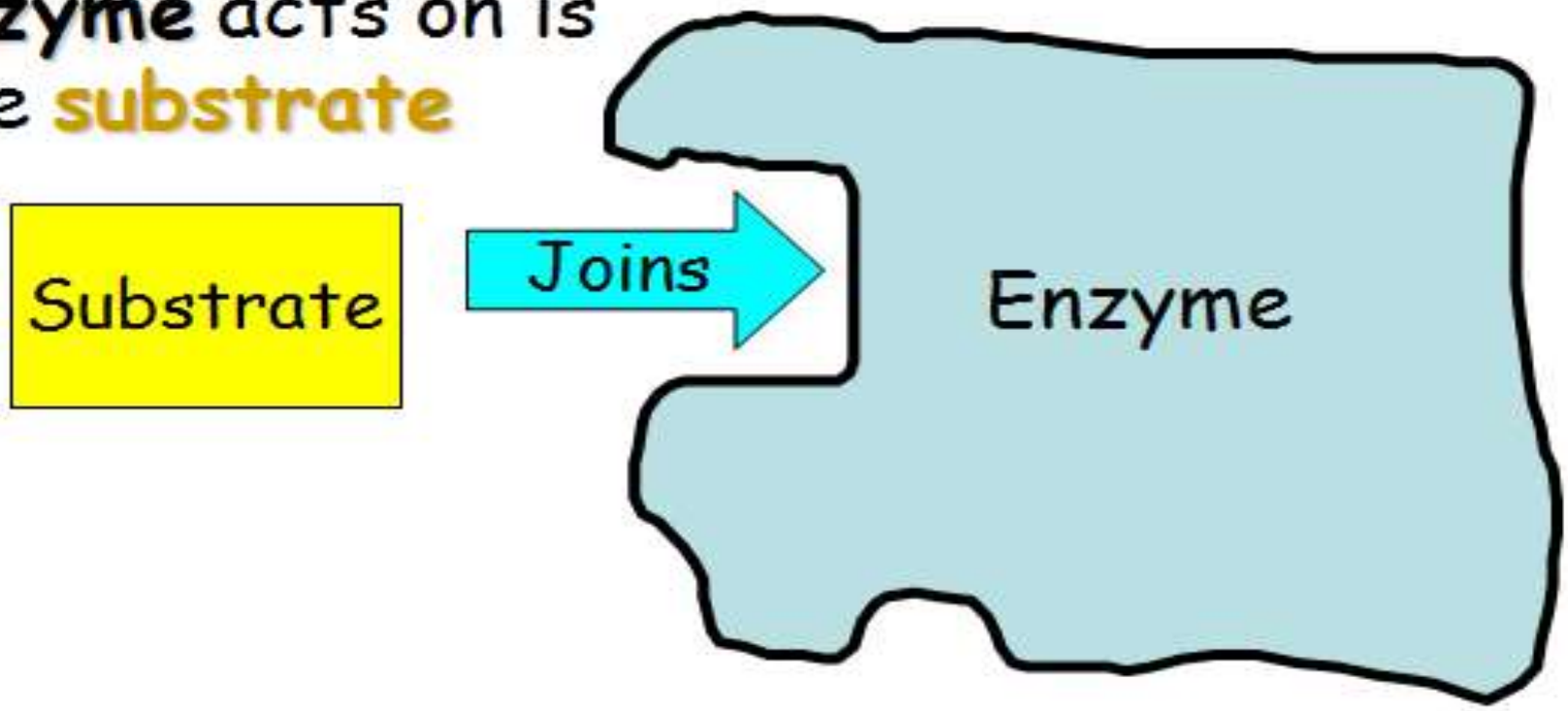


ففي الخطوة الأولى يتم إرتباط الأنزيم (E) مع المادة المتفاعلة (S) وتكوين مركب وسطي (ES) غير ثابت

- وبزيادة تركيز المادة المتفاعلة يزيد تكوين المركب الوسطي (ES) حتى درجة معينة لا يتعداها ويصبح العامل المحدد كمية الأنزيم الموجودة مما يفسر عدم زيادة درجة حدوث التفاعل بزيادة تركيز المادة المتفاعلة (S).

Enzyme-Substrate Complex

The **substance** (reactant) an **enzyme** acts on is the **substrate**

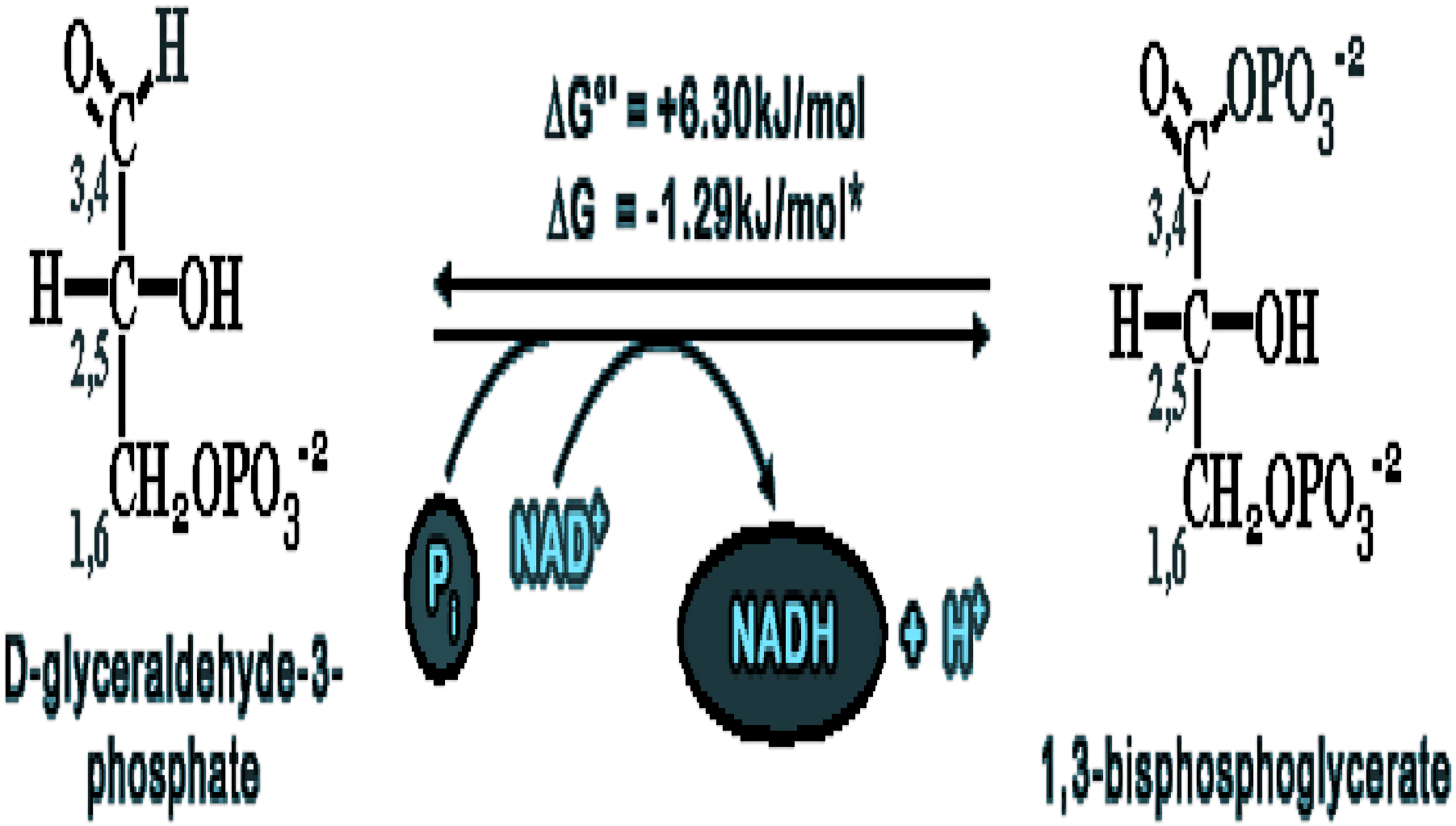


وفى **الخطوة الثانية** يحدث التفاعل الأنزيمى أثناء إرتباط المادة المتفاعلة على الأنزيم ويتكون مركب معقد من الأنزيم والنواتج.

وفى **الخطوة الثالثة** ينفصل الأنزيم عن النواتج ولا يستهلك الأنزيم فى التفاعل لأنه ينفرد من التفاعل كما هو.

والمثل التالى يوضح كيفية عمل الأنزيم.

أنزيم جليسر ألدهيد ٣-فوسفات ديهيدروجينيز في وجود المرافق الأنزيمى (CoI) وفى وجود مجاميع الفوسفات الغير عضوية يقوم بأكسدة المركب جليسر ألدهيد ٣- فوسفات إلى المركب حمض جليسريك ١،٣ داى فوسفات .



*ΔG values calculated using data from metabolite concentrations in erythocytes.

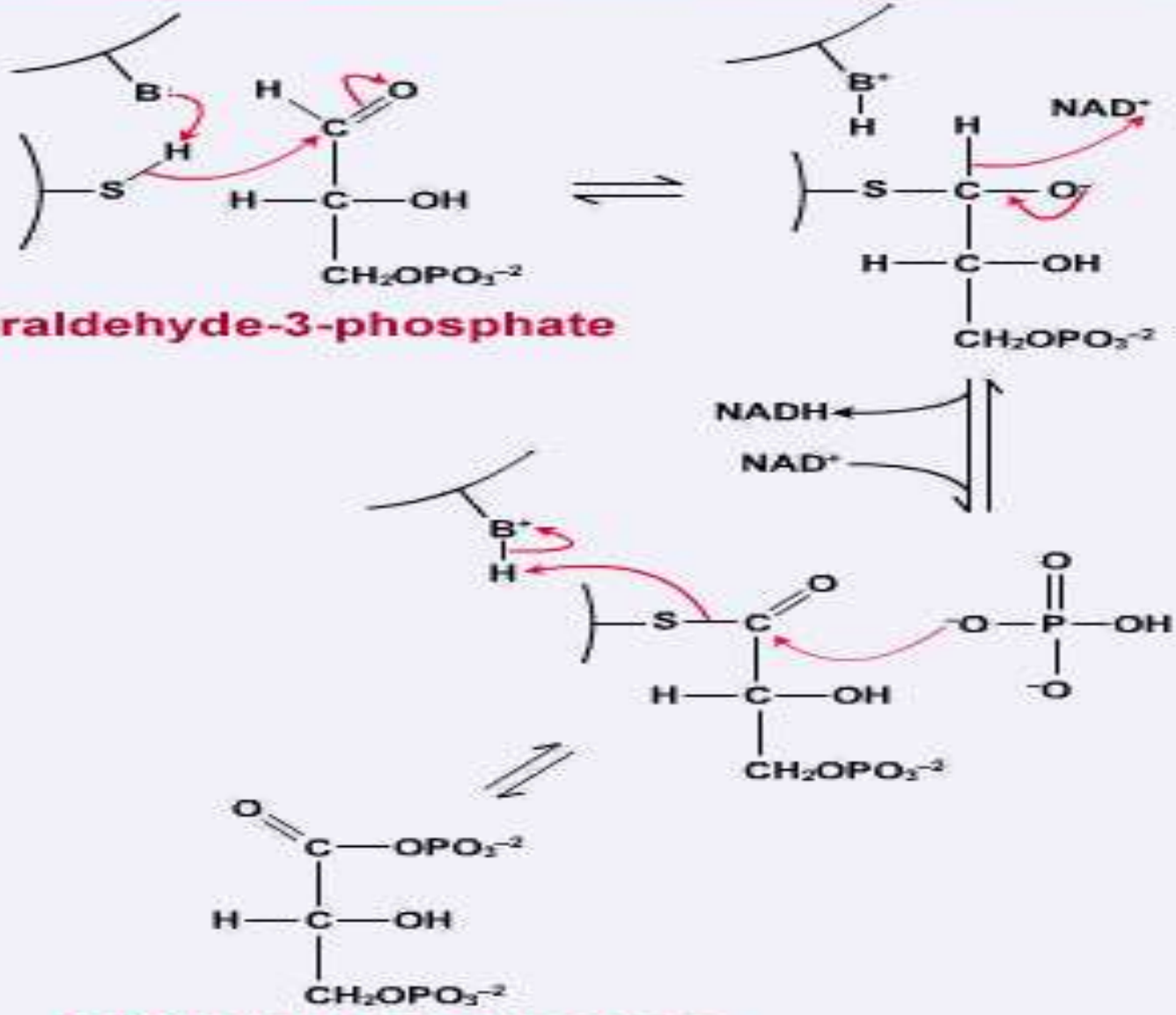
ويمكن تفسير ميكانيكية التفاعل السابق كما يلى:

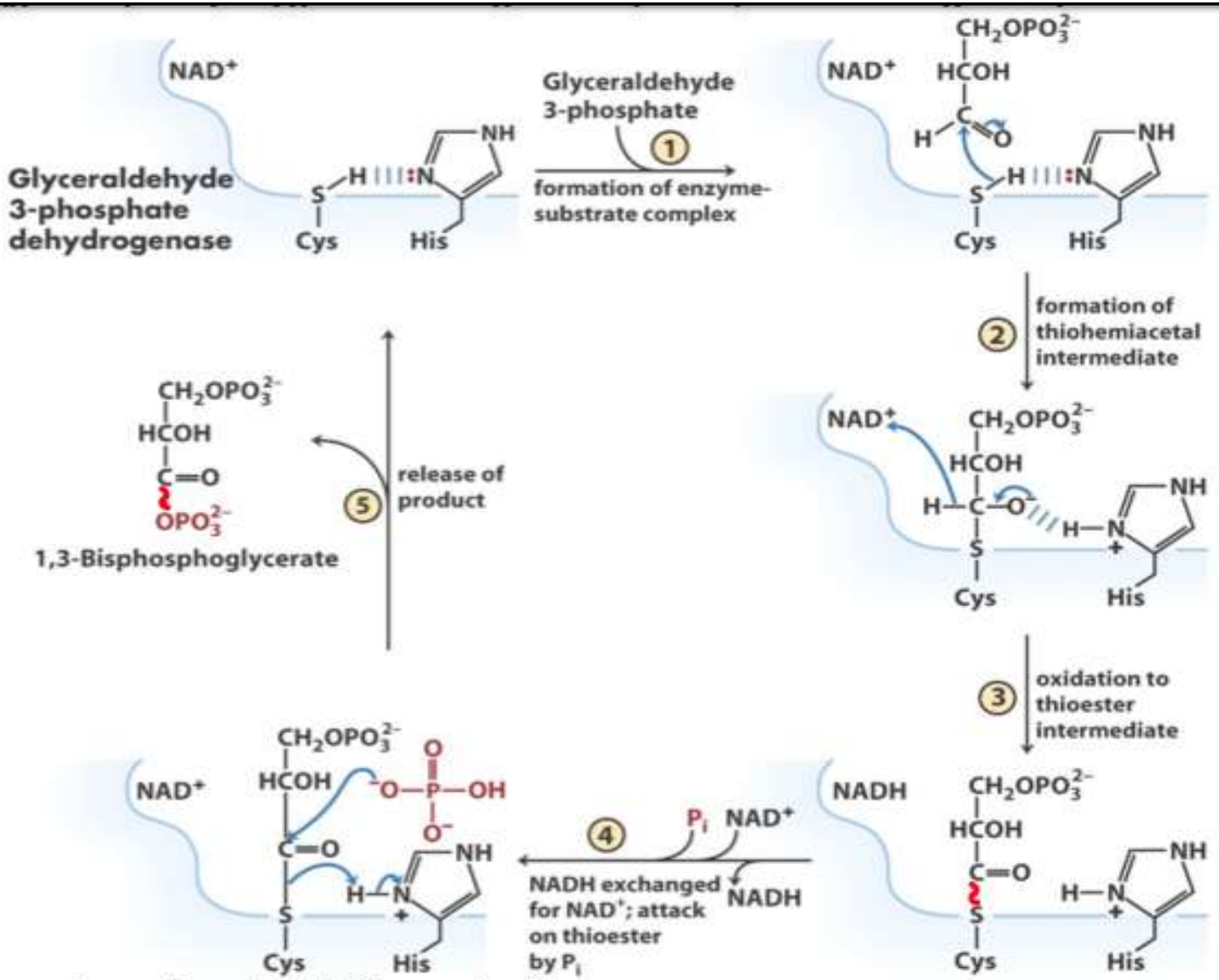
١- إرتباط الأنزيم مع المركب بواسطة رابطة **Thiohemiacetal** عن طريق تفاعل مجموعة الألدهيد مع مجموعة السافوهيدريل الموجودة فى الأنزيم

٢- حدوث عملية أكسدة فى وجود المرافق الأنزيمى **(CoI)** الذى يعمل كمستقبل للأيدروجين ويتكون مركب من نوع **Thioster**.

٣- فسفرة المركب الأخير ويتكون المركب جليسريك-١، ٣ داى فوسفات وينفرد الأنزيم مرة أخرى.

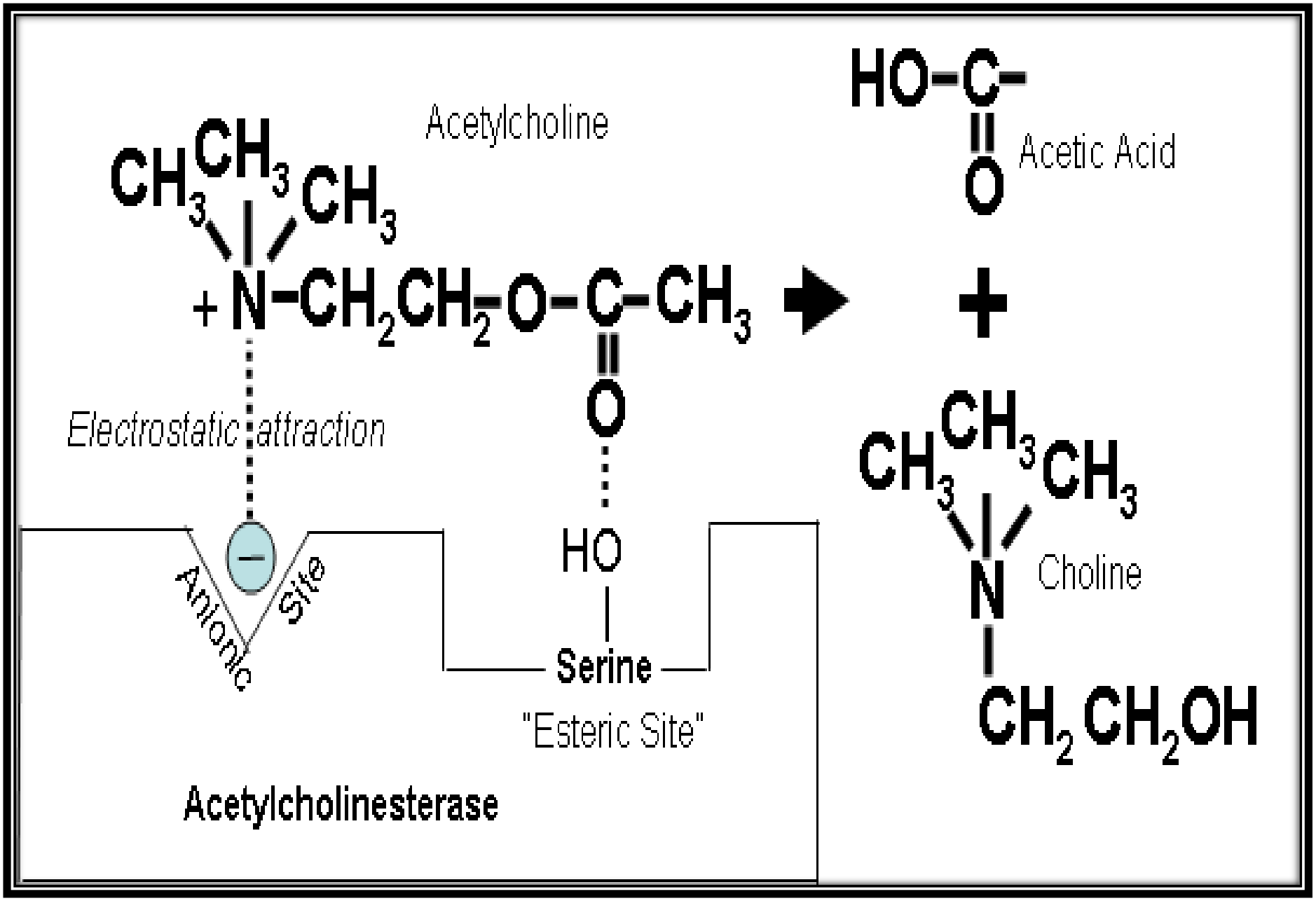
Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Mechanism





High group tranefer potential harveeted to make the mixed anhydride bond

"High energy" thioester bond captures energy from the oxidation


Acetylcholine
Acetic Acid
Electrostatic attraction
Anionic Site
Serine
"Esteric Site"
Choline
Acetylcholinesterase

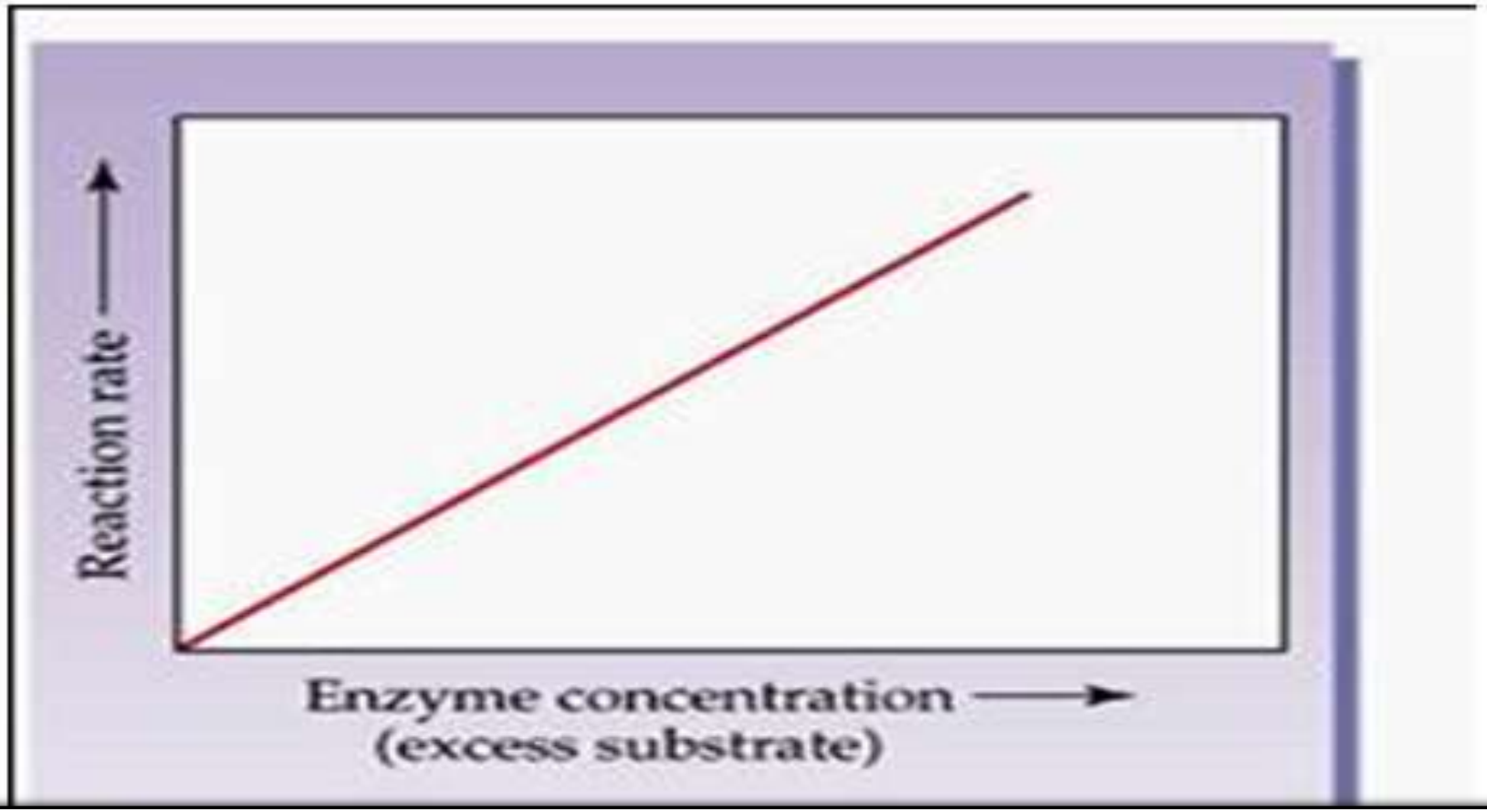
العوامل التى تؤثر على سرعة التفاعل الأنزيمى:

هناك عدة عوامل تؤثر على معدل التفاعلات الأنزيمية أهمها:

١- تركيز الأنزيم.
٢- تركيز المادة المتفاعلة.
٣- درجة الحرارة.
٤- درجة تركيز أيونات الأيدروجين.
٥- تأثير المرافقات الأنزيمية.
٦- تأثير المنشطات الأيونية.
٧- تأثير المثبطات الأنزيمية.

أولا: تأثير تركيز الأنزيم على نشاط الأنزيمات:

عند وجود تركيز من المادة المتفاعلة أكبر كثير من تركيز الأنزيم فإن سرعة التفاعل تتناسب طرديا مع تركيز الانزيم ويوضح ذلك المنحنى التالى :-



ولكن هناك بعض الحالات هى :-

أ- وجود شوائب مثبطة فى المحاليل المستخدمة حيث يفقد الجزء الأول من الأنزيم نشاطه نتيجة تفاعله مع هذه الشوائب فمثلا فى حالة الأنزيمات التى تتطلب مجموعة سلفوهيدريل (SH) لنشاطها نجد أن هذه المجموعة تكون مشتقات بسهولة مع المعادن الثقيلة ويمكن التغلب على هذه الحالة بإستخدام مادة مخلبية Chelating agent مثل Ethylenediaminotetra acetci أو بإضافة مادة مادة محتوية على مجموعات (SH) مثل السيستاتين Cysteine .

ب- وجود مثبط عكسى مع الأنزيم حيث تزيد نسبة الصورة الغير نشطة من الأنزيم بزيادة تركيز الأنزيم والمثبط ويمكن التغلب على ذلك بالديالسيز Dialysis

ثانيا: تركيز المادة المتفاعلة:

عند المحافظة على تركيز ثابت من الأنزيم وتغيير تركيز المادة المتفاعلة فيمكن وصف التغير فى السرعة الأبتدائية للتفاعل بالمنحنى والرسم التالي :-

ويلاحظ أنه عند إستخدام تركيزات منخفضة من المادة المتفاعلة يتناسب معدل تفاعلها تناسبا طرديا مع تركيز المادة فى بدء التفاعل أى أن التفاعل يعتبر من الدرجة الأولى First Order Reaction بالنسبة للمادة المتفاعلة.

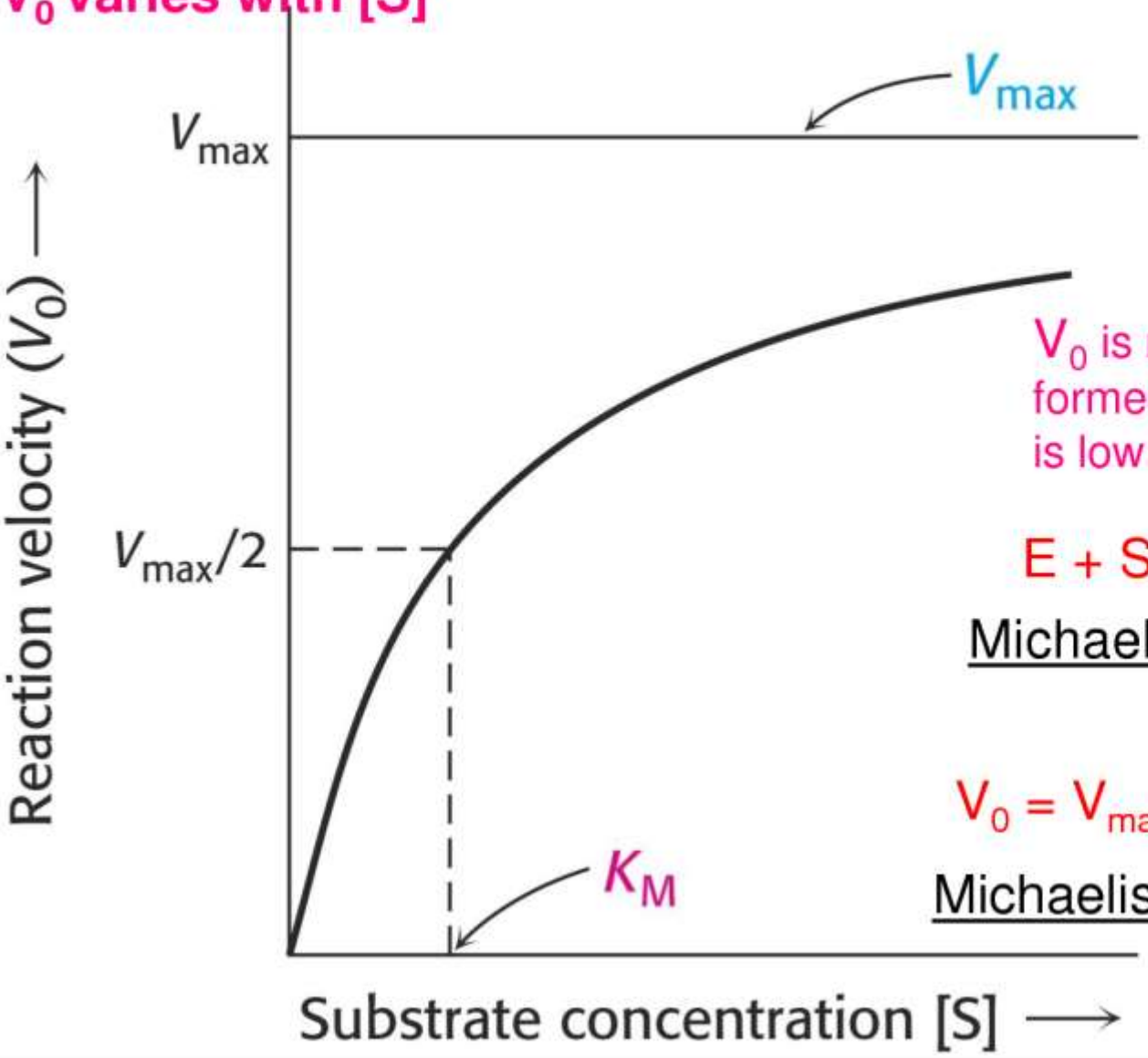
بزيادة تركيز المادة المتفاعلة تصل سرعة التفاعل إلى الدرجة القصوى وتعرف بالدرجة القصوى لنشاط الأنزيم Maximum Velocity ويرمز لها (V_{max}) ويلاحظ أن سرعة التفاعل من هذه الحالة لا تتغير بزيادة تركيز المادة المتفاعلة أى أن التفاعل يصل إلى مرتبة أخرى من مراتب التفاعل وهى مرتبة الصفر Zero order reaction .

من ذلك يتبين أن التفاعل الأنزيمى يمر بنوعين من مراتب التفاعل هما مرتبة من الدرجة الاولى First Order Reaction والاخرى مرتبة من الدرجة صفر Zero order reaction بعكس التفاعلات الكيميائية التى يدخل فيها عامل لمس مساعد يمثل سرعة التفاعل خط مستقيم له ميل معين يتوقف على نوعية العامل المساعد المستخدم.

ويلاحظ أن منحنى نشاط الأنزيم يمر بثلاثة مراحل أساسية المرحلة الأولى سريعة جدا وتتفق مع التفاعلات الكيميائية ذات المرحلة الأولى تليها المرحلة الثانية يبدأ فيها التفاعل الأنزيمى السير ببطء تدريجى وهى تتشابه مع التفاعلات الكيميائية ذات الخليط بين المرتبة الأولى والصفر أما المرحلة الثالثة والأخيرة فلا نلاحظ نشاط واضح للنشاط الأنزيمى وتمثلها التفاعلات الكيميائية من مرتبة الصفر

Michaelis-Menten kinetics

V_0 varies with [S]



V_{max} approached asymptotically

V_0 is moles of product formed per sec. when [P] is low (close to zero time)

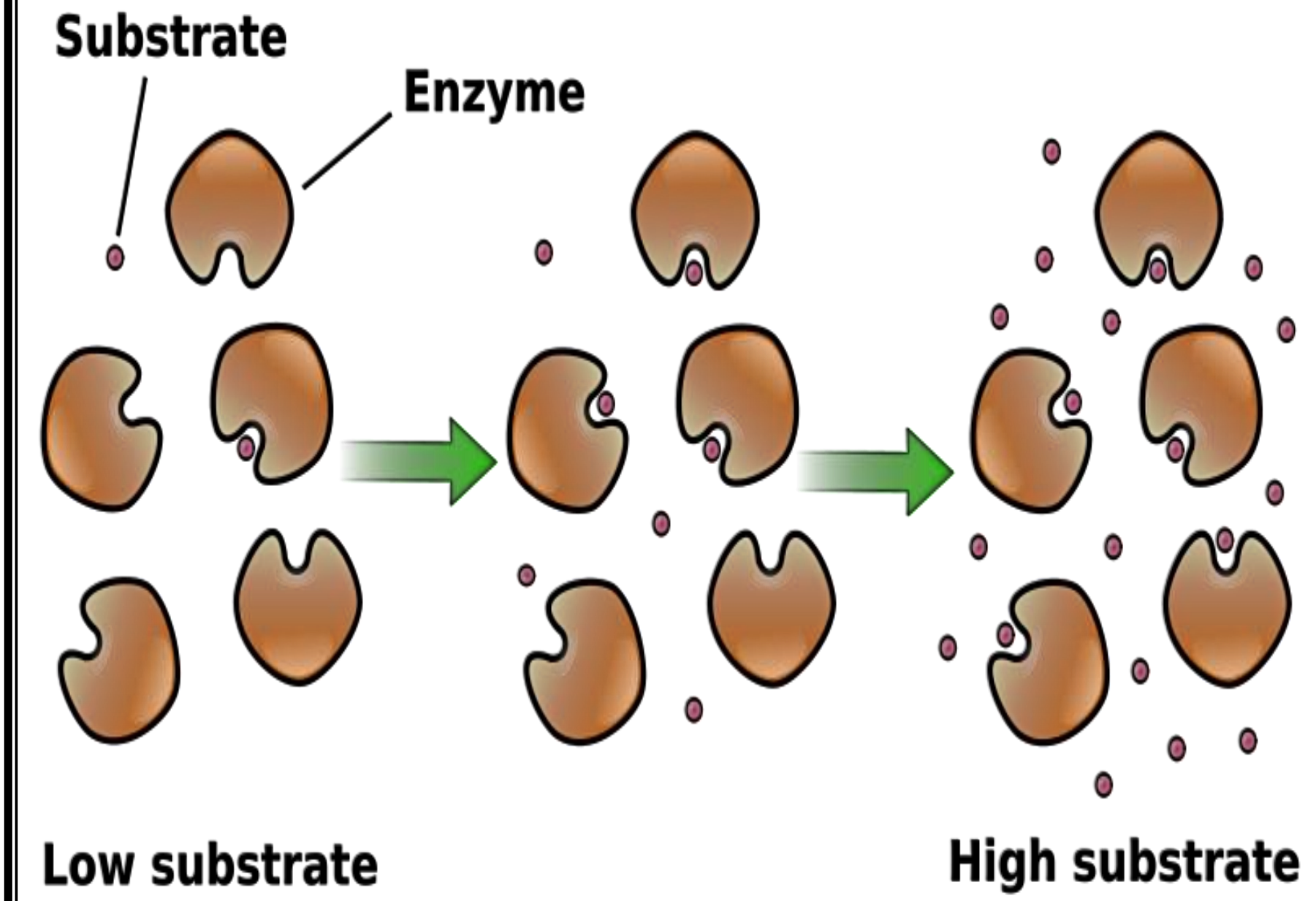
$E + S \Leftrightarrow ES \Rightarrow E + P$

Michaelis-Menten Model

$V_0 = V_{max} \times [S]/([S] + K_m)$

Michaelis-Menten Equation

وقد لاحظ ميكاليس- مانتن Menten & Michaelis أن نشاط الأنزيم يكون كبير جدا عندما يكون تركيز المادة المتفاعلة صغير جدا. أى أن نشاط الأنزيم يتغير بتغير تركيز المادة المتفاعلة وبازدياد عدد الجزيئات للمادة المتفاعلة يقل نشاط الأنزيم حتى ينعدم تقريبا عندما يصل تركيز المادة المتفاعلة فى المحلول إلى درجة التشبع .


Substrate
Enzyme
Low substrate
High substrate

ويرجع ذلك إلى أن الأنزيم يحتوى على مراكز نشطة Active centers ترتبط مع المادة المتفاعلة Substrate وتكون مركب معقد يلى ذلك تحلل هذا المعقد ليعطى ناتج التفاعل والأنزيم. ونظرا لأن المراكز النشطة بالأنزيم ثابتة فزيادة التركيز حتى درجة التشبع للمواد المتفاعلة نجد أن نشاط الأنزيم يظل ثابت (المرحلة صفر).

ويمكن التعبير عن هذه العلاقة الرياضية بأن الأنزيم يتحد مع المادة المتفاعلة إتحادا مؤقتا ثم ينفصل ثانية إلى أنزيم ومواد ناتجة.

$$E + S \underset{K_2}{\overset{K_1}{\longrightarrow}} ES \underset{K_4}{\overset{K_3}{\longrightarrow}} E + P$$

حيث E = الأنزيم، S = المادة المتفاعلة، P = المادة الناتجة، K_1, K_2, K_3, K_4 ثوابت لكل تفاعل معين.

$$S + E \underset{k_{-1}}{\overset{k_{+1}}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_{+2}}{\rightleftharpoons}} P + E$$

$$\frac{d[S]}{dt} = -k_1[E][S] + k_{-1}[ES]$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -k_1[E][S] + (k_{-1} + k_2)[ES] - k_{-2}[E][P]$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] + k_{-2}[E][P]$$

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] - k_{-2}[E][P]$$

ويلاحظ أن سرعة تكوين المركب ES يتساوى مع سرعة إنحلاله كما أنه فى بدء التفاعل تكون كمية المادة الناتجة ضئيلة جدا وبالتالى فإن إحتمال تكوين التفاعل الأتى:

$$E + P \xrightarrow{K_4} ES$$

تكون ضئيلة جدا لدرجة يمكن إهمالها.

$$[\mathrm{ES}] = \frac{k_1}{k_{-1} + k_2}([\mathrm{E}]_0 - [\mathrm{ES}])[\mathrm{S}]$$

which gives, after rearrangement,

$$[\mathrm{ES}] = \frac{[\mathrm{E}]_0[\mathrm{S}]}{K_\mathrm{M} + [\mathrm{S}]}$$

where

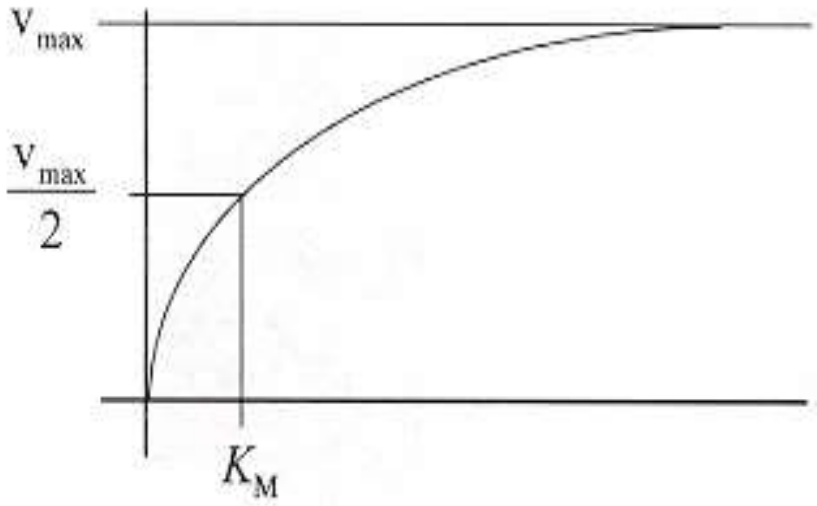
$$K_\mathrm{M} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

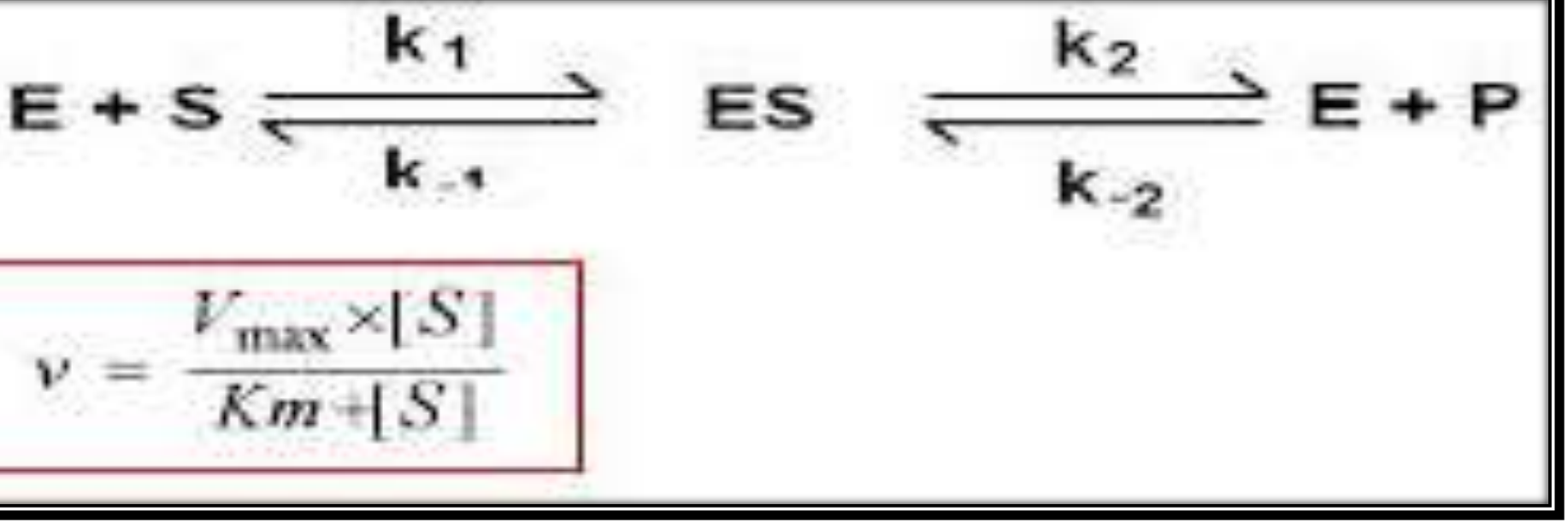
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + S$$

Michaelis constant: $K_M = \dfrac{(k_{-1} + k_{cat})}{k_1}$

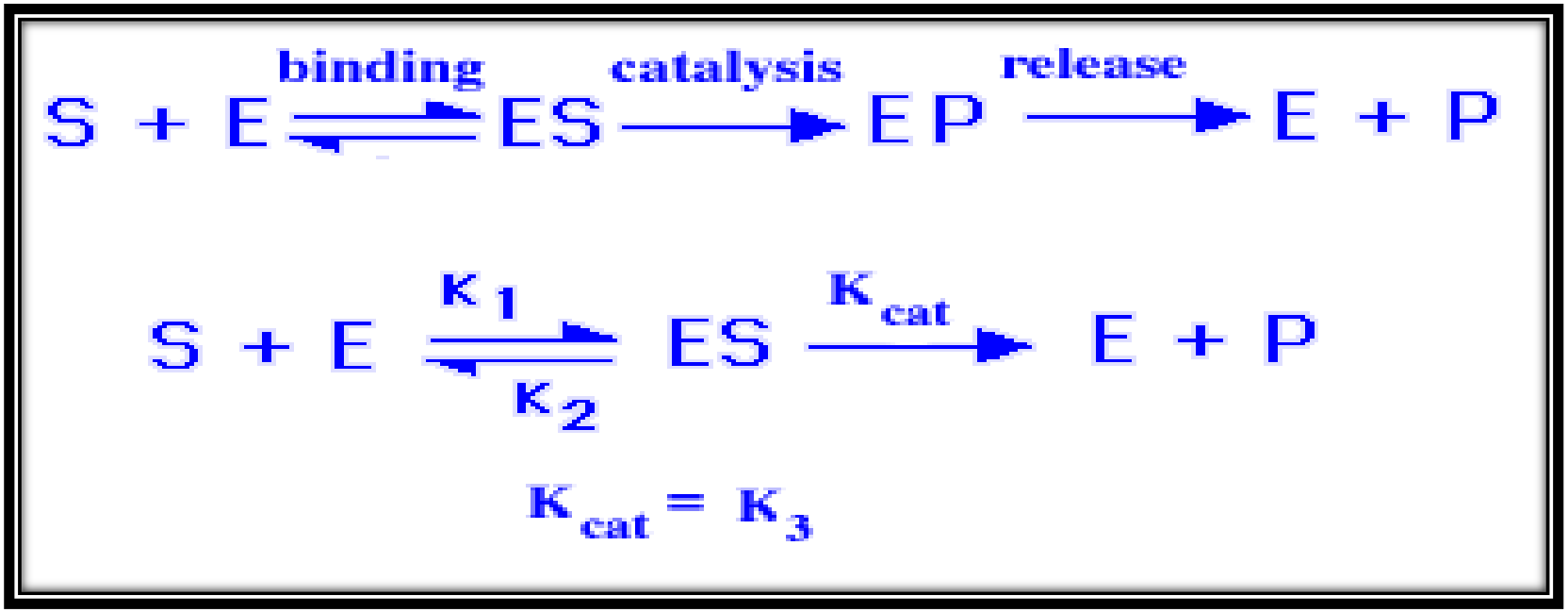
Michaelis-Menton Equation: $v = \dfrac{v_{max} \cdot [S]}{K_M + [S]}$

In an analogy to "half-life", v is chosen to be measured at half v_{max}, or $v = \dfrac{1}{2} \cdot v_{max}$ or $K_M = [S]$





$$v = \frac{V_{max} \times [S]}{Km + [S]}$$



وقد عبر ميكاليس عن هذه العلاقة بالمعادلة:

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

حيث أن:

v = السرعة التى يمكن ملاحظتها فى التفاعل عند تركيز معين من المادة المتفاعلة ويرمز له (S).

K_m = ثابت ميكاليس ووحداته (مول/لتر).

V_{max} = السرعة القصوى عند التشبع بالمادة.

والإفتراض الأساسى للوصول لهذه المعادلة هو وجود إتزان سريع بين E+S ، E-S وهذا الإفتراض صحيح فى معظم الحالات وعندئذ تكون قيمة K_m مساوية لقيمة ثابت التفكك للمركب الوسطى وكلما زادت قيمة ثابت ميكاليس تحت هذه الظروف كلما كان ذلك دلالة على قلة الجاذبية بين المادة المتفاعلة والأنزيم.

(١) عند وجود تركيزات مرتفعة من المادة المتفاعلة

تكون قيمة S أكبر من K_m

ويمكن عندئذ إختصار معادلة ميكالس-منتن إلى

$$K_3E = V_{max} = v$$

وهذه هى السرعة القصوى للتفاعل الأنزيمى

ويكون التفاعل عندئذ من درجة الصفر بالنسبة للمادة المتفاعلة Zero order reaction

(٢) عند وجود تركيزات منخفضة من المادة المتفاعلة فإن التفاعل يكون من الدرجة الأولى بالنسبة لها

وتكون المعادلة

$$v = \frac{V_{max}(S)}{K_m + (S)}$$

(٣) وعندما تتساوى تركيز المادة المتفاعلة مع ثابت ميكاليس

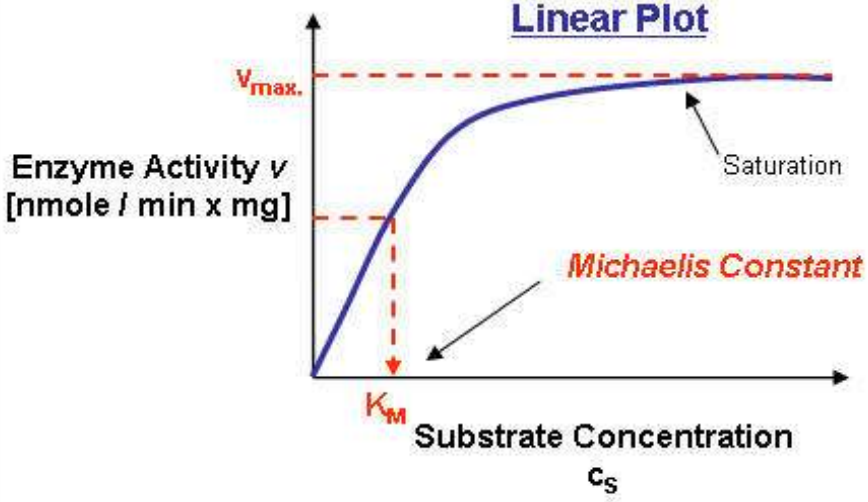
فإن المعادلة تصبح

$$v = \frac{V_{max}(S)}{2}$$

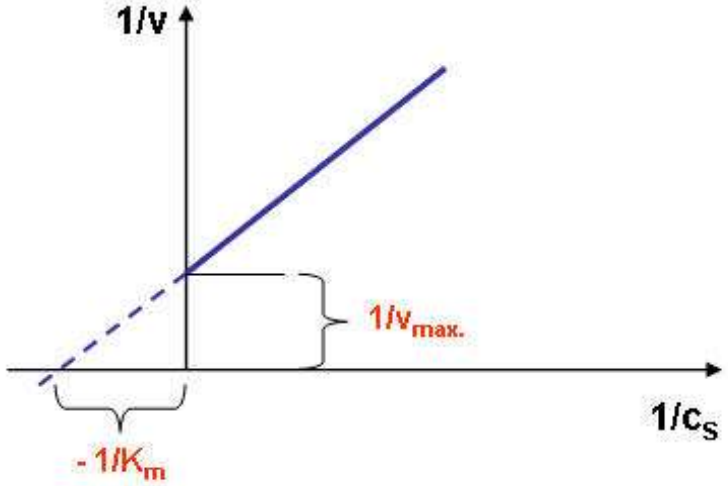
وهذا هو التعريف الرياضى لثابت ميكالس على انة تركيز المادة المتفاعلة الذى يعطى نصف السرعة القصوى للأنزيم.

Experimental Result

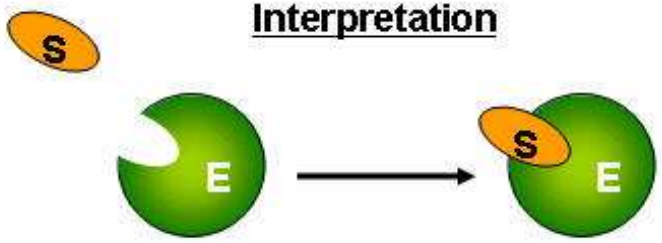
Linear Plot



Lineweaver-Burk Plot



Interpretation



Mathematical Description

Michaelis- Menten Equation

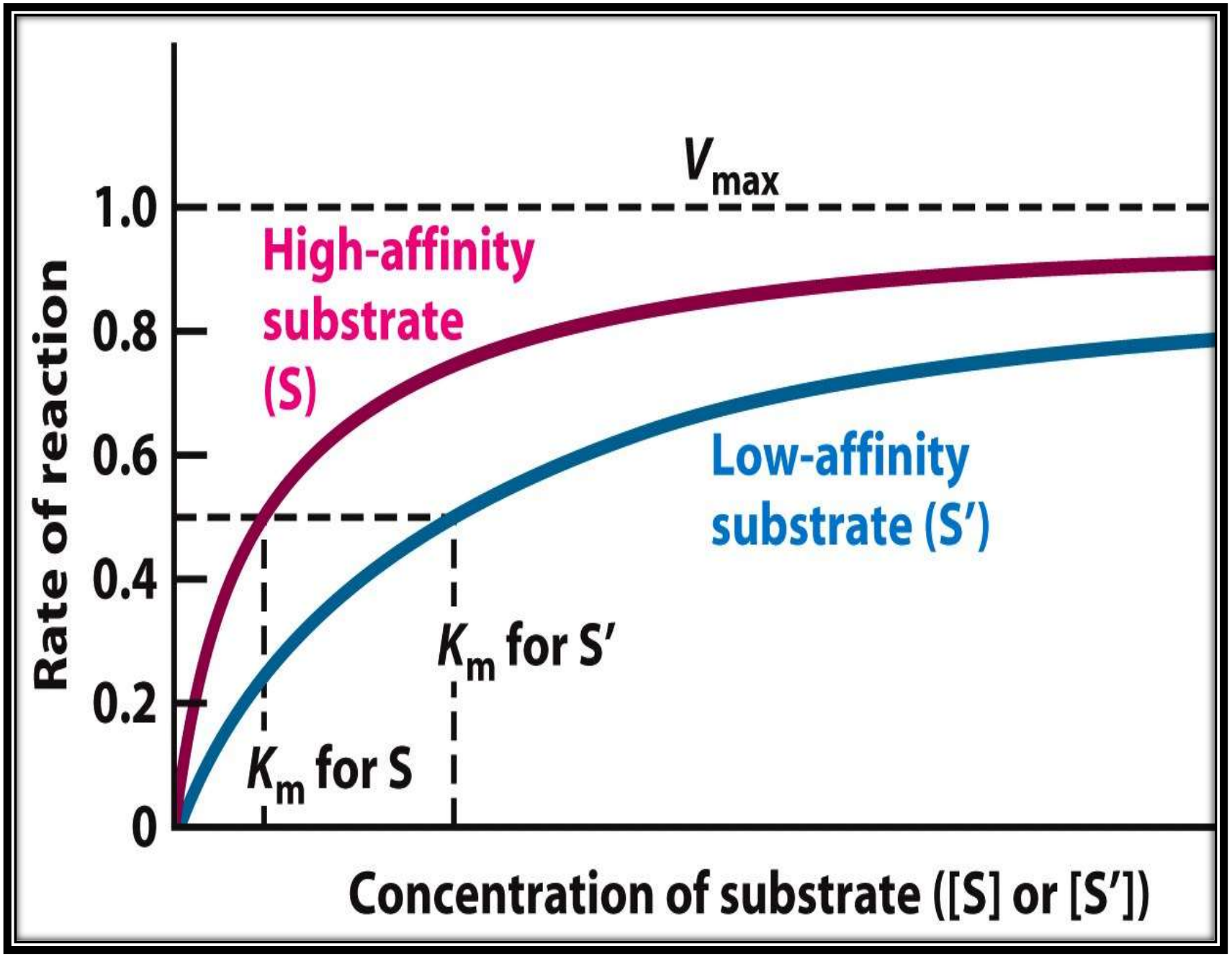
$$v(c_S) = \frac{v_{max} \times c_S}{K_M + c_S}$$

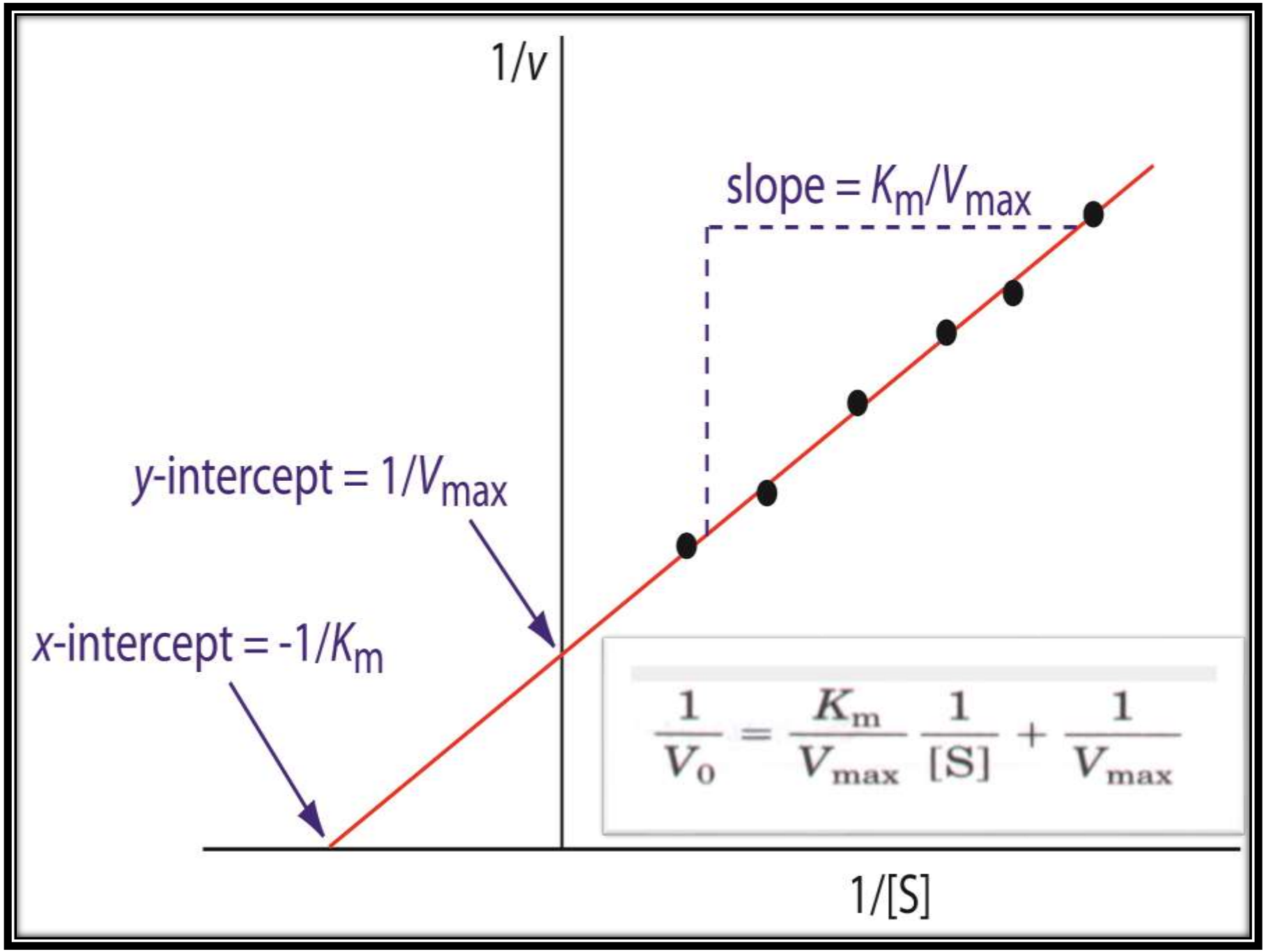
Lineweaver-Burk Equation

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max}} \times \frac{1}{c_S} + \frac{1}{v_{max}}$$

→ The Michaelis-Menten kinetic describes the most simple, "ideal" situation of enzyme catalyzed chemical reactions

Graphic©E. Schmid/2002


V_{max}
1.0
0.8
0.6
0.4
0.2
0
Rate of reaction
High-affinity substrate (S)
Low-affinity substrate (S′)
K_m for S′
K_m for S
Concentration of substrate ([S] or [S′])


1/v
slope = K_m/V_{max}
y-intercept = $1/V_{max}$
x-intercept = $-1/K_m$
$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$
1/[S]

تأثير درجة الحرارة Effect of temperature

يؤثر إرتفاع درجة الحرارة على زيادة سرعة التفاعلات الكيميائية كما أن إرتفاع درجة الحرارة قد يؤثر على التركيب البروتينى الأنزيمى وقد لوحظ إزدياد سرعة التفاعلات الأنزيمية بوجه عام حتى درجة ٤٥°م حيث يقل بعد ذلك نشاط الأنزيم لتغير تركيب الأنزيم

ويرجع تأثير درجة الحرارة على معدل التفاعلات الأنزيمية إلى عدة أسباب:

١. التأثير على ثبات الأنزيم Stability

٢. التأثير على سرعة تفكك E-S حيث أنها محددة بطاقة التنشيط لتفاعل التفكك.

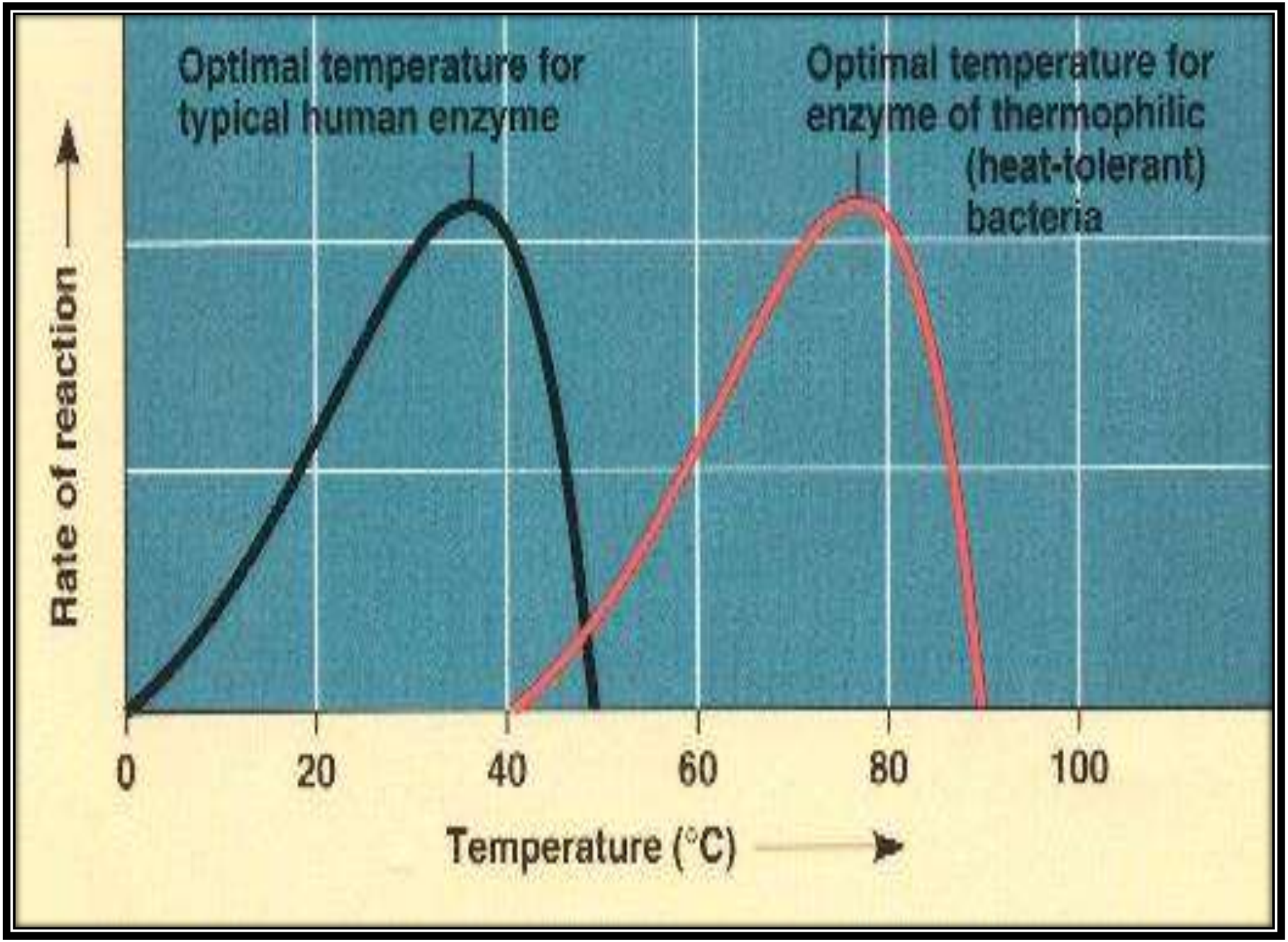
٣. التأثير على جاذبية الأنزيم للمادة المتفاعلة أى K_1 ، K_2.

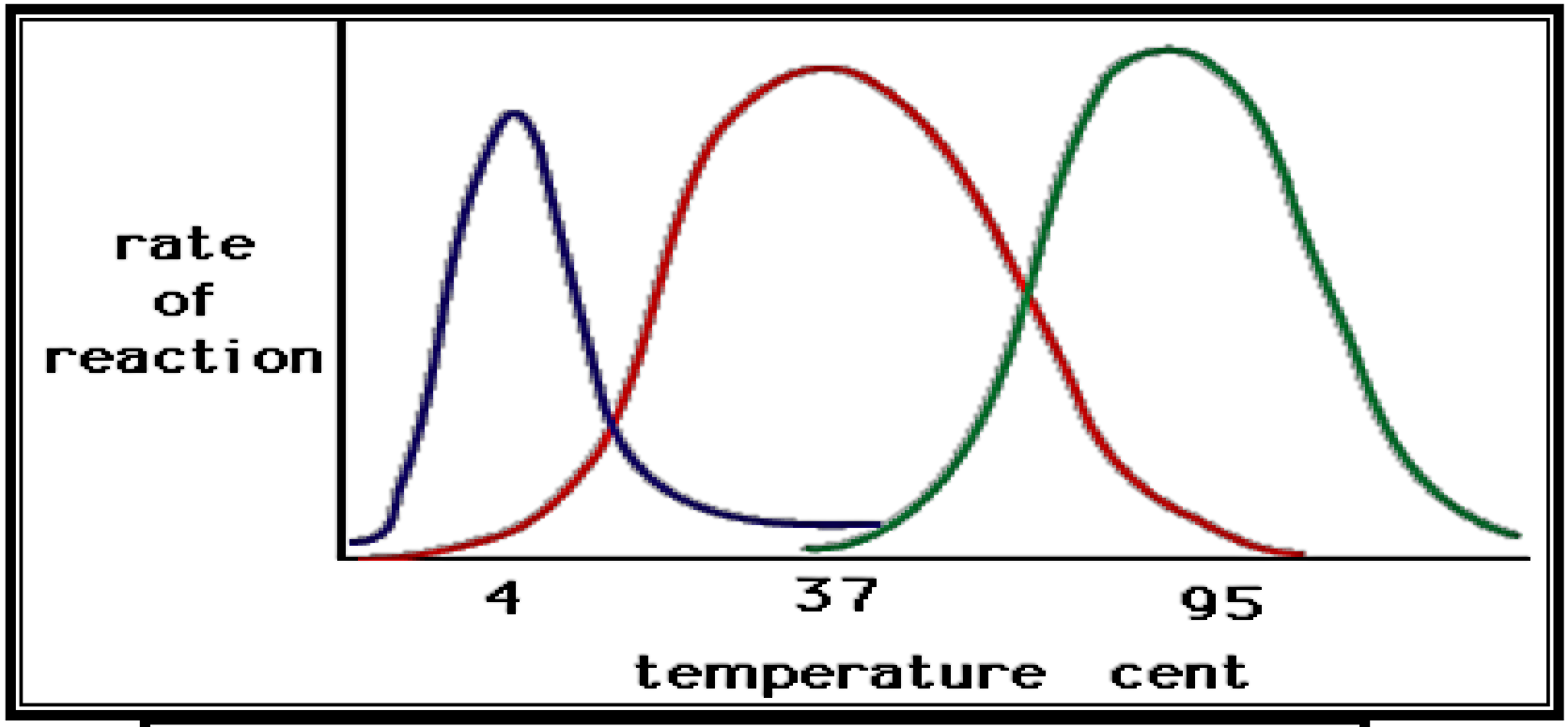
٤. التأثير على درجة تآين مكونات التفاعل محددة بحرارة التآين.

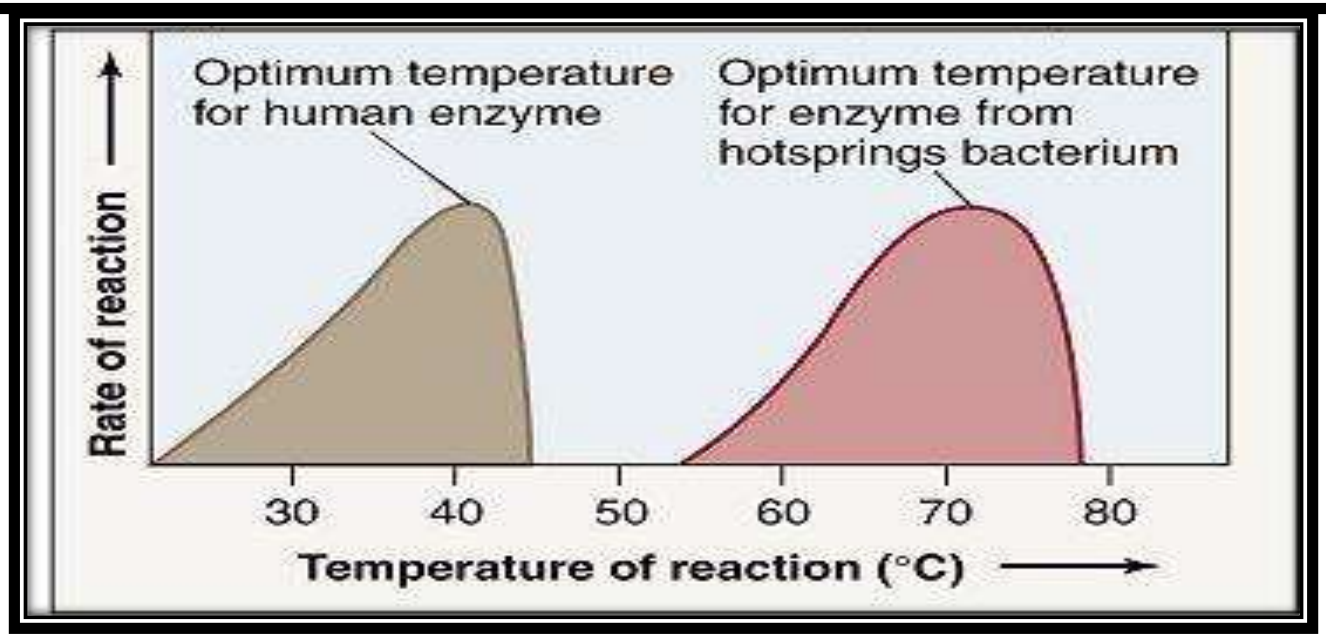
٥. التأثير على جاذبية الأنزيم للمنشطات أو المثبطات.

وعموما يمكن القول أنه يمكن حفظ الأنزيمات على درجات الحرارة المنخفضة حيث تحتفظ بفاعليتها لمدة طويلة وتصبح غير نشطة على درجة الصفر المئوى ولكنها تستعيد نشاطها مرة أخرى برفع درجة الحرارة إلى الدرجة المثلى

ومن الأمثلة العملية لذلك إحتفاظ البذور بقدرتها على الأنبات حتى ولو عرضت للصقيع لفترة طويلة وتقاوم الأنزيمات تأثير الحرارة بدرجة أكبر فى الحالة الجافة عنها لو كانت فى صورة محلول. ويمكن توضيح تأثير درجة الحرارة فى المنحنيات التالية :-


Optimal temperature for typical human enzyme
Optimal temperature for enzyme of thermophilic (heat-tolerant) bacteria
Rate of reaction
0
20
40
60
80
100
Temperature (°C)


rate
of
reaction
4
37
95
temperature
cent


Optimum temperature
for human enzyme
Optimum temperature
for enzyme from
hotsprings bacterium
Rate of reaction
30
40
50
60
70
80
Temperature of reaction (°C)

تأثير درجة تركيز أيون الأيدروجين pH:

يرجع تأثير الـ (pH) على نشاط الأنزيمات إلى إحتواء مراكز النشاط الخاصة بالأنزيم على مجاميع متأينة - وبالطبع يتوقف تأين هذه المجاميع على درجة حموضة أو قلوية الوسط الموجود به الأنزيم - ويمكن القول أن التغير فى طبيعة تأين تلك المجاميع (نتيجة تغير الـ pH) يؤدى إلى فقد الأنزيم لنشاطه ولكل أنزيم درجة معينة من الـ pH تبلغ عندها سرعة تفاعله أقصى ما يمكن ويطلق عليها درجة الـ pH المثلى (Optimum pH).

محاضرات الكيمياء الحيوية
(جزء الأنزيمات)
المستوي الثاني (عام)
المحاضرة الثانية عشر

اعداد

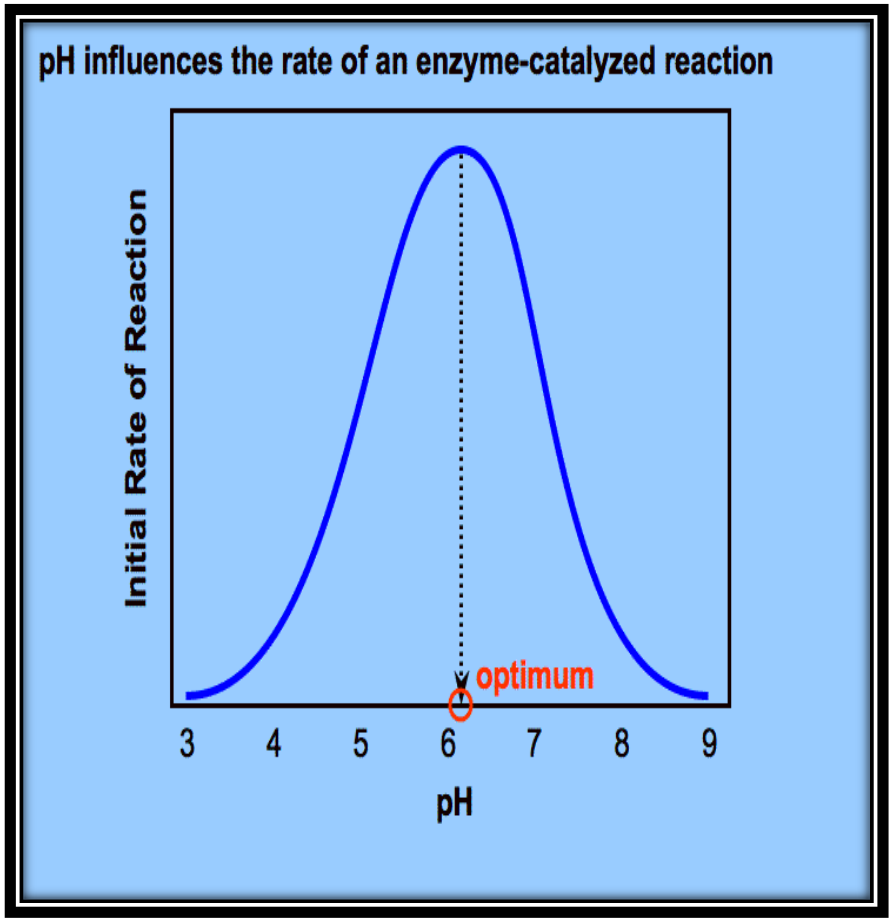
أ.د/ فرحات فودة علي فودة

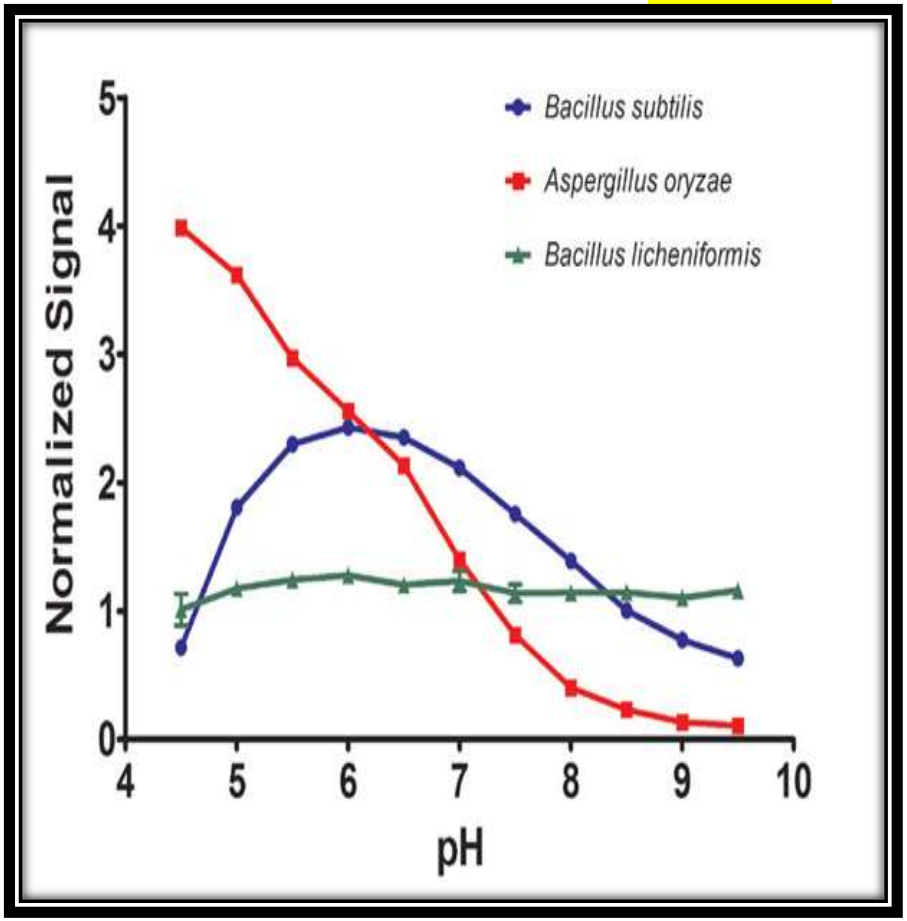
أستاذ الكيمياء الحيوية

تأثير درجة تركيز أيون الأيدروجين pH:

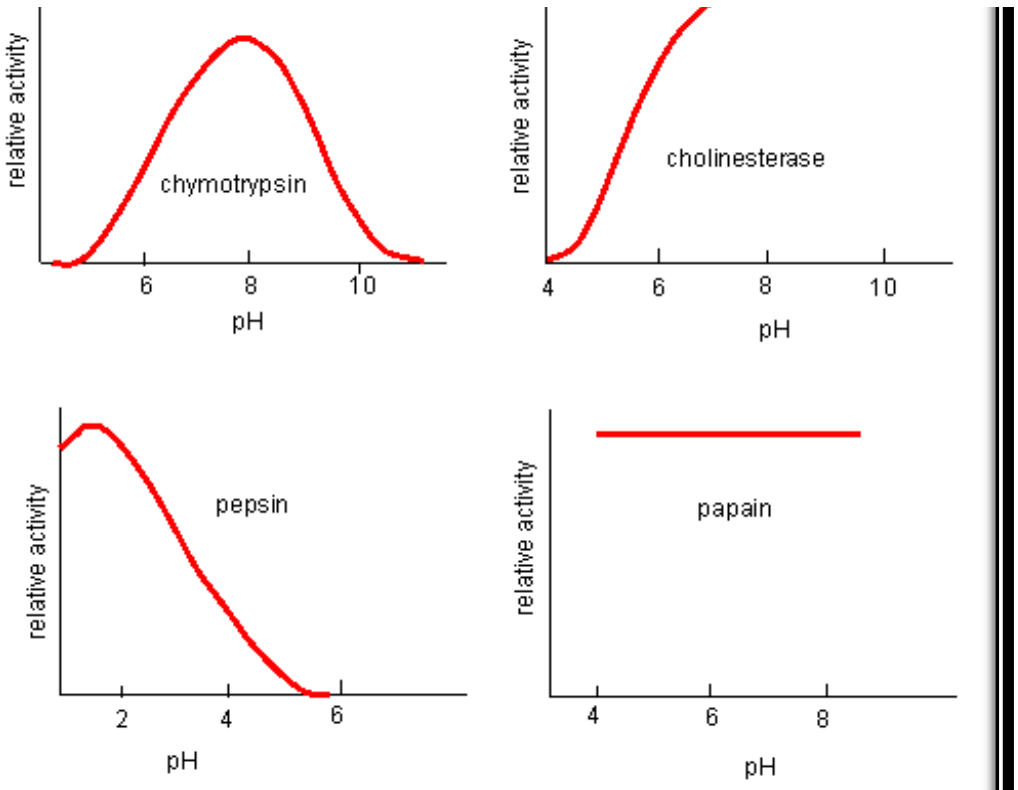
يرجع تأثير الـ (pH) على نشاط الأنزيمات إلى إحتواء مراكز النشاط الخاصة بالأنزيم على مجاميع متأينة - وبالطبع يتوقف تأين هذه المجاميع على درجة حموضة أو قلوية الوسط الموجود به الأنزيم - ويمكن القول أن التغير فى طبيعة تأين تلك المجاميع (نتيجة تغير الـ pH) يؤدى إلى فقد الأنزيم لنشاطه ولكل أنزيم درجة معينة من الـ pH تبلغ عندها سرعة تفاعله أقصى ما يمكن ويطلق عليها درجة الـ pH المثلى (Optimum pH).

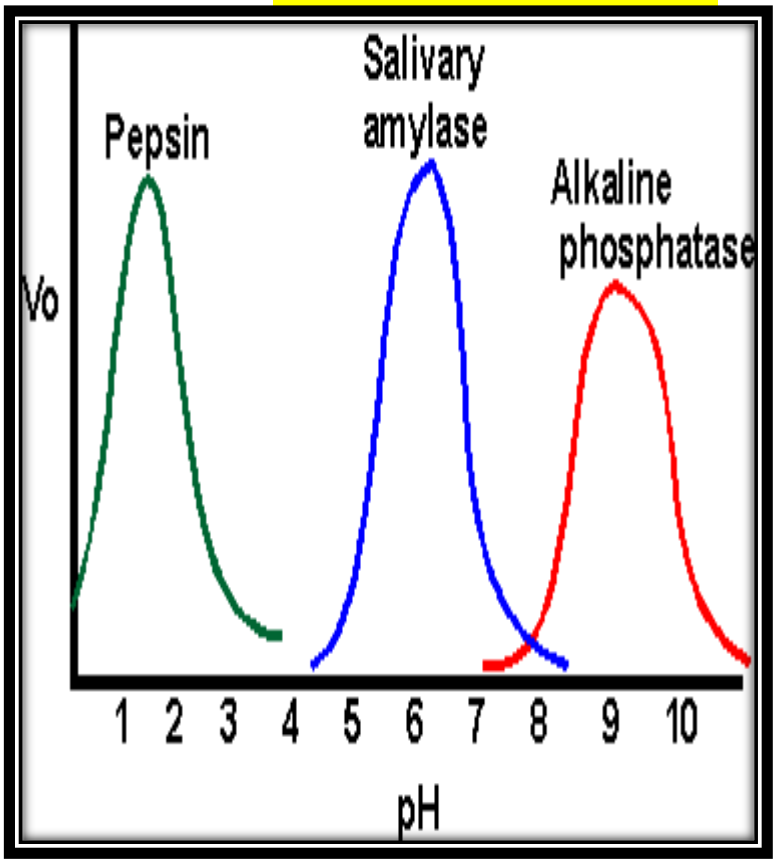
وكما هو موضح فى الرسم التالى فإن نشاط الأنزيم يقل تدريجيا لو حدث أى تغيير عن درجة الـ pH المثلى





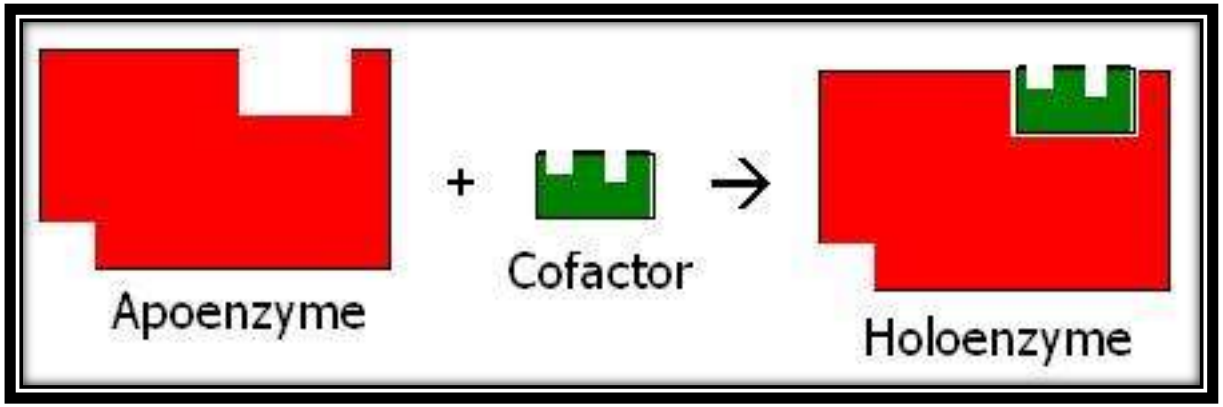
ويلاحظ أن درجة الـ pH المثلى تقع بين ٤-٩ فيما عدا بعض الأنزيمات مثل أنزيم الببسين Pepsin الذى يعمل فى المعدة حيث تكون درجة الـ pH لأوسع مدى (٢- ٥).

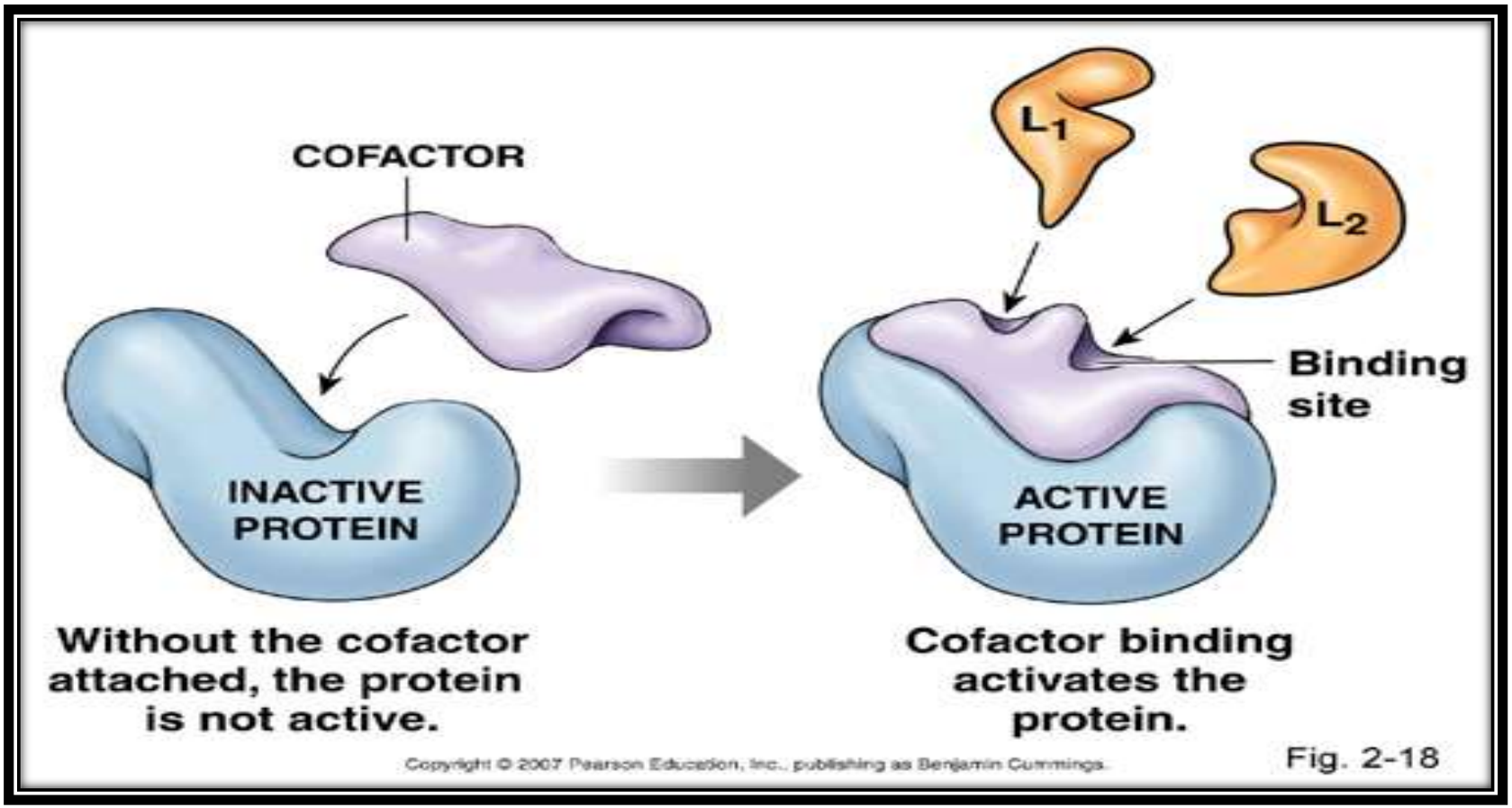


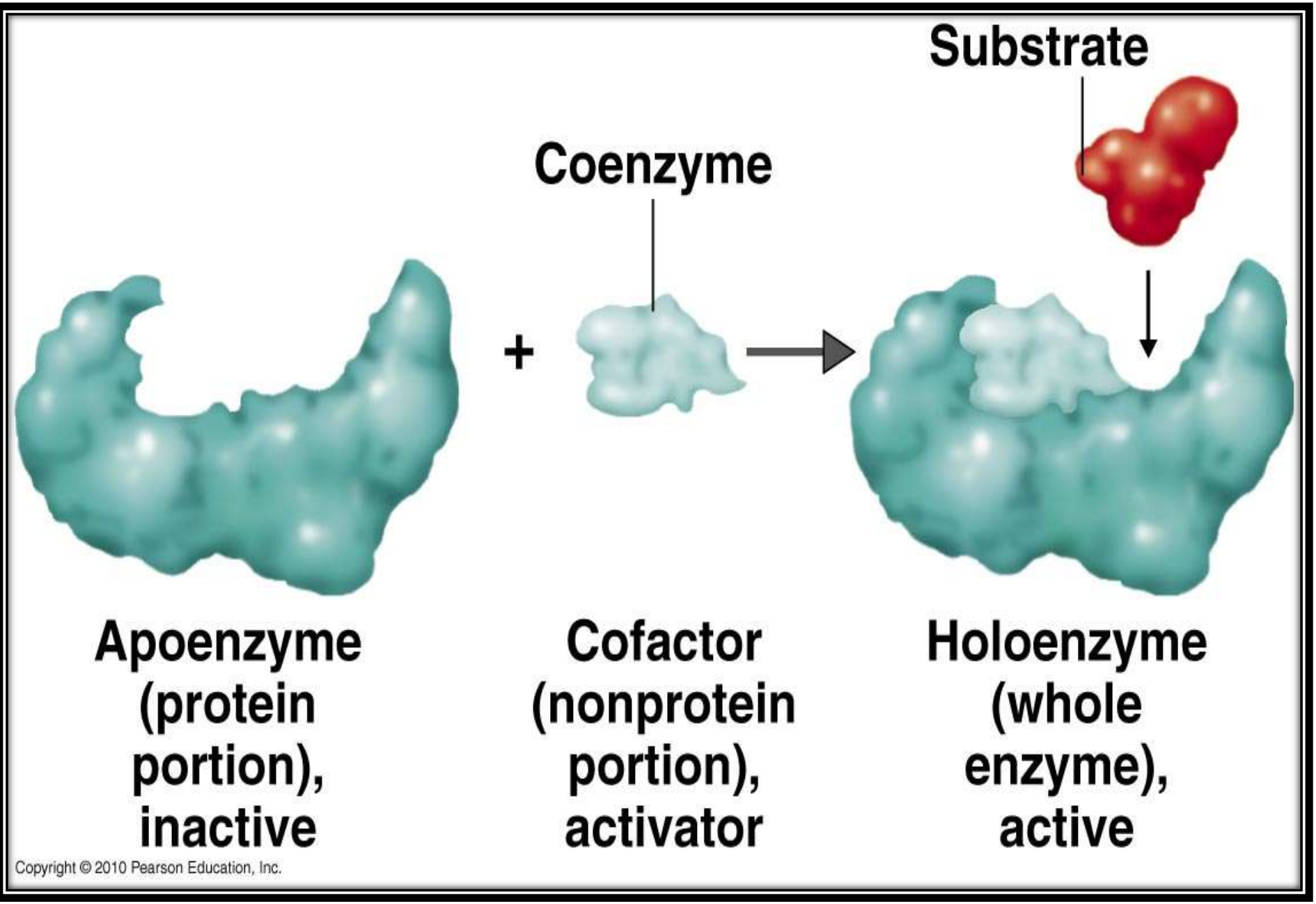


تأثير المرافقات الأنزيمية:

هناك بعض المركبات العضوية التى يلزم وجودها فى وسط التفاعل حتى يحتفظ الأنزيم بنشاطه ويؤدى وظيفته فى التفاعل - ولقد وجد أن فصل تلك المركبات من وسط التفاعل الأنزيمى يؤدى إلى فقد الأنزيم لنشاطه وأغلب هذه المركبات مقاوم للحرارة وينتمى إلى النيكلوتيدات البسيطة Nucluetides simple وتعرف بإسم االمرافق الأنزيمى Coenzyme ويعرف على أنه أحدى المواد المتفاعلة التى تدخل التفاعل أثناء إرتباطها بالأنزيم وهى تختلف عن المواد المتفاعلة الأخرى فى أنها مرتبطة بقوة أكبر نسبيا مع الـ Apoenzyme قبل وبعد حدوث التفاعل .


Apoenzyme
+
Cofactor
Holoenzyme


COFACTOR
INACTIVE PROTEIN
Without the cofactor attached, the protein is not active.
L1
L2
Binding site
ACTIVE PROTEIN
Cofactor binding activates the protein.
Copyright © 2007 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.
Fig. 2-18



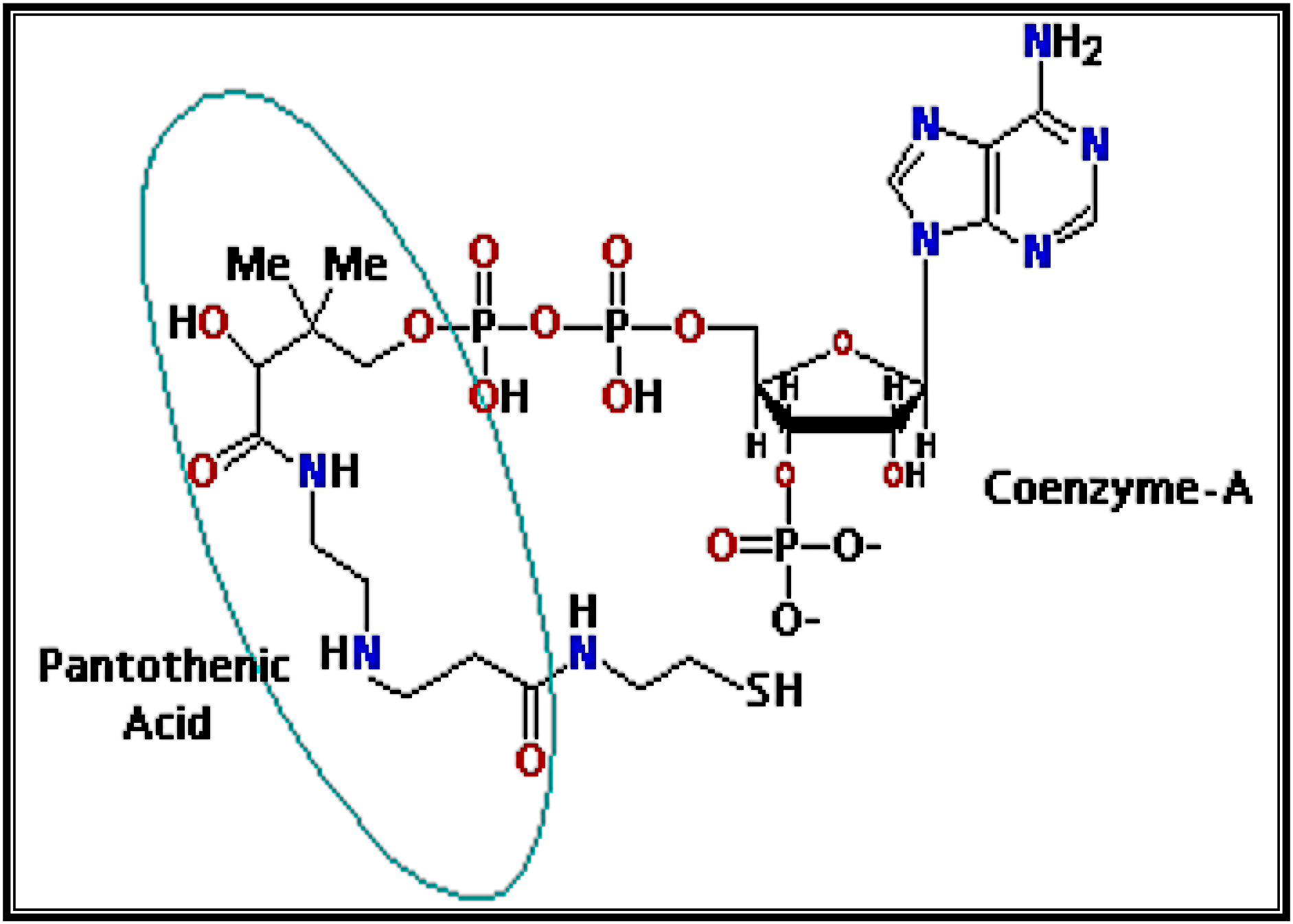
Copyright © 2010 Pearson Education, Inc.

وتدخل الفيتامينات فى تركيب العديد من المرافقات الأنزيمية ومن أمثلتها

إسم الفيتامين	المرافق الأنزيمى	نوع التفاعل الأنزيمى
١ـ ثيامين (B_1)	ثيامين بيروفوسفات (ATP)	نزع CO_2 من الأحماض الألفاكيتونية فى تفاعلات معينة فى السكريات الكيتونية.
٢ـ ريبوفلافين (B_2)	فلافين أحادى النيكلوتيد	تفاعلات كثيرة للأكسدة والإختزال.

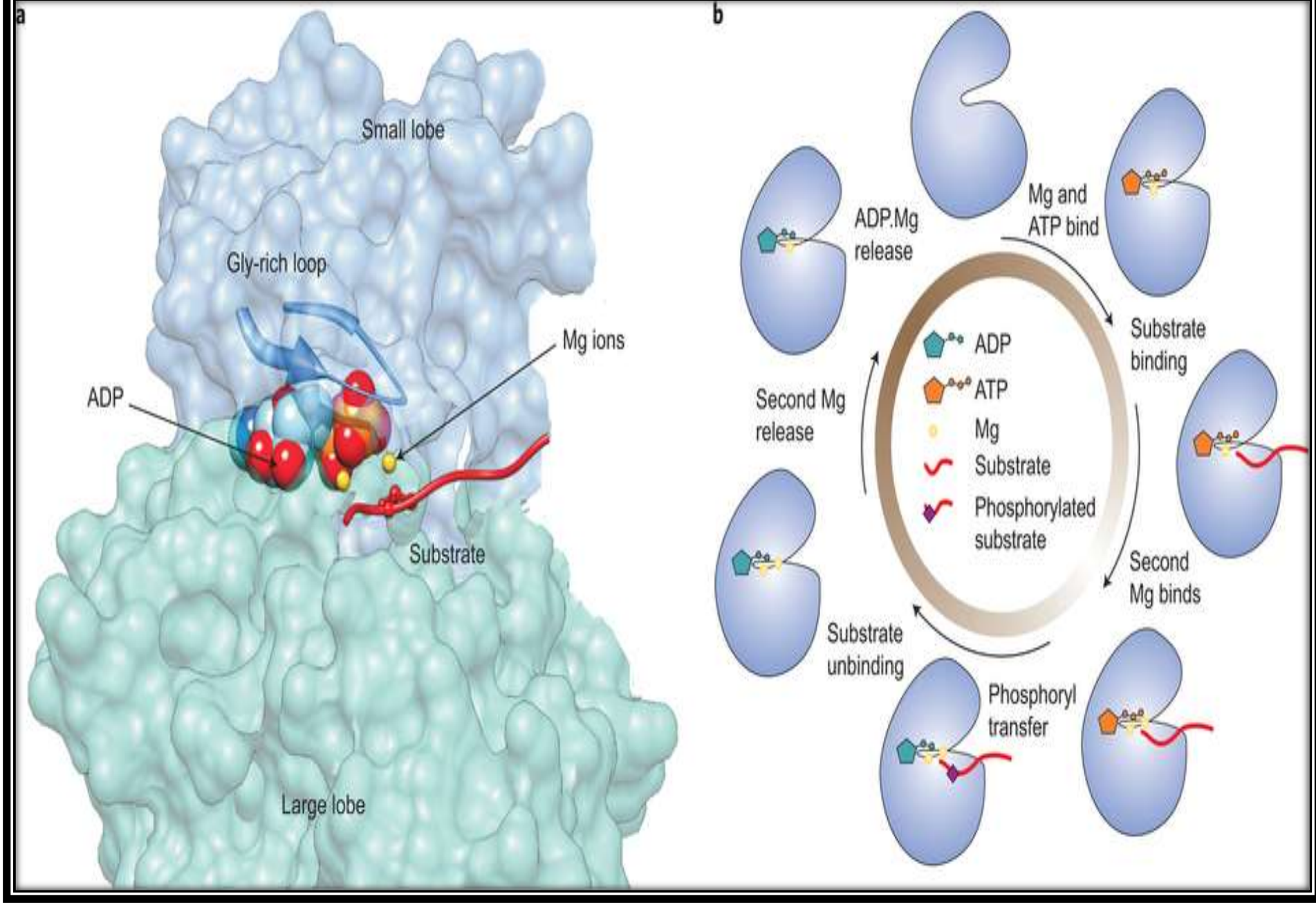
٣- بيريدوكسين (B_6)	بيرودكسال فوسفات	عدة تفاعلات خاصة بالأحماض الأمينية.
٤- نياسين	بيريدين ثنائى فوسفات النيوكليوتيد وكذلك ثلاثى الفوسفات	عديدة من تفاعلات الأكسدة والإختزال.
٥- حمض البانتوثينيك	مرافق أنزيم A ($CoA-SH$)	تفاعلات التمثيل الغذائى الخاصة بالأحماض الدهنية خاصة تلك التى تحتاج لنقل مجاميع الأستيل (CH_3CO)

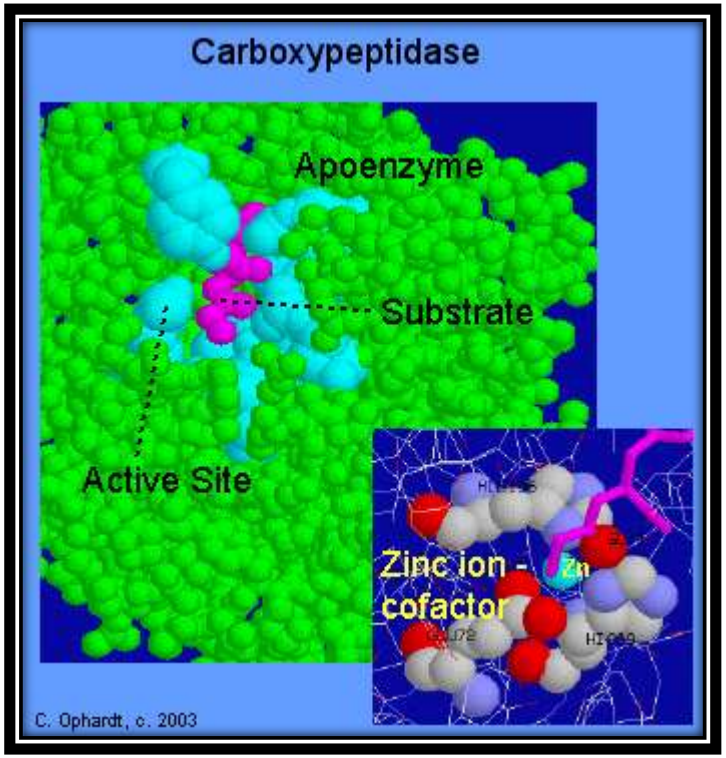
ومن الجدول السابق تتضح أهمية الفيتامينات حيث يؤدى نقصها إلى عدم تكوين المرافقات الأنزيمية بالكمية المناسبة وبالتالى حدوث إضطرابات فى التفاعلات الحيوية (الأنزيمية) وفى النهاية العديد من أعراض الأمراض التى يطلق عليها أمراض سوء التغذية. ومن امثلة المرافقات الانزيمية ما يلى :-

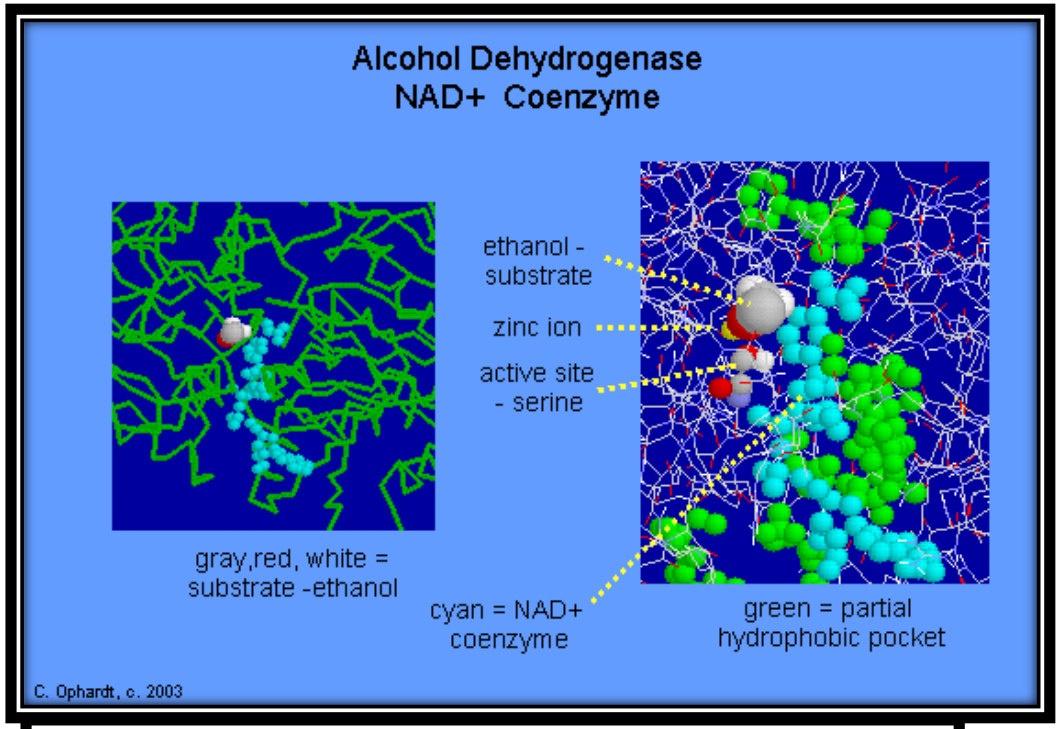

Coenzyme-A
Pantothenic Acid

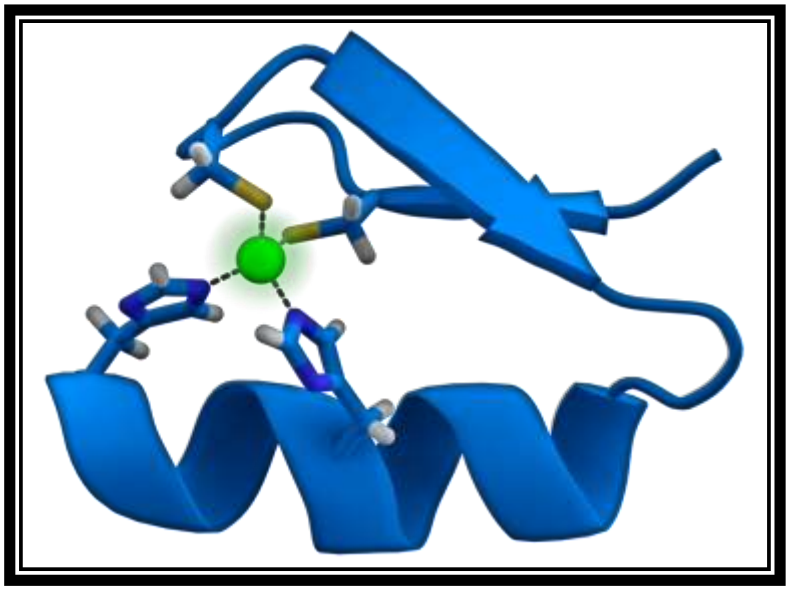
تأثير المنشطات الأيونية Ionic activators:

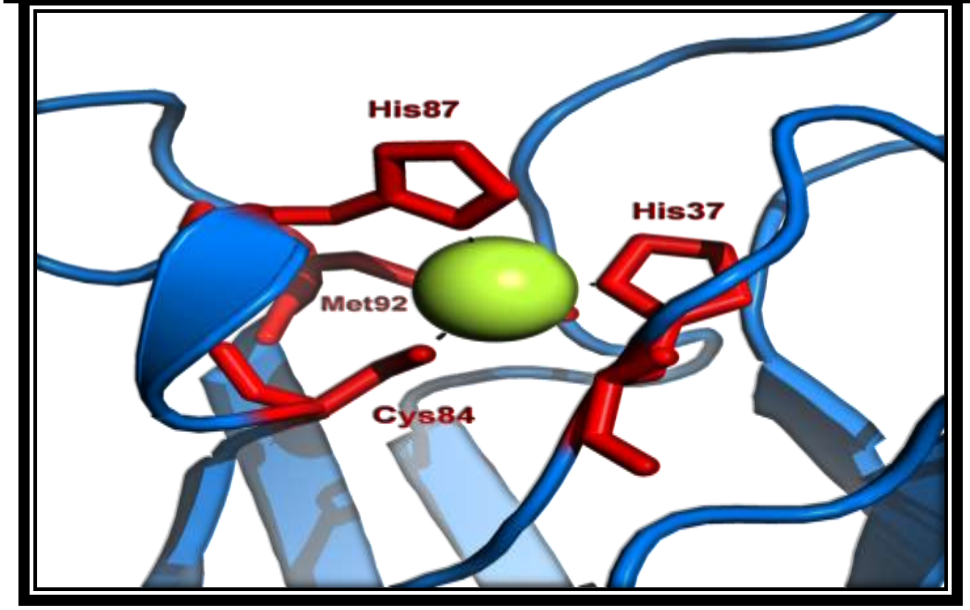
وتعمل تلك المواد الأيونية بكميات بسيطة على زيادة سرعة التفاعل الأنزيمى ومن الأيونات الهامة التى تعمل على تنشيط أنزيم الأميليز الخاص بتحليل النشا أيون الكلوريد (Cl^-) ومن الكاتيونات الهامة Mn^{+2}, K^+, Cu^{+2}, Ca^{+2} وهى تشترك فى كثير من التفاعلات الأنزيمية **ويمكن حصر عمل هذه المنشطات فى الأتى:**


a
Small lobe
Gly-rich loop
Mg ions
ADP
Substrate
Large lobe
b
ADP.Mg release
Mg and ATP bind
Substrate binding
Second Mg release
ADP
ATP
Mg
Substrate
Phosphorylated substrate
Second Mg binds
Substrate unbinding
Phosphoryl transfer


Carboxypeptidase
Apoenzyme
Substrate
Active Site
Zinc ion -
cofactor
C. Ophardt, c. 2003

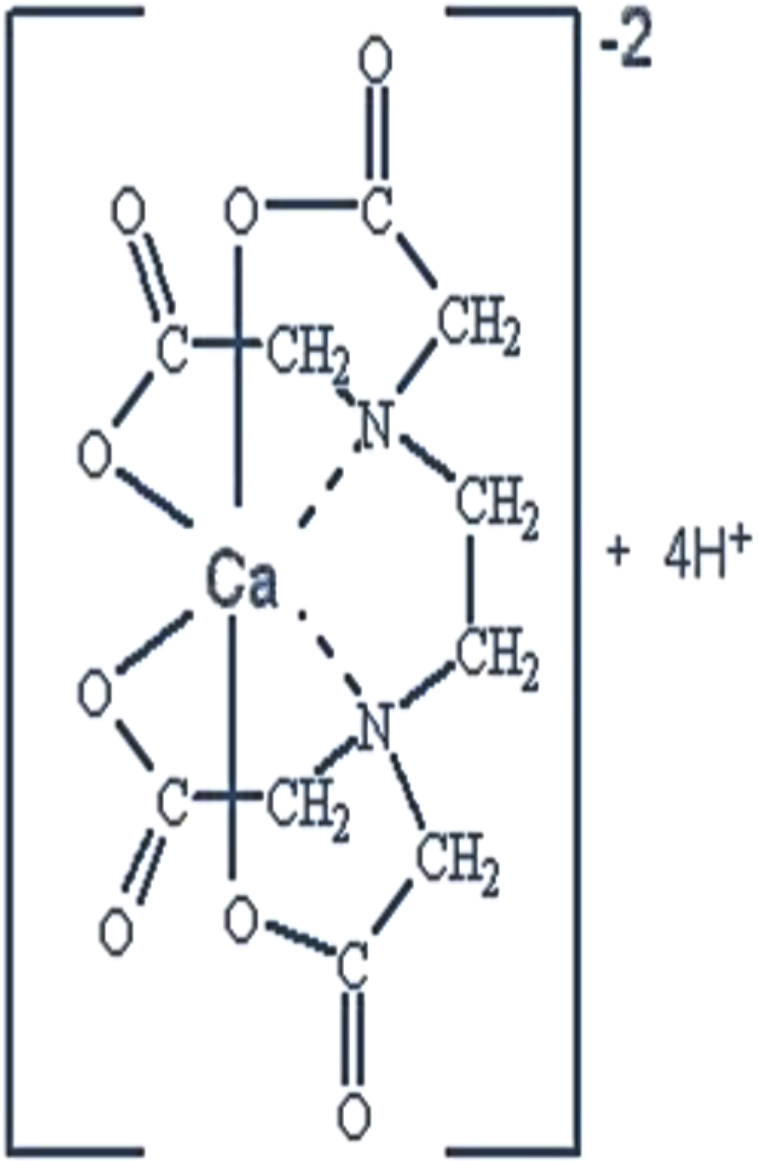

Alcohol Dehydrogenase
NAD+ Coenzyme
ethanol -
substrate
zinc ion
active site
- serine
gray,red, white =
substrate -ethanol
cyan = NAD+
coenzyme
green = partial
hydrophobic pocket
C. Ophardt, c. 2003



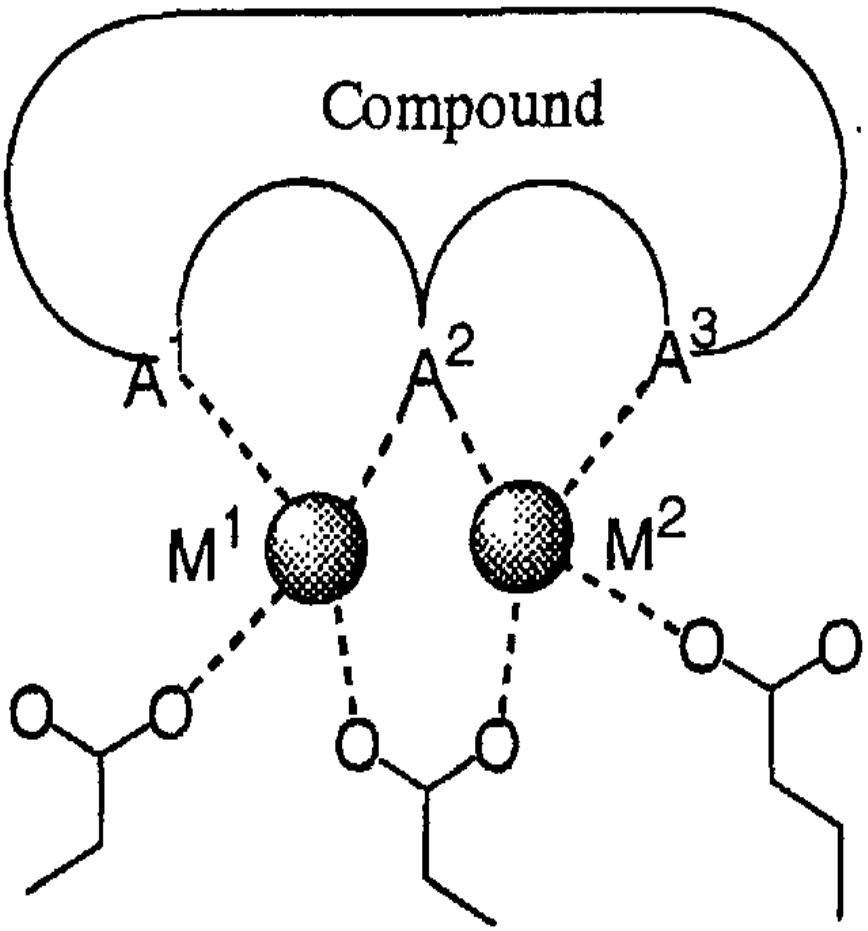

His87
His37
Met92
Cys84

أ- تكون مركبات مخلبية **Chelate compounds**

بين الأنزيم والمادة المراد التفاعل معها مثال ذلك التفاعلات الأنزيمية الخاصة بنقل مجموعة الفوسفات من مركب إلى أخر تحتاج إلى أيون Mg^{+2} حيث يعمل **Chelate** بين الأنزيم ومجموعة الفوسفات فى المركب الفوسفاتى كما هو موضح بالرسم التالى:



soluble chelate



Enzyme (active center)

is a divalent metal ion

٢- تعمل كحاملة للألكترونات **فى تفاعلات الأكسدة والإختزال** مثل أيون الحديديك Fe^{+3} فى مركب السيتوكروم الذى يختزل إلى أيون الحديدوز Fe^{+2} ويمكن إعادة أكسدته مرة أخرى عن طريق نقل الألكترون إلى مركب آخر - وكذلك أيون النحاسيك Cu^{+2} الذى يختزل إلى نحاسوز Cu^{+} ثم يعاد أكسدته مرة أخرى.

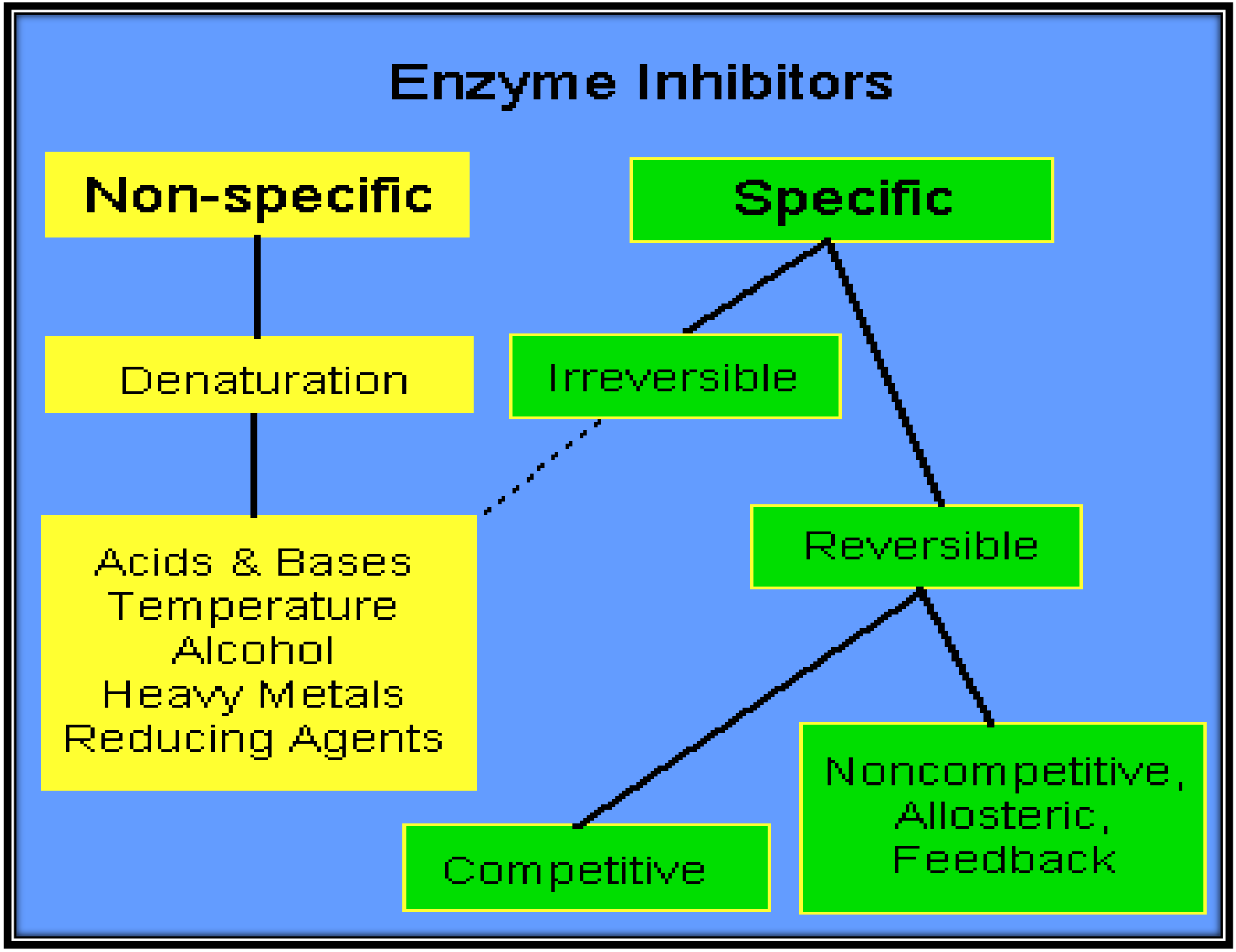
٣- بجانب ذلك أن هذه المنشطات الأيونية تعمل على تنشيط أنزيمات معينة فقط وقد يكون تأثيرها سام ومثبط على الأنزيمات الأخرى فمثلا HCN-(CN-) يعمل كمنشط لأنزيمات التحليل المائى للمواد البروتينية بينما تكون مثبط على أنزيم زيمز Zymase مثلا الخاص بتحويل الجلوكوز إلى كحول إيثايل وحمض خليك.

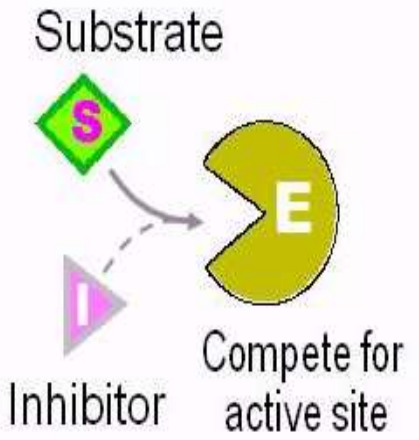
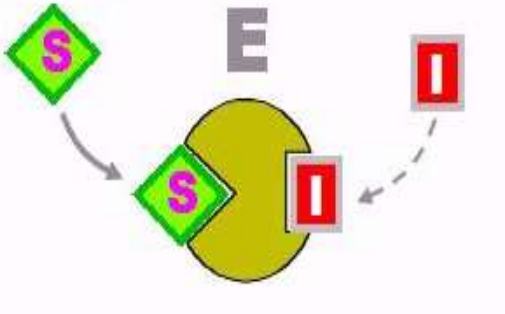
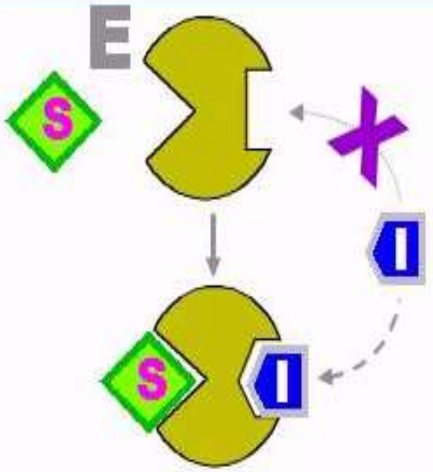
٤- كذلك وجد أن التركيزات المرتفعة من هذه المنشطات الأيونية لها فعل عكسى وتقوم بتثبيط عمل الأنزيم أى أن التركيزات البسيطة تعمل كمنشطات بينما التركيزات العالية تعمل كمثبطات لنفس التفاعل الأنزيمى.

تثبيط نشاط الأنزيمات

Inhibition of enzyme activity

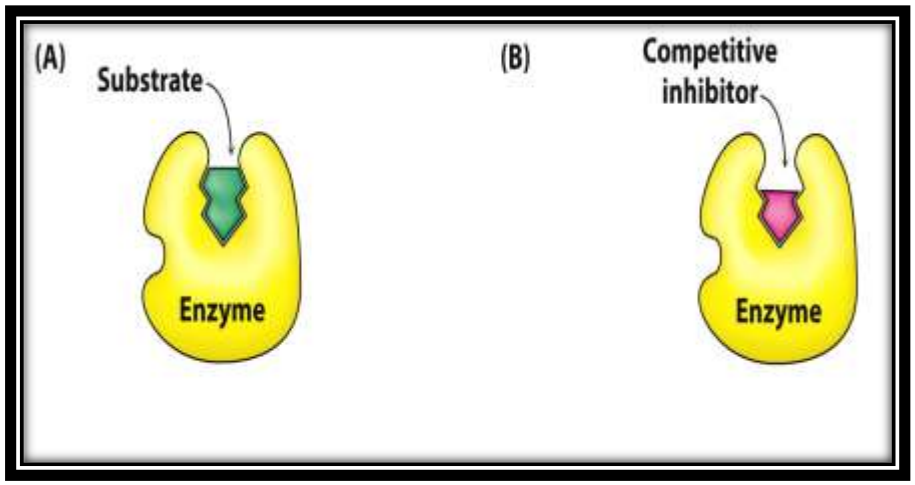
المثبطات عبارة عن مركبات تؤثر على سرعة نشاط الأنزيم وهذا التثبيط قد يكون مستديم وقد يكون مؤقت ويرجع التثبيط المستديم لبعض المركبات إلى إرتباطها إرتباطا كيماويا مع الأنزيمات خصوصا لو كان هذا الأرتباط يقع على المراكز النشطة في جزيئات الأنزيمات وينقسم تثبيط الأنزيمات إلى عدة أقسام حسب تركيب المادة المثبطة.

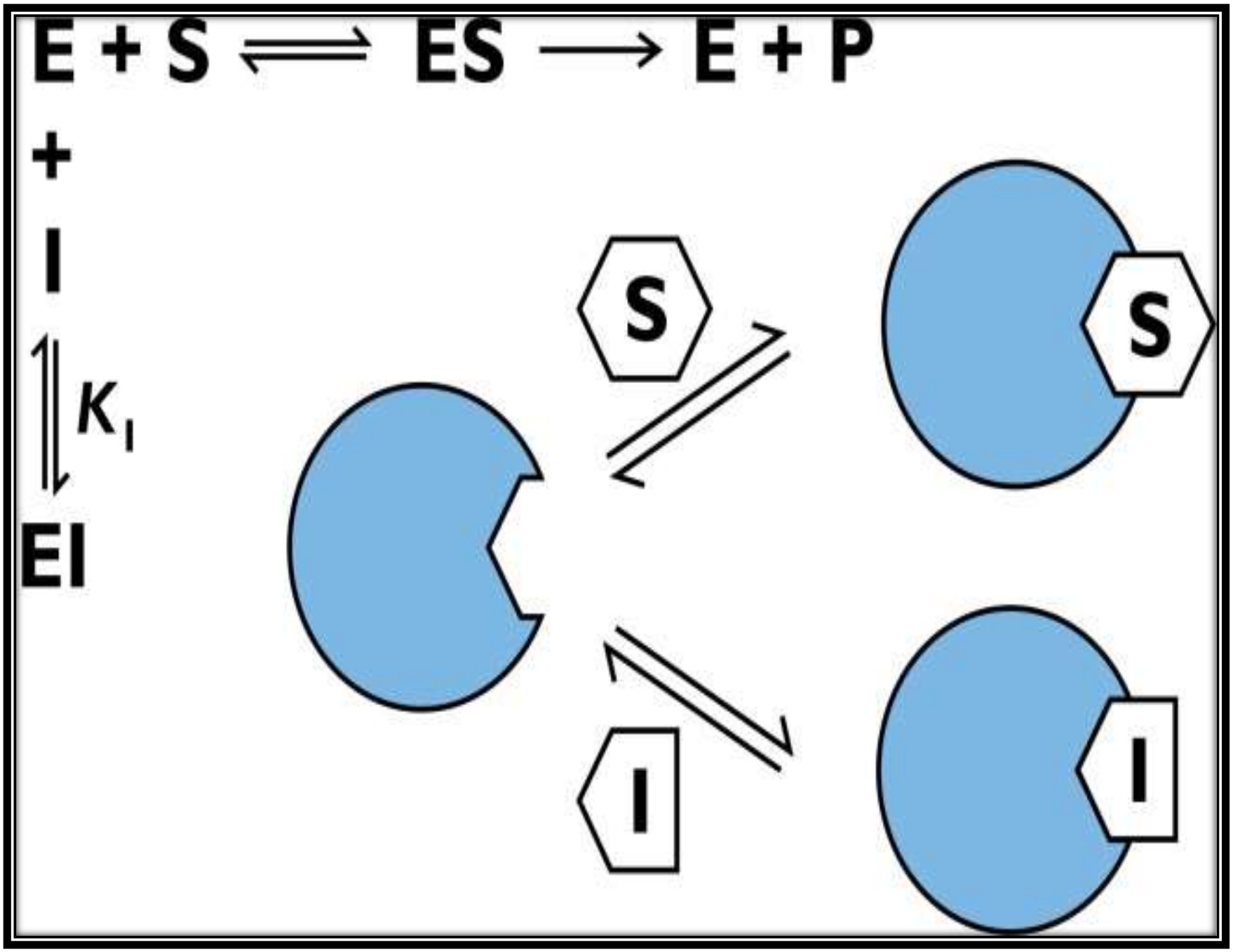

Enzyme Inhibitors
Non-specific
Specific
Denaturation
Irreversible
Acids & Bases
Temperature
Alcohol
Heavy Metals
Reducing Agents
Reversible
Competitive
Noncompetitive,
Allosteric,
Feedback

	Competitive	Non-competitive	Uncompetitive
Cartoon Guide			
Equation and Description	$E + S \rightleftarrows ES \rightarrow E + P$ $+$ I $\updownarrow$ EI	$E + S \rightleftarrows ES \rightarrow E + P$ $+$ $+$ I I $\updownarrow$ $\downarrow\uparrow$ $EI + S \rightarrow EIS$	$E + S \rightleftarrows ES \rightarrow E + P$ $+$ I $\updownarrow$ EIS
	[*I*] binds to free [E] only, and competes with [S]; increasing [S] overcomes Inhibition by [*I*].	[*I*] binds to free [E] or [ES] complex; Increasing [S] can not overcome [*I*] inhibition.	[*I*] binds to [ES] complex only, increasing [S] favors the inhibition by [*I*].

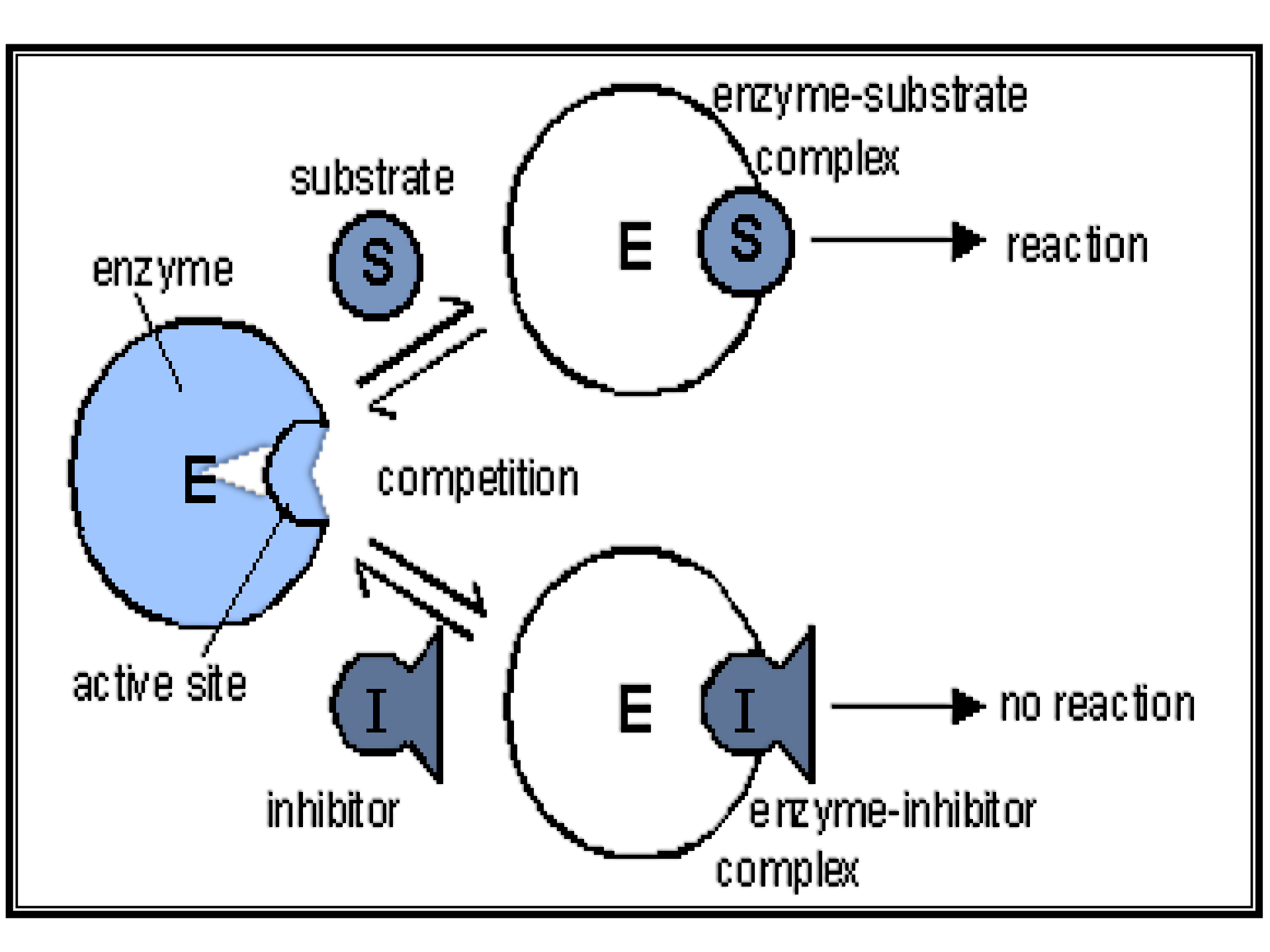
ا- التثبيط بالتنافس Competitive inhibition:

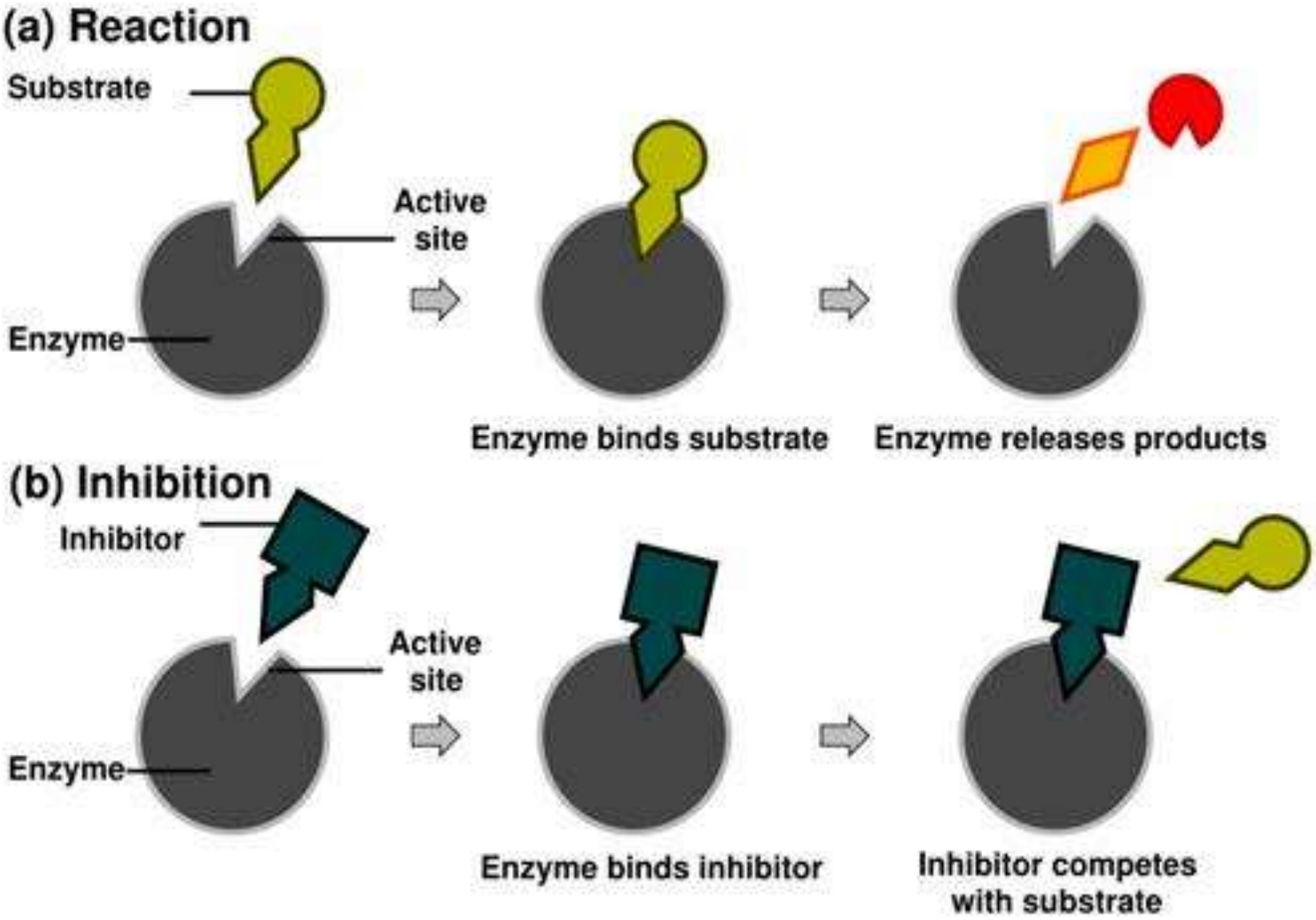
يطلق هذا الإصطلاح على الحالات التى تكون فيها المادة المثبطة مشابهة فى التركيب للمادة المتفاعلة وتتنافس معها على المركز النشط للأنزيم مما يؤدى إلى زيادة تراكم المادة المتفاعلة ومن أمثلة ذلك أنزيم Succinic dehydrogenase الذى يقوم بنزع ذرتى أيدروجين من حمض السكسينيك ويحوله إلى فيوماريك.



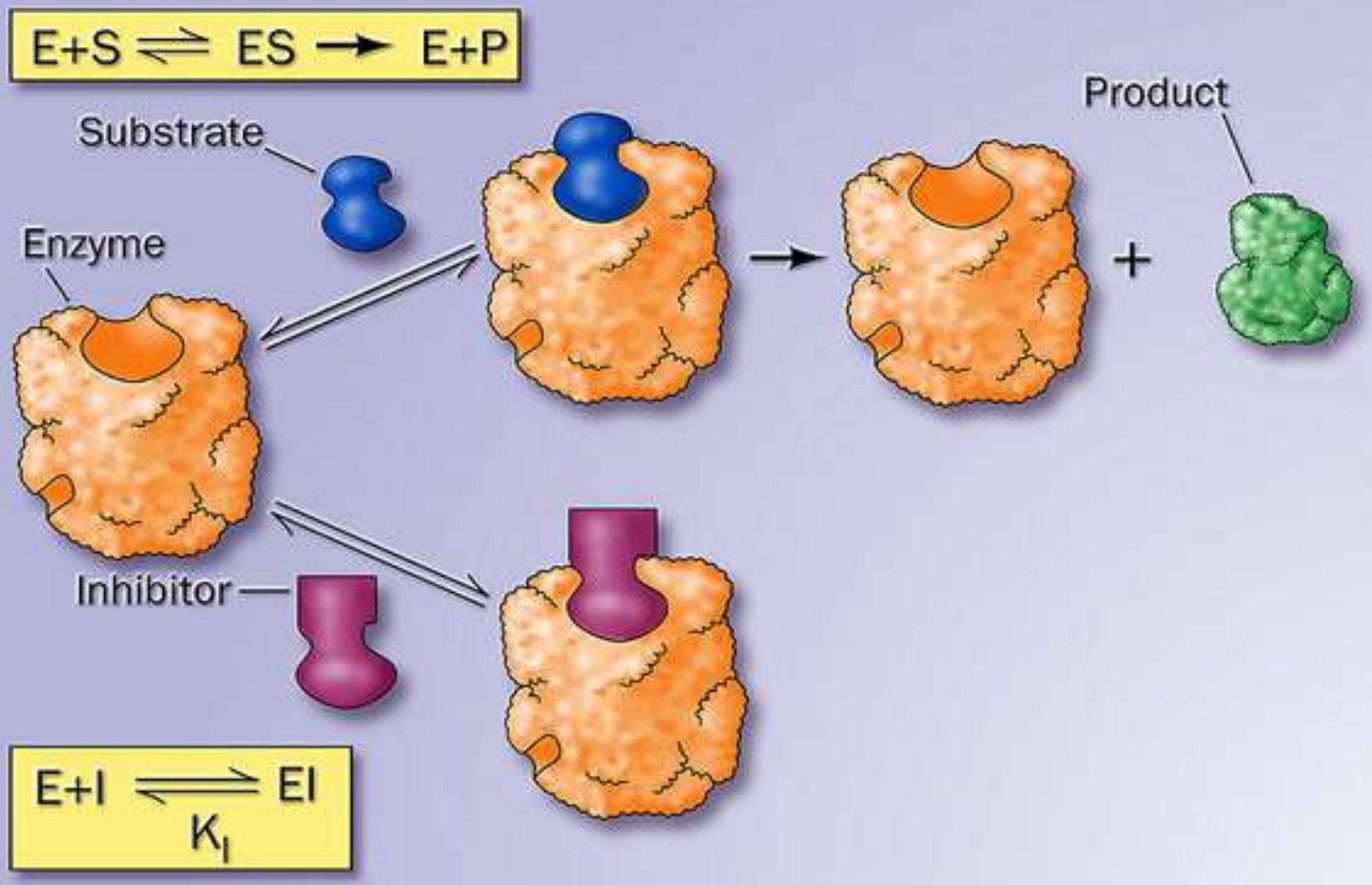


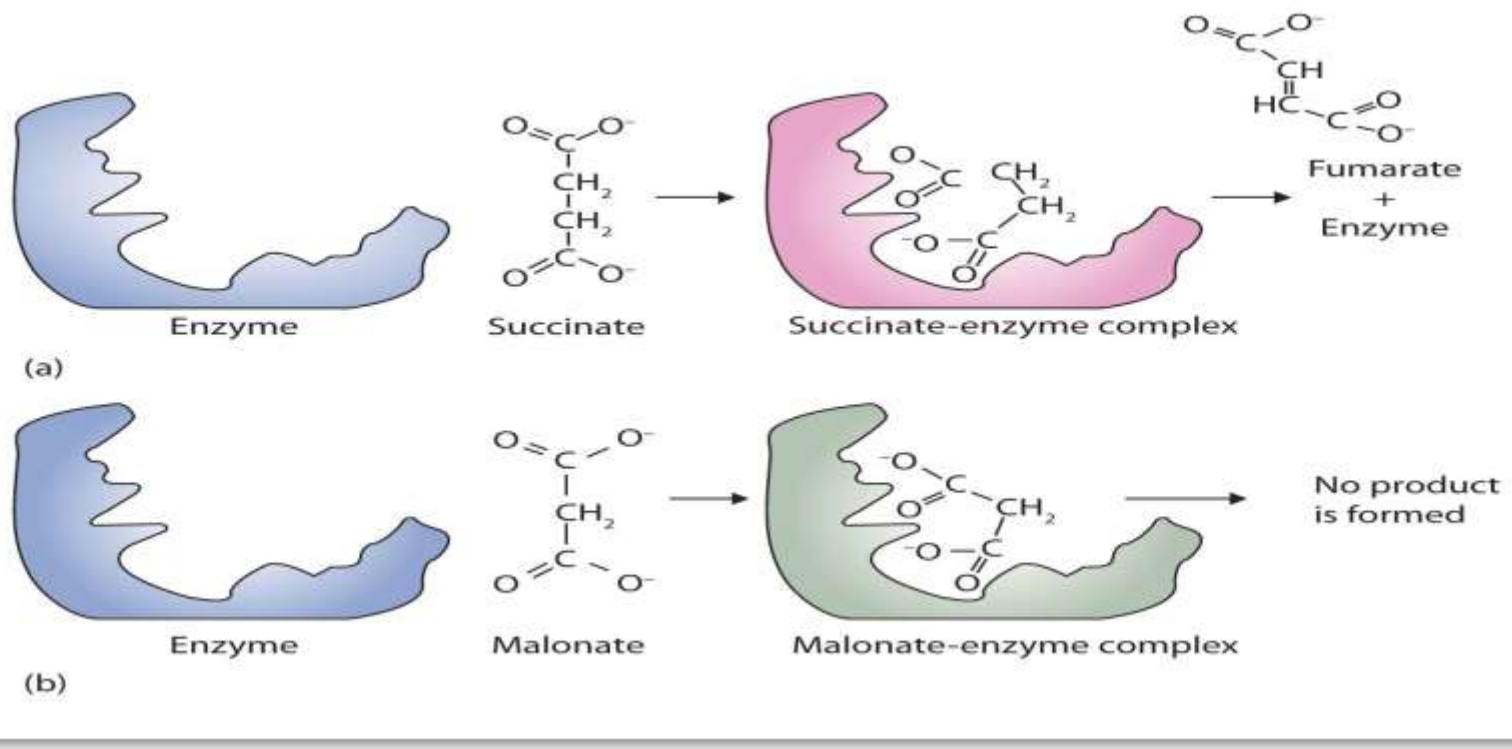
E + S ⇌ ES → E + P
+
I
K_I
EI
S
S
I
I


enzyme-substrate
complex
substrate
enzyme
S
E
S
reaction
E
competition
active site
I
E
I
no reaction
inhibitor
enzyme-inhibitor
complex


(a) Reaction
Substrate
Active site
Enzyme
Enzyme binds substrate
Enzyme releases products
(b) Inhibition
Inhibitor
Active site
Enzyme
Enzyme binds inhibitor
Inhibitor competes with substrate

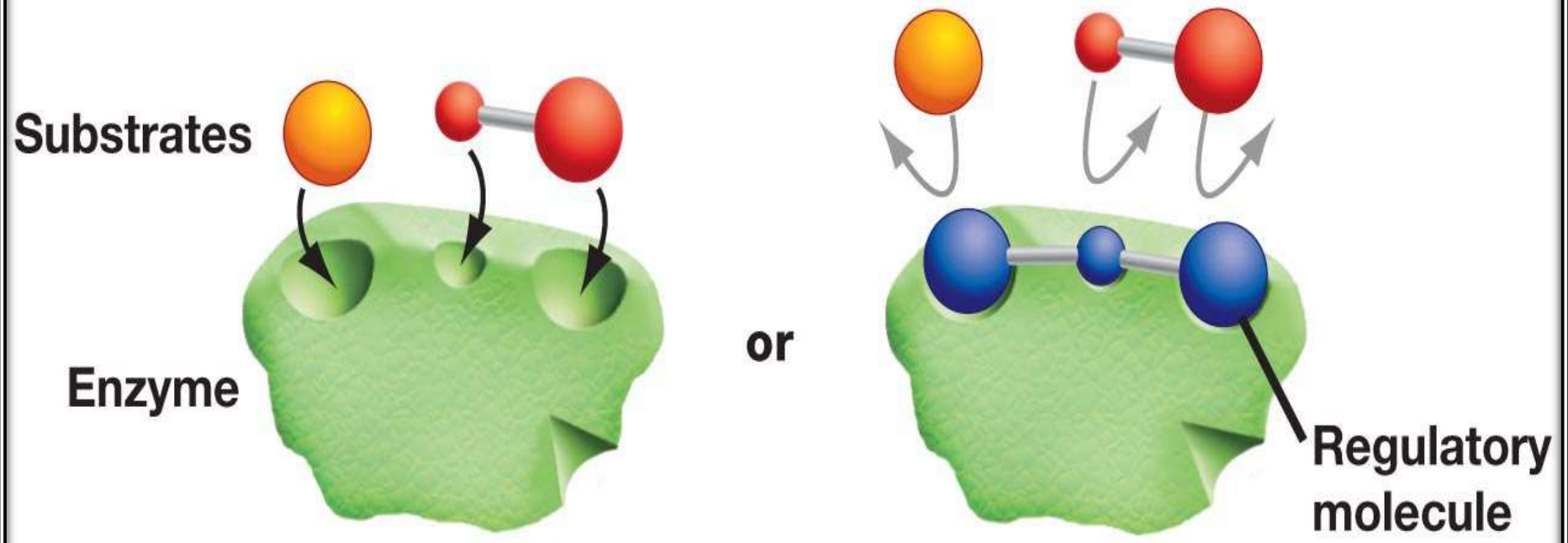
Competitive Inhibition





ويثبط هذا التفاعل حمض المالونيك $HOOC-CH_2COOH$ حيث لا يمكن للأنزيم من التمييز بين المادتين وبذلك يتحد مع كل منهما (عند رقم pH حيث يحمل كل منهما شحنتين سالبتين).

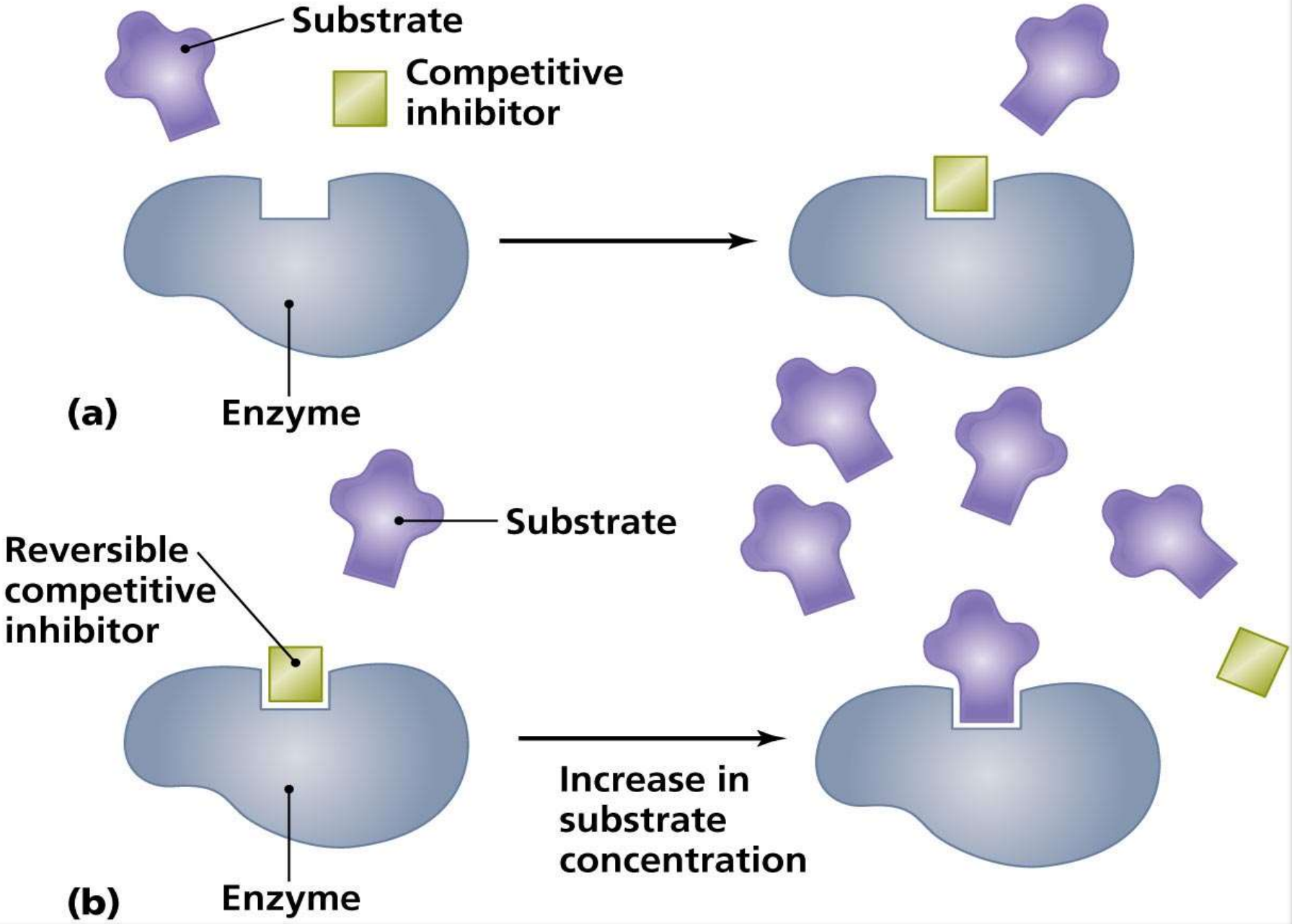
(a) Competitive inhibition



Enzyme in absence of regulation

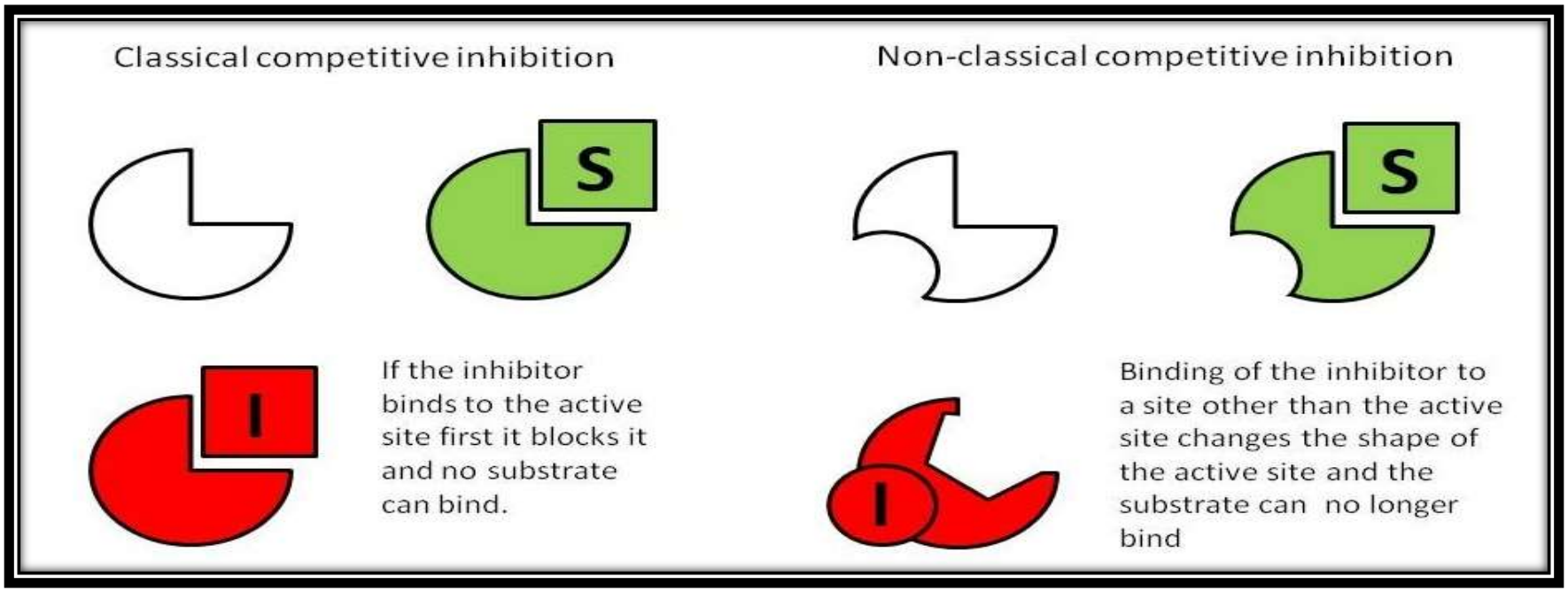
Competitive inhibition
The substrates cannot bind when a regulatory molecule binds to the enzyme's active site.

© 2011 Pearson Education, Inc.

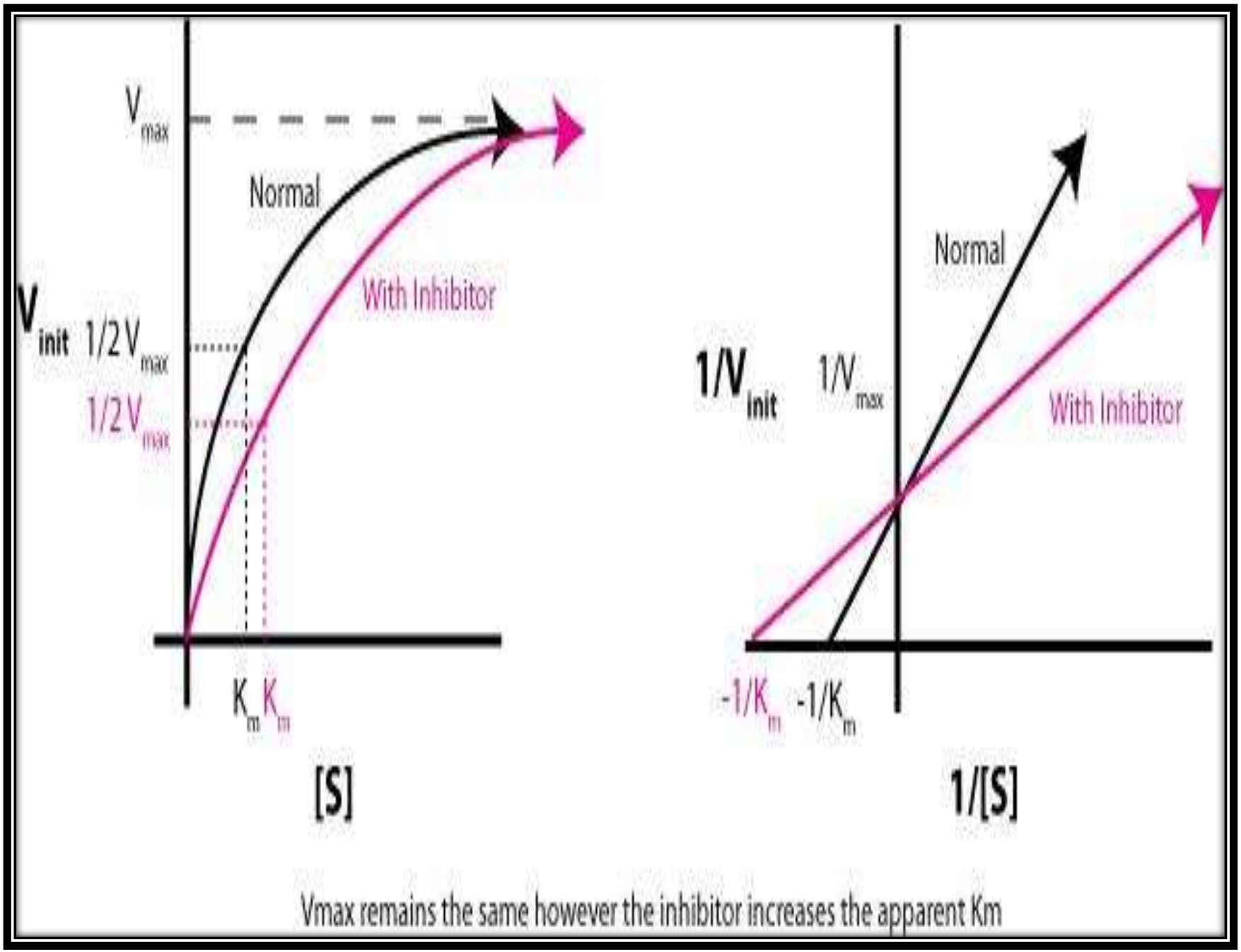

Substrate
Competitive inhibitor
(a)
Enzyme
Substrate
Reversible competitive inhibitor
Increase in substrate concentration
(b)
Enzyme

ويرجع تأثير المادة المثبطة إلى:

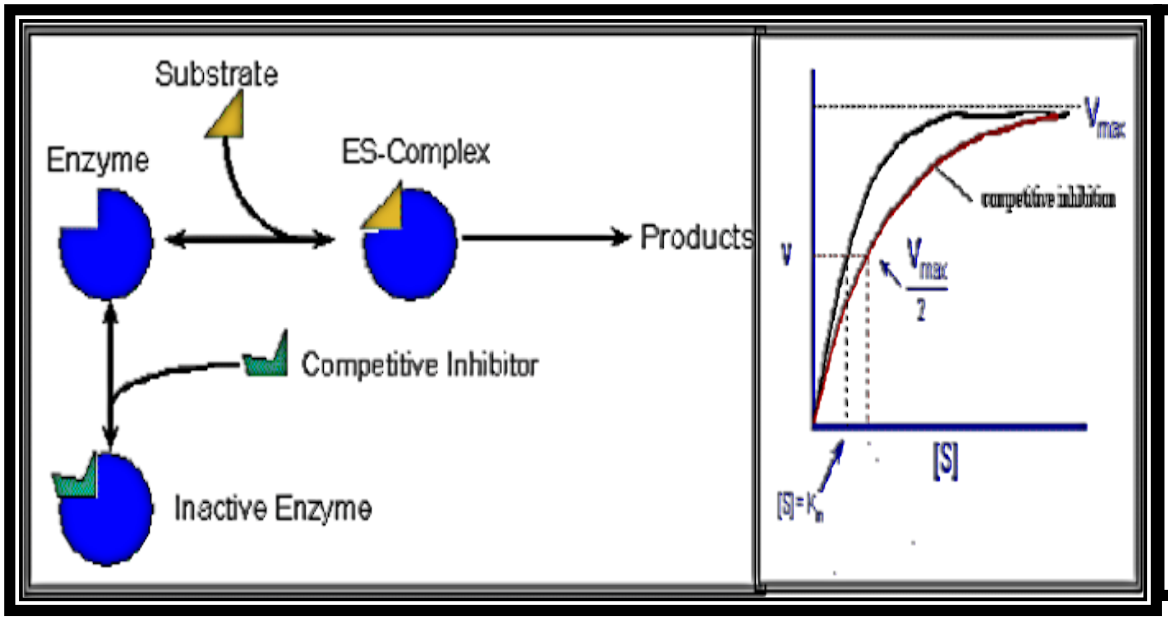
١. تركيز المادة المثبطة فى المحلول.
٢. تركيز المادة التى يؤثر عليها الأنزيم.
٣. علاقة المادة المثبطة والمادة التى يؤثر عليها الأنزيم.

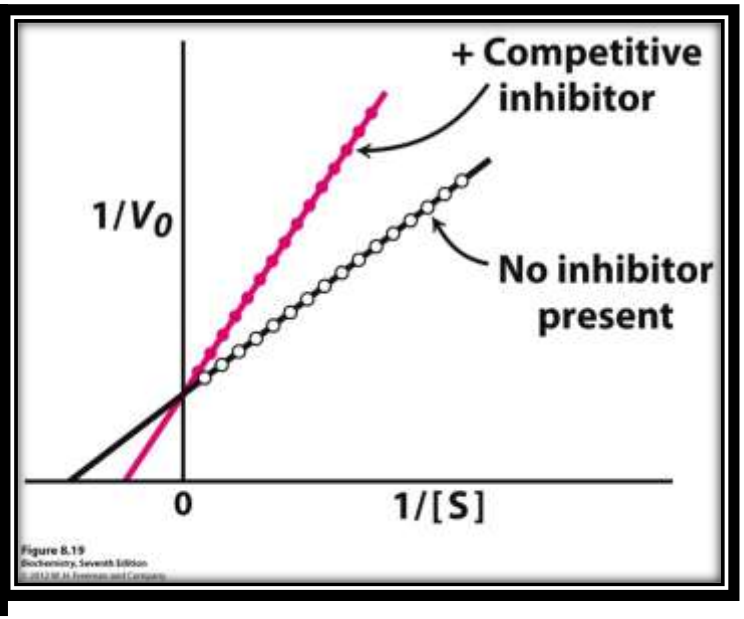


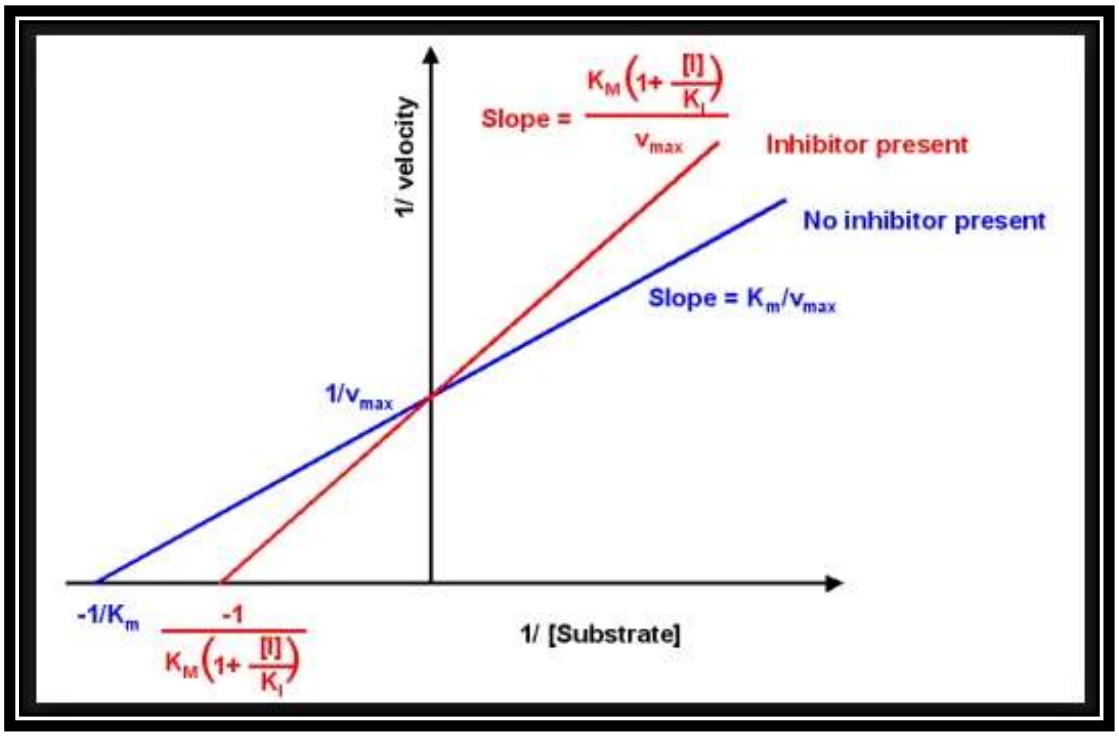
ويلاحظ فى هذه الحالة أن لتأثير المثبط للمادة تأثير عكسى. ولما كانت المواقع النشطة فى كلا من الأنزيم والمادة هى المحدد لنشاط الأنزيم أو درجة التثبيط للمركب المثبط لذا يلاحظ أن مقدار K_m (ثابت ميكاليس) يتأثر بينما لا تتأثر السرعة القصوى للتفاعل الأنزيمى (V_{max}) ويمكن توضيح ذلك بالرسم التالى:-

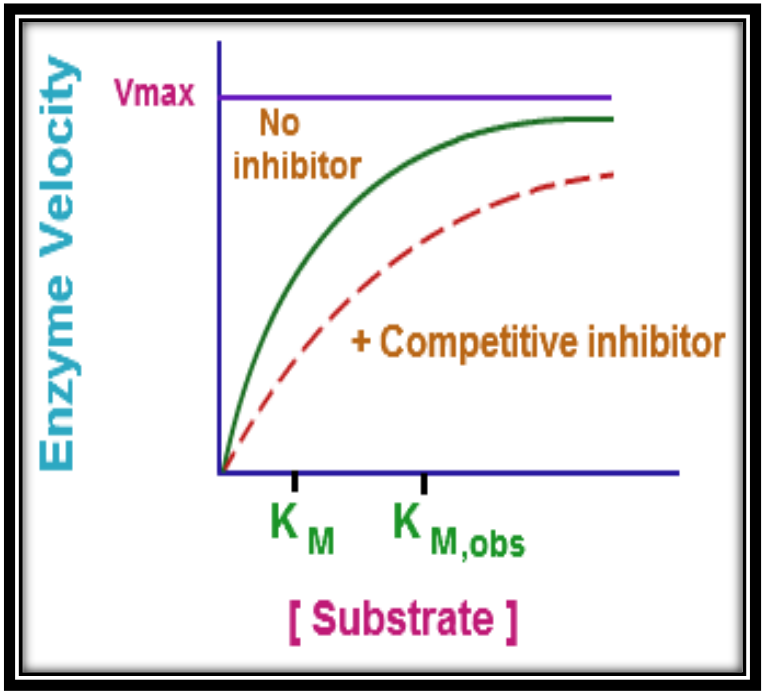


Vmax remains the same however the inhibitor increases the apparent Km


Substrate
Enzyme
ES-Complex
Products
Competitive Inhibitor
Inactive Enzyme
V_{max}
competitive inhibition
v
$\frac{V_{max}}{2}$
[S]
[S]=K_m

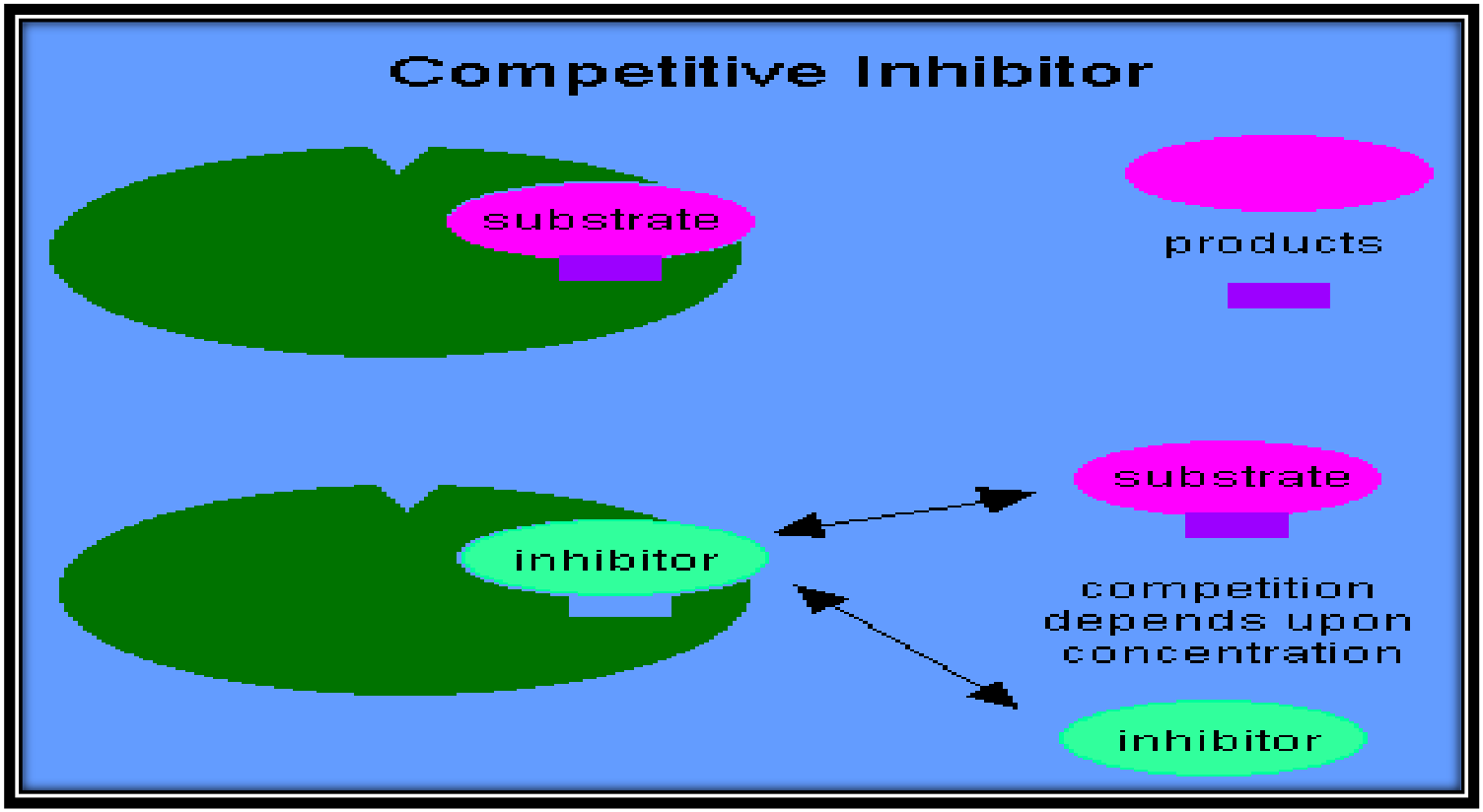

+ Competitive inhibitor
1/V_0
No inhibitor present
0
1/[S]
Figure 8.19
Biochemistry, Seventh Edition


1/ velocity
Slope = $\frac{K_M\left(1+\frac{[I]}{K_I}\right)}{V_{max}}$
Inhibitor present
No inhibitor present
Slope = K_m/v_{max}
$1/v_{max}$
$-1/K_m$
$\frac{-1}{K_M\left(1+\frac{[I]}{K_I}\right)}$
1/ [Substrate]


Enzyme Velocity
Vmax
No inhibitor
+ Competitive inhibitor
K_M
$K_{M,obs}$
[Substrate]

وفى وجود تركيز ثابت من المثبط بالتنافس تؤدى زيادة المادة المتفاعلة تبعا لقانون فعل الكتلة إلى تقليل أثر المثبط بحيث تكون السرعة القصوى ثابتة فى وجود أو غياب المثبط. ويطلق على هذا النوع من التثبيط بالتنافس الكامل

Fully competitive inhibition

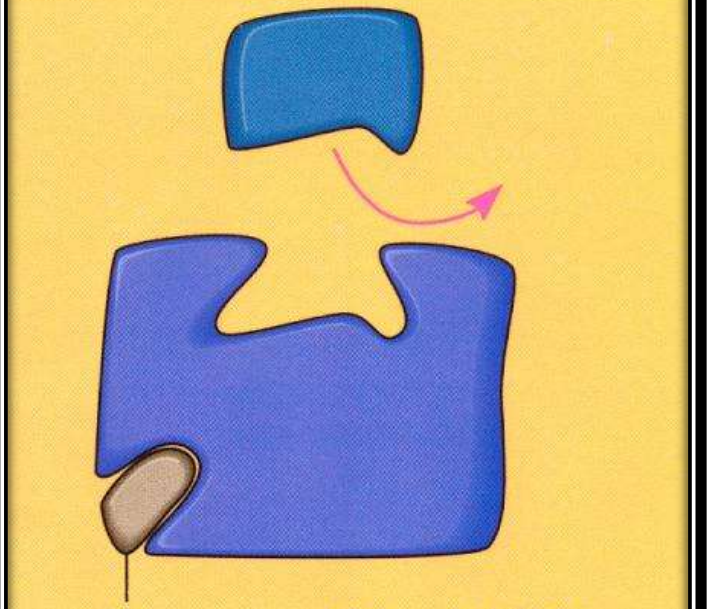


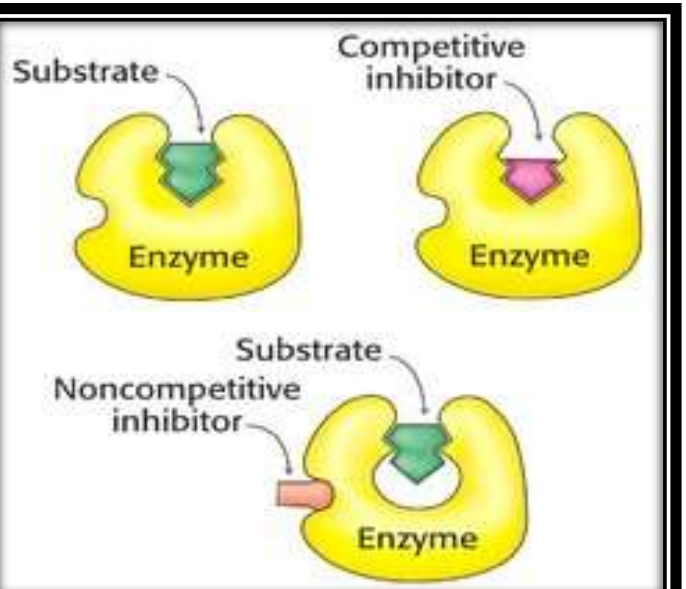
وقد يكون التثبيط التنافس جزئى يطلق علية Competitive inhibition partially حيث يتحد المركب المتنافس بمكان أخر من الأنزيم خلاف المركز النشط ولكن قريب منه بما يكفى للتأثير على جاذبية الأنزيم للمادة المتفاعلة وذلك يكون التثبيط فى هذه الحالة جزئيا.

التثبيط الغير متنافس

Non-competitive inhibition:

يطلق هذا الإصطلاح على الحالات التى لا يؤثر فيها المثبط على قيمة ثابت ميكاليس وأنما يؤثر على السرعة القصوى (V_{max}) وهذا النوع من التثبيط غير عكسى بزيادة تركيز المادة المتفاعلة حيث أن المثبط يتحد بطريقة غير قابلة لتفاعل عكسى مع المراكز النشطة على سطح الأنزيم بدون أن تتحلل بزيادة تركيز المادة المتفاعلة



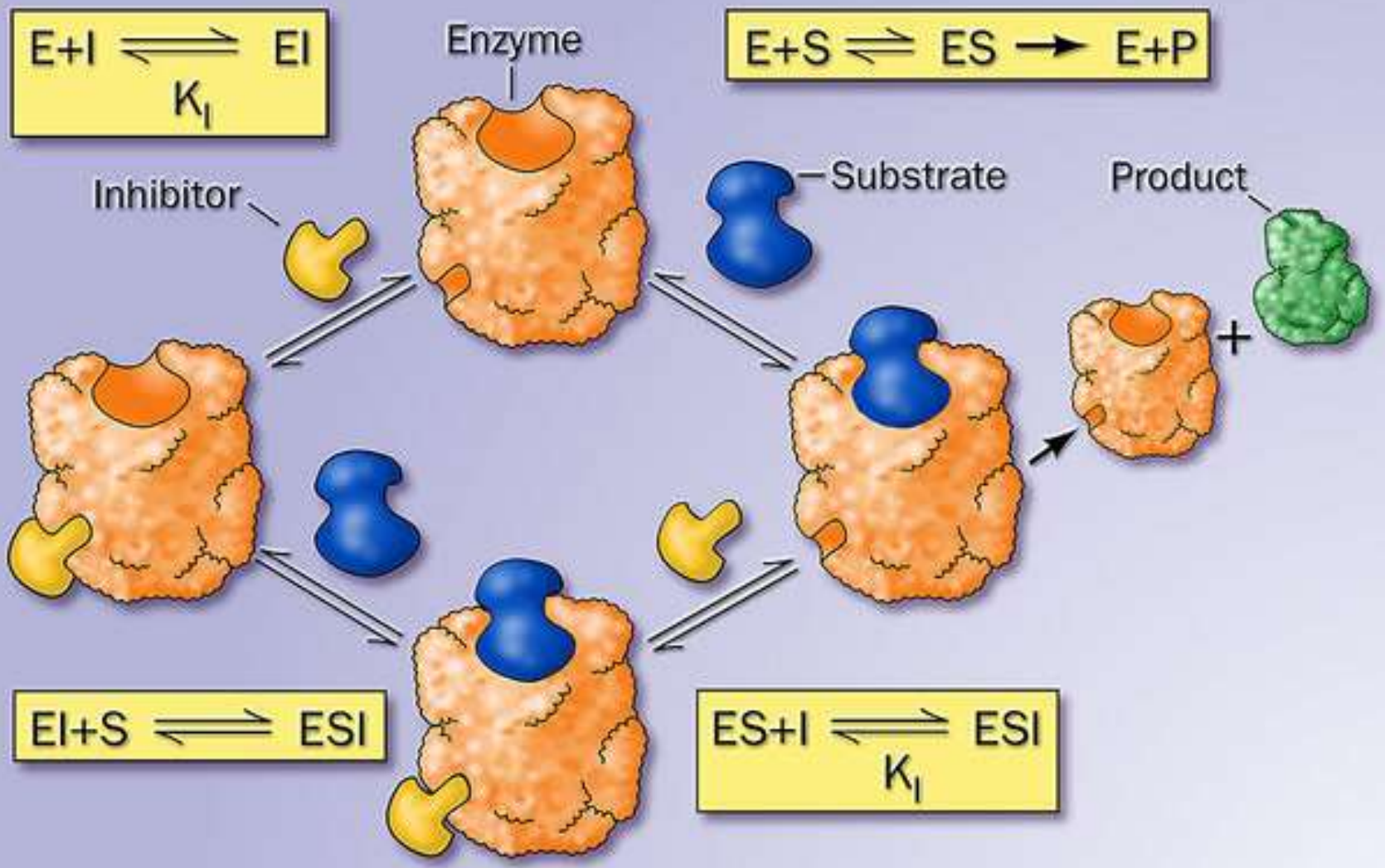


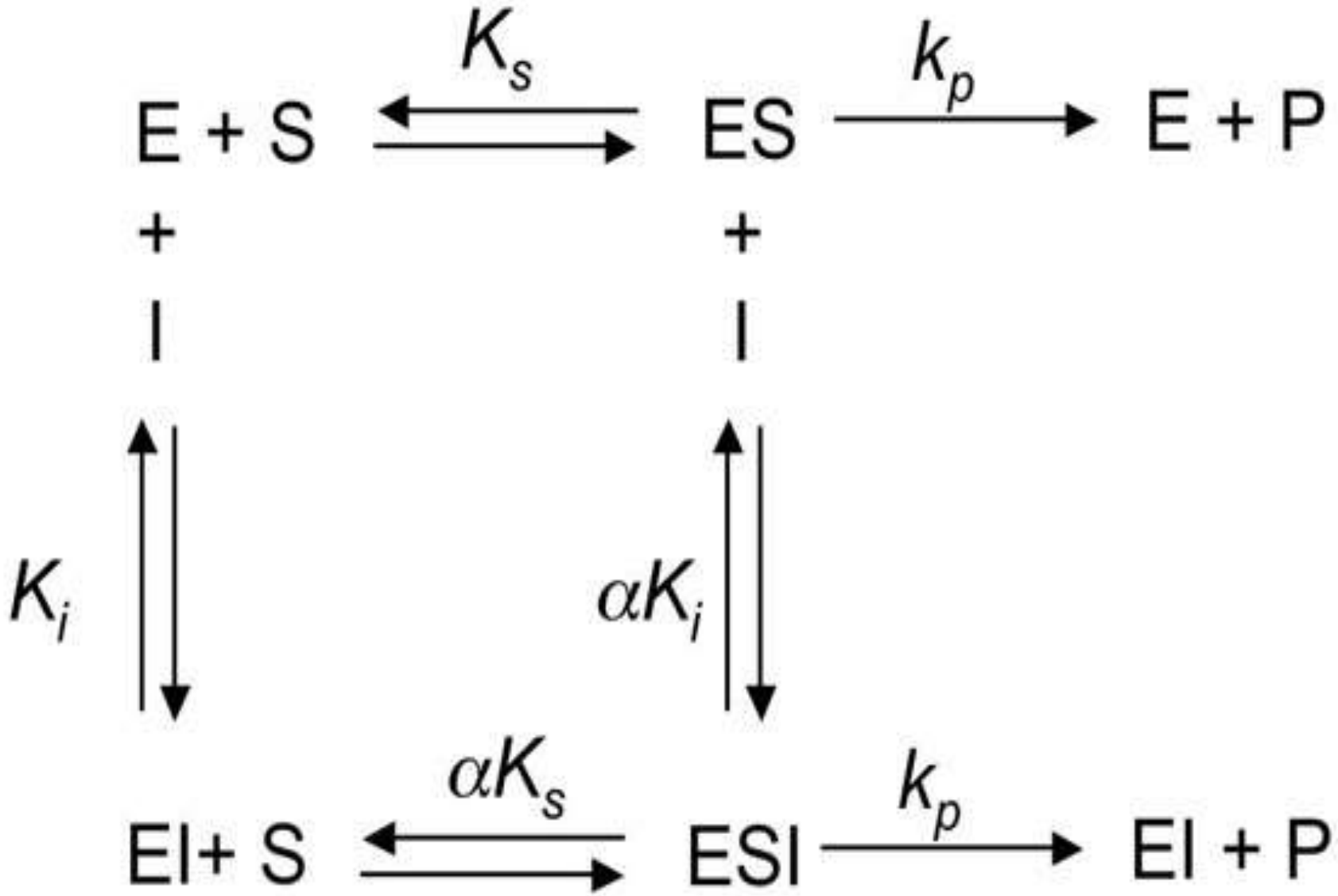
ويلاحظ هنا ان المثبط يرتبط على سطح الانزيم في مناطق غيرالمراكز الفعالة ولكن لها تاثير على ارتباط المادة المتفاعلة ويتوقف هذا النوع على:

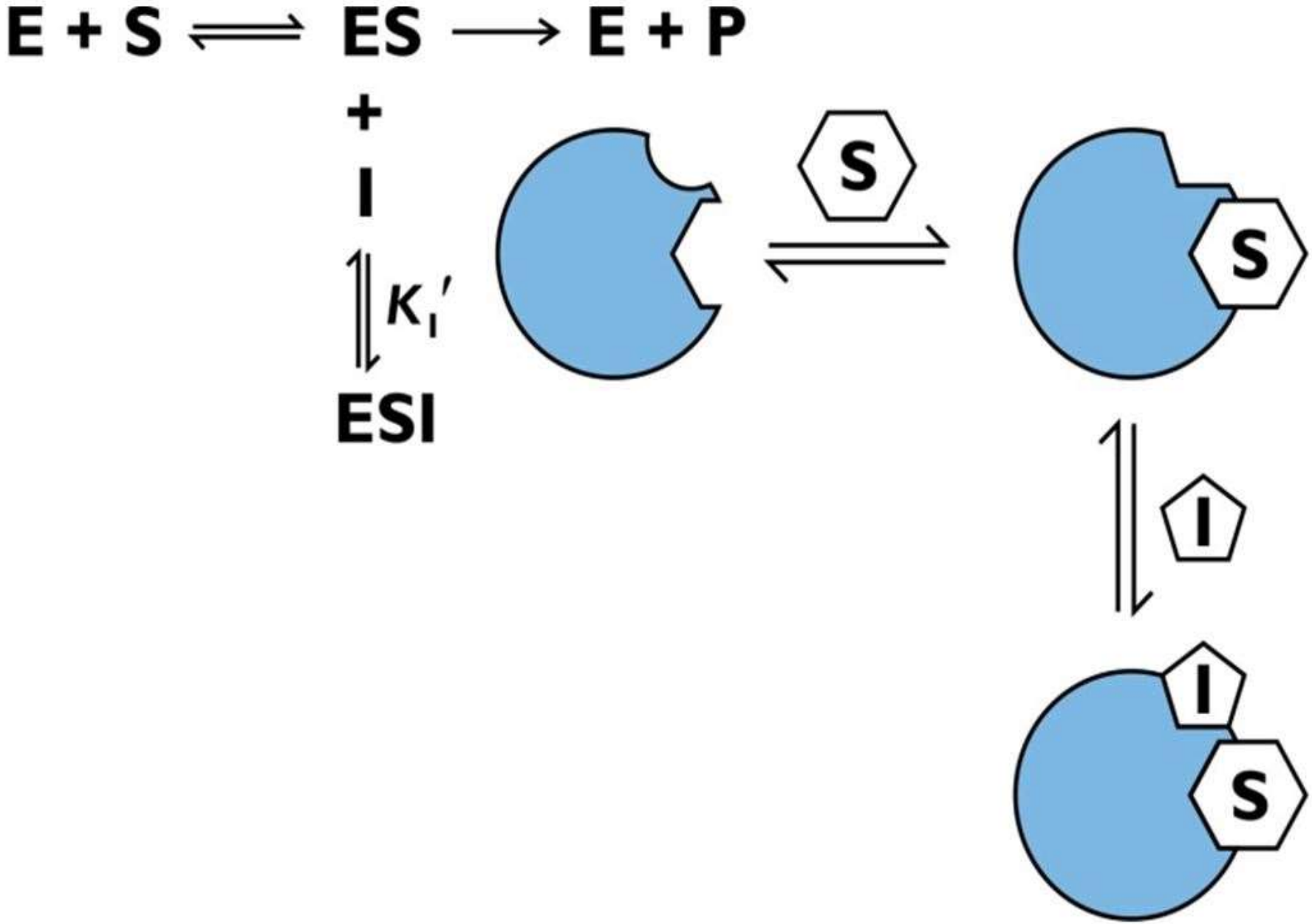
١- تركيز المثبط. ٢- علاقة أو صلة المثبط بالأنزيم.

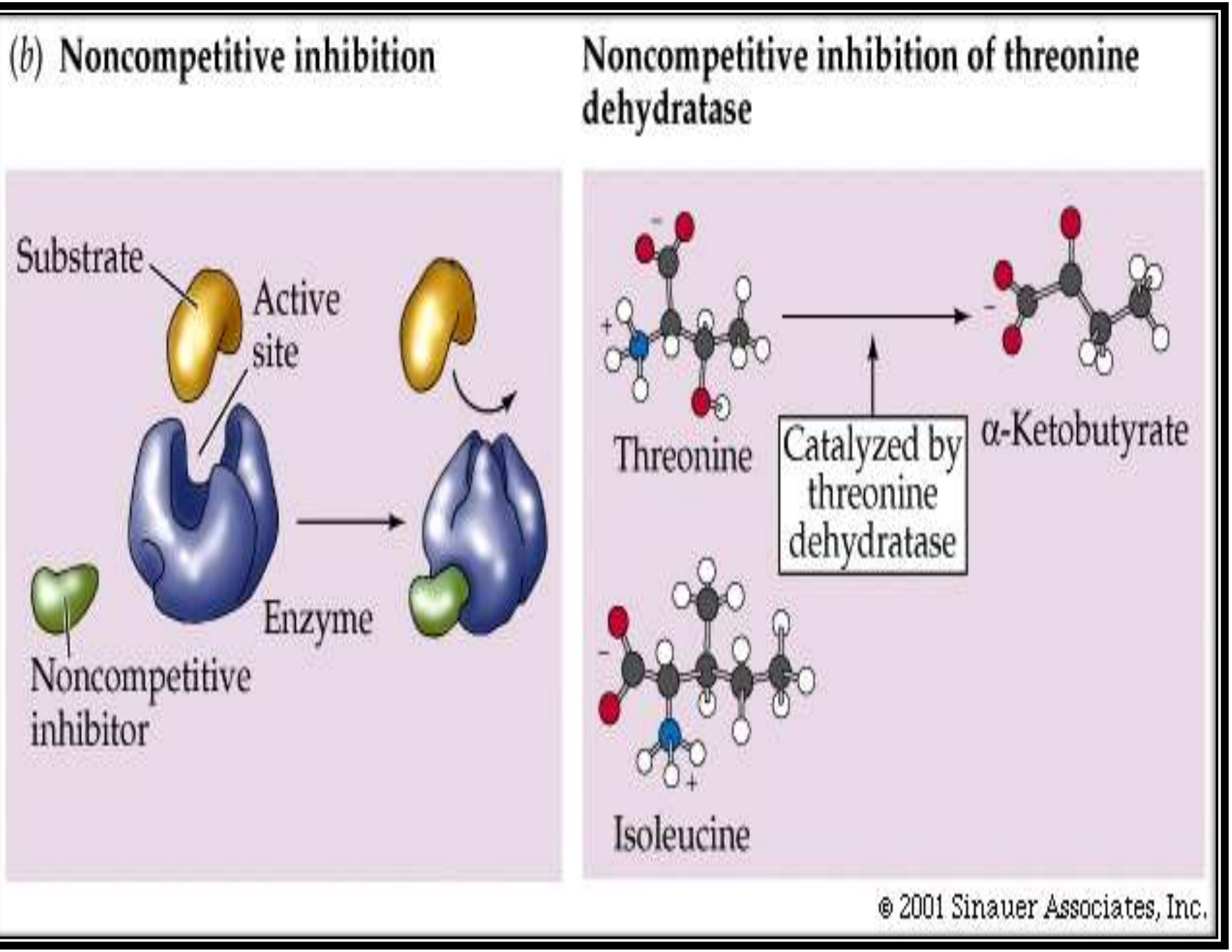
وفى أبسط حالات هذا النوع من التثبيط أن التثبيط راجع إلى عدم إنحلال المركب الوسطى E-S-I ويكون معدل التفاعل الأنزيمى راجعا فقط إلى تحلل E-S أى أن تأثير المثبط هو خفض التركيز الفعال للأنزيم

Noncompetitive Inhibition




K_s
k_p
E + S
ES
E + P
+
+
I
I
K_i
αK_i
αK_s
k_p
EI+ S
ESI
EI + P

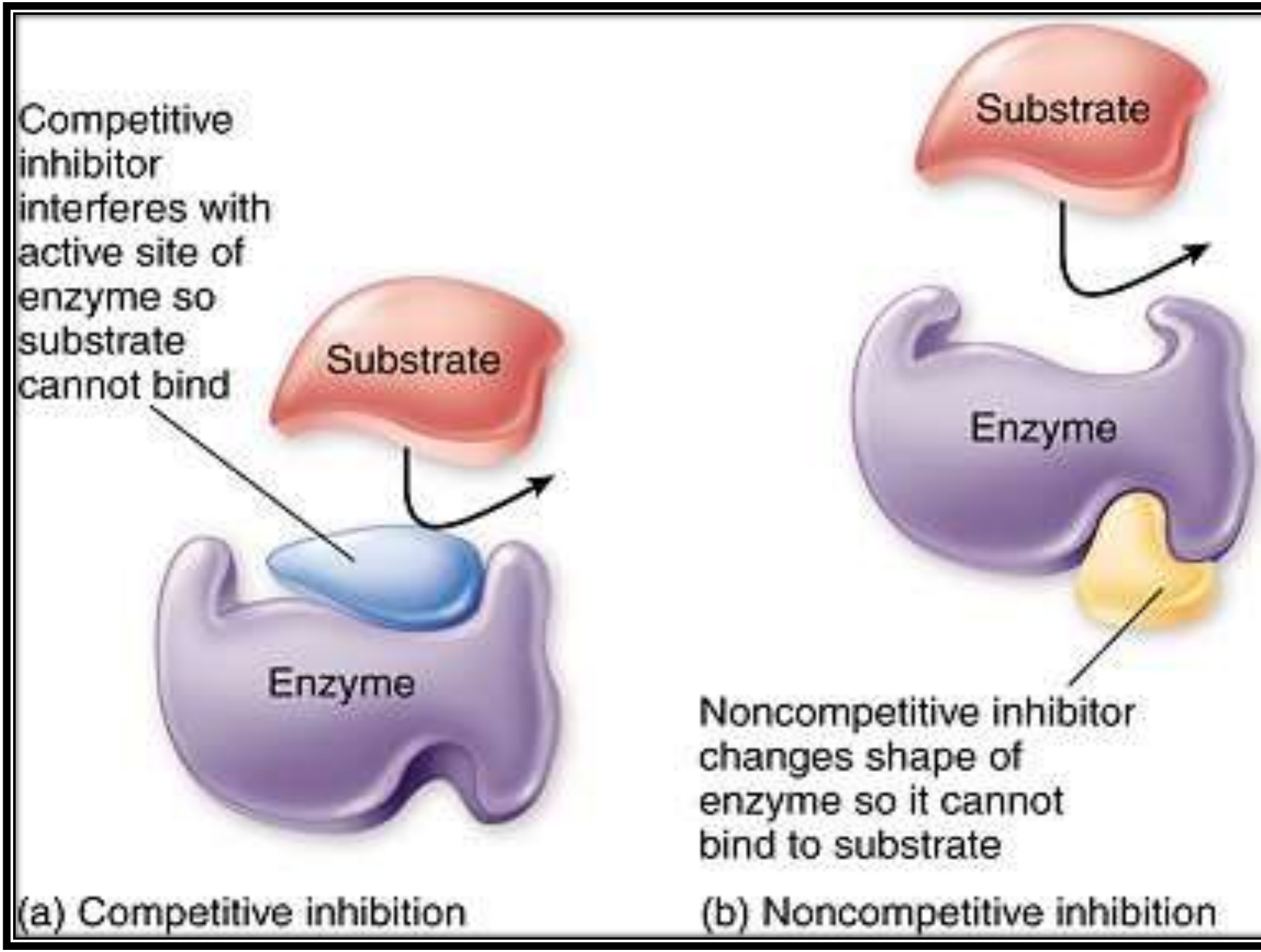

E + S ⇌ ES → E + P
+
I
K_I'
ESI
S
S
I
I
S

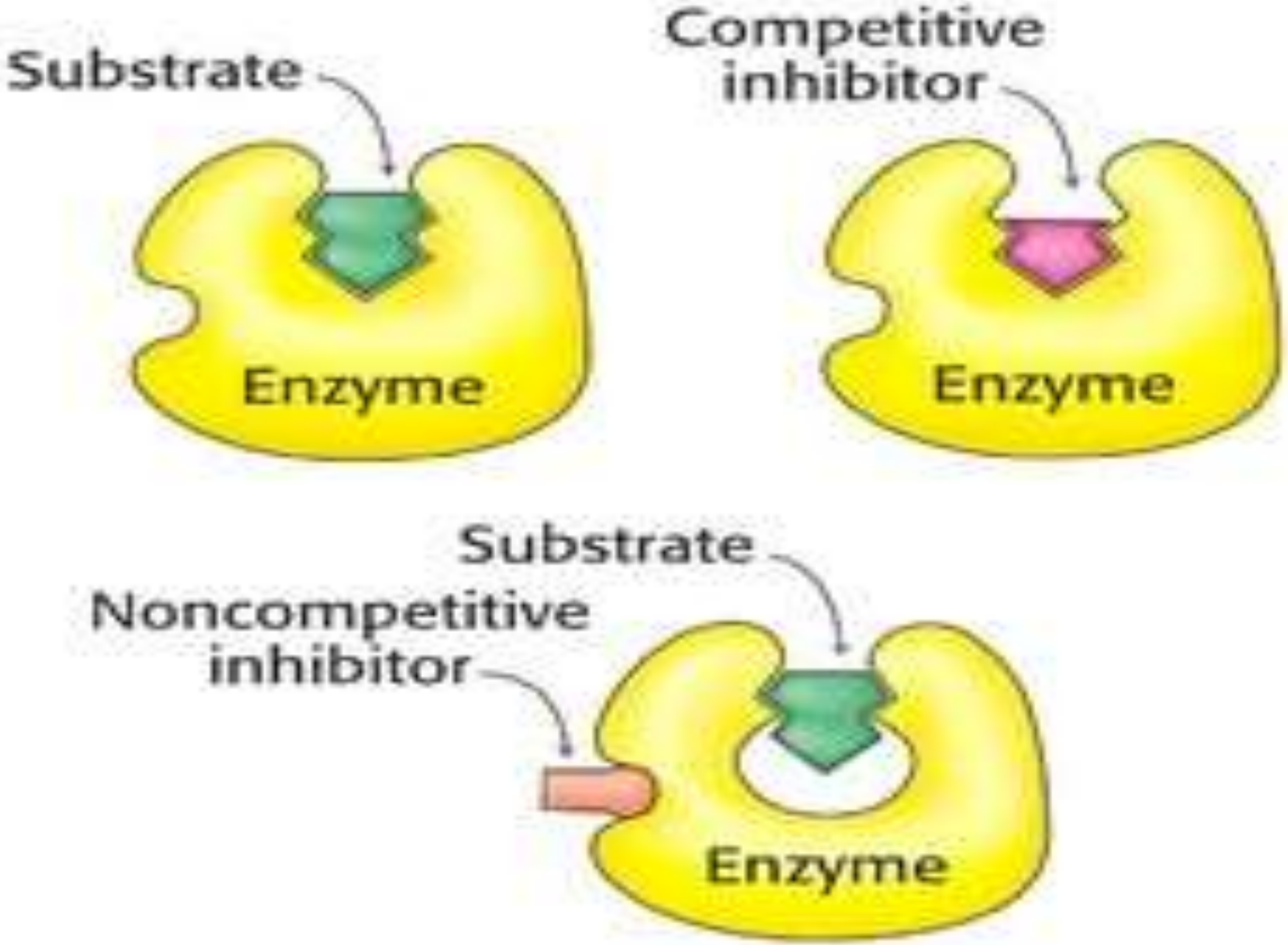


(*b*) **Noncompetitive inhibition**

Noncompetitive inhibition of threonine dehydratase

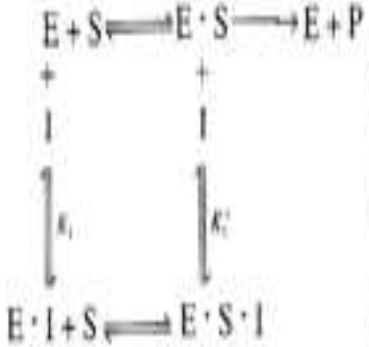
© 2001 Sinauer Associates, Inc.


Competitive inhibitor interferes with active site of enzyme so substrate cannot bind
Substrate
Enzyme
(a) Competitive inhibition
Substrate
Enzyme
Noncompetitive inhibitor changes shape of enzyme so it cannot bind to substrate
(b) Noncompetitive inhibition


Substrate
Enzyme
Competitive inhibitor
Enzyme
Substrate
Noncompetitive inhibitor
Enzyme

Reaction Steps

Mixed inhibition



(1) $E + S \rightleftharpoons E \cdot S$

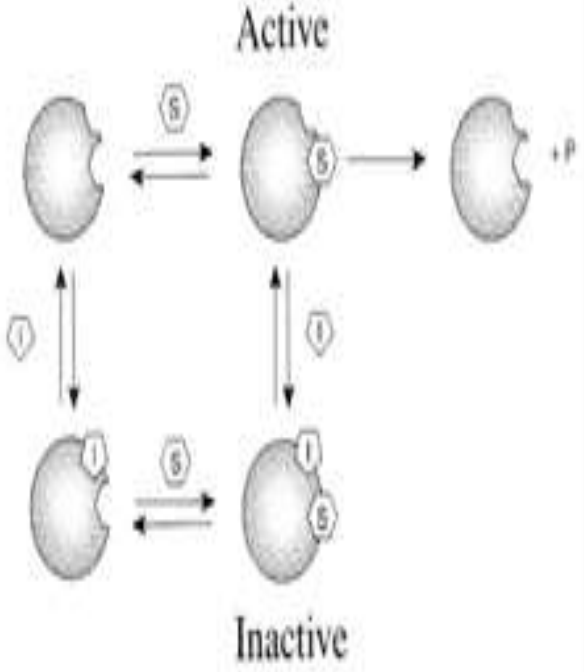
(2) $E + I \rightleftharpoons I \cdot E$ (inactive)

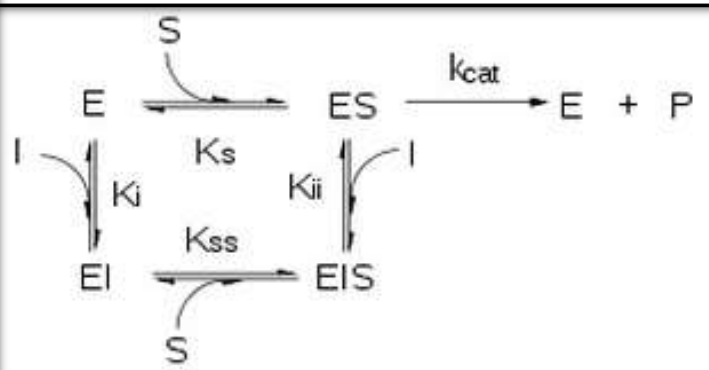
(3) $I + E \cdot S \rightleftharpoons I \cdot E \cdot S$ (inactive)

(4) $S + I \cdot E \rightleftharpoons I \cdot E \cdot S$ (inactive)

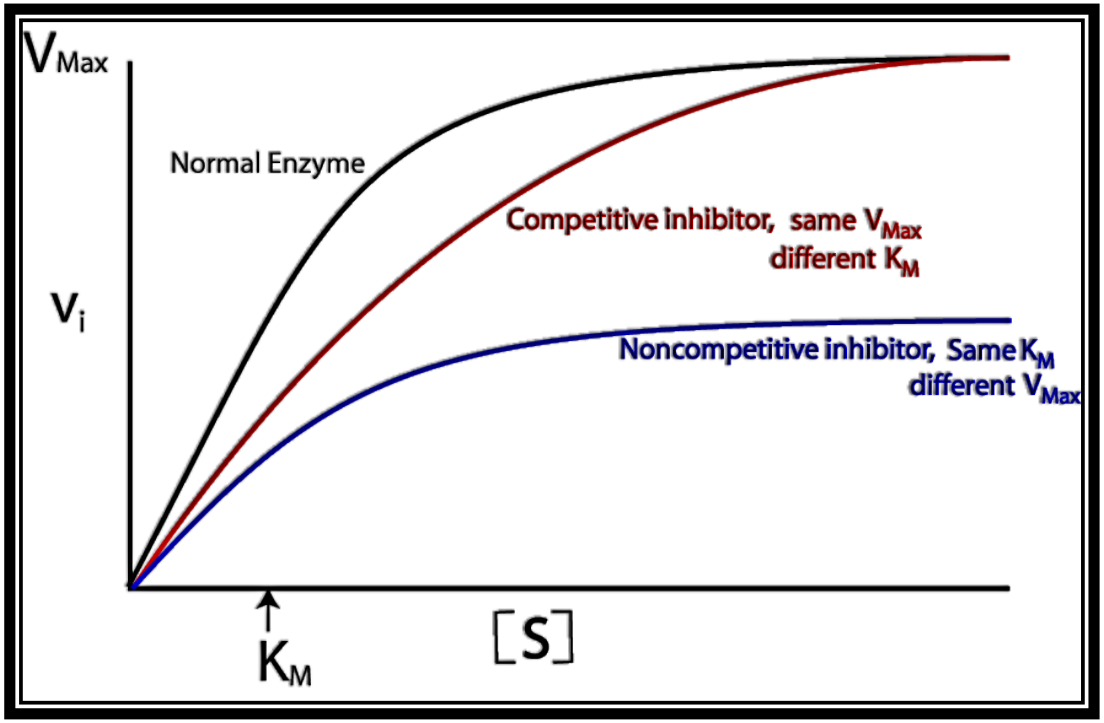
(5) $E \cdot S \longrightarrow P + E$

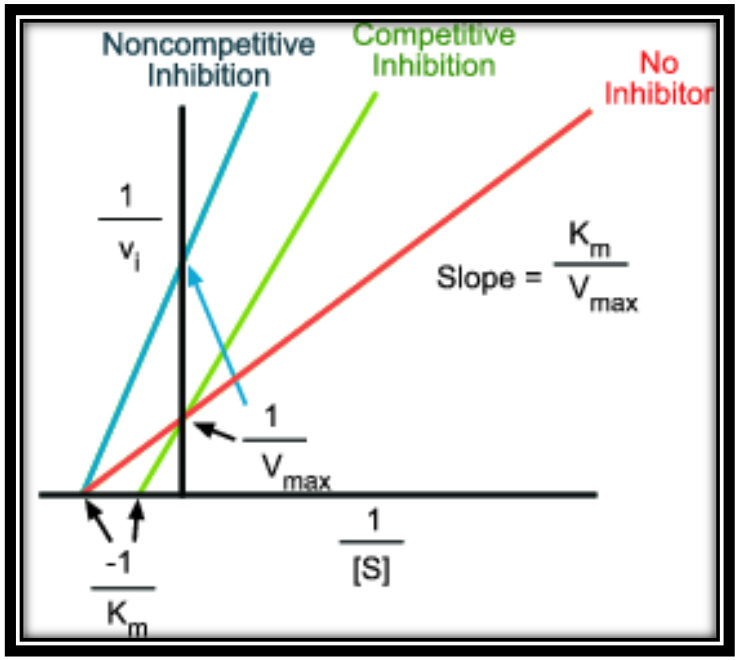
Noncompetitive Pathway





Non-competitive inhibition





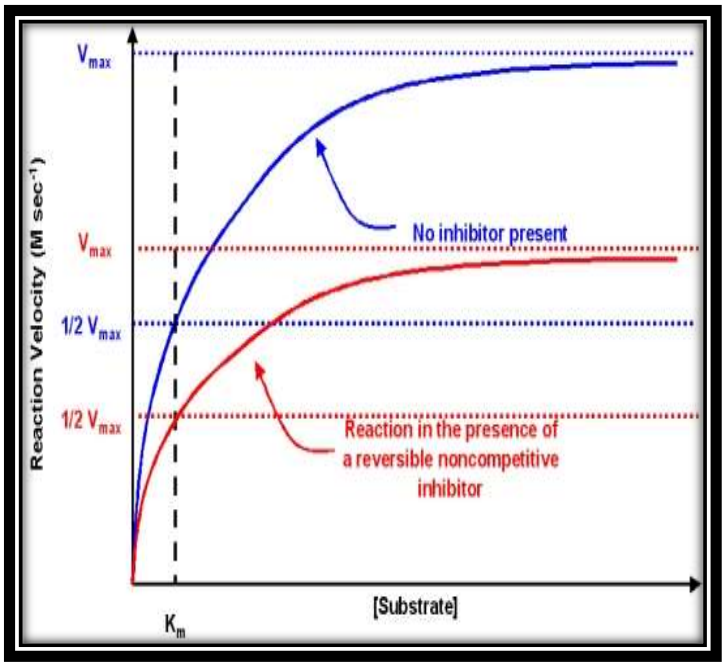
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_{cat}} E + P$$

$$+I \uparrow\downarrow -I$$

$$K_{Iu} = \frac{[ES][I]}{[ESI]} \qquad ESI \not\rightarrow \text{(N.R.)}$$

$$V_{max}^{app} = V_{max}/(1 + \frac{[I]}{K_{Iu}}) \qquad K_M^{app} = K_M/(1 + \frac{[I]}{K_{Iu}})$$

V_{max}/K_M unaffected



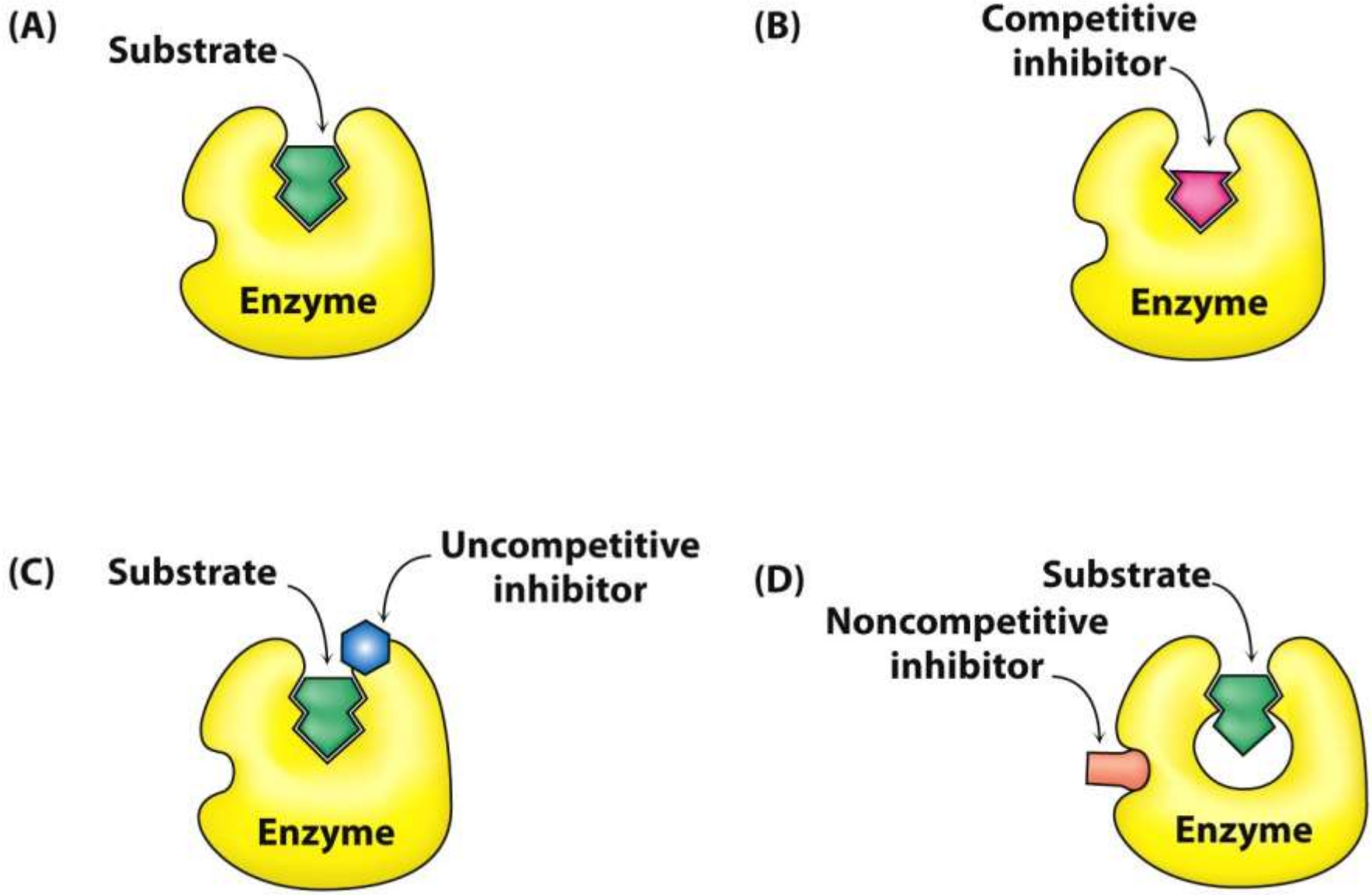
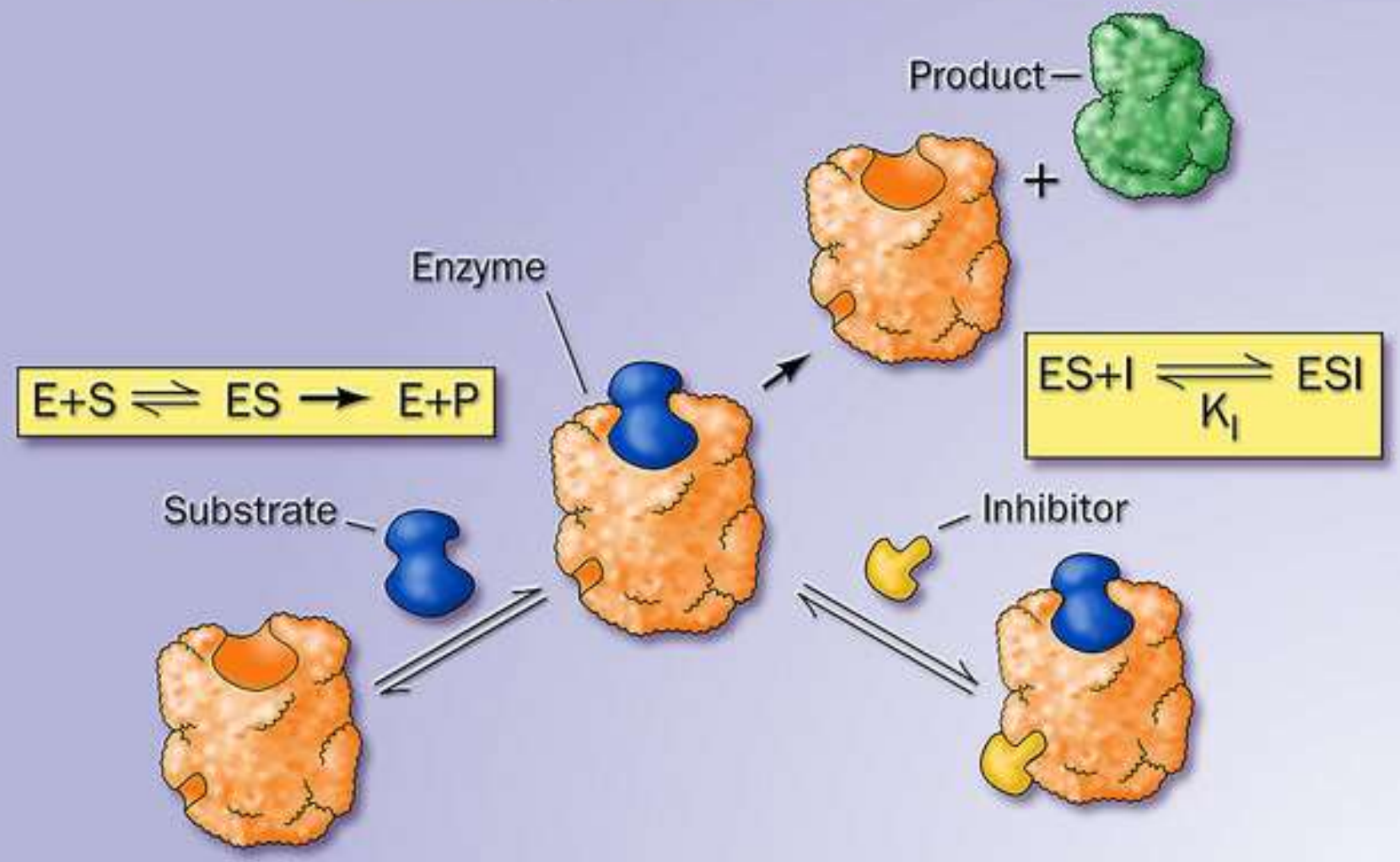
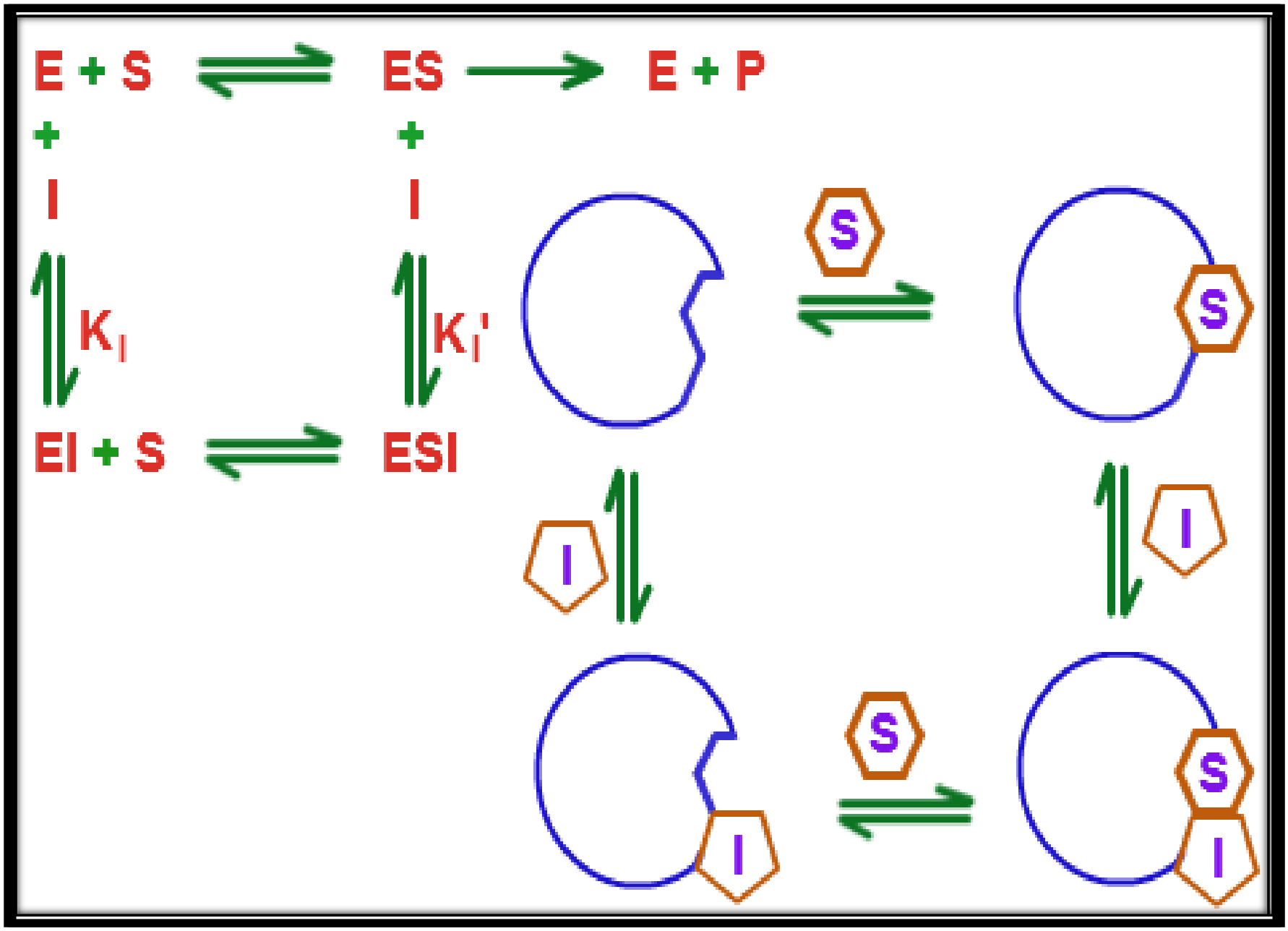
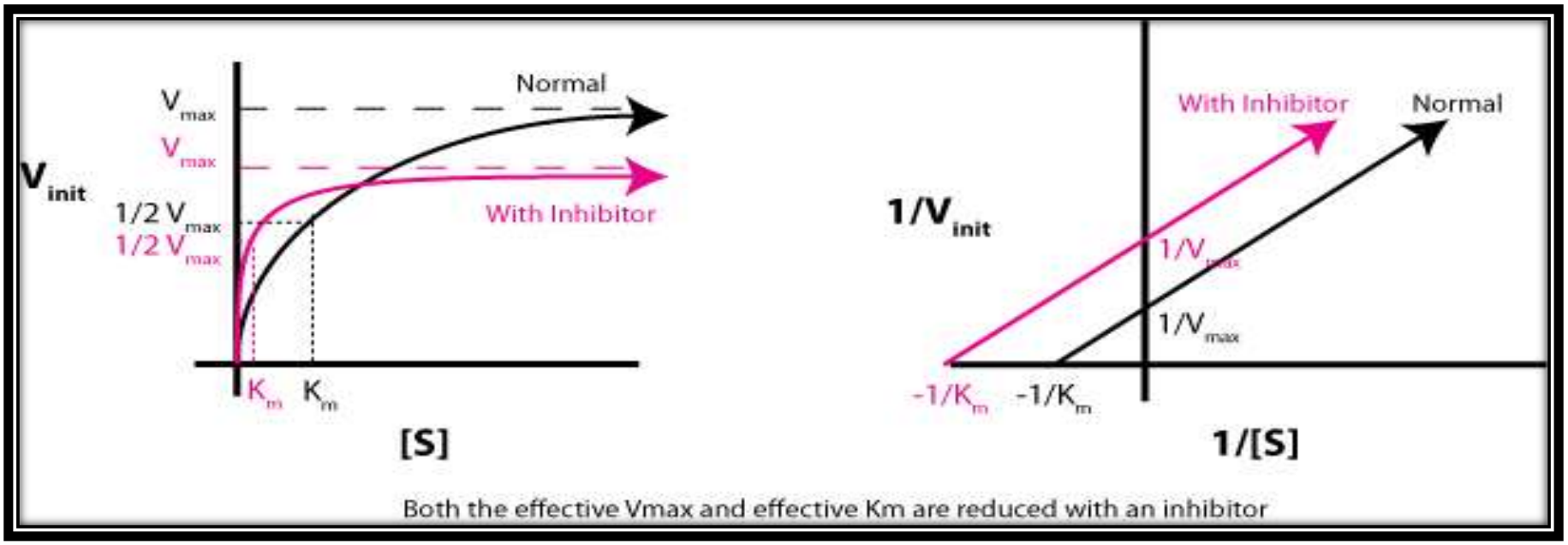


Figure 8.14
***Biochemistry*, Seventh Edition**
© 2012 W. H. Freeman and Company

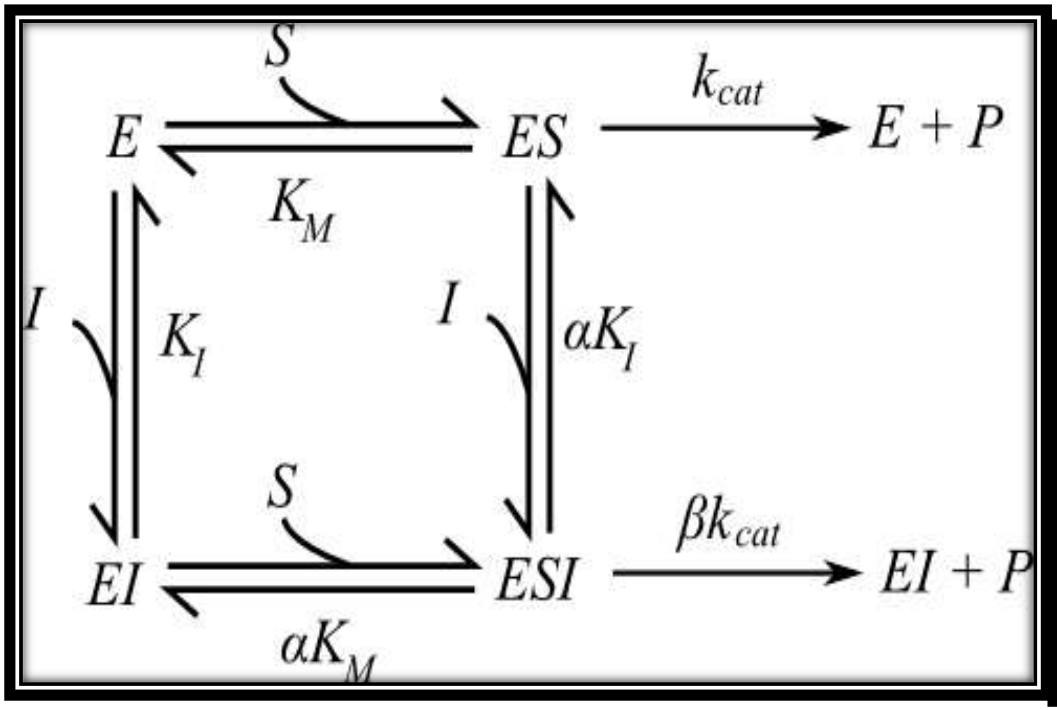
Uncompetitive Inhibition

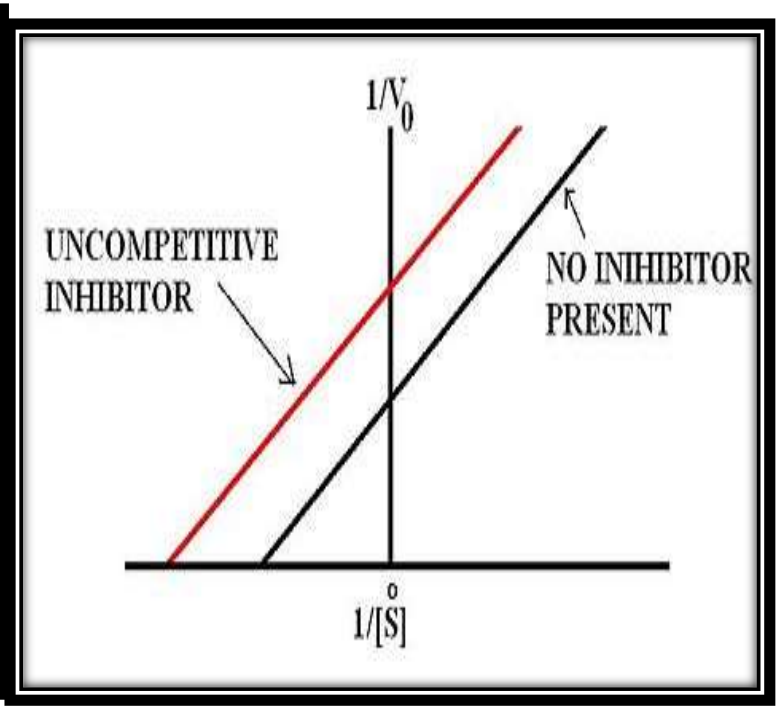



E + S
ES
E + P
+
I
+
I
K_I
K_I'
EI + S
ESI
S
S
I
I
S
S
I



Both the effective Vmax and effective Km are reduced with an inhibitor





التثبيط عند التركيزات المرتفعة من المادة المتفاعلة:

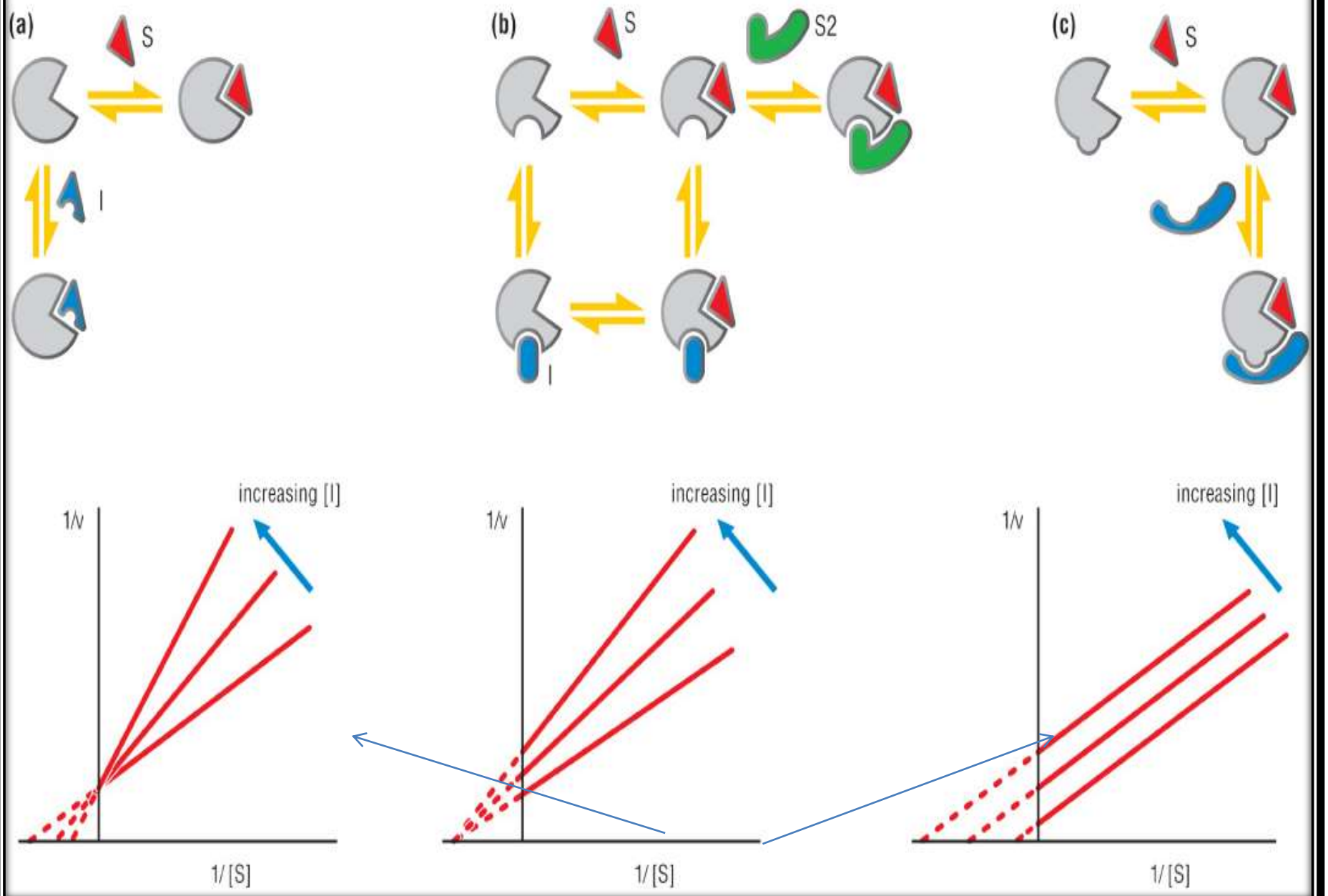
من المعروف أنه بينما تنطبق معادلة ميكاليس عند التركيزات المنخفضة من المادة المتفاعلة فإن السرعة تنخفض عند التركيزات المرتفعة وقد يرجع ذلك إلى:

١. تكوين مركبات وسطية غير فعالة من الأنزيم والمادة المتفاعلة. فمثلا إذا كان تكوين المركب الوسطى E-S يتطلب إتحاد المادة المتفاعلة بمجموعتين أو أكثر على الأنزيم وهذه الحالة فى الواقع تثبيط بالتنافس بواسطة المادة المتفاعلة نفسها.

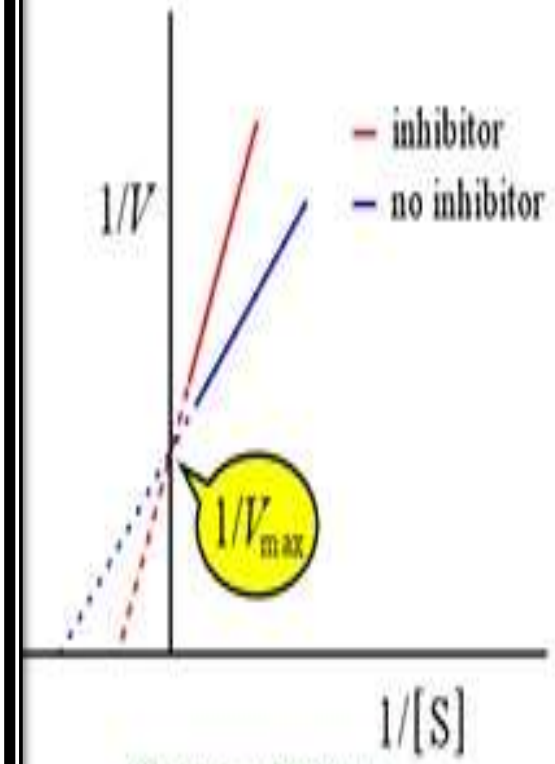
الوسطى E-S يتطلب إتحاد المادة المتفاعلة بمجموعتين أو أكثر على الأنزيم وهذه الحالة فى الواقع تثبيط بالتنافس بواسطة المادة المتفاعلة نفسها.

٢. إنخفاض تركيز الماء فى تفاعلات التحليل المائى . يؤدى إرتفاع تركيز المادة المتفاعلة إلى إنخفاض تركيز الماء الذى قد يكون أحد المواد المتفاعلة وهذا ما يحدث عند خفض سرعة الأنزيم Invertase عند تركيزات مرتفعة من السكروز.

٣. فى حالة وجود مادتين متفاعلتين قد يصبح أحد المادتين مثبطا بالتنافس لتفاعل الأنزيم مع المادة الأخرى.


(a)
S
I
(b)
S
S2
I
(c)
S
increasing [I]
1/v
1/[S]
increasing [I]
1/v
1/[S]
increasing [I]
1/v
1/[S]

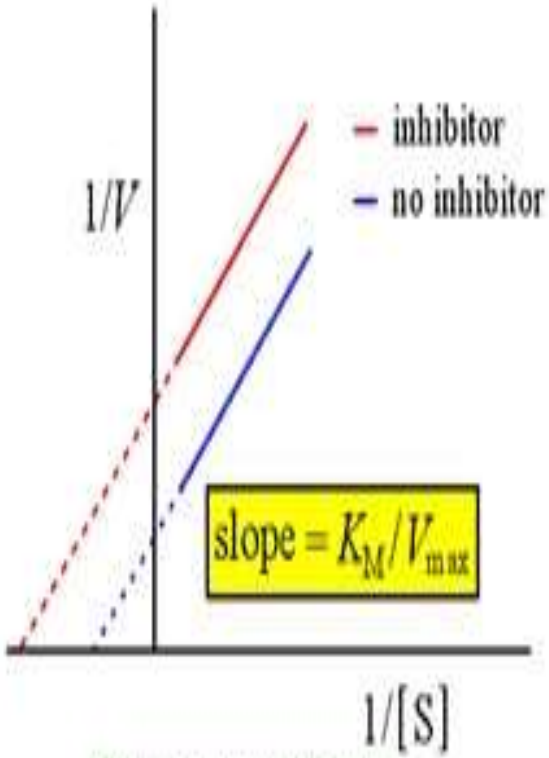
The Lineweaver-Burk plots for inhibition



Competitive inhibition

K_M increased

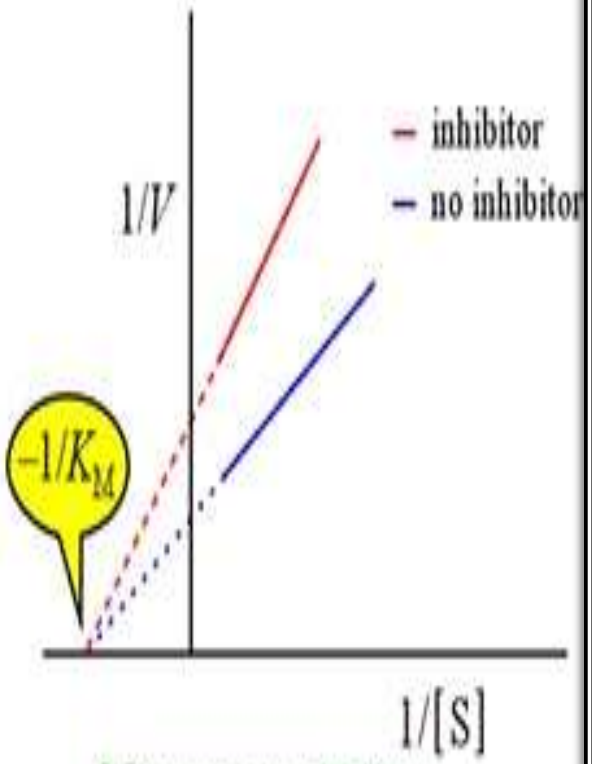
V_{max} unaffected



Uncompetitive inhibition

K_M reduced

V_{max} reduced



Noncompetitive inhibition

K_M unaffected

V_{max} reduced

مع تمنياتي لكم بالنجاح والتوفيق

THANK YOU