الانزيمات

الإنزيمات
Enzymes

الإنزيمات Enzymes

الإنزيمات عبارة عن مواد بايولوجية محفزة (مساعدة) تقوم وبكميات قليلة بزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية بتقليل طاقة التنشيط والتي تحدث داخل الخلية الحية (سواءً نباتية أم حيوانية) بدون أن تتغير خلال هذه التفاعلات. إن معظم الإنزيمات هي بروتينات تتألف من أحماض أمينية تتكون بوساطة الخلايا الحية (الحيوانية أو النباتية أو الأحياء الدقيقة) وتستطيع أن تعمل بصورة مستقلة خارج الخلايا الحية بعد توفر الظروف الملائمة لها. ويطلق على المادة المتفاعلة في التفاعلات الإنزيمية بالمادة الأساس (المادة الخاضعة أو الركيزة) Substrate (المادة التي يعمل عليها الإنزيم).

وظائف الإنزيمات:

أ- حفظ توازن الجسم عن طريق التحكم بالتفاعلات الكيميائية.

ب- تعمل الإنزيمات على تقليل كمية الطاقة اللازمة لبدء تفاعل كيميائي وهذا يساعد في حمايتها من التعرض إلى الحرارة العالية التي تؤدي إلى مسخ Denaturation وتفكيك بنية البروتين في الجسم.

الخواص العامة للإنزيمات:

1- يؤدي الإنزيم وظيفته بصورة كاملة تحت الظروف الفسيولوجية المثلى من درجة الحرارة والأس الهيدروجيني pH وخصوصية المادة الأساس.

2- جميع الإنزيمات مواد بروتينية (باستثناء مجاميع صغيرة من RNA التي اكتشفت حديثاً بأن لديها فعالية إنزيمية).

3- لا تظهر العديد من الإنزيمات فعاليتها في حالة عدم وجود احد المكونات غير البروتينية والذي يطلق عليه بالعامل المرافق (Cofactor). ويطلق على الجزء البروتيني غير الفعال بـــ apoenzyme وبالمقابل يطلق على الإنزيم الفعال (الجزء البروتيني والعامل المرافق) بـــ Holoenzyme. وتكون العوامل المساعدة إما على شكل معادن مثل أيونات المغنيسيوم والمنغنيز والحديد والسلينيوم والنحاس، أو على شكل جزيئة عضوية تسمى مرافقات الإنزيم Coenzymes مثل NADH و NADPH و FAD وغيرها، وتحتاج بعض الإنزيمات إلى كلا النوعين أي الأيونات المعدنية ومساعدات الإنزيم. وعند ارتباط العوامل المرافقة بآصرة تساهمية مع الإنزيم فيطلق عليها بالمجموعة الرابطة (المجموعة الترقيعية) Prosthetic group.

4- **إن الفرق بين التفاعلات الإنزيمية والتفاعلات غير الإنزيمية** هو أن مادة الأساس في التفاعلات الإنزيمية تتحول بكفاءة وسرعة عاليتين، في حين أن التفاعلات غير الإنزيمية هناك نسبة معينة من المادة الأولية تتحول إلى ناتج والباقي من المادة الأولية تفقد في كثير من التفاعلات الجانبية، فعلى سبيل المثال إنزيم الكاتاليز Catalase الذي يحفز التفاعل الآتي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow[Fe]{Catalase} 2H_2O + O_2$$

إن التفاعل السابق يتم ببطؤ شديد بغياب الإنزيم، ولكن كفاءة التحول إلى ناتج وسرعة التفاعل بوجود إنزيم الكاتاليز تكون عالية تحت الظروف المثلى من درجة حرارة والأس الهيدروجيني وتركيز بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2).

5- إن من أهم خواص الإنزيمات هي كونها متخصصة إذ تعمل على مادة أساس واحدة أو عدة مواد أساسية (ولكنها من نفس النوع) لينتج عن ذلك ناتج أو عدة نواتج.

6- الأواصر التي تثبت سلسلة جزيئة الإنزيم في أوضاعها استناداً الى ما ذكرت سابقاً للبروتينات وهي: الأواصر الأيونية، الأواصر الهيدروجينية، الأواصر الهيدروفوبية، الأواصر ثنائية الكبريت، تجاذب فاندرفال، التداخلات القطبية للمجاميع Polar groups interactions.

7- تحتوي جميع الإنزيمات على منطقة تسمى الموقع الفعال Active site وهي وحدات من الأحماض الأمينية في الإنزيم تشترك في عملية التحفيز Catalysis وتكون على شكل حفرة أو التفاف لسلسلة متعددة الببتيد يربط الجزيئات المتفاعلة بحيث تكون هذه الجزيئات مثبتة بوضع فراغي صحيح في الموقع الفعال، ملائماً تماماً للتفاعل. وإن الطبيعة الكيميائية لوحدات الأحماض الأمينية في الموقع الفعال تلعب أيضاً دوراً فعالاً وذلك بمنحها أو سحبها للالكترونات من المجاميع الوظيفية للمادة الأساس. أن القوى التي تربط المادة الأساس بالموقع الفعال تكون ضعيفة نسبياً وبهذا فان تحرر النواتج من على سطح الإنزيم بعد اكتمال التفاعل يكون سهلاً. وإن لكل إنزيم عدداً محدداً من المواقع الفعالة فإنزيم التربسين مثلاً يحتوي على مركز فعال واحد بينما إنزيم اليوريز يحتوي على أربعة مراكز فعالة.

8- الإنزيمات لها أوزان جزيئية بين 13000 دالتون لإنزيم الرايبونيوكليز إلى عدة ملايين لبعضها الآخر وهذه المقادير تدل على كبر حجم جزيئات الإنزيم ولذا تكوّن محاليل غروية عند إذابتها بالماء.

9- قد توجد إنزيمات في كائنات حية ولا توجد في كائنات حية أخرى مثل إنزيم السليوليز Cellulase الذي يعمل على تحليل جزيئة السليلوز إلى جزيئات سكر قابلة للهضم والامتصاص في الأبقار وغيرها وعدم وجودها في الإنسان، وقد تقوم البكتريا بإفراز إنزيم السليوليز في أحشاء النمل الأبيض وهذا يفسر كيف تأكل النمل العشب والخشب.

استخدامات الإنزيمات:

تستخلص الإنزيمات من الأنسجة الحيوانية أو النباتية أو البكتيريا، ثم يتم تنقيتها وتستخدم للأغراض الآتية:

1- دراسة المسارات الأيضية وتنظيم التفاعلات الجارية في ذلك المسار.

2- دراسة تركيب وآلية عمل الإنزيمات Mechanism of action.

3- استخدامها في الصناعة بوصفها عوامل مساعدة بايولوجية لتصنيع الهورمونات والعقاقير والصناعات الغذائية والصناعات الكيميائية.

4- تعطي الإنزيمات مؤشراً لحدوث حالة مرضية معينة أو عدم حدوثها وذلك عند قياس فعاليتها في سوائل وأنسجة الجسم المختلفة وفيما يأتي **الجدول (1-10)** يوضح علاقة الإنزيم مع الحالة السريرية.

جدول (1-10): بعض الإنزيمات المستخدمة لأغراض التشخيص السريري.

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

5- تستخدم بعض الإنزيمات لأغراض علاجية أو مضادات أكسدة أو لقاحات ضد أنواع معينة من الطفيليات. وكمثال استخدامها لإذابة خثرة الدم في المصابين بالخثار Thrombosis أو استخدام بروتيز Protease في عقارات المقاومة لفيروس الأيدز(النقص في عوز المناعة المكتسبة).

6- تستخدم البعض منها بمثابة كواشف في بعض التحاليل المختبرية وكمثال تقدير الكلوكوز باستخدام الإنزيم كلوكوز أوكسديز Glucose oxidase أو تقدير اليوريا باستخدام إنزيم اليوريز Urease.

7- استخدام بعض الإنزيمات لغرض تشخيص الأمراض الوراثية مثل إنزيم بوليمريز في تفاعل السلسلة Polymerase chain reaction (PCR).

تختلف الإنزيمات عن بعضها البعض في بنائها الكيميائي استناداً الى:

أ- تسلسل ونوع وعدد الأحماض الأمينية المكونة لسلاسلها الببتيدية (التركيب الأولي).

ب- التوزيع الفضائي للذرات والمجموعات بالنسبة لبعضها في السلسلة الببتيدية المكونة للإنزيم وهذا يتوقف لحد كبير على درجة الالتفاف أو الالتواء على طول السلسلة الببتيدية (التركيب الثانوي) والذي يؤدي إلى شكل صفيحة أو حلزوني السلسلة.

جـ- الشكل المجسامي الثلاثي الأبعاد لجزيئة الإنزيم(التركيب الثالثي).

تقسيم الإنزيمات:

تم تقسيم الإنزيمات استناداً الى عدد السلاسل الموجودة في تركيبها البنائي الى:

1- الإنزيمات الأحادية السلسلة Monomeric: وهي التي تتألف من سلسلة ببتيدية واحدة والتي تساعد في التحلل المائي مثل التربسين Trypsin ورايبونيوكليز Ribonuclease.

2- **الإنزيمات قليلة الوحدات Oligomeric:** وهي التي تتألف من 2-10 سلسلة ببتيدية مثل إنزيم هيكسوكاينيز Hexokinase المكون من أربع سلاسل ببتيدية.

3- **المجمع الإنزيمي المعقد Multienzyme complex :** وهو عدد أو مجموعة من الإنزيمات مرتبطة مع بعضها وتشترك جميعاً في مسارها لتحول مادة أو مواد الأساس إلى ناتج مثل إنزيم بايروفيت ديهيدروجنيز Pyruvate dehydrogenase الذي يتكون من ثلاثة إنزيمات وخمس مرافقات إنزيمية لتحويل البايروفيت إلى أسيتايل مرافق الإنزيم A .

تعاريف مهمة:

أ- **وحدة الإنزيم Enzyme unit (أو فعالية الإنزيم Enzyme Activity):** وهي كمية الإنزيم التي تحول مايكرومول واحد من المادة الأساس إلى ناتج في الدقيقة الواحدة تحت الظروف المحددة للقياس. ويرمز لها أحياناً بالحرف v الذي يشير إلى معدل سرعة التفاعل الإنزيمي.

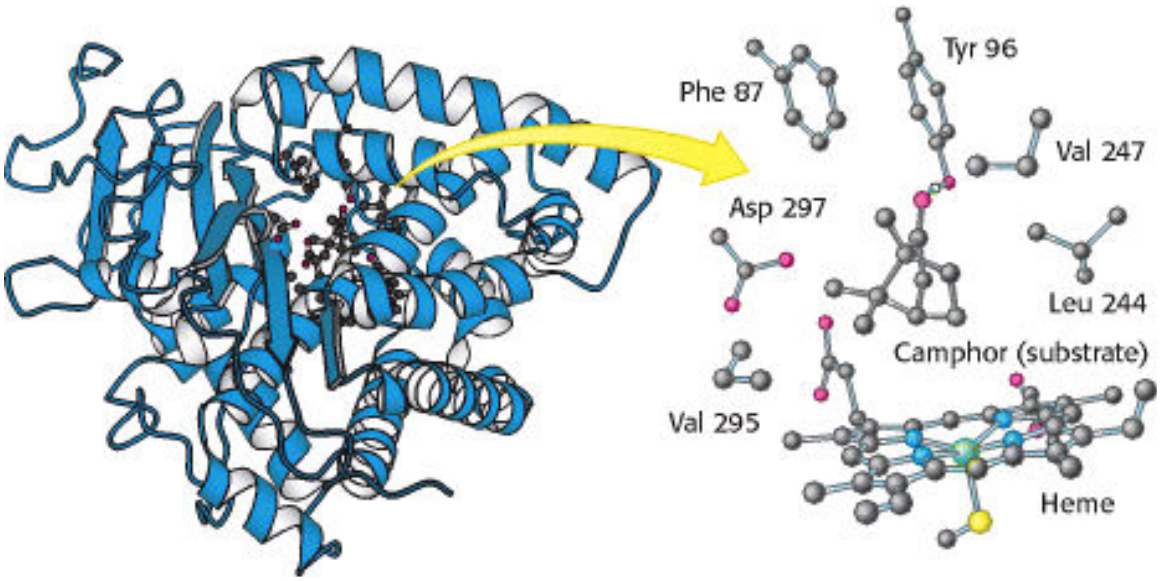
ب- **الفعالية النوعية Specific activity:** وهي عبارة عن عدد وحدات الإنزيم (أو الفعالية) لكل ملغرام واحد من البروتين وتعد مقياساً لنقاوة الإنزيم وتزداد خلال تنقيته.

جـ- **عدد التحول Turnover number:** وهو عدد مولات المادة الأساس التي تتحول إلى ناتج لكل مول من الإنزيم في الدقيقة الواحدة.

$$\underset{\text{الإنزيم}}{E} + \underset{\text{المادة الأساس}}{S} \rightleftharpoons \underset{\substack{\text{إنزيم- المادة الأساس} \\ \text{المعقد(حالة انتقالية)}}}{[ES]} \longrightarrow \underset{\text{الإنزيم}}{E} + \underset{\text{الناتج}}{P}$$

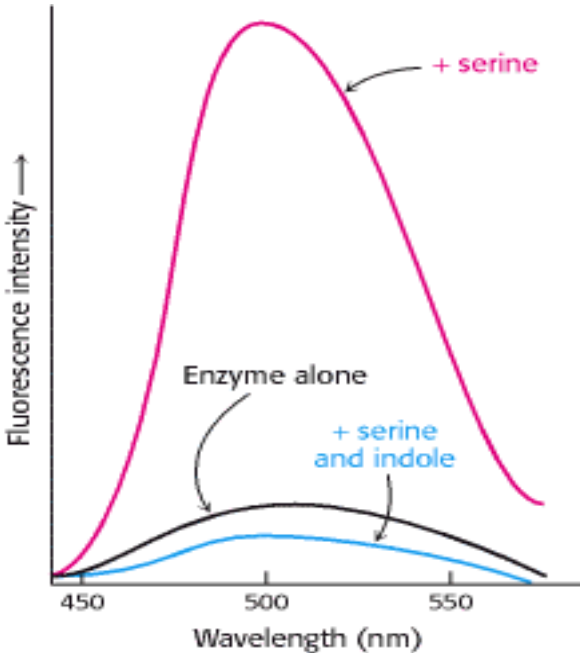
إذ يتفاعل الإنزيم مع المادة الأساس ليكون المعقد (الإنزيم – المادة الأساس) والذي يتحول في المرحلة التالية إلى ناتج مع خروج الإنزيم بحالته الأصلية، **وهناك عدة براهين تؤكد على تكوين المعقد[ES] منها:**

أ- استخدام أشعة (X-ray) التي أعطت صوراً واضحة ودقيقة لارتباط الإنزيم بمادة الأساس، فعلى سبيل المثال إنزيم سايتوكروم P-450 المرتبط مع مادة الأساس كامفور Camphor **(الشكل 1-10).**



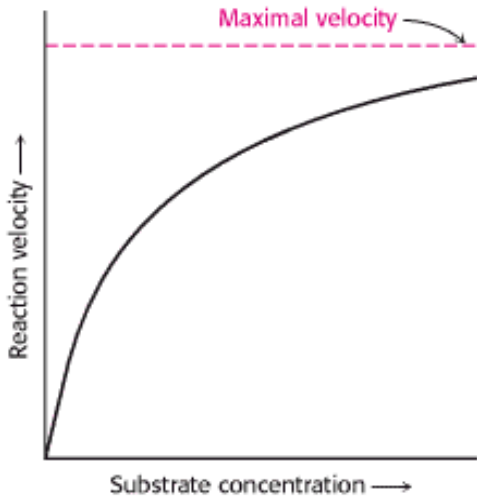
الشكل(1-10): إنزيم سايتوكروم P-450 المرتبط مع مادة الأساس كامفور Camphor من اليسار، أما من اليمن فالشكل يوضح الموقع الفعال وكيفية ارتباط المادة الأساس بالوحدات من الإنزيم.

ب- استخدام جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer الذي أعطي قيماً مختلفة حين ارتباط الإنزيم بمادة الأساس، فمثلاً يلاحظ اختلاف في شدة الفلورة لمجموعة فوسفات البيريدوكسال في إنزيم تربتوفان سنثتيز عند استخدام السيرين او الاندول بوصفها مواداً أساساً **(الشكل 2-10)**.



الشكل (2-10): الاختلاف في شدة الفلورة لمجموعة فوسفات البيريدوكسال في إنـــزيم تربتوفـــان سنثتيز Trp. synthetase باستخدام المادة الأساس السيرين او السيرين + الاندول.

جـــ- تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي الى حدٍ معين بزيادة تركيز المادة الأساس حتى تصل الى السرعة القصوىMaximal velocity وبعدها تبقى ثابتة عادةً(**الشكل 3- 10**).



الشكل (3-10): علاقة سرعة التفاعل الإنزيميReaction velocity وتركيز المادة الأساسيSubstrate concentration.

الإنزيمات القاتلة Killer enzymes : وهو اتجاه حديث بدأ يظهر في سنة 1992 وهذا الاتجاه يتلخص بما يأتي: هناك مجموعة من الإنزيمات وخاصة البروتينيز Proteinase تهاجم إنزيمات الأكسدة وتعمل على هضمها Digestion وبالتالي لا تقوم بتثبيط الإنزيم فقط بل القضاء تماماً على خصائص إنزيم الأكسدة. وهذا النظام يعرف باسم قتل النظام بوساطة الإنزيمات القاتلة Killing system by killer enzymes.

الآلية التحفيزية للإنزيم:

تستخدم الإنزيمات واحد أو أكثر من الآليات الآتية كمساعدات تحفيزية في التفاعلات المختلفة:

أ- **العامل التحفيز التساهمي Covalent catalysis:** في هذا النوع من التحفيز يحتوي الموقع الفعال على مجموعة فعالة نيكلوفيلية قوية والتي تساعد في عملية التحويرات التساهمية. من الأمثلة على الإنزيمات التي تأخذ هذه الآلية الإنزيمات الهاضمة مثل إنزيم الكيموتربسين.

بـــ - **التحفيز الحامضي- القاعدي Acid–base catalysis:** في هذا النوع تلعب الجزيئة (عدا الماء) دوراً في إعطاء بروتونات (H^+) أو استقبال بروتونات فمثلاً الكيموتربسين يستخدم الهستيدين عاملاً مساعداً قاعدي لتحسين القوة النيكلوفيلية للسيرين .

جـــ - **التحفيز بوساطة الايون المعدني:** الأيونات المعدنية بعدة طرائق يمكن أن تعمل عواملاً مساعدةً على سبيل المثال الايون المعدني قد يعمل محفزاً إلكتروفيلياً فيؤدي الى استقرار الشحنة السالبة في التفاعلات الوسطية وعلى العكس من ذلك قد يعمل الايون المعدني على توليد النيكلوفيل بزيادة

الحامضية في مكان قريب من الجزيئة مثل الماء المستخدم في تميؤ ثاني أوكسيد الكاربون بوساطة إنزيم كاربونيك أنهايدريز Carbonic anhydrase **كما في المعادلة الآتية:**

$$CO_2 + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3$$

وكذلك الأيونات المعدنية يمكن أن ترتبط بمادة الأساس وتزيد من عدد التداخلات مع الإنزيم وهذه الإستراتيجية تستخدم بوساطة إنزيم النيوكليوتيد أحادي الفوسفات (NMP) كاينيز الذي يعمل على تحفيز التفاعل الأتي:

$$ATP + NMP \rightleftharpoons ADP + NDP$$

د- التحفيز بالتقريب Catalysis by approximation: في هذه الحالة يعمل العامل المساعد على زيادة معدل التفاعل بوساطة جلب مواد الأساس الاثنين معاً على سطح الإنزيم الواحد مثل إنزيم NMP كاينيز الذي يجلب النيوكليوتيدين معاً لتسهيل عملية نقل مجموعة الفوسفات من نيكليوتيد إلى نيكليوتيد آخر.

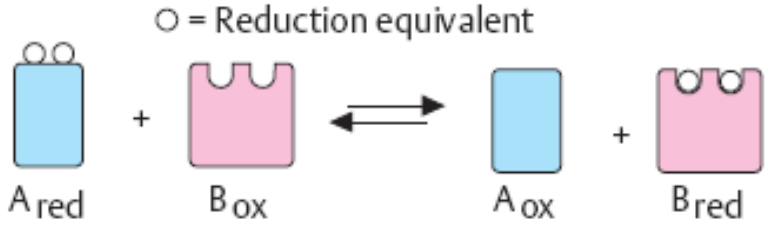
تسمية الإنزيمات Enzymes nomenclature

اكتشف لحد الآن تقريباً أكثر من 2000 إنزيم واستخدمت لذلك عدة طرائق لغرض تسمية تلك الإنزيمات وهذه الطرائق تعتمد على: طبيعة التفاعلات، طبيعة المركبات المتفاعلة (بروتينات- سكريات... الخ) وطرائق أخرى. ونظراً للصعوبة التي تحصل نتيجة استعمال هذه الطرائق المختلفة فقد اقترح توحيدها وشكلت اللجان المختصة للقيام بذلك، وادخل اتحاد الكيمياء الحياتية نظاماً حديثاً لتقسيم الإنزيمات تبعاً لتخصصها وفيه تقسم الإنزيمات إلى ستة أقسام رئيسية ولكل قسم رقم معين يدل عليه وكل قسم يشمل فروع أخرى Subgroups وهذه بدورها تقسم إلى أجزاء أخرى وكل منها يشمل مجموعة مختلفة من أفراد الإنزيمات. فقد أوصت لجنة تسمية الإنزيمات المنبعثة من الاتحاد العالمي للكيمياء الحياتية Commission on Enzymes of the International Union of Biochemistry بتوصيات منها:

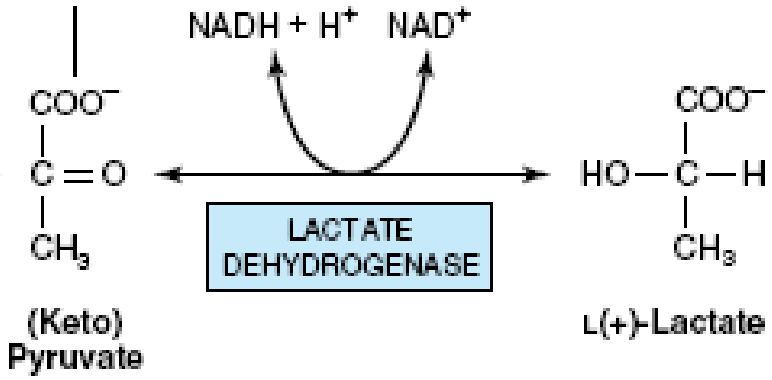
أولاً: تقسيم الإنزيمات إلى ست مجاميع استناداً الى طبيعة التفاعل الذي تحفزه وهذه الأصناف هي:

1- إنزيمات الأكسدة والإختزال Oxidoreductases

وتتضمن الإنزيمات التي يتم فيها انتقال الالكترونات وتشمل إنزيمات الأكسدة البايولوجية Biological oxidation والتي تدعى الديهيدروجينيز Dehydrogenases وإنزيمات الأكسدة Oxidases وإنزيمات فوق الأكسدة Peroxidases وإنزيمات الإختزال Reductases وإنزيمات أحادية الأكسدة Monooxygenases وإنزيمات ثنائية الأكسدة Dioxygenases ، **كما في التفاعل العام الأتي:**

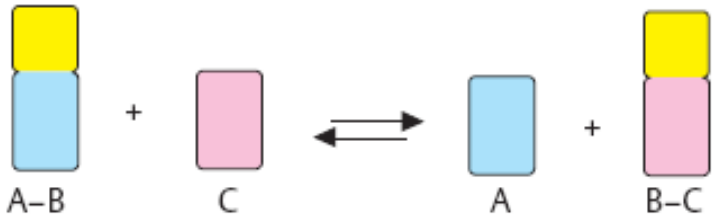


فمثلا تحول البايروفيت الى اللاكتيت بفعل إنزيم لاكتيت ديهيدروجنيز Lactate dehydrogenase إذ تنتقل ذرتا هيدروجين من $NADH + H^+$ الى البايروفيت (الشكل المؤكسد البايروفيت يتحول الى الشكل المختزل اللاكتيت) :

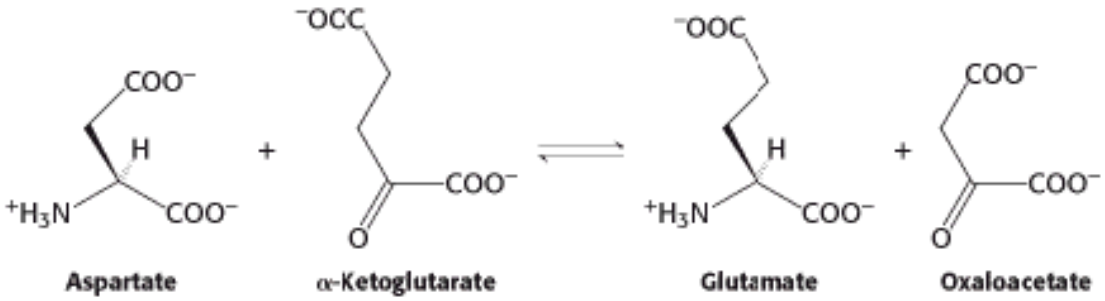


2- الإنزيمات الناقلة Transferases

وهي الإنزيمات التي تحفز نقل مجموعة من مركب لآخر مثل نقل مجموعة المثيل أو الفورميل أو الكاربوكسيل أو الألديهايد أو الكيتون أو المجاميع الفوسفورية.....الخ **كما في التفاعل العام الأتي:**

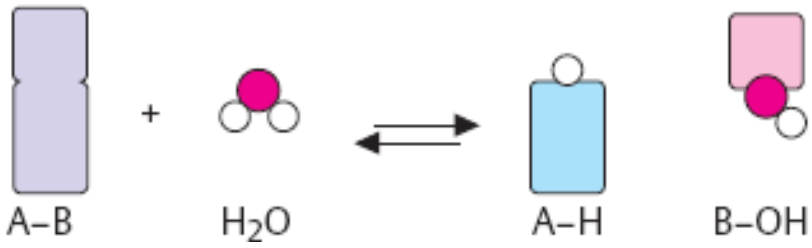


مثال على ذلك تفاعل نقل مجموعة الأمين من الأسبارتيت الى ألفا- كيتوكلوتاريت بفعل إنزيم أسبارتيت أمينوترانسفريز Aspartate transferase(AST):

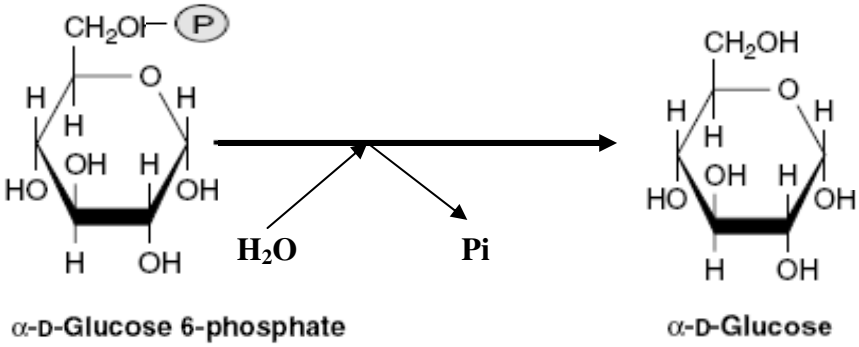


3- الإنزيمات المميئة Hydrolases

وهي الإنزيمات التي تحفز التحلل المائي لمواد الأساس وتشمل إنزيمات إستريز Esterase وفوسفودايستريز Phosphodiesterase وفوسفاتيز Phosphatase ولايبيز Lipase وببتايديز Peptidase، **كما في التفاعل العام الأتي:**

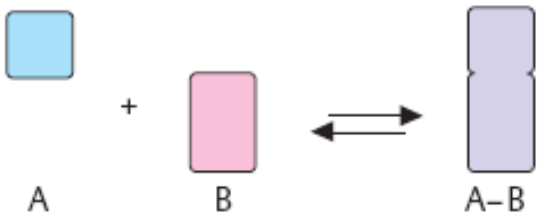


مثال على ذلك التحلل المائي للكلوكوز 6- فوسفات الى الكلوكوز بفعل إنزيم كلوكوز 6- فوسفاتيز Glucose 6-phosphatase **كما في المعادلة الآتية:**

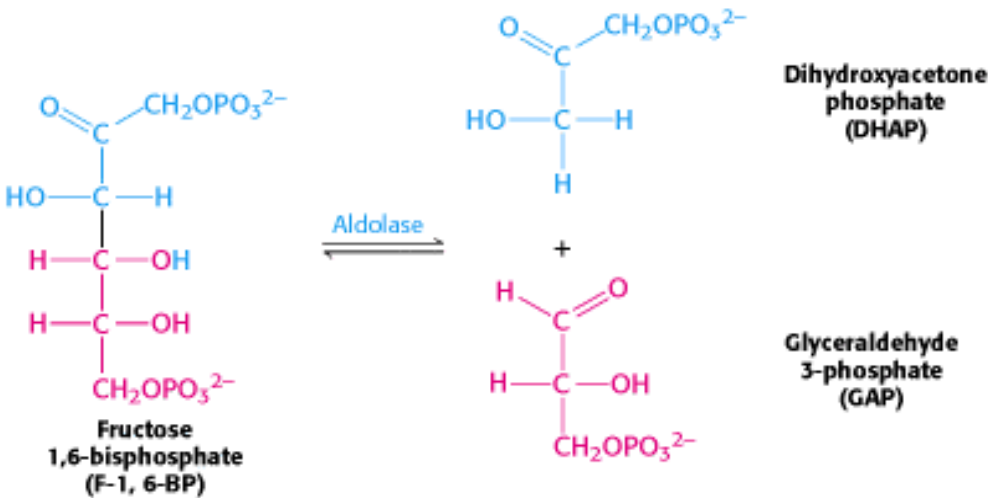


4- إنزيمات الإضافة أو الحذف Lyases (إنزيمات السنثيز Synthase)

وهي الإنزيمات التي تؤدي إلى حذف مجموعة من المادة الأساس فتنتج مركباً يحتوي على آصرة مزدوجة، أو تعمل على إضافة للآصرة المزدوجة منتجة مركباً يحتوي على أصرة منفردة وتشمل إنزيمات ديكاربوكسليز Decarboxylase وألدوليز Aldolase وديهيدرتيز Dehydratase. **كما في التفاعل العام الأتي:**



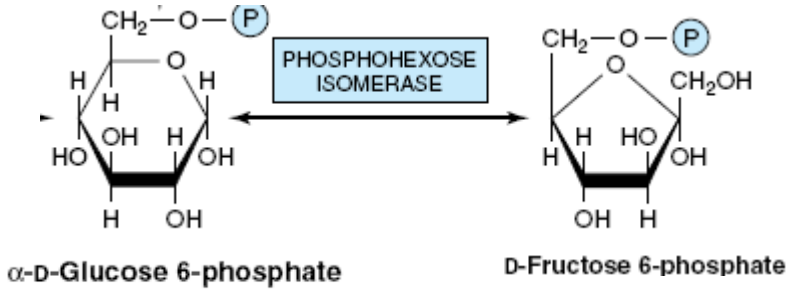
مثال على ذلك عملية انشطار فركتوز 1،6- ثنائي الفوسفات الى ثنائي هيدروكسي أسيتون فوسفات DHAP و كليسرألديهايد 3- فوسفات GAP بفعل إنزيم ألدوليز Aldolase :



5- الإنزيمات المناظرة Isomerases

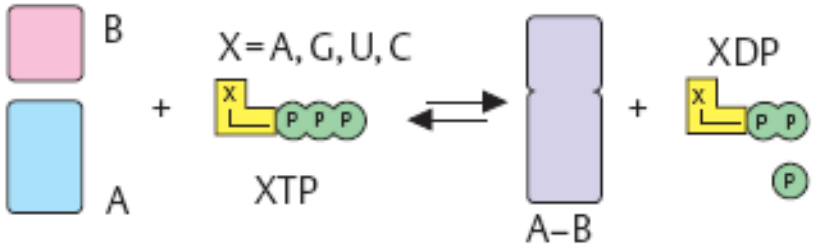
وتشمل الإنزيمات التي تحفز تفاعلات التناظر وتتضمن إنزيمات الأيزوميريـــز Isomerase والراســـميز Racemase والإبيمريز Epimerase. **كما في التفاعل العام الأتي :**

ومثال على ذلك تحول كلوكوز 6- فوسفات الى فركتوز 6- فوسفات بفعل إنـــزيم فوسفوهيكـــسوز أيزوميز Phosphohexose isomerase :

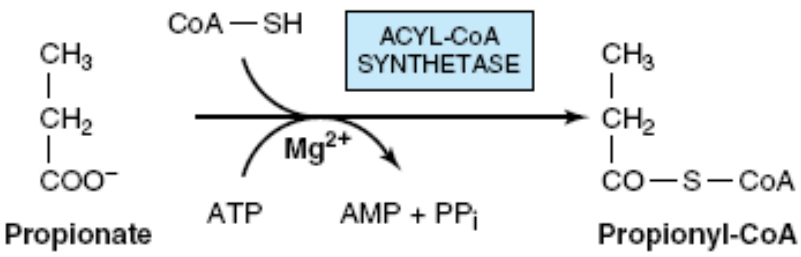


6- الإنزيمات الرابطة Ligases (إنزيمات سينثتيز Synthetase)

وهي الإنزيمات التي تعمل على ربط جزيئتين مع بعضها بحيث يؤدي إلى تكسير آصرة الفوسفات الغنية بالطاقة الموجودة في جزيئة الـــ ATP أو المركبات المشابهة لها من الرايبونيوكليوسيدات الثلاثية الفوســـفات وتشمل إنزيمات سينثتيز Synthetase. كما في التفاعل العام الأتي:



على سبيل المثال تحول البروبانويت Propionate الى بروبيونيل مرافق الإنزيم A بفعـــل إنـــزيم أسيل مرافق الإنزيم A سنثتيز Acyl-CoA synthetase ليتم أكسدته لإنتاج الطاقة **كما يأتي:**



ثانياً: ترقيم الإنزيمات

إن لكل إنزيم رقماً يتكون من أربعة عناصر، مفصولة عن بعضها بنقاط يسبقها الحرفين E.C. (والتي تعني تصريحة الإنزيم Enzyme Commission) ومنظمة بالقواعد الآتية:

أ- **الرقم الأول** يمثل المجموعة التـــي ينتمي إليها الإنزيم (في تصنيف الإنزيمات) ويكون من 1 الى 6.

ب- **الرقم الثاني** والذي يلي الرقم الأول يمثل الصنف الإضافي لهذه المجموعة Sub-class فمثلا لمجموعة الإنزيمات المؤكسدة والمختزلة يعبر هذا الرقم إلى طبيعة المجموعة الواهبة Donor والتي تحصل فيهـــا الأكسدة والتي تعطي أو تهب مكافئات الاختزال (الهيدروجين أو الالكترونات) في التفاعل فمثلاً:

الرقم الثاني	المادة التي تعطي الهيدروجين أو الإلكترون
1	كحول (-CHOH)
2	ألديهايد أو كيتون (>C=O)
3	إيثلين (-CH =CH-)
4	أمين أولي ($-CHNH_2$ or $-CHNH_3$)
5	أمين ثانوي (>CHNH-)
6	مرافقات إنزيمية (مثل NADH or NADPH)

وهكذا في بقية الإنزيمات فمثلاً الإنزيمات المميئة Hydrolases فيمثل الرقم الثاني نوع الآصرة التـــي تتميأ وكذلك من الإنزيمات بدون تميؤ فأن الرقم الثاني يشير الى نوع الآصرة التي تنكسر بين المجموعـــة المغادرة وتلك الباقية.

جـــ- **الرقم الثالـــث** يمثل الصنف الإضافي المضاف (Sub-Sub class) اذ يشير إلى المادة التي تستقبل (أو تأخذ) الهيدروجين أو الإلكترون في إنزيمات الأكسدة والاختزال كما يأتي:

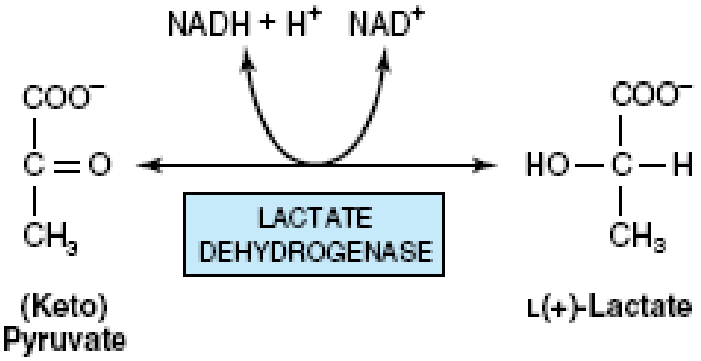
الرقم	المادة التي تأخذ الهيدروجين أو الإلكترون
1	NAD^+ or $NADP^+$
2	Fe^{+++}
3	O_2

د- **الرقم الرابع** والذي يطلق عليه الرقم التسلسلي Serial number فهي تضاف اعتباطاً بدون تمثيل حقيقي له أو في بعض الأحيان استناداً الى طبيعة المادة الأساس التي يعمل عليها الإنزيم ويستفاد منه في التفريق بين المجاميع المختلفة فمثلاً يعطي للإنزيمات التي تساعد في تفاعلات متشابهة ولكـــن ليـــست متطابقـــة (تحلل إسترات الحوامض الكاربوكسيلية المختلفة) نفس الأرقام الثلاثة الأولى أما الرقم الرابـــع فيفـــرق

بينهم (أي بين الإسترات المختلفة المذكورة) وبين المادة الخاضعة الفعلية. أي إستر الحامض الكاربوكسيلي الذي يقوم الإنزيم بتحليله فعلاً.

نأخذ مثالاً على تسمية الإنزيمات استناداً الى نظام لجنة الإنزيمات في التصنيف:

في التفاعل الأتي الذي يتحول فيه اللاكتيت إلى البايروفيت باستخدام إنزيم لاكتيت ديهيدروجنيز Lactate dehdrogenase:



إن تسمية الإنزيم للتفاعل أعلاه تكون كالأتي: Lactate dehydrogenase (E.C. 1.1.1.27)

وتدل التسمية على ما يأتي:

Lactate dehydrogenase تشير الى اسم الإنزيم الذي يعمل في التفاعل وهو لاكتيت ديهيدروجنيز.

E.C. تعني تصريحة الإنزيم Enzyme Commission.

الرقم الاول(1) يشير الى صنف الإنزيم وهو من إنزيمات الأكسدة والاختزال الواقع في الصنف الأول من تصنيف الإنزيمات.

الرقم الثاني (1) يشير الى المادة الواهبة للهيدروجين وهي الكحول.

الرقم الثالث (1) يشير الى المادة التي تأخذ الهيدروجين وهي NAD^+ .

الرقم الرابع (27) يشير الى مادة الأساس التي يعمل عليها وهي L-Lactate.

طاقة التنشيط وتأثير المحفز(الإنزيم):

حين ملاحظة التفاعلين الآتيين:

(1) تفاعل بدون استخدام الإنزيم (بوصفه محفزاً)

$$\mathbf{A + B \rightleftharpoons A\ldots B \longrightarrow Product}$$

المواد المتفاعلة — حالة انتقالية — حالة نهائية

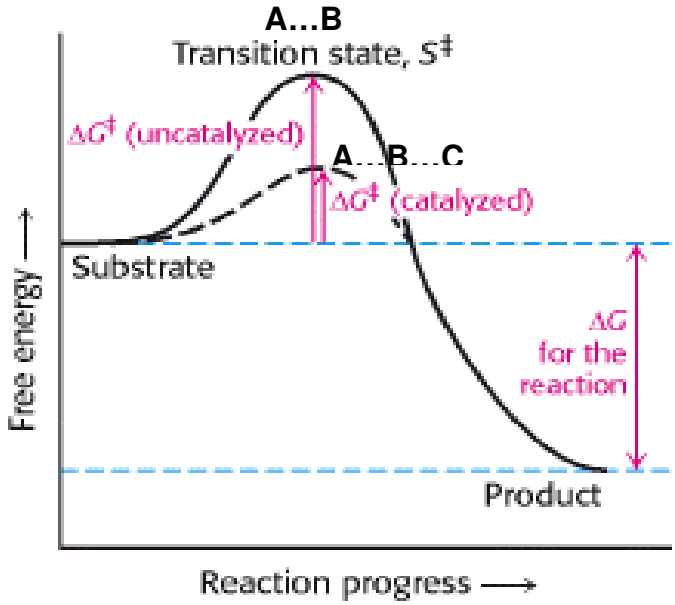
الحالة البدائية — للمواد المتفاعلة

(2) تفاعل باستخدام الإنزيم (بوصفه محفزاً) لنفس التفاعل السابق:

$$\mathbf{A+B+C \rightleftharpoons A\ldots B\ldots C \longrightarrow Product + C}$$

إذ A و B المواد المتفاعلة و C الإنزيم (العامل المساعد).

فإن التفاعل الأول والثاني يمكن توضيحهما في **الشكل (4-10)** إذ تقع المواد المتفاعلة (المواد الأساس A و B) على يسار المنحني والمواد الناتجة على اليمين، وفي الوسط المرحلة Transition state التي تمثل قمة المنحني وإن النواتج تكون عند مستوى طاقة أوطأ من تلك المواد المتفاعلة غير أن التفاعل لا يتم تلقائياً بسبب وجود الحاجز والذي يمثل طاقة التنشيط اللازمة للتفاعل.



الشكل(4-10): علاقة الطاقة الحرة (ΔG) Free energy وتقدم التفاعل Reaction progress.

إن إحدى الطرائق لدفع التفاعل نحو الناتج هي زيادة الطاقة عن طريق زيادة درجة الحرارة ولكن الكائنات الحية لا تستطيع زيادة الحرارة زيادة ملموسة لأنها تعمل عند درجات حرارية واطئة نسبياً وثابتة Isothermal ولكن باستخدام المحفزات(الإنزيمات) تعمل على مساعدة المواد المتفاعلة لامتلاك طاقة حركية كافية لعبور حاجز الطاقة وعند الدرجة الحرارية الفسيولوجية للجسم من خلال خفض طاقة التنشيط التي يحتاجها التفاعل مقارنةً بطاقة التنشيط للتفاعل بدون إنزيم، مع عدم تغير الطاقة الحرة (ΔG) أو ثابت التوازن للتفاعل. إذ أن العامل المساعد (الإنزيم) يعمل على زيادة إستقرارية الحالة الانتقالية (A…B....C) وبالتالي تحتوي على طاقة تنشيط أقل، وإن طاقة التنشيط هي الطاقة اللازمة لتحويل المواد المتفاعلة إلى حالتها النشيطة (الانتقالية) التي سوف تتحول بعد ذلك إلى مواد ناتجة.

العوامل المؤثرة على فعالية الإنزيم

إن العوامل التي تؤثر على فعالية الإنزيم تؤثر بالتالي على معدل سرعة التفاعل الذي يستخدم الإنزيم بوصفه عاملاً مساعداً (تحفيزياً). وهناك عدة عوامل تؤثر على فعالية الإنزيم أهمها:

1- تركيز الإنزيم.
2- تركيز المادة الأساس.
3- درجة الحرارة.

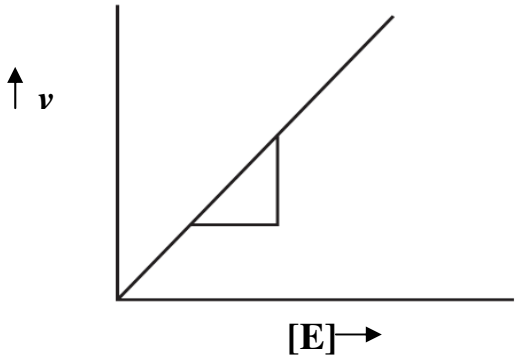
4- الأس الهيدروجيني.

5- وجود المثبطات Inhibitors أو المنشطات Activators.

إذ تؤثر هذه العوامل أعلاه على فعالية الإنزيم ولكي يتم جعل الإنزيم يعمل بصورته المثالية فيجب التحكم في تأثير هذه الظروف عليه. **وفي ما يأتي وصف لهذه العوامل المؤثرة:**

1- تأثير تركيز الإنزيم

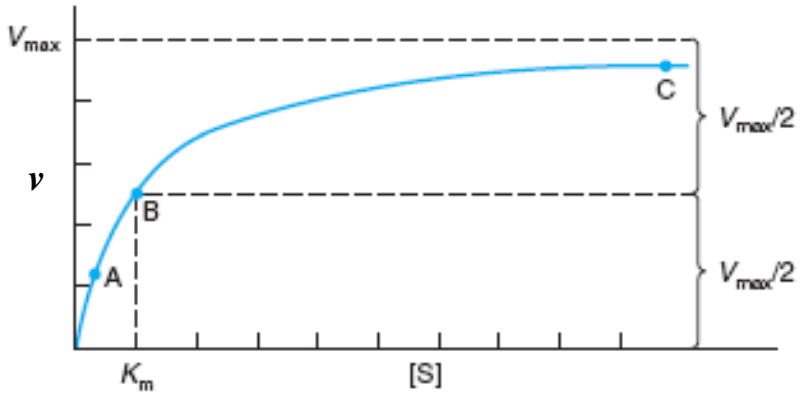
إن معدل سرعة التفاعل المحفز بالإنزيم (وخاصة الإنزيم النقي لحد ما) يتناسب طردياً مع تركيز الإنزيم عندما تكون المادة الأساس بوفرة في محيط التفاعل **(الشكل 5-10)**. ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية الإنزيم (فعالية الإنزيم) في عينة معينة (مصل، بول، دم، محلول وغيرها) بعد تثبيت الظروف من درجة الحرارة وpH ومادة الأساس اذ يمثل **الشكل (5-10)** الشكل المنحني القياسي Standard Curve الذي يمكن من خلاله قياس كمية الإنزيم بعملية التسقيط على المحور السيني.



الشكل(5-10): علاقة سرعة التفاعل v وتركيز الإنزيم [E].

2- تأثير تركيز المادة الأساس

عند إبقاء تركيز الإنزيم ثابتاً، فان الزيادة في تركيز المادة الأساس**[S]** تسبب في البداية ارتفاعاً سريعاً في معدل سرعة التفاعل v ولكن عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الأساس فان الزيادة في معدل السرعة تبطؤ إلى أن تصبح السرعة ثابتة مهما زاد تركيز المادة الأساس ويطلق على السرعة عند أعلى تركيز للمادة الأساس السرعة القصوى ويرمز لها V_{max} (Maximal velocity) **(الشكل 6-10)**.



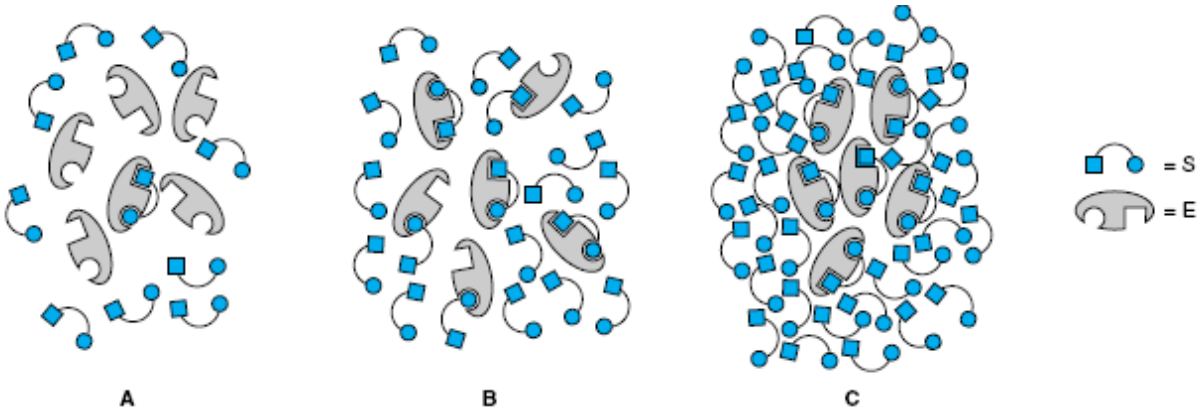
الشكل(6-10): تأثير تركيز مادة الأساس[S] في معدل سرعة التفاعل v مع ثبوت تركيز الإنزيم.

فسرت العلاقة بين سرعة التفاعل الإنزيمي وتركيز المادة الأساس من قبل العالمين مكيلس ومنتن Michaelis and Menten عام 1918 واستنادا إلى المعادلة الآتية:

$$E + S \underset{K-1}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} [ES] \longrightarrow E + P$$

الإنزيم — المادة الأساس — إنزيم مادة الأساس المعقد(حالة انتقالية) — الإنزيم — الناتج

تتحد المادة المتفاعلة مع الإنزيم مكونة مركباً وسطياً يسمى بالإنزيم – المادة الأساس الذي يتحلل ليكون نواتج التفاعل ويتحرر الإنزيم. ويحدث التفاعل بين الإنزيم والمادة الأساس عن طريق المواقع الفعالة الموجودة على سطح الإنزيم. وعند الرجوع إلى الشكل **(6–10)** بين تركيز المادة الأساس وسرعة التفاعل ففي البداية عند استخدام تراكيز واطئة من المادة الأساس تكون المواقع الفعالة للإنزيم غير مشبعة بمادة الأساس وعليه فان سرعة التفاعل تعتمد على تركيز المادة الأساس ويعبر عنها بحركية الرتبة الأولى First-order Kinetic ويطلق عليها الطور الأول Phase I **(الشكل 7–10)**، وعند زيادة تركيز المادة الأساس إلى درجة كبيرة بحيث تصبح المواقع الفعالة للإنزيم مشبعة بجزيئات المادة الأساس تكون سرعة التفاعل في هذه الحالة غير معتمدة على تركيز المادة الأساس ويعبر عنها بحركية الرتبة صفر Zero - order kinetic ويطلق عليها بالطور الثاني Phase II ومابين الطورين هو خليط من حركية الرتبة صفر والرتبة الأولى.



الشكل (7–10): يوضح الأتي:

A- عند استخدام تراكيز واطئة من المادة الأساس تكون المواقع الفعالة للإنزيم غير مشبعة بمادة الأساس.

B- عندما يكون وسط التفاعل يحوي على خليط متساوي من تركيز المادة الأساس وتركيز الإنزيم.

C- عند زيادة تركيز المادة الأساس إلى درجة كبيرة بحيث تصبح المواقع الفعالة للإنزيم مشبعة بجزيئات المادة الأساس.

إن المعادلة الرياضية التي توضح العلاقة بين سرعة التفاعل الإنزيمي وتركيز المادة الأساس والتي تحقق الشكل المنحني يطلق عليها معادلة مكيليس– منتن Michaelis – Menten وهي كما يأتي :

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

اذ:

v = معدل سرعة التفاعل.

[S] = تركيز المادة الأساس.

V_{max} = السرعة القصوى عند تركيز عالٍ من المادة الأساس.

K_m = ثابت مكيلس Michaelis Constant وهو عبارة عن تركيز المادة الأساس عندما يكون معدل سرعة التفاعل يساوي نصف السرعة القصوى أي عندما:

$$v = 1/2\ V_{max}$$

وعندما يكون ثابت مكيلس يساوي تركيز المادة الأساس K_m = [S] ، فإن معادلة مكيلس– منتن تصبح كالأتي :

$$v = \frac{V_{max} K_m}{K_m + K_m} = \frac{V_{max}}{2}$$

إن قيمة K_m تعتمد على نوعية المادة الأساس والأس الهيدروجيني للمحلول ودرجة الحرارة وتتراوح قيمة K_m لمعظم الإنزيمات مابين 10^{-7}-10^{-1} مولاري (وحدة K_m هي وحدة المادة الأساس المستخدمة في التفاعل الإنزيمي).

أهمية قيمة ثابت مكيلس :

1– إن قيمة K_m تعطي مؤشراً على امتلاء أو عدم امتلاء أو نصف امتلاء المواقع الفعالة للإنزيم بمادة الأساس وكالأتي:

أ– عندما تكون قيمة [S] اقل جداً من K_m فيمكن إهمال قيمة [S] من المقام فتصبح معادلة مكيلس– منتن كما يأتي:

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

ولما كانت قيمة كل من V_{max} و K_m ثابتة لذا يمكن التعويض عن هذه النسبة بالحرف K فتصبح المعادلة أعلاه:

$$v = K[S]$$

أي أن عندما تكون [S] << K_m فأن سرعة التفاعل تتناسب مع تركيز المادة الأساس إذ تكون أغلب المواقع الفعالة فارغة.

ب- عندما يكون تركيز [S] أعلى جداً من K_m فان قيمة K_m يمكن إهمالها من المقام فتكون معادلة مكيلس- منتن:

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

وهذا يعني عندما تكون [S] >> K_m فان معدل سرعة التفاعل هي السرعة القصوى وان جميع المواقع الفعالة للإنزيم مملوءة بالمادة الأساس.

جـ- عندما يكون تركيز [S] مساوياً لقيمة K_m فأنه يمكن التعويض عن قيمة K_m بـ [S] فتكون معادلة مكيلس- منتن:

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

$$v = \frac{V_{max}[S]}{2[S]} = \frac{V_{max}}{2}$$

إن ذلك يعني عندما [S] = K_m فان معدل سرعة التفاعل يساوي نصف السرعة القصوى ($\frac{V_{max}}{2}$)

وبمعنى آخر فان نصف المواقع الفعالة للإنزيم مملوء بالمادة الأساس والنصف الآخر فارغ.

2- تعد قيمة K_m مؤشراً لألفة الإنزيم لمادة الأساس، فكلما كانت قيمة K_m عالية كانت ألفة الإنزيم لمادة الأساس ضعيفة وبالتالي فان رابطة الإنزيم- المادة الأساس [ES] المعقد ضعيفة وكلما كانت قيمة K_m واطئة كانت ألفة الإنزيم للمادة الأساس شديدة وبالتالي فان رابطة [ES] المعقد قوية.

3- تستخدم قيمة K_m دليلاً لمعرفة التركيز التقريبي لمادة الأساس المطلوب استخدامه في التفاعل الإنزيمي عند قياس قيمة V_{max}.

رسم لاينويفر- برك The Line Weaver-Burk plot

إن شكل الرسم البياني بين تركيز المادة الأساس وسرعة التفاعل(13-10) يكون منحنياً خاصةً في المناطق التي لا يكون فيها الإنزيم مشبعاً بالمادة الأساس، لذلك توصل الباحثان لاينويفر- برك عام 1934 الى

حل هذه المشكلة وذلك بقلب البسط مقاماً في معادلة مكيلس- منتن أي اخذ القيمة العكسية لطرفي المعادلة وكالاتي:

معادلة مكيلس- منتن

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

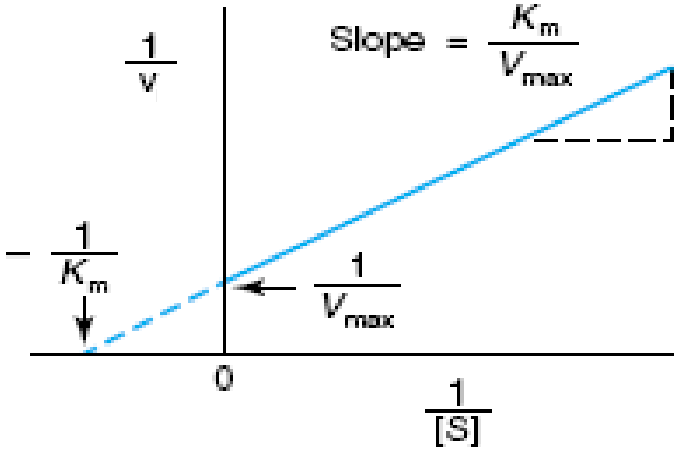
معكوس المعادلة تعطي

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

(معادلة لاينويفر- برك)

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

تمثل المعادلة الأخيرة معادلة لاينويفر- برك هذه المعادلة مشابهة لمعادلة الخط المستقيم ($Y = m X + C$) اذ يمكن الحصول أيضاً على خط مستقيم من رسم $\frac{1}{v}$ مقابل $\frac{1}{[S]}$ (كما في **الشكل أدناه**).



الشكل(8-10): رسم لاينويفر- برك لايجاد قيمة K_m و V_{max}.

إذ من الرسم البياني يلاحظ أن الميل يساوي $\frac{K_m}{V_{max}}$ والتقاطع $\frac{1}{V_{max}}$ على محور $\frac{1}{v}$

إن أهمية رسم لاينويفر- برك تكمن فيما يأتي:

1- تكون قيم K_m و V_{max} الناتجة من الرسم البياني دقيقة نسبياً.

2- يستفاد من الرسم لإيجاد نوعية المثبط عند دراسة تأثير المثبطات على فعالية الإنزيم.

رسم أيدي- هوفستي The Eadie- Hofstee plots

وجهت عدة نقاط ضعف إلى رسم لاينوفير- برك ومن هذه النقاط كالأتي:

1- إن امتداد الخط المستقيم على المحور $\frac{1}{v}$ حتى يلامس المحور $\frac{1}{[S]}$ لتقدير $\frac{1}{K_m}$ قد يصل إلى حافة ورقة الخط البياني مما يستوجب إعادة الرسم مرة أخرى (عند عدم استخدام الحاسبة الالكترونية في تطبيق المعادلة) إذ يفضل طريقة رسم الخط البياني على الورقة وملاحظة إن كان هنالك أي انحراف في استقامة الخط الناتج.

2- إعطاء صورة غير صحيحة ونتائج غير دقيقة عند استعمال تراكيز واطئة من المادة الأساس.

3- في التفاعلات التي لا تنطبق عليها معادلة ميكيلس- منتن فان استعمال رسم لاينويفر- برك لا يوضح الانحراف المتوقع حصوله في استقامة الخط (مقارنة برسم أيدي- هوفستي مثلاً)، وتأتي أهمية ذلك بصورة خاصة عند إجراء دراسات متعلقة بميكانيكية الإنزيم.

قام أيدي- هوفستي بضرب طرفي المعادلة لاينويفر- برك بالعامل $v.\ V_{max}$

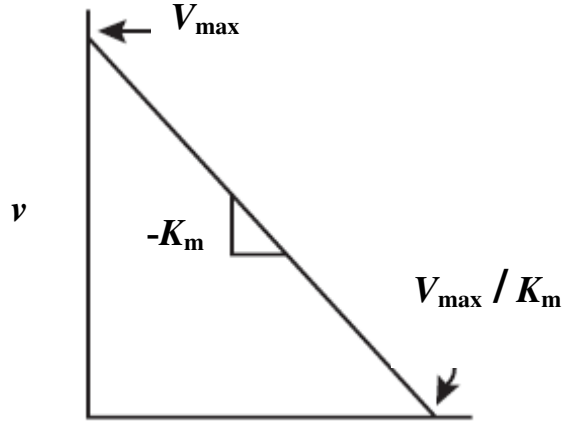
معادلة لاينويفر- برك:

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

وضرب طرفي المعادلة بالعامل $v.\ V_{max}$ وإعادة الترتيب فسيكون الناتج:

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

تعطي هذه المعادلة خطاً مستقيماً في الرسم البياني وبالإمكان تقدير K_m و V_{max} **كما موضح في الشكل الآتي:**

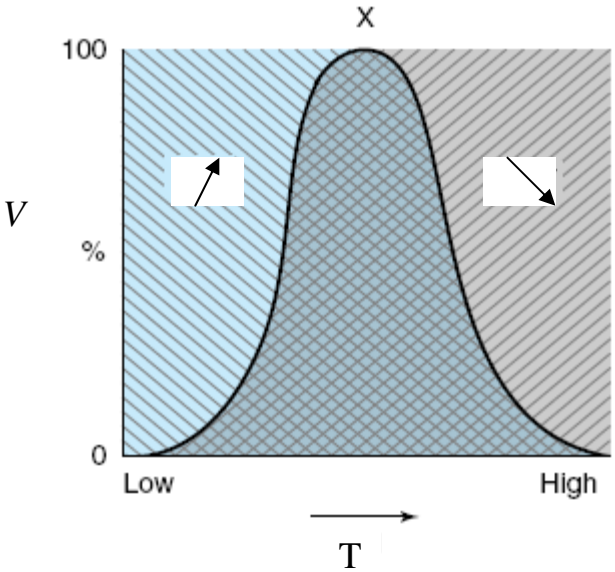


الشكل(9-10): رسم أيدي- هوفستي.

يفضل المختصون في حركية الإنزيمات Enzyme kinetics استعمال رسم أيدي- هوفستي، بينما يفضل المختصون بالإنزيمات Enzymolygists استعمال رسم لاينويفر- برك وفي كلتا الحالتين وللحصول على نتائج جيدة ومعتمدة يتوجب استعمال مدى واسعاً من تراكيز المادة الأساس.

3- تأثير درجة الحرارة

إن ارتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الإنزيم وبالتالي زيادة سرعة التفاعل بشرط أن لا يصل هذا الارتفاع للحد الذي يؤدي إلى مسخ الإنزيم (كون الإنزيم هو مادة بروتينية يمكن أن تتعرض للمسخ أيضاً) وإن ارتفاع درجة الحرارة تعمل على زيادة الطاقة الحركية للإنزيم فتزيد من تقارب الإنزيم مع المادة الأساس مما يسبب زيادة سرعة التفاعل وإن الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الإنزيمي في سرعته القصوى تطلق عليها الدرجة الحرارية المثلى لذلك الإنزيم والتي تمثل قمة المنحني في **الشكل (10-10)** الذي يمثل العلاقة بين درجة الحرارة وسرعة التفاعل. ولكن عند استخدام درجات حرارية أعلى من القصوى (أعلى من قابلية الإنزيم على تحمل الحرارة) والتي تكون غالباً أكثر من 50° م فأن ذلك يمكن أن يؤدي الى مسخ البروتين من خلال تفكك الأواصر الهيدروجينية وبعض القوى الأخرى المسئولة عن ثباتية الإنزيم مؤدياً إلى فقدان فعاليتها وانخفاضها بصورة تدريجية **(الشكل 10-10)**. ولكن هناك بعض الإنزيمات النباتية متخصصة قد ترتفع فيها درجة الحرارة المثلى إلى 60° م أو أكثر وإنزيمات مستخلصة من البكتريا Thermophilic bacteria قد تستمر فعاليتها إلى أكثر من 100°م.



الشكل(10-10): علاقة درجة الحرارة T وسرعة التفاعل الإنزيمي*V*.

4- تأثير الأس الهيدروجيني

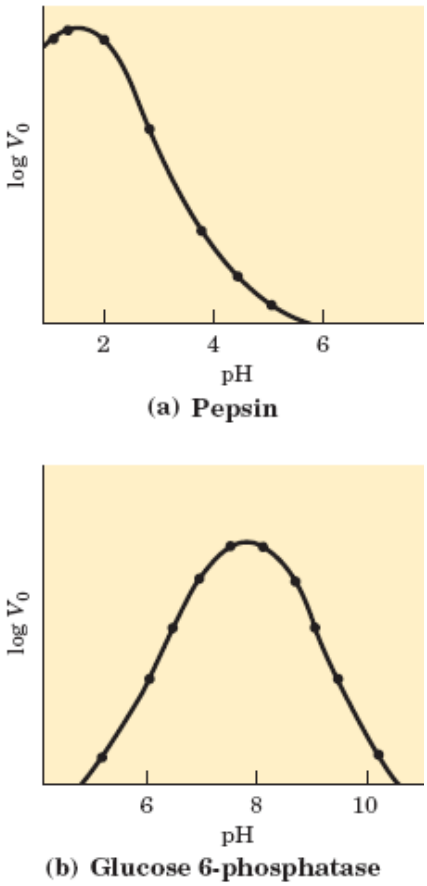
يؤثر الأس الهيدروجيني في مواقع معينة من الإنزيم منها:

أ- الصفات الأيونية للمجاميع الأمينية والكاربوكسيلية للإنزيم.

بـــ- الصفات الأيونية للمجاميع الجانبية لوحدات الأحماض الأمينية.

جـــ- الصفات الأيونية لوحدات الأحماض الأمينية الكائنة في الموقع الفعال والموقع المسئول عن التحفيز.

وبالتالي فان لكل إنزيم أس هيدروجيني pH عنده يبدي الإنزيم أقصى فعالية ويسمى الأس الهيـــدروجيني الأمثل (الأقصى) Optimal pH. يتراوح الأس الهيدروجيني الأمثل لأغلب الإنزيمـــات مـــابين 5 - 9 ، إذ غالباً يكون الأس الهيدروجيني للإنزيم مقارباً للأس الهيدروجيني للنسيج الذي أستخلص منه ذلك الإنزيم فعلى سبيل المثال إنزيم الببسين Pepsine تكون الـــ pH المثلى له تقريباً عند 1.6 (وقيمة pH لعـــصارة المعـــدة هي 1-2) وكذلك يلاحظ ان إنزيم كلوكوز 6- فوسفاتيز المستخلص من خلايا الكبد تكون الـــ pH المثلى لـــه تقريباً عند 7.8 (وقيمة pH لسايتوسول الكبد هي 7.2)**(الشكل 11-10)** ولكن عند استخدام أس هيدروجيني عالي جداً أو واطئ جداً فيمكن أن يؤدي ذلك إلى عملية المسخ Denaturation للإنزيم وفقدان فعاليته.



الشكل(11-10) : تأثير الأس الهيدروجيني pH على إنزيمي: (a) الببـــسين Pepsin . (b) الكلوكـــوز 6- فوسفاتيز Glucose 6-phosphatase.

5- تثبيط الإنزيم Enzyme inhibition

المثبطات هي مركبات كيميائية (قد تكون أيونات معدنية أو مركبات جزيئية عضوية صغيرة) تخفض من معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو توقفه من خلال تأثيرها على عامل واحد أو أكثر من العوامل التي تكـــون في تركيب أو مرافق الإنزيم وهي كالأتي:

أ- الموقع الفعال.

ب- الجزء البروتيني من الإنزيم والمسمى أبو إنزيم (الإنزيم المجرد) Apoenzyme.

جـ- المرافق الإنزيمي (أيونات معدنية أو جزيئات عضوية).

د- المجموعة الرابطة في الإنزيم Prosthetic group.

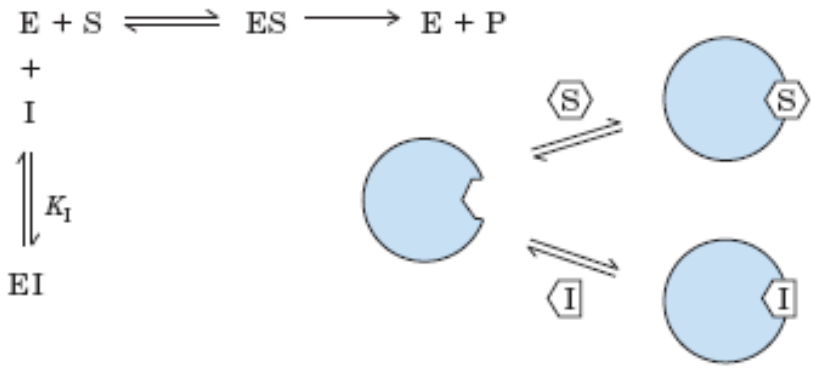
فضلاً عن ذلك يمكن خفض معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو إيقافه من خلال التغيير في درجة الحرارة أو الأس الهيدروجيني الأمثل للإنزيم أو بإضافة احد عوامل مرسبات البروتين المختلفة.

استخدمت المثبطات في العديد من التفاعلات الإنزيمية وذلك لمعرفة ودراسة المسارات الأيضية المختلفة في الجسم فضلاً عن دراسة تأثير بعض العقاقير والمواد السامة على التفاعلات الإنزيمية في الجسم.

ويمكن تصنيف مثبطات الإنزيم إلى ثلاثة أصناف:

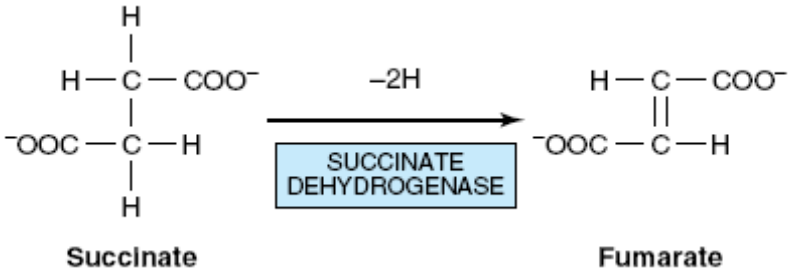
أ- المثبط التنافسي Competitive inhibitor

يحدث التثبيط التنافسي عندما يتنافس المثبط ((Inhibitor (I) مع المادة الأساس (S) على الاتحاد مع الموقع الفعال للإنزيم **(الشكل 12-10)** :



الشكل (12-10): التثبيط التنافسي.

ويكون هذا النوع من التثبيط عكسياً (إذ أن المثبطات العكسية هي التي تتحد مع الإنزيم مباشرةً ويمكن إزالتها بعملية الفرز الغشائي Dialysis أو بالتخفيف وبهذا تسترجع الفعالية الإنزيمية)، **ويعتمد هذا التثبيط التنافسي العكسي على تركيز المثبط والمادة الأساس والألفة النسبية بين المثبط والمادة الأساس**، فبزيادة تركيز المادة الأساس يمكن تقليل نسبة التثبيط الذي يكون تركيبه (المثبط) في الغالب مشابهاً لتركيب مادة الأساس. فمثلا المالونيت ($^-O_2CCH_2CO_2^-$) مثبط تنافسي لإنزيم سكسنيت ديهيدروجينيز Succinate dehydrogenase الذي يعمل على تحويل السكسنيت إلى الفيوماريت **(الشكل 13-10)**. اذ للمالونيت مجموعتا كاربوكسيل كالمادة الأساس الطبيعية للإنزيم (سكنسيت) وبهذا تتمكن المالونيت من ملء موقع ارتباط السكسنيت على الإنزيم مع عدم قابلية تحولها إلى الفيوماريت.



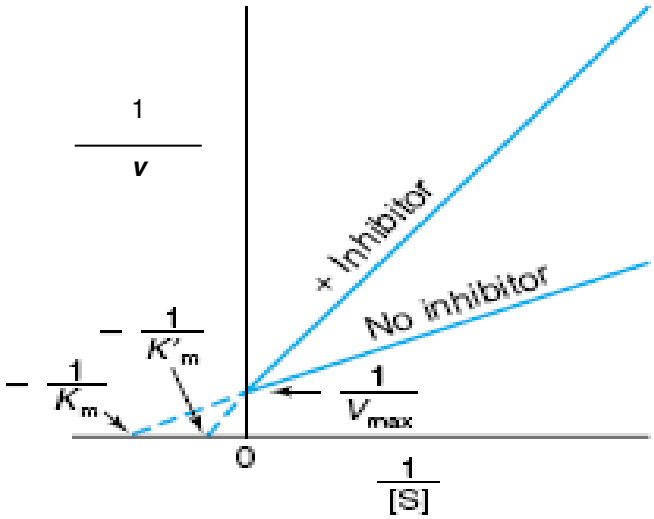
الشكل(13-10): تحول السكسنيت Succinate إلى الفيوماريت Fumarate بفعل إنزيم سكسنيت ديهيدروجنيز Succinate dehydrogenase.

وباستعمال الرسم البياني لمعادلة لانيويفر- برك بوجود أو عدم وجود المثبط التنافسي **(الشكل 14-10)** يمكن استخلاص المعلومات الآتية:

1- تبقى السرعة القصوى V_{max} ثابتة.

2- تزداد قيمة K_m (أي بمعنى تنخفض ألفة الإنزيم لمادة الأساس).

3- يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس.



الشكل(14-10): الرسم البياني لمعادلة لانيويفر- برك بوجود أو عدم وجود المثبط التنافسي Competitive inhibitor.

ب- المثبط غير التنافسي Noncompetitive Inhibitor

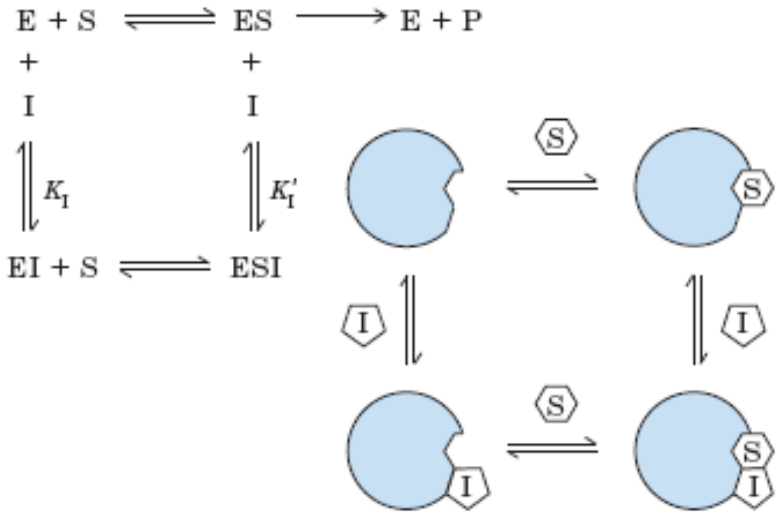
في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الأساس أو قد يشابهه قليلاً، ويرتبط المثبط غير التنافسي عادةً مع الإنزيم في موقع آخر يختلف عن الموقع الفعال أي لا يوجد أي تنافس بين المثبط والمادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للإنزيم لذا فان زيادة تركيز مادة الأساس لا يلغي تأثير عمل هذه المثبطات. **ويقسم المثبط غير التنافسي الى نوعين:**

1- المثبط غير التنافسي العكسي Reversible noncompetitive inhibitor .

2- المثبط غير التنافسي غير العكسي Irreversible noncompetitive inhibitor .

وفي مايأتي وصف للنوعين السابقين:

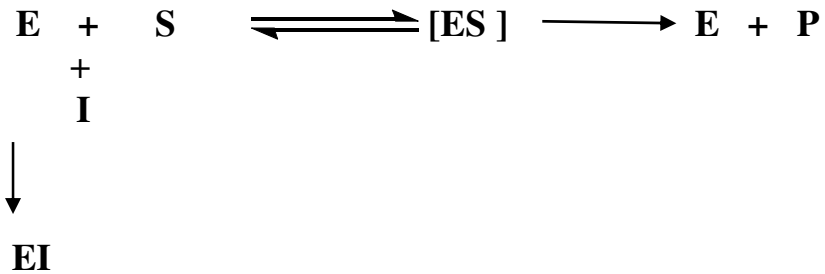
1- **المثبط غير التنافسي العكسي:** يتكون معقدان بوجود المثبط وهما EI (معقد الإنزيم- المثبط) و EIS (معقد الإنزيم- المثبط- المادة الأساس) كما في الشكل **(15-10)**:



الشكل(15-10): التثبيط غير التنافسي العكسي.

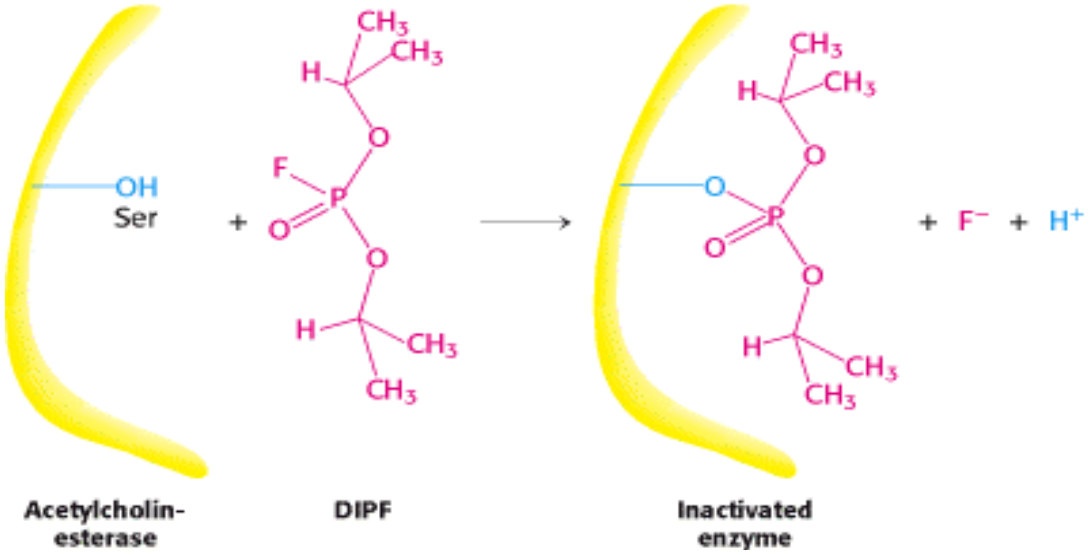
أن المعقد EIS يمكن أن يتحلل ليعطي الناتج ولكن بمعدل سرعة اقل مما هو عليه لتحلل ES وبهذا يكون التفاعل الإنزيمي أبطأ مما هو عليه بغياب هذا النوع من المثبطات.

2- المثبط غير التنافسي غير العكسي: يرتبط المثبط مع وحدة الحامض الأميني للإنزيم بوساطة آصرة تساهمية بحيث لا يمكن فصل المثبط عن الإنزيم بوساطة التخفيف أو الديلزة (الفرز الغشائي) والتي تسمى هذه الحالة في بعض الأحيان تسمم الإنزيم Poison enzyme. إن هذا الارتباط يعمل على تحوير الإنزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كلياً لذلك يقال عن الإنزيم بأنه تسمم بالمثبط. ويمكن توضيح إتحاد المثبط غير التنافسي غير العكسي بالإنزيم بالشكل أدناه:



ومن الأمثلة على هذا النوع من التثبيط أيونات المعادن الثقيلة مثل (الرصاص والزئبق والفضة) التي لها القابلية على الارتباط بقوة مع مجاميع الثايول لبعض الإنزيمات. فضلاً عن غاز الأعصاب ثنائي أيزوبروبيل

فلوروفوسفات Diisopropyl flurophosphate (DIPF) الذي يعمل على تثبيط إنـــزيم أســـيتايل كـــولين إستريز بارتباطه مع مجموعة الهيدروكسيل لوحدات السيرين في الإنزيم (**الشكل 16–10**).



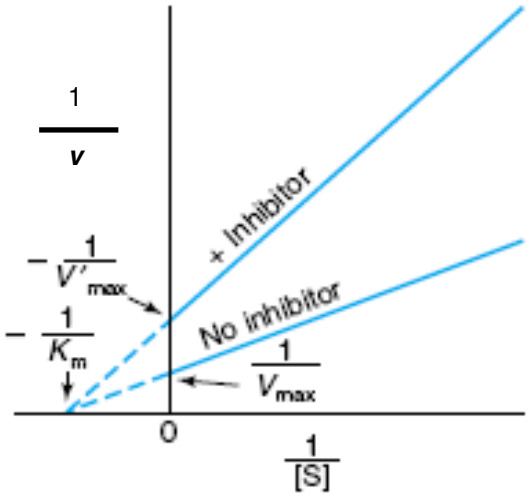
الشكل(16–10): تثبيط إنزيم أسيتايل كولين إســـتريز Acetylcholin esterase بارتباطـــه مـــع غـــاز الأعصاب ثنائي أيزوبروبيل فلوروفوسفات Diisopropyl flurophosphate (DIPF) .

إن الرسم البياني لمعادلة لاينويفر– برك بوجود أو عدم وجود المثبط غير التنافـــسي (العكـــسي أو غيـــر العكسي) يعطي الشكل نفسه (**الشكل 17–10**) اذ يمكن استنتاج المعلومات الآتية منه:

أ– تنخفض السرعة القصوى V_{max}.

بـــ– تبقى قيمة K_m ثابتة (لأن زيادة تركيز المادة الأساس ليس لها تأثير في تقليل التثبـــيط فتبقـــى ألفـــة الإنزيم لمادة الأساس ثابتة أيضاً).

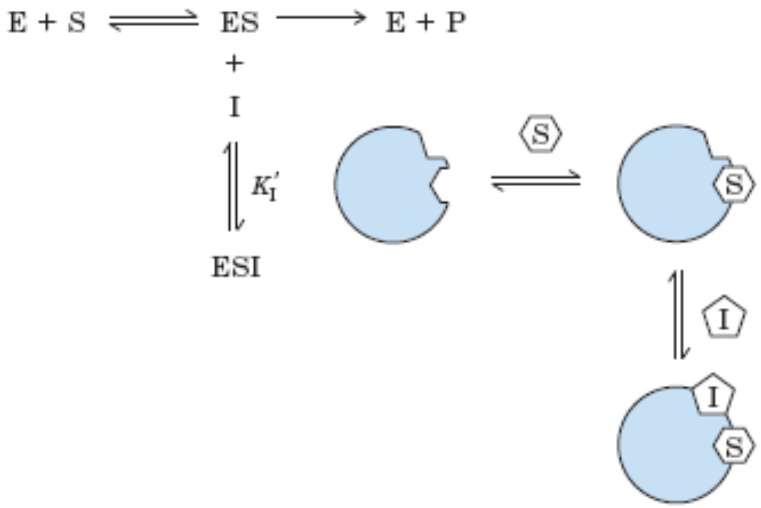
جـــ– لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس.



الشكل(17–10): الرسم البياني لمعادلة لاينويفر– برك بوجود أو عدم وجود المثبط غير التنافسي،

جـ- التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive Inhibitor

يعد المثبط اللاتنافسي جزءاً من المثبط غير التنافسي العكسي إذ كلاهما يحتويان على المعقد EIS فالمثبط اللاتنافسي يتحد مع المعقد ES فقط ليكون EIS (**الشكل 18-10**).



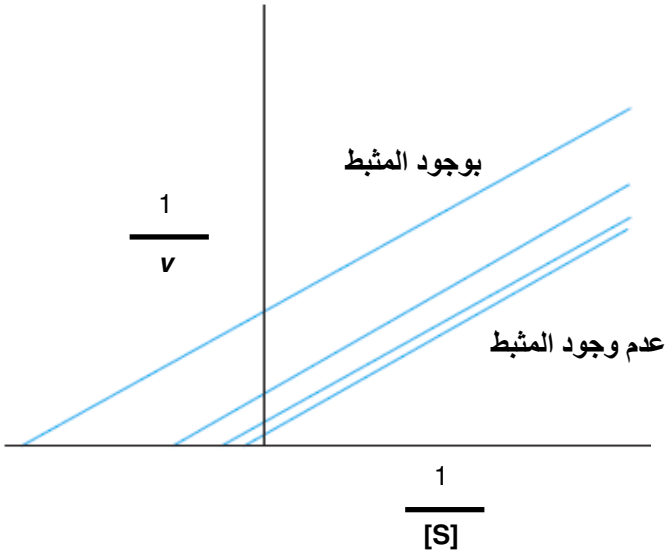
الشكل (18-10): التثبيط اللاتنافسي

إن المثبط اللاتنافسي يرتبط بموقع يختلف عن موقع ارتباط مادة الأساس بالإنزيم. والرسم البياني لمعادلة لانيويفر- برك (**الشكل 19-10**) بوجود المثبط اللاتنافسي أو عدم وجوده يوضح بالمعلومات الآتية:

1- انخفاض قيمة السرعة القصوى V_{max}.

2- انخفاض قيمة K_m .

3- لا يمكن التغلب على التثبيط بزيادة تركيز المادة الأساس.



الشكل(19-10): الرسم البياني لمعادلة لاينويفر- برك بوجود المثبط اللاتنافسي أو عدم وجوده.

هناك حالات واضحة لكن قليلة من التثبيط اللاتنافسي للتفاعلات الإنزيمية التي تشارك فيها مادة أساس واحدة. يمكن عدّ أيون الهيدروجين أحد ابسط الأمثلة على ذلك فبعض الإنزيمات ومنها الكيموتربسين يثبط عملها بزيادة تركيز ايون الهيدروجين (لأن موقعها الفعال يتضمن استقبال البروتونات).

6- تنشيط الإنزيم Enzyme Activation

يقصد بالمنشطات Activators الجزيئات الصغيرة والتي عادة تكون أيونات لاعضوية تحتاجها بعض الإنزيمات لتحفيز نشاطها إذ تعمل على خفض طاقة تنشيط التفاعل وبالتالي جعلها أكثر سهولة في إعطاء الناتج النهائي. ومما هو جدير بالذكر فان عمل هذه المنشطات لا يشابه العمل الذي تقوم به مرافقات الإنزيم. فهي لا تدخل بحد ذاتها في تفاعل الإنزيمات التي تحتوي على مرافقات إنزيمية وعادة تتحد هذه المنشطات مع الإنزيم الحر أو مع المادة الأساس لتكون معقد المنشط- المادة الأساس (وليكن هذا المنشط هو الايون المعدني M) الذي يتحد بدوره مع الإنزيم ليكون مركب معقد ثلاثي بين الإنزيم (E) والايون المعدني (M) والمادة الأساس (S) وقد أشار العالم ملدفان Meldvan عام 1970، إن هناك عدة اقتراحات في عملية تكون المعقد الثلاثي وهي:

أ- قد يرتبط بفعل الإنزيم ليكون [M-E-S] .

ب- قد يرتبط بفعل المادة الأساس ليكون [E-S-M] .

جـ- قد يرتبط بفعل الايون المعدن ليكون [E-M-S] .

ومن أهم الأيونات التي أثبتت مشاركتها في التفاعلات الإنزيمية هي أيونات (Zn, K, Na, Mo, Mg, Cu, Co, Ca).

آلية مشاركة المعادن في تنشيط الإنزيمات

تحتاج أكثر من ربع الإنزيمات المعروفة إلى ذرة معدنية لإظهار فعاليتها الكاملة اذ تكون الذرات المعدنية عادة حاملة للشحنات الموجبة وغالباً ما تحتوي على أكثر من شحنة واحدة مثل الحديدوز Fe^{2+} والحديديك Fe^{3+} ، إذ أن إحدى آليات الفعل المساعد بوساطة المعادن هو ان الشحنة الموجبة في المعدن تعمل على إستقرارية الحالة الانتقالية بفعل التجاذب الإلكتروستاتيكي. وبغض النظر عن حالة الأكسدة وعدد الشحنات التي يحملها الأيون المعدني فأنه يتمكن من ربط عدد معين من المجاميع Ligands بأخذه أزواجاً من الالكترونات الحرة ليكون أواصر تناسقية Coordinate bonds وهي أحدى أنواع الأواصر التساهمية التي تحتوي على زوج من الالكترونات يجهزان بوساطة إحدى الذرتين اللتين تربطهما الآصرة، وفي وضع متخصص تتمكن الأيونات المعدنية من المساهمة في عمل الإنزيمات **بطرائق مختلفة منها:**

أ- بإمكان الأيونات المعدنية أن تأخذ أو تعطي الكترونات لتنشيط الإلكتروفيل أو النيكلوفيل وحتى في المحاليل المتعادلة فان الأيونات المعدنية نفسها تعمل إلكتروفيلاً أو نيوكليوفيلاً.

ب- بإمكان الأيونات المعدنية أن تحجب النيوكليوفيل لمنع حدوث التفاعلات الجانبية غير المرغوبة.

جـ- تعمل الأيونات المعدنية على تقريب الإنزيم والمادة الأساس من بعضها البعض بوساطة الأواصر التناسقية.

د- تعمل الأيونات المعدنية على ربط المجاميع المتفاعلة في الشكل ذي البعد الثلاثي.

هـ- تعمل الأيونات المعدنية على إستقرارية التركيب الفعال للإنزيم.

أما في حالة الإنزيمات الحاوية على المعادن Metalloenzymes فإن المعدن يرتبط بقوة بالإنزيم ويبقى الإنزيم محتفظاً به حتى في حالة تنقيته بالمقابل يكون ارتباط المعدن بالإنزيم اقل قوة في حالة الإنزيمات التي تنشط بوساطة المعادن اذ المعادن التي ترتبط بالإنزيمات تعد مجموعة ترقيعية Prosthetic group ولا يمكن إزالتها بعكس المعادن المستخدمة للتنشيط.

العوامل المرافقة للإنزيم

تحتاج بعض الإنزيمات إلى وجود مركبات عضوية خاصة Coenzymes بوصفها مواداً مرافقة تساعدها على تأدية دورها وتسريع التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الخلية الحية. ويتلخص دور هذه المرافقات عموماً بالقيام بدور المستقبل أو المانح لبعض المجاميع أو الذرات المفصولة أو المضافة من المادة الأساس، وهي تلعب دوراً مهماً في المركبات الوسطية الناتجة خلال مراحل التفاعل دون أن تستهلك أثناء هذه العمليات وعلى هذا الأساس يمكن اعتبارها عوامل مهمة في عمليات التحفيز الإنزيمي.

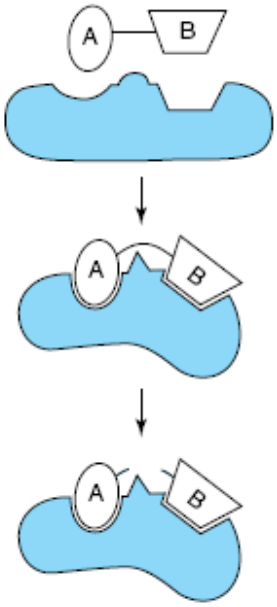
إن مشاركة المرافقات الإنزيمية (مثل $FAD, FADH_2, NADPH, NADP^+, NAD^+, NADH$ وغيرها) في التفاعلات الإنزيمية من خلال تكوينها آصرة بين المرافق الإنزيمي والإنزيم يختلف من حالة إلى أخرى ولا يوجد هناك خط واضح بين العامل المرافق المرتبط تساهمياً بالإنزيم (ويطلق على العامل المرافق في هذه الحالة بالمجموعة الترقيعية Prosthatic group الذي يعد جزءاً لا يتجزأ من الموقع الفعال للإنزيم ولا يتغير خلال التفاعل الإنزيمي أما عندما تكون المرافقات الإنزيمية مرتبطة بارتخاء (بضعف) بالإنزيم فتعد Co-substrates لأنها ترتبط بجزيئة الإنزيم البروتينية مع المواد الأساس في بداية التفاعل وتغادر الإنزيم في نهاية التفاعل بعد أن يتغير شكلها (أي المرافقات الإنزيمية).

الموقع الفعال The Active site

الموقع الفعال هو تلك المنطقة التي ترتبط بها المواد الأساس (والمجاميع المرتبطة الأخرى إن وجدت) والذي هو عبارة عن وحدات من الأحماض الأمينية في الإنزيم، تشترك في عملية التحفيز، ويكون على شكل حفرة أو التفاف لسلسلة متعدد الببتيد. وعلى الرغم من الاختلاف التركيبي الكبير بين الإنزيمات فأنه يمكن تعميم **بعض الظواهر الخاصة بالمواقع الفعالة التي يمكن تحديدها بما يأتي:**

1- تؤلف المواقع الفعالة جزءاً صغيراً من الحجم الكلي للإنزيم وبذلك فان معظم الأحماض الأمينية في الإنزيم ستكون بعيدة إلى حد ما عن المادة الأساس.

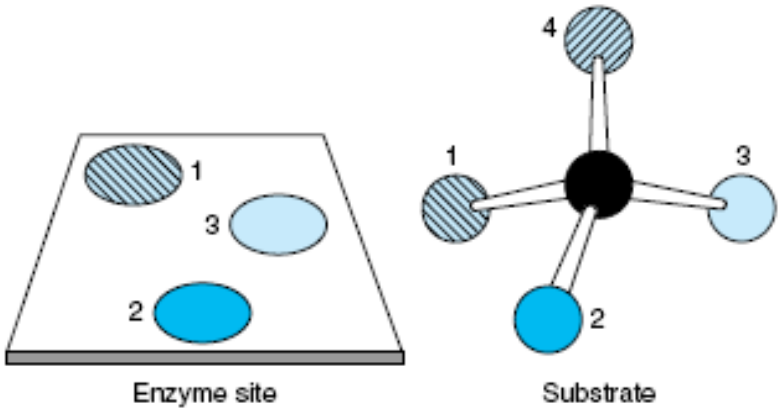
2- يتميز الموقع الفعال بكونه ثلاثي الأبعاد فهو ليس بالنقطة ولا بالخط المستقيم ولا حتى بالمستوي. ويترتب الشكل الثلاثي الأبعاد من مجاميع مختلف لأنحاء مختلفة من سلسلة الأحماض الأمينية التعاقبية في الإنزيم فمثلاً قد تكون الأحماض الأمينية في مواقع 35, 52, 62, 63, 101 تشارك في الموقع الفعال (**الشكل 20-10**).



الشكل (20-10): ارتباط مادة الأساس بالإنزيم على شكل ثلاثي الأبعاد لموقعين في الإنزيم.

3- ترتبط المواد الأساس بإنزيماتها بقوى ضعيفة نسبياً، فقد اتضح أن ثوابت اتزان معقدات [ES] تتراوح عادة بين 10^{-8} و 10^{-2} مول وتبين أيضاً عند حساب طاقة التفاعل الحرة إنها تتراوح بين – 3 و -12 كيلو سعرة/ مول وعند مقارنة هذه الأرقام مع قوة الارتباط التساهمي التي تتراوح بين – 50 و -110 كيلو سعرة/ مول نجد أنها ليست بتلك القوة التي يحسب حسابها.

4- المواقع الفعالة في الإنزيم عبارة عن شقوق (حفر) في الإنزيم (**الشكل 21-10**) والتي ترتبط بها المواد الأساس وان خصوصية الارتباط تعتمد على الترتيب الدقيق للذرات التي تحويها الأحماض الأمينية في الموقع الفعال.

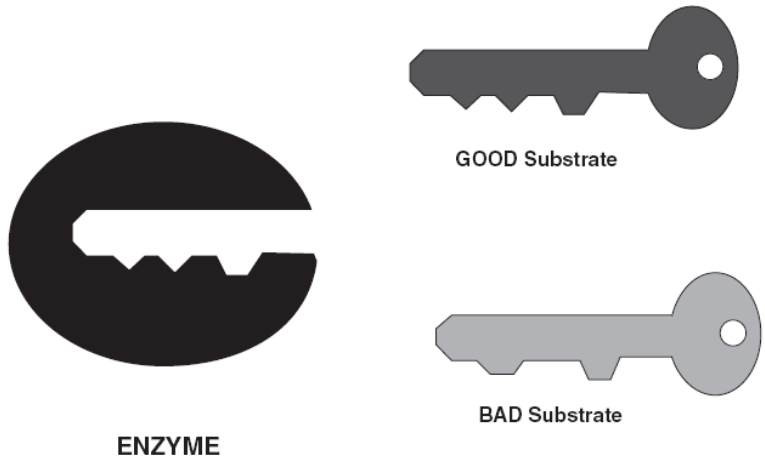


الشكل(21-10): مشاركة مادة الأساس ضمن المواقع الاتحادية الثلاثة في الموقع الفعال.

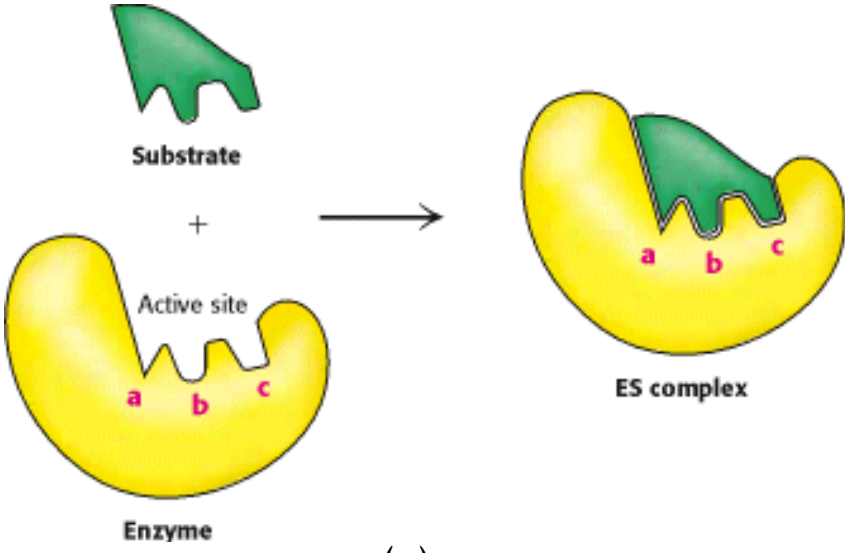
5- **هناك نظريتان تتضمنان اتحاد المادة الأساس بالموقع الفعال وتكوين الإنزيم- المادة الأساس المعقد وهما:**

أ- نظرية القفل والمفتاح Lock and key theory

اقترحت هذه النظرية من قبل الباحث إميل فيشر Emil Fischer في سنة 1890، ففي هذه النظرية وبسبب خصوصية الإنزيم فأنه يتحد مع مادة أساس ذات شكل ملائم تماماً للموقع الفعال اذ يؤثر المفتاح (المادة الأساس) على قفل واحد فقط وليس كل المجموعات الموجودة بجزيئة الإنزيم **(الشكل22-10 أ و ب)**. ومن عيوب هذه النظرية هي صلابة أو عدم مرونة الموقع الفعال بالنسبة للمادة الأساس وتنطبق هذه النظرية على عدد من الإنزيمات ذات الحركية البسيطة.



(أ)



(ب)

الشكل (22-10): أشكال نظرية القفل والمفتاح:

(أ) ارتباط المفتاح (المادة الأساس) بالقفل(الإنزيم) لكي يؤدي فعاليته.

(ب)ارتباط مادة الأساس بمواقع ثابتة وغير متحركة للإنزيم.

ب- نظرية الحث التوافقي Induced fit theory

يعتمد اتحاد مادة الأساس مع الموقع الفعال للإنزيم على المجاميع الجانبية (R-group) للأحماض الأمينية في الموقع الفعال والتي تشترك جميعاً في عملية الاتحاد **ويمكن تصنيف وحدات الأحماض الأمينية في الموقع الفعال إلى أربع مجاميع، وهي:**

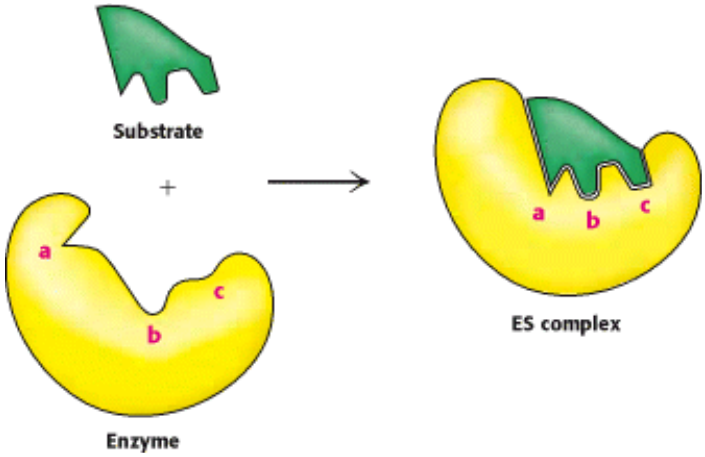
1- **وحدات اتحادية:** التي تتحد مع مادة الأساس.

2- **وحدات تحفيزية:** مسئولة عن التغيرات الكيميائية.

3- **وحدات تركيبية:** التي تحافظ على التركيب ثلاثي الأبعاد للإنزيم.

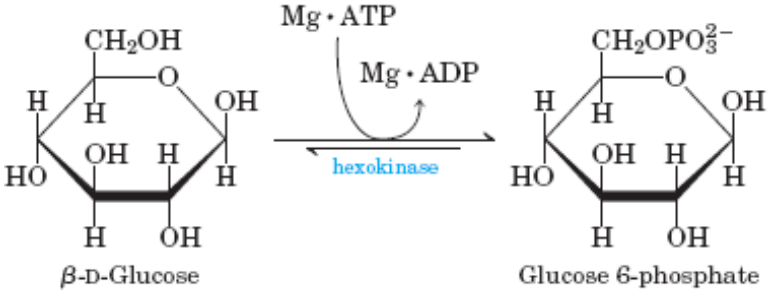
4- **وحدات غير أساسية:** التي تكون على سطح الإنزيم ولا تشارك في عملية التحفيز.

تشترك المجاميع الأربعة أعلاه في عملية الاتحاد مع المادة الأساس، ويمكن تشبيه نظرية التوافق المستحث بالقفاز الذي يغير من شكله عند دخول اليد فيه، فالقفاز هنا، يعد الموقع الفعال في الإنزيم واليد هي المادة الأساس. إن أهم ملامح نظرية التوافق المستحث هي مرونة الموقع الفعال **(الشكل 23-10)**. إذ حالما تضاف المادة الأساس للإنزيم فأن الموقع الفعال في هذا الإنزيم يتحور بشكل خاص ليتمكن من الارتباط بالمادة الأساس، أي إن شكل الموقع الفعال لا يتخذ الشكل المشابه للمادة الأساس إلا حين يرتبط بها لذلك سميت الحالة الديناميكية هذه بنموذج الحث التوافقي Induced fit.



الشكل(23-10): نموذج التوافق المستحث لارتباط الإنزيم بمادة الأساس وتكوين المعقد[ES] .

يعد إنزيم الهيكسوكاينيز Hexokinase احد الأمثلة على نموذج التوافق المستحث والذي يعمل على تحويل السكريات السداسية (مثل الكلوكوز) الى كلوكوز 6- فوسفات كما **في المعادلة الآتية:**



الشكل(24-10): تحول الكلوكوز إلى كلوكوز 6-فوسفات بفعل إنزيم هيكسوكاينيز Hexokinase.

الصفة الخصوصية للإنزيمات Specificity of enzymes

تقسم الإنزيمات استناداً الى تخصصها لمادة الأساس إلى:

1- الإنزيمات ذات التخصص المطلق Absolute specificity

تعمل الإنزيمات في هذا النوع من التخصص على مادة أساس واحدة فقط ولا تعمل على أية مادة أخرى فإنزيم اليوريز مثلاً يعمل على مادة اليوريا فقط.

2- إنزيمات ذات تخصصات نسبية Relative specificity

في التخصص النسبي لا يكون الإنزيم متخصصاً في التأثير على مركب معين بل يكون متخصصاً في رابطة كيميائية معينة، بغض النظر عن الوحدات البنائية المرتبطة لهذه الروابط الكيميائية. **ومن هذه الإنزيمات:**

أ- الإنزيمات ذات تخصص بالنسبة للمتشابهات الفضائية (التخصص المجسامي) Stereochemical specificity

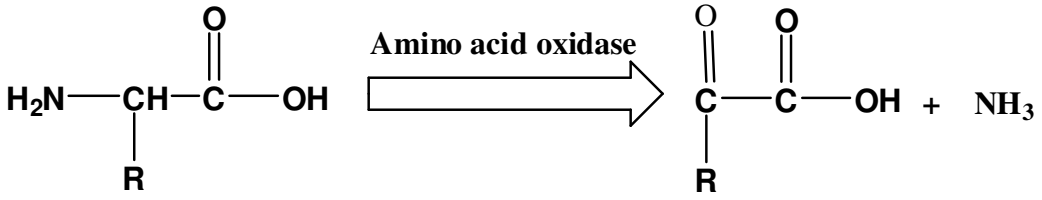
إذا كانت المادة الأساس توجد على هيئة صورتين D وL فان أحدى الصورتين هي التي تكون المادة الأساس بالنسبة لإنزيم معين، فعلى سبيل المثال إنزيم L- أمينو أسيد أوكسيديز L-amino acid oxidase يؤثر على الحامض الأميني نوع L ولا يحفز تحويل الحامض الأميني من نوع D.

ب- الإنزيمات ذات التخصص التركيبي Structural specificity

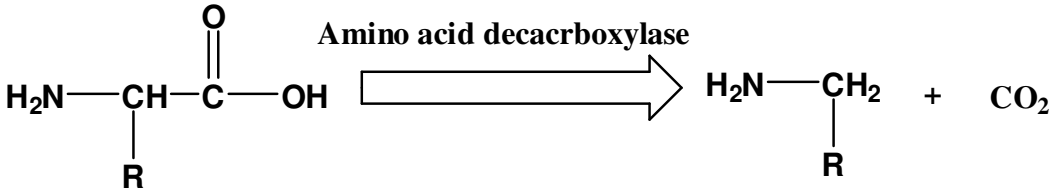
تتخصص هذه الإنزيمات على أواصر معينة في مادة الأساس، فإنزيم كاربوكسي ببتيديز Carboxy peptidase يؤثر على الرابطة الببتيدية المجاورة للمجموعة الكاربوكسيلية الحرة في سلسلة متعدد الببتيد والإنزيم امينو ببتيديز Amino peptidase يؤثر فقط على الرابطة الببتيدية الخارجية المجاورة للمجموعة الأمينية الحرة في سلسلة متعددة الببتيد.

جـ- خصوصية التفاعل Reaction specificity

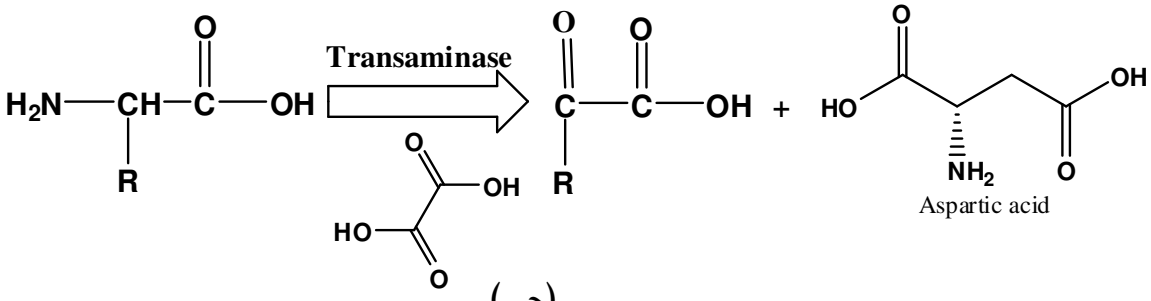
إن الإنزيم في هذه الحالة له المقدرة لاختيار احد التفاعلات من مجموعة متعددة فيها وتسمى هذه الظاهرة بخصوصية التفاعل ويقوم الإنزيم بتحفيز واحد من التفاعلات المتعددة الممكنة لتحويل المادة الأساس. فمثلاً يقوم الإنزيم أمينو أسيد أوكسيديز بأكسدة وإزالة مجموعة الأمين للحامض الأميني وتحصل للأخير عملية إزالة مجموعة CO_2 عند وجود الإنزيم ديكاربوكسيليز Amino acid decarboxylase والتفاعل الثالث الذي يحصل للحامض الأميني هو نقل مجموعة الأمين عند وجود إنزيم ترانس أمينيز Transaminase الذي يعمل على تبادل بين مجموعة الكيتون في حامض الكيتوني مع مجموعة أمين **كما موضحة في المعادلات الآتية:**



(أ)



(ب)



(جـ)

الشكل(25-10): تفاعلات الأحماض الأمينية اعتماداً على خصوصية التفاعل للإنزيم اذ في التفاعل الأول(أ): أكسدة وإزالة مجموعة الأمين، والتفاعل (ب): إزالة مجموعة الكاربوكسيل. اما التفاعل الأخير(جـ): فهو نقل مجموعة الأمين.

د- خصوصية المادة الأساس Substrate specificity

إن الإنزيم في هذه الخصوصية يختار مادة أساس تتفاعل معه وفي حالات كثيرة يقرر اتجاه التفاعل، وبصورة عامة فان مبدأ اختيار المادة الأساس يتعلق بقابلية ربطها بالإنزيم فبعضها (المادة الأساس) لها قابلية ربط قوية أو اقل أو لا ترتبط نهائياً مع الإنزيم وبالتالي لا يحصل التفاعل نهائياً.

إن قابلية الخصوصية للمادة الأساس تتفاوت من إنزيم لأخر فبعض الإنزيمات مثلا التابعة لمجموعة هيدروليز Hydrolase تمتلك تخصص واسع (اذ تعمل على التحلل المائي لعدد كبير من المركبات) والبعض الآخر يحتاج المواد الأساس التي تحتوي مجاميع معينة مثال بيتا-كالاكتوسيديز β-galactosidase الذي يحتاج الى أصرة بيتا - كالاكتوسيد لأجراء تفاعله.

الإنزيمات المتماثلة(المتناظرة)الأصل Isoenzymes

تعرّف الإنزيمات المتماثلة الأصل بأنها إنزيمات تتشابه في عملها على نفس المادة الأساس **ولكنها تختلف في ما بينها بالنسبة لـــ:**

1- السرعة القصوى V_{max}.

2- ثابت مكيلس K_m.

3- قيمة R_f (وهي المسافة التي يقطعها الإنزيم من نقطة البداية عند فصلها بوساطة تقنية الهجرة الكهربائية Electrophoresis).

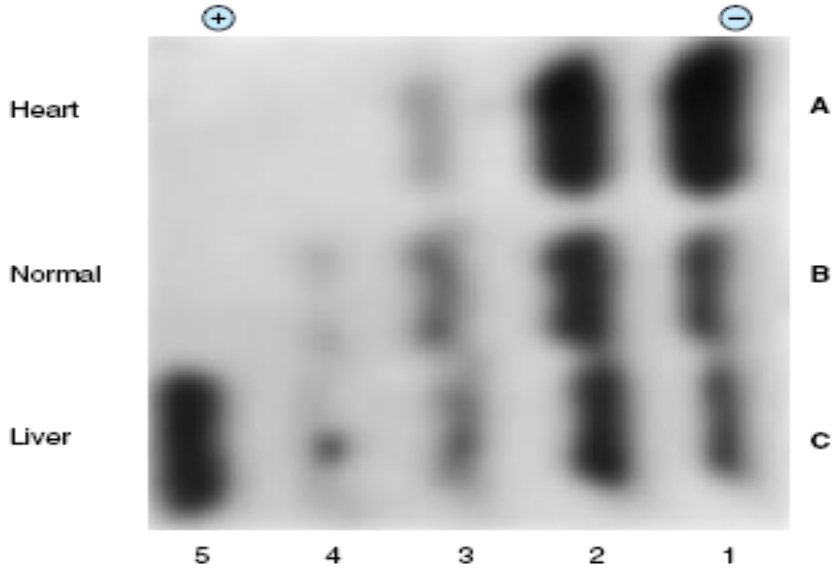
4- طبيعة سلاسل متعددة الببتيد (عدد الوحدات Subunit) التي يحتويها اذ قد تحتوي على سلسلتين أو أكثر من سلاسل متعدد الببتيد والتي تختلف في ما بينها باختلاف ما تحويه من الأحماض الأمينية وأنواعها وتسلسلها.

5- الصفات الفيزيائية والكيميائية والمناعية.

الإنزيمات المتماثلة الأصل قد توجد بشكلين أو أكثر اعتماداً على طبيعة سلاسل متعدد الببتيد التي يحتويها والتي يمكن فصلها بوساطة طرائق الهجرة الكهربائية والكروماتوغرافيا. ومثال على هذا النوع من الإنزيمات هو إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز(LDH) Lactate dehydrogenase الذي يعمل على تحفيز التفاعل العكسي بين البايروفيت واللاكتيت **(الشكل 5-10)** اذ يوجد بخمسة أشكال أمكن فصلهم بتقنية الهجرة الكهربائية وكل شكل يحتوي على أربع من سلاسل متعدد الببتيد الموجودة في العضلات الهيكلية Skeletal muscle (M) وفي القلب Heart (H) اذ إن الإنزيم المتماثل الأصل (لاكتيت ديهيدروجينيز) السائد في العضلات يحتوي على أربع وحدات متطابقة ويرمز لها M_4 أما في القلب فالإنزيم السائد يكون أربع وحدات متطابقة من نوع H_4 وفي الأنسجة المختلفة فيوجد الإنزيم على شكل مزيج هجين من سلاسل M و H أي M_3H و M_2H_2 و MH_3 **(الشكل 26-10)**.

الشكل(26-10): الأشكال الخمسة لإنزيم لاكتيت ديهيدروجينيز.

ولإنزيمات متماثلة الأصل وفصلها أهمية تشخيصية كبيرة في مجال الطب، وهـذه الأهمية ناتجة مـن أن الإنزيمات المتماثلة تتأثر بالحالات المرضية المختلفة، إذ يختلف توزيعها وتعطي أشكالاً مختلفة استناداً الـى المرض وشدته وذلك من خلال استخدام تقنية الجرة الكهربائية Electrophoresis(**الشكل 27-10**).



الشكل(27-10): فصل الإنزيمات المتماثلة الأصل (الأشكال الخمسة) لإنزيم لاكتيت ديهيدروجينيز بوساطة تقنية الهجرة الكهربائية إذ يلاحظ من الشكل:

A- الحالة عند إصابة عضلة القلب Heart.

B- الحالة الطبيعية Normal.

C- الحالة عند إصابة الكبد Liver.

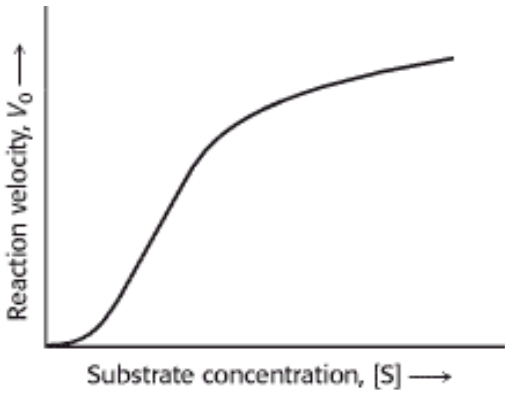
الإنزيمات المنظّمة Regulatory (أو الإنزيمات الالّوستيرية Allosteric)

الإنزيمات المنظّمة تتميز عن بقية الإنزيمات بعدة مميزات منها:

1- تتميز باحتوائها على موقع منظم يختلف عن الموقع الفعال (المحفز) ترتبط فيه المواد المعدلة أو المؤثرة. التي هي عبارة عن مواد إما أن تعزز ارتباط المـادة الأسـاس بـالإنزيم وتـسمى المـؤثر الموجـب Positive effector أو تقلـل مـن ارتبـاط المـادة الأسـاس بـالإنزيم وتـسمى المـؤثر الـسالب Negative effector.

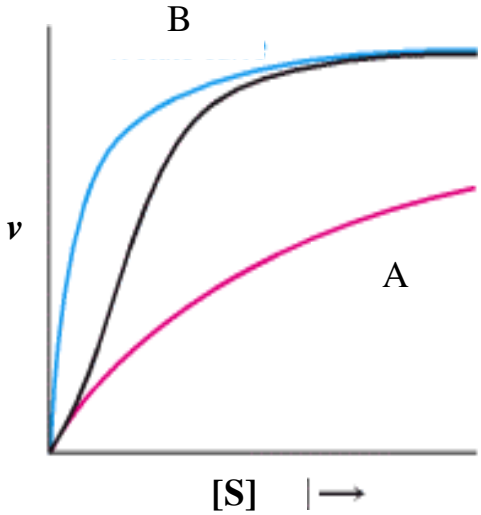
2- تعمل الإنزيمات المنظمة على تنظيم المسارات الأيضية استناداً الى حاجة الخلية والتي تقع تحت تـأثير الهورمونات بطريقة غير مباشرة.

3- لا تخضع لحركة مكيلس- منتن فالرسم البياني لتركيز المادة الأساس مقابل معدل الـسرعة للإنـزيم لا يكون بشكل منحني ذي مقطع مخروطي (**الشكل 6-10**) بل تعطي الإنزيمات المنظمـة منحنيـين الأول شبيه بالحـرف الانكليزي S (Sigmoid) والآخر منحني مسطح Flattened (**الشكل 28-10**).



الشكل(28-10): علاقة تركيز المادة الأساسSubstrate concentration مقابل معدل سرعة التفاعلReaction velocity لإنزيم منظم.

4- تتأثر فعالية الإنزيمات المنظمة بتركيز المادة الأساس ففي الشكل **(29-10 منحني A)** تكون سرعة التفاعل في البداية بطيئة، ولكن عند زيادة تركيز المادة الأساس قليلاً تعقبها زيادة كبيرة في السرعة إلى أن تبلغ السرعة القصوى V_{max} ويطلق على التأثير الايجابي للمادة الأساس في نشاط الإنزيم التنسيق الايجابي Positively cooperative. أما في الشكل **(29-10 منحني B)** فان زيادة تركيز المادة الأساس لا تؤدي إلى بلوغ السرعة القصوى ويدعى هذا التأثير التنسيق السلبي Negatively cooperative .



الشكل(29-10): يلاحظ في الشكل نوعان من الإنزيمات المنظمة: اذ المنحني A يمثل التنسيق الايجابي، والمنحني B يمثل التنسيق السلبي.

5- تمتلك الإنزيمات المنظمة طاقة حرة قياسية(ΔG°) سالبة وبالتالي فالتفاعلات التي تحفزها تكون تلقائية وباتجاه واحد فقط .

دراسة آلية فعل الإنزيم Mechanism of Enzyme Action

لدراسة آلية فعل الإنزيم **فوائد عدة منها:**

1- كيفية ارتباط المادة الأساس بالموقع الفعال للإنزيم وتكوين المعقد [ES].

2- تثبيط أو تنشيط تلك المواقع.

3- عدد تلك المواقع.

4- معرفة عدد الأحماض الأمينية ونوعيتها في الموقع الفعال.

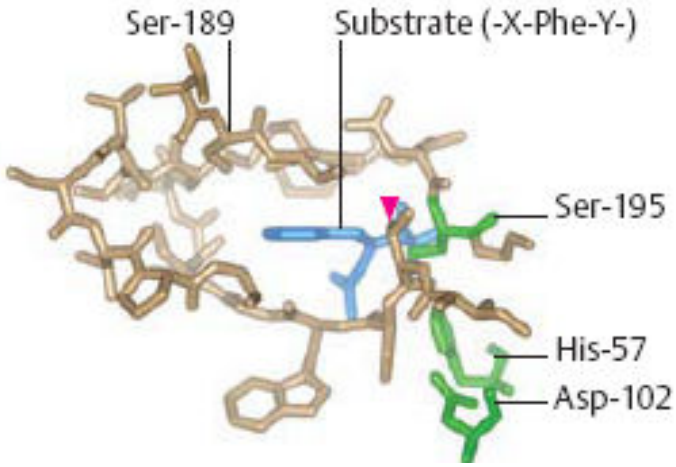
آلية عمل إنزيم الكايموتربسين

يكون حجم جزيئة الإنزيم التي تعمل من دون الحاجة إلى العوامل المرافقة صغيرة نسبياً وتكون آلية التفاعل واضحة وبسيطة نسبياً أيضاً، فعلى سبيل المثال يعمل إنزيم الكايموتربسين بتحلل عدة أواصر ببتيدية التي تكون فيها مجموعة الكاربوكسيل عائدة للأحماض الأمينية الأروماتية الآتية:

فينايل ألانين، تايروسين، تربتوفان. كذلك يحلل هذا الإنزيم عدة أنواع من الإسترات والأميدات، وقد استخدمت مواد أساسية غير طبيعية (مصنعة) لدراسة الإنزيم بشيء من التفصيل.

وتتم آلية فعل إنزيم الكايموتربسين كما يأتي:

1- يحتوي الموقع الفعال للإنزيم على ثلاثة أحماض أمينية مسؤولة على عملية الارتباط بمادة الأساس وهي السيرين Ser (تسلسل 195) والأسبارتيت Asp (تسلسل 102) والهستيدين His(تسلسل 57) **(الشكل 30-10).**



الشكل (30-10): محتويات المواقع الفعالة لإنزيم الكايموتربسين من الأحماض الأمينية.

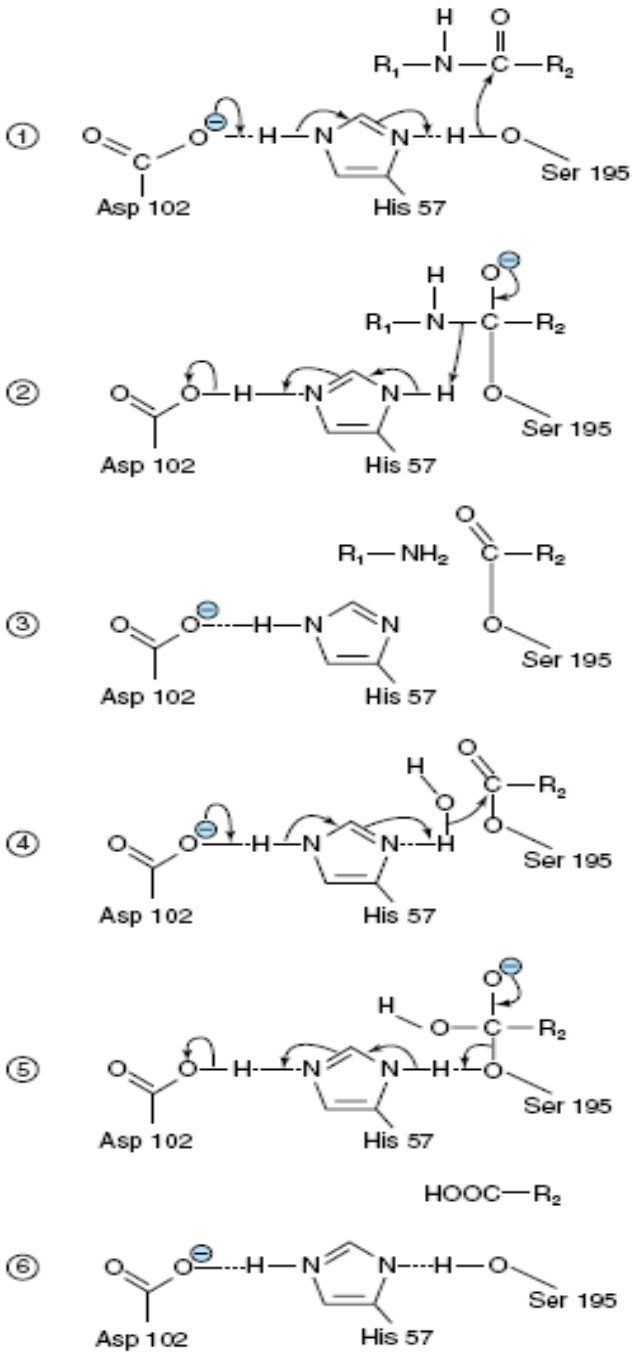
2- بعد ارتباط المادة الأساس بالإنزيم الحر، تصبح القوة النيوكليوفيلية لأوكسجين السيرين عالية بفعل انتقال الشحنة السالبة من الأسبارتيت عبر الهستيدين.

3- يهاجم الأوكسجين مجموعة الكاربوكسيل للإنزيم المرتبط بالمادة الأساس مكوناً مركباً وسطياً رباعي السطوح Tetrahedral غير مستقرٍ والذي يحتوي ذرة أوكسجين سالبة الشحنة غير ثابتة.

4- يزداد ثبات ذرة الأوكسجين هذه بتكوين أصرة هيدروجينية مع مجموعة NH– العائدة للكلايسين(193).

5- بعد ذلك تعمل مجموعة الإميدازول العائدة للهستيدين 57 بوصفه عاملاً مساعداً حامضي بحيث تسهل إطلاق الناتج الأولي للتفاعل (YH) تاركة وراءها الـ Acyl-enzyme (لاحظ الآصرة التساهمية التي تربط مجموعة الأسيل في السيرين 195).

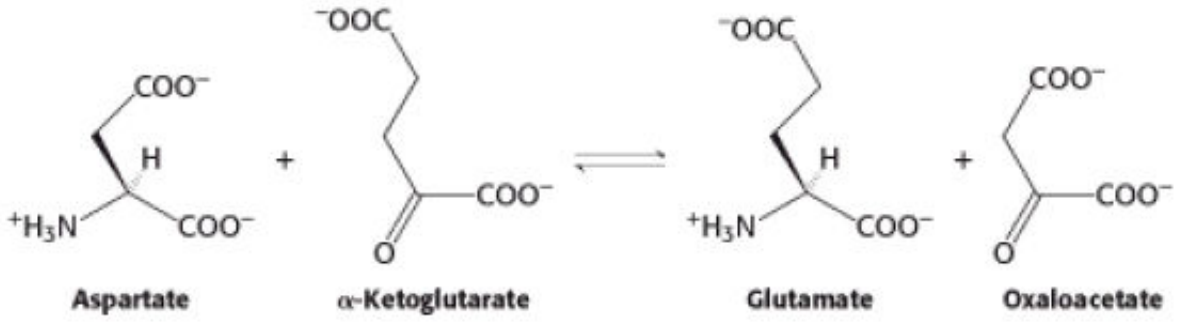
6- تبدأ المرحلة الثانية من التفاعل، كما في المرحلة الأولى بهجوم نيوكليوفيلي وبفعل الماء هذه المرة ويتحرر الناتج الثاني ROOH ويعمل الحامض عاملاً مساعداً أيضاً **(الشكل31-10)**.



الشكل(31-10): يوضح آلية إنزيم الكايموتربسين: 1- إزالة البروتون. 2- تكون الحالة الانتقالية الرباعية. 3- تحرر نهاية الحامض الأميني. 4- الهيستيدين 57 والأسبارتيت 102 ينشط بجزيئة الماء. 5-إعطاء بروتون الى السيرين 195. 6- تحررالنهاية الكاربوكسيلية للببتيد.

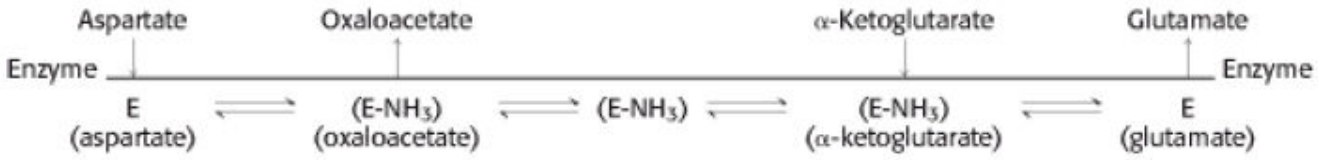
تفاعلات كرة المنضدة (تفاعلات بنك– بونك) Ping- Pong reactions

تفاعلات كرة المنضدة (تفاعلات بنك– بونك) Ping- Pong reactions او تسمى أيضاً تفاعلات الإزاحة المضاعفة، في هذه التفاعلات يتحرر ناتج واحد او أكثر قبل ارتباط جميع مواد الأساس بالإنزيم على سبيل المثال تفاعلات نقل مجموعة الأمين بين الأحماض الأمينية والأحماض الكيتونية **(الشكل 32–10)** باستخدام إنزيم أسبارتيت أمينوترانسفيريز الذي يعمل على نقل مجموعة الأمين من الأسبارتيت الى ألفا – كيتوكلوتاريت وتحول الأخير الى الكلوتاميت.



الشكل(32–10): تفاعل نقل مجموعة الأمين من الأسبارتيت الى ألفا – كيتوكلوتاريت وتحويل الأخير الى الكلوتاميت.

اذ ان تسلسل الخطوات في الآلية يمكن توضيحها بالمخطط الآتي:



الشكل(33–10): مخطط آلية تفاعل كرة المضرب.

بعد ارتباط الأسبارتيت بالإنزيم، يعمل الإنزيم على إزالة مجموعة الأمين من الأسبارتيت ليكوّن إنزيم معوض (مستبدل) وسطي Substituted enzyme intermediate. والناتج الأول أوكزالواستيت، والمادة الأساس الثانية ألفا – كيتوكلوتاريت ترتبط بالإنزيم وتستقبل مجموعة الأمين من الإنزيم المحور ومن ثم تحرر الناتج النهائي الكلوتاميت.

إن هذه التفاعلات سميّت بتفاعلات كرة المنضدة لكون مادة الأساس تظهر على شكل مرتبط وعدم مرتبط بالإنزيم (**الشكل 33–10**) والتي تشبه حركة كرة المنضدة على المسطبة.