

الإنزيمات Enzymes

الإنزيمات هي جزيئات حيوية من طبيعة بروتينية -باستثناء الريبوزيمات- تسرع التفاعلات الكيميائية في الكائنات الحية دون أن تغير من توازن التفاعلات التي تتوسط تسريعها ومن دون أن تستهلك إذ تعود إلى حالتها الأولى عندما تنجز التفاعل الكيميائي، تمتاز بنوعيتها العالية. تعمل الإنزيمات على تخفيض طاقة التنشيط المطلوبة وتزيد سرعة التفاعل إلى حوالي 10^{14} . تدعى المادة التي تؤثر فيها الأنزيم باسم الركيزة Substrate.

الريبوزيمات: على الرغم من أنها ليست بروتينات ، تبدي بعض الأحماض الريبية النووية (RNA) نشاطا محفزا نوعيا تجاه الركيزة. تدعى هذه الأحماض بالإنزيمات الريباسية (Ribonucleic acid enzyme) أو الريبوزيمات ، و تنطبق عليها كافة المعايير التقليدية المستخدمة في تعريف الإنزيمات و تكون الركائز التي تعمل عليها خذ1ه الإنزيمات مقتصرة على روابط فوسفوايسترية في الرنا RNA.

١. خصائص الإنزيمات:

- A. تتمتع بقدرة تحفيزية عالية **High catalytic efficiency**: للإنزيمات بيولوجية قوة تحفيزية فوق عادية ، و غالبا ما تكون قوتها التحفيزية أكبر بكثير من المحفزات غير البيولوجية . إذ انها تزيد من القدرة التحفيزية من 103 إلى 1017 مقربة بحال عدم استخدام الإنزيمات
- B. الإنزيمات تتمتع بنوعية عالية **specificity**:

هي قدرة الإنزيم على اختيار ركيزة محددة ، و تكوت آلية التمييز هذه على المستوي الجزيئي

- نوعية ضعيفة (الرابطة) : يتطلب فيها عمل الإنزيم أن تكون الرابطة فقط من نوع محدد و بالتالي

يستطيع الإنزيم أن يعمل على عدد كبير من الركائز لكنه يقوم بالفعل الأنزيمي ذاته

مثال: يقوم الإنزيم الببتيداز الثنائية Dipeptidase بتحفيز حلمة الرابطة الببتيدية بين أي حمضين

أمينيين المشكلين للرابطة الببتيدية في ثنائي ببتيد، فهو نوعي للرابطة بينهما و لكن ليس نوعي لنوع

الحمض الأميني .

- مثال آخر: هكسوكيناز هو إنزيم يقوم بفسفرة سكريات السداسية (غلوكوز ، فركتوز ، غالاكتوز....)
- نوعية المجموعة Group Specificity: تعد تلك الإنزيمات أكثر نوعية من المجموعة السابقة و عدد ركائزها أقل و يتطلب عمل الإنزيم وجود مجموعة وظيفية محددة.
- مثال: إنزيم التربسين نوعي للروابط الببتيدية التي تشمل المجموعة الكربوكسيلية لأحد الحموض الأمينية القاعدية (ليزين ، ألارجينين ، هيسستين) و ليس نوعيا للحموض الأمينية الأخرى.
- نوعية مطلقة (نوعية الركازة) Absolute (Substrate) Specificity: تلك الإنزيمات تعمل على ركيزة محددة دون غيرها و من الأمثلة على ذلك:
 - إنزيم الأرجيناز يحفز حلمة فقط الأرجينين
 - إنزيم اللاكتاز يحفز فقط حلمة اللاكتوز
 - إنزيم السكراز يحفز فقط السكروز
 - الغلوكوكيناز يفسر فقط جزيئة الغلوكوز
- نوعية كيميائية فراغية Stereo chemical (Optical) Specificity

إذا كانت للركيزة مصاوغات فراغية فغن الإنزيم يعمل على واحد منها فقط، وهذه الإنزيمات تتمتع بنوعية عالية جداً.

مثال: إنزيم الفوماراز Fumarase: هو من إنزيمات حلقة كريبس يعمل على ركيزته و هي حمض الفوماريك (فومارات) Fumaric acid و ليس على مصاوغه (مماكبه) المقرون ، حمض المالك Maleic acid.

مثال آخر: إنزيم ألفا - غليكوزيداز (α -amylase): يحلمه فقط الرابطة الغليكوزيدية ألفا في النشاء و الغليكوجين و لا يؤثر على السيلوز (لان الروابط فيه من الشكل بيتا- غليكوزيد)

2. أنواع الإنزيمات وبنيتها الكيميائية:

الإنزيمات عبارة عن بروتينات كروية تتألف من عدد من الحموض الامينية يتراوح بين 2500 - 62 تتعلق فعاليات الإنزيمات بالبنية ثلاثية الأبعاد. وتقسم الأنزيمات إلى نوعين وفقاً لتركيبها:

(١) إنزيمات بسيطة: عبارة عن بروتينات مؤلفة فقط من حموض أمينية كأنزيمات الحلمهة والترسين و اليوراز و الريبونيكلياز و البيسين....

(٢) إنزيمات معقدة (بروتينيدات) وهي ذات بنية مركبة، تتألف من جزء بروتيني يدعى الصميم Apo enzyme مرتبطا بالعامل المساعد Coenzyme بزمير ضميمية قد تكون عضوية أو لا عضوية مثل أيون معدني كما في الجدول يوضح الأيونات الموجودة في بعض الإنزيمات أو بالتصميم مركب عضوي ، حيث أن بعض هذه التمانم تشتق من فيتامينات Vit B يؤدي ارتباط الصميم بالعامل المساعد على تركيب الشكل الفعال للإنزيم ويدعى العيم Haloenzyme.

TABLE 6-1 Some Inorganic Ions That Serve as Cofactors for Enzymes	
Ions	Enzymes
Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

➤ **التمائم الإنزيمية:** هي مركبات عضوية غير بروتينية، تشكل جزءاً من عموم الإنزيم، تقوم بتنشيط بعض الإنزيمات وترتبط مع الإنزيم برابطة غير تكافؤية سهلة التفكك والتشكل. تتمتع التمام الإنزيمية بالخصائص التالية:

- وزنها الجزيئي منخفض
- مقاومة للحرارة
- تقوم التمام الإنزيمية بزيادة قدرات التحفيز للإنزيم أكثر مما تفعله المجموعات الوظيفية للأحماض الأمينية التي تشكل الإنزيم
- تحتاجه الإنزيمات التي تحفز نقل المجموعات وتفاعلات أخرى إضافة إلى الركيزة

ملاحظة:

✚ **العامل المساعد Cofactor:** يمكن ان يكون عبارة عن تميم إنزيم أو زمرة ضميمية أو عناصر معدنية و يكون الهدف الرئيسي لها هو تحفيز التفاعل و تسريعه

✚ الفرق بين الزمرة الضميمية و التميما الإنزيمي:

- الزمرة التميمية تكون الرابطة بين الغنزيمو التميم سهلة التشكل و التفكك
- الزمرة الضميمية : تكون الرابطة بين تلك الزمرة و الإنزيم قوية غير قابلة للفصل أو التفكك و لا تتحطم الرابطة إلا بتحطيم الجزيئة و هذا ما نجده في إنزيمات الأكسدة و الإرجاع السيتوكرومية.

3. تسمية الإنزيمات تصنيفها:

يوجد تصنيفين لتسمية الإنزيمات:

- (1) التسمية القديمة: يشتق اسم الإنزيم باسم الركيزة التي يعمل عليها مضافاً إليها النهاية آز ase، فأنزيم اليوراز Urase هو الذي يهاجم البولة Urea، إنزيم الليباز Lipase هو الذي يهاجم الليبيدات و السكراز Saccharase يعمل على السكروز هكذا...

٢) التسمية الحديثة: نظرا لتزايد عدد الإنزيمات المكتشفة فقد وضعت أسس تصنيفية حديثة لتسمية الإنزيمات من قبل الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية وأعطى كل إنزيم اسماً مشتقاً من اسم المادة المتفاعلة (الركيزة) أولاً، ثم نوع التفاعل أو وظيفته ثانياً مزوداً بالنهاية أز ase . فالإنزيم غلوكوز-6- فوسفاتاز هو الذي يتفاعل مع المركب غلوكوز - 6- فوسفات و الإنزيم لاكتاتديهيدروجيناز هو الإنزيم ينزع الهيدروجين من اللاكتات. و يمكن أن يسمى الإنزيم باسم فعله (وظيفته) فقط بدون اسم ركيزته فالإنزيم الأوكسيداز (Oxidase) تتوسط تفاعلات الأكسدة و الإرجاع و الإنزيمات التي تقوم بنزع الهيدروجين من الركيزة تدعى ديهيدروجيناز Dehydrogenase.

وأخيراً ، علم بأن كثيراً من التسميات القديمة لم تزل شائعة حتى الآن كاللعابين (Ptyalin) و الهضمين (Pepsin) و الايموليسين (Emulesin).

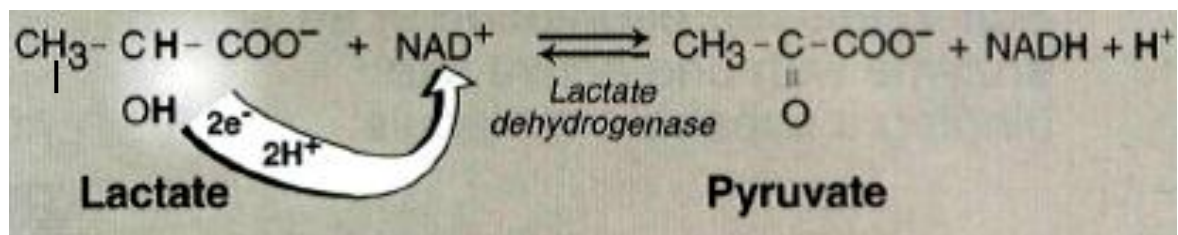
أما التسمية العلمية التفصيلية فهي التسمية التي اعتمدت من قبل الاتحاد العالمي للكيميائيين الحيويين وتعتمد على تصنيف العالمي للإنزيمات حيث صنف الإنزيمات في ستة مجموعات بناءً على التفاعلات الكيميائية الحيوية التي تحفزها وكل مجموعة رئيسية تحتوي أيضاً عدة فروع:

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	○ = Reduction equivalent Ared + Box ⇌ Aox + Bred	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases Dioxygenases
2 Transferases	A-B + C ⇌ A + B-C	C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases	A-B + H₂O ⇌ A-H + B-OH	Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")	A-B ⇌ A + B	C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases	A ⇌ Iso-A	Epimerases <i>cis trans</i> Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	B + A + XTP ⇌ A-B + XDP X = A, G, U, C	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

١ إنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxidoreductases

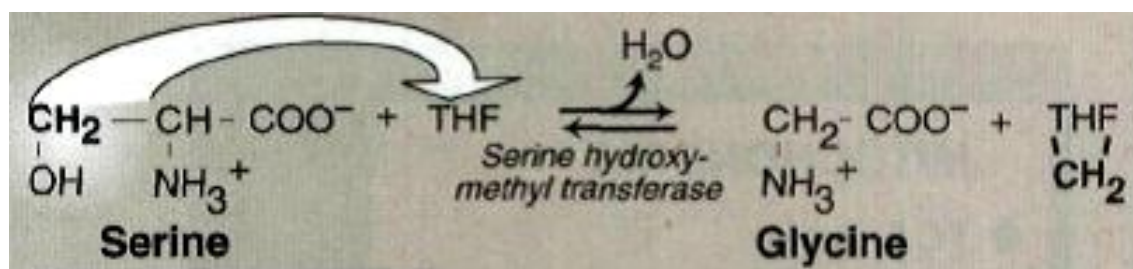
وهي التي تقوم بعملية الأكسدة والإرجاع بين ركيزتين وتلعب دورا بيولوجيا هاما في تفاعلات التمثيل الغذائي داخل أنسجة الكائن الحي للحصول على الطاقة. كمثال عنها Alcoholdehydrogenase الذي يتوسط التفاعل التالي:





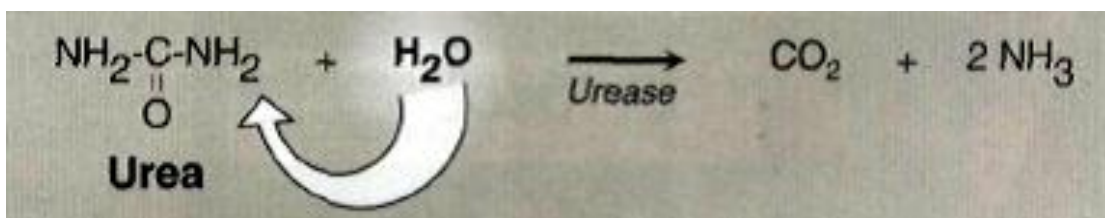
٢ - إنزيمات النقل Transferase

هي مجموعة إنزيمات التي تقوم بنقل الزمر الكيميائية الوظيفية من مركب لآخر.



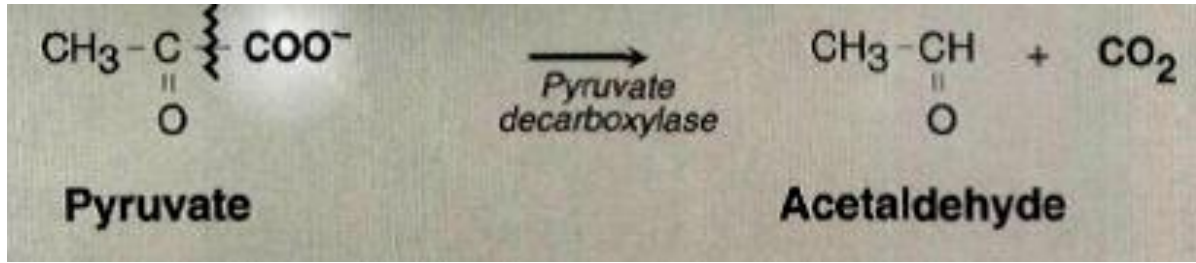
٣ - إنزيمات الحلمهة Hydrolases:

تتوسط تلك الإنزيمات تفاعلات حلمهة الروابط الاستيرية ، الروابط الببتيدية ، الروابط الغليكوزيدية.



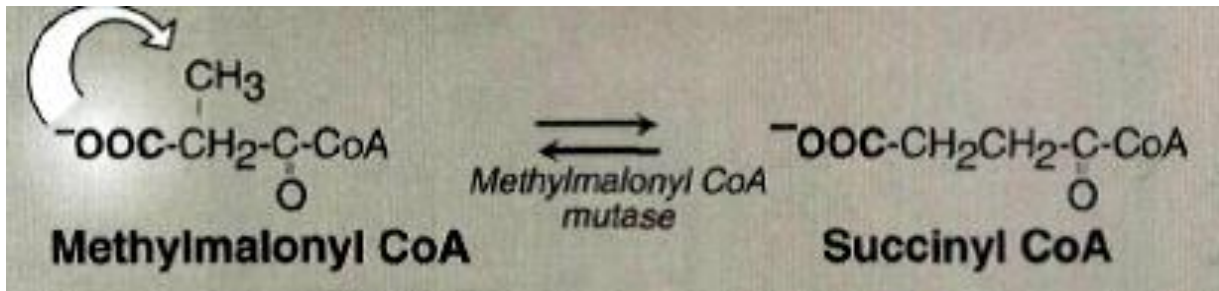
٤ - إنزيمات التفكك Lyases:

وهي أنزيمات تتوسط تفاعلات تفكيك الركيزة بعدم تدخل الماء أي نزع زمر كيميائية من الركازات. مثال تفاعلات نزع الكربوكسيل، إنزيمات المفككة للرابطة C-N، إنزيمات فصل الرابطة C-C



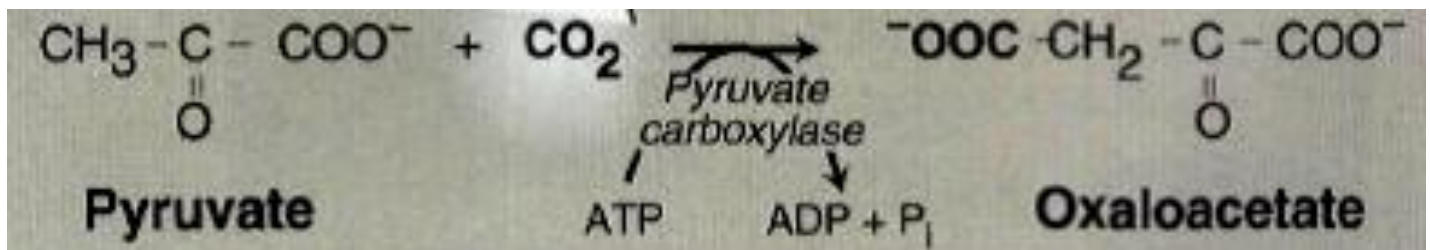
٥ إنزيمات التماكب Isomerase

يمكن لهذه الإنزيمات تغيير المماكبات الضوئية أو الفراغية إلى مماثلاتها وينتمي إلى تلك المجموعة إنزيمات التماكب الراسمي و الإيميري، إنزيمات التماكب المفروق و المقرون، إنزيمات التماكب الناقلة داخل الجزيئة الواحدة، إنزيمات الأكسدة و الإرجاع داخل الجزيئة الواحدة.

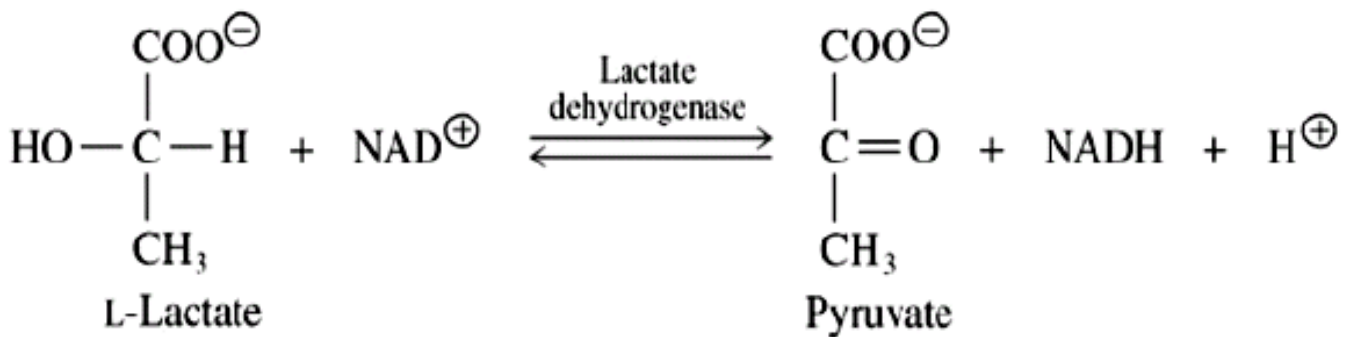
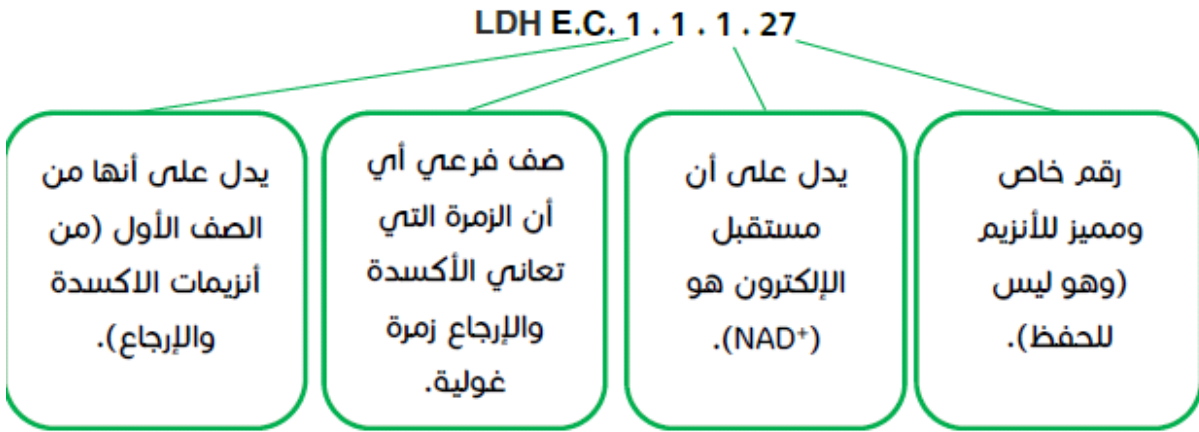


٦ إنزيمات التركيب أو الاصطناع Ligases:

تواسط تلك الإنزيمات انضمام مركبين مترافقاً ذاك بتفكك رابطة فوسفورية في ال ATP. تبعا لنوع الرابط المتشكل يمكن تصنيف هذه الإنزيمات إلى:
 إنزيمات تشكل الرابط C-C، أو C-N أو C-O



✓ مثال: إنزيم LDH ذو الشيفرة E.C.1.1.1.27



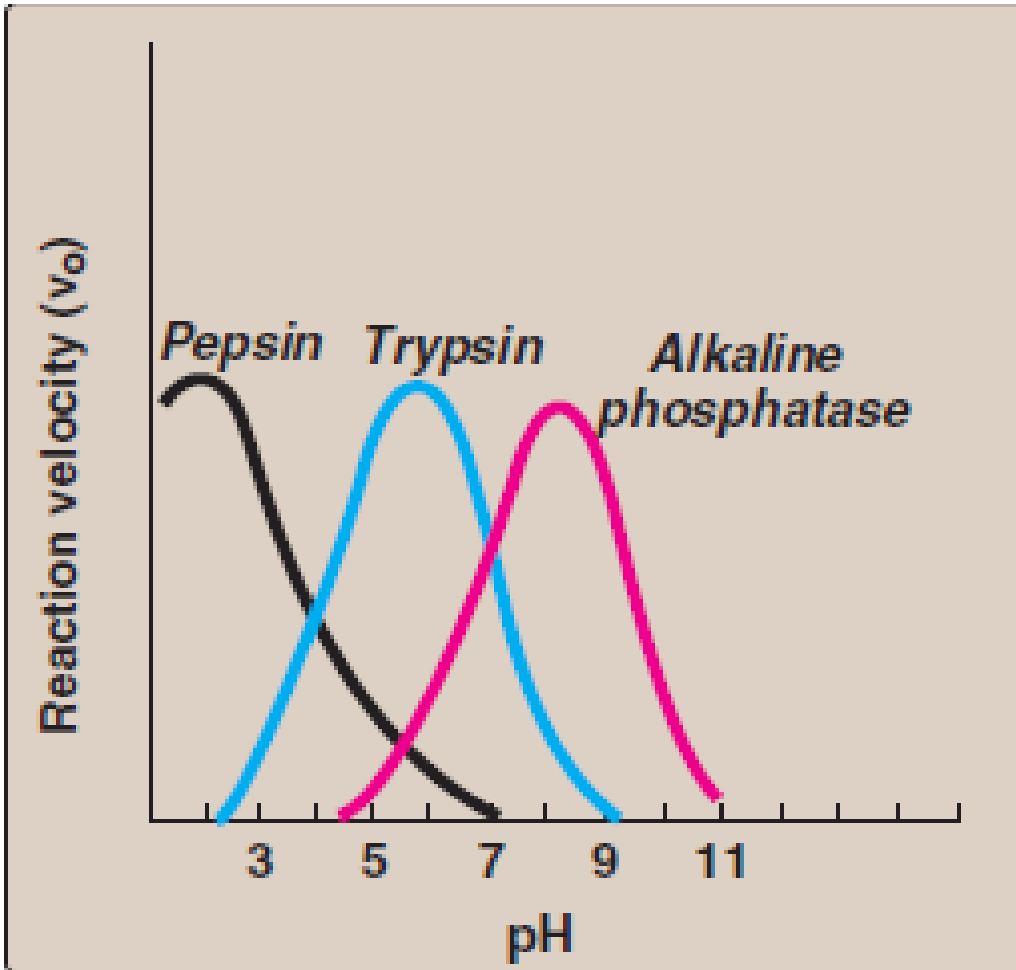
4. العوامل المؤثرة في نشاط الإنزيم

١. تأثير الحرارة

تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي بازدياد درجة الحرارة حتى الوصول إلى الحرارة المثلى التي يبلغ عندها الإنزيم فاعليته القصوى فهي عند الإنسان (37 - 40 ° س)، يؤدي ارتفاع درجة الحرارة إلى تناقص في سرعة التفاعل الإنزيمي بسبب حدوث التمسح للإنزيم. تعمل بعض الإنزيمات بدرجات حرارة عالية كما هو الحال بالنسبة للإنزيمات الخاصة ببعض الجراثيم المتحملة للحرارة.

٢. تأثير الأس الهيدروجيني

الإنزيمات حساسة جدا لتبدلات ال PH حيث يبدي تغير PH الوسط تأثيرا كبيرا على ألفة الإنزيم إلى الركيزة. وكل إنزيم تكون فعاليته العظمى في مجال محدد من ال PH يعرف بدرجة الحموضة المثلى. إن تغير في قيمة ال PH الوسط يؤدي إلى تغير الحالة الشاردية للإنزيم و الركازة وذلك يعود إلى احتواء الأنزيم على زمر لها خاصية التشرّد في المركز الفعال للإنزيم (حلقة ايميدازول للهستيدين، زمرة الهيدروكسيل للسيرين، زمرة الكربوكسيل، زمرة الثيول،...). تعمل معظم الإنزيمات في درجة ال PH تتراوح بين 5-9 وهناك إنزيمات تعمل في وسط قلوي مثل إنزيم الفوسفاتاز القلوية الذي تكونه درجة ال PH المثلى 10.04 بينما تكون درجة المثلى للببسين تتراوح بين ال 1.5-1.6 PH



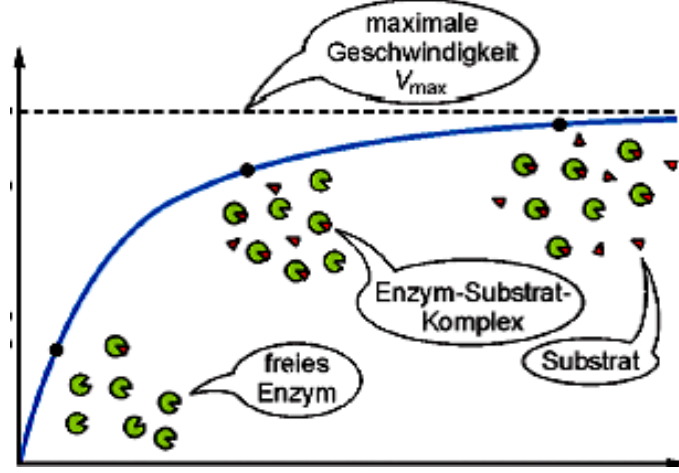
Enzyme	PH Optimum
Lipase (pancreas)	8
Lipase(Stomach)	4 – 5
Lipase (Castor oil)	4,7
Pepsin	1,5 – 1,6
Trypsin	7,8 – 8,7
Urease	7
Maltase	6,1 - 6,8
Amylase (Pancreas)	6,7 - 7
Amylase (malt)	4,6 - 5,2
Catalase	7

٣ تأثير تركيز الإنزيم

تتناسب سرعة التفاعل الإنزيمي طردا مع تركيز الإنزيم في حدود معينة

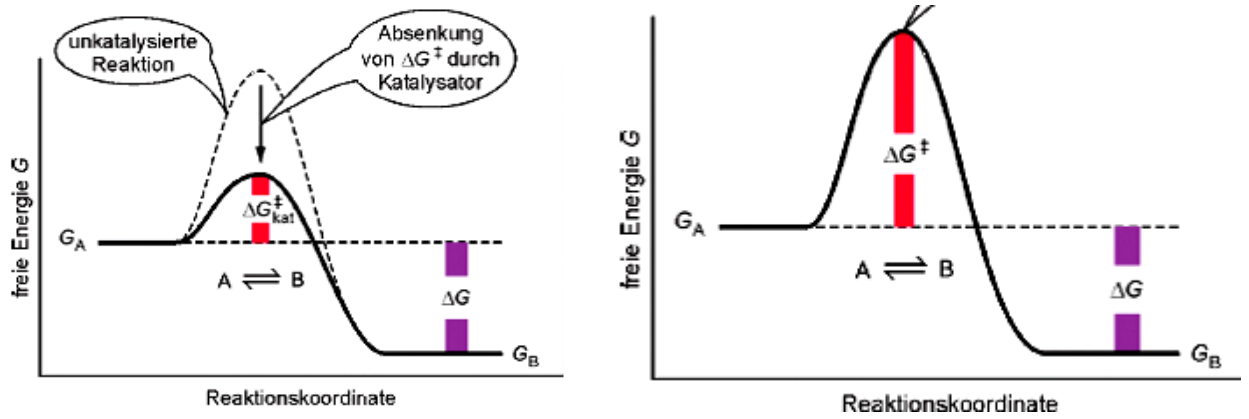
٤- تأثير تركيز الركيزة

تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي طرداً مع تركيز الركيزة حتى الوصول إلى سرعة عظمى للتفاعل و يسمى حد الإشباع، حيث تكون فيها كل أماكن ارتباط الإنزيم بالركيزة مشبعة



5- آلية عمل الإنزيمات:

خلال قيام التفاعلات الكيميائية تتفاعل المواد المتفاعلة لتشكل الحالة الانتقالية والتي تحتاج للوصول إليها كمية من الطاقة تسمى بالطاقة الحرة للتنشيط أو للتفعيل. تعبر الحالة الانتقالية حاجزاً للطاقة فكل تفاعل كيميائي حاجز طاقي لا بد من تخطيه كي يتم التفاعل الكيميائي، لكي يحدث التفاعل يجب أن تملك الجزيئات المتصادمة الطاقة اللازمة لاجتياز الحاجز الطاقي. فأي عامل يؤدي إلى زيادة الطاقة الحركية للجزيئات المتفاعلة أو يخفض من الحاجز الطاقي المطلوب للتفاعل أو يزيد من حكة التصادم لا بد أن يؤدي إلى زيادة سرعة التفاعل.



في التفاعلات المحفزة بالإنزيمات يتحد الأنزيم مع الركيزة ليتشكل معقداً (إنزيم - ركيزة) يحتاج إلى طاقة للوصول إلى الحالة الانتقالية طاقة تنشيط أقل بكثير مكن طاقة التنشيط المطلوبة لحدوث التفاعل في حال غياب الإنزيم. الذي لا يلبث أن يعطي في النهاية نواتج التفاعل ويعود الإنزيم حراً لتنشط من جديد.

من أجل جعل الصورة هذا التفاعل أوضح نشبه آلية عمل الإنزيمات بعمل المفتاح و القفل ، النظرية التي وضعها العلم إميل فيشر، فكما أن أشكالاً معينة من المفاتيح تتناسب أشكالاً خاصة من الأقفال كذلك فإن أنماطاً معينة من الخمائر تتوافق مع أنماط خاصة من الركائز فإذا اختلف في المفتاح سن أو تغير في القفل فجوة متناهية في الصغر فلا يمكن حينئذ تطبيق المفتاح في القفل كذلك الحال بالنسبة للإنزيم فإن اختلافاً متناهياً في الصغر في سطح الإنزيم أو الركيزة و أو كليهما معا يمنع حدوث تشكيل المعقد إنزيم - ركيزة إلا أن هذه النظرية أصبحت غير مقبولة وظهر العالم كوشلاند بنظريته الجديدة التي تقول بأن الإنزيم يعدل من شكله ليتوافق سطحه مع سطح الركيزة و ليتم اتحاد الإنزيم بالركيزة في المكان الصحيح. فكل إنزيم مركز فعال هو الذي يرتبط مع الركيزة لتجري فيه عمليات التحفيز، ويتألف من جيب في البروتين تتوضع داخله زمر وظيفية وحموض أمينية بتتابع معين ومحدد (3-4 حمض أميني). فمثلاً مجموعة سيستئين- بروتيياز (تريپسين، كيموتريپسين، إلستاز) تنتمي إلى إنزيمات البروتياز Proteases، التي تشطر ركيزة بروتينية واحدة إلى منتجات من عديدات الببتيد، تحوي على Ser, His, Asp في المركز الفعال.

فالمرکز الفعالة في الإنزيم هي التي تحدد نوعية التفاعل الذي تخضع له الركيزة فمثلاً عندما تخضع الركيزة غلوكوز - 6- فوسفات لعدة إنزيمات مختلفة الاختصاص فإننا نحصل على نواتج مختلفة كما يبين الجدول التالي:

الركيزة	الإنزيم	نتائج التفاعل	نوع التفاعل
غلوكوز-6-فوسفات	فوسفو غلوكوموتاز	غلوكوز-1-فوسفات	أسترة داخلية
	غلوكوز-6-فوسفات إيزوميراز	فركتوز-6-فوسفات	تماكب
	غلوكوز-6-فوسفات ديهيدروجيناز	غلوكونيك لاكتون-6-فوسفات	أكسدة

6. معادلة ميكائيليس منتن

في تفاعلات التحفيزية الإنزيمية يتحد الإنزيم E مع الركيزة S بشكل عكوس ليشكل معقد إنزيم - ركيزة [ES] الذي يتفكك بعدها إما إلى إنزيم و ناتج P أو إلى إنزيم و ركيزة من جديد وفق المعادلات التالية:



حيث k_1, k_{-1}, k_2 : ثوابت السرعة لكل مرحلة من مراحل التفاعل.

إن سرعة التفاعل لتفكك معقد إنزيم - ركيزة أبطأ من سرعة تفاعل الإنزيم بالركيزة لتشكيل المعقد ES. بما أن التفاعلات المحفزة إنزيميا قابلة للإشباع فإن سرعة التحفيز بدلالة تركيز الركيزة ليست خطية نلاحظ من الخط البياني أن سرعة التفاعل تزداد بازدياد تركيز الركيزة إلى حد يصبح فيه الإنزيم مشبعا وعندها سرعة التفاعل أعظمية V_{max} التي يكون فيها الإنزيم موجودا بشكل كامل في المعقد ES ولا يحدث بعد ذلك ازدياد في سرعة التفاعل مهما ازداد تركيز الركيزة. أوجد الباحثان ميكائيليس منتن العلاقة التي تربط تركيز الركيزة وسرعة التفاعل الإنزيمي (الفعالية الإنزيمية) والتي تعبر عنها بالمعادلة التالية:

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

حيث V : السرعة الابتدائية للتفاعل، V_{max} : السرعة العظمى للتفاعل،

$[S]$: تركيز الركازة، K_m : ثابت ميكائيليس-منتن

تعتبر K_m عن تركيز الركازة التي تكون فيها سرعة التفاعل المحفز إنزيميا تعادل نصف السرعة العظمى للتفاعل.

بمعرفة كل من V_{max} و K_m يمكن حساب سرعة التفاعل الإنزيمي عند أي تركيز معين للركازة. ولكل إنزيم قيمة K_m مميزة من أجل ركازة معينة وتظهر هذه القيمة قوة ارتباط الركازة إلى الإنزيم.

➤ مناقشة علاقة سرعة التفاعل الإنزيمي حسب ميكائيليس منتن:

1. عندما يكون تركيز الركيزة منخفض جدا مقارنة بثابتة ميكائيليس ($[S] \ll K_m$) فإن العلاقة وبإهمال $[S]$ في

$$V_0 = \left(\frac{V_{max}}{K_m} \right) [S] \quad \text{المقام لصغرها تؤول إلى :}$$

ولدينا $\frac{V_{max}}{K_m}$ ثابت، وبالتالي عند تركيز الركيزة المنخفض فإن سرعة التفاعل تزداد بشكل خطي عند زيادة $[S]$ (سرعة التفاعل تعتمد بشكل أساسي على تركيز الركيزة هنا)

2. عندما تكون $[S] = K_m$ فإن :

$$V_0 = V_{MAX} \frac{[S]}{[S] + K_m}$$

$$V_0 = V_{MAX} \frac{[S]}{[S] + [S]} = V_{MAX} \frac{[S]}{2[S]}$$
$$V_0 = \frac{1}{2} V_{MAX}$$

أي هنا سرعة التفاعل تساوي نصف سرعة التفاعل القصوى

3. عندما تكون $[S]$ كبيرة جدا مقارنة ب K_m ($[S] \gg K_m$) فإن العلاقة وبإهمال K_m لصغرها تؤول إلى $V_0 = V_{MAX}$

أي سرعة التفاعل الأنزيمي هي السرعة القصوى للتفاعل، وهذا ما يفسر أنه من أجل التراكيز العالية للركيزة

فإن سرعة التفاعل تكون مستقلة عن $[S]$

ملاحظات حول K_m :

- K_m هو ثابت أنزيمي بالنسبة لركيزة ما
 - لكل انزيم ثابتة ميكائيليس K_m خاصة به بالنسبة لركيزة محددة
 - K_m تعبر عن ألفة الأنزيم للركيزة، فقيمة K_m المنخفضة تعبر عن ألفة عالية بين الأنزيم والركيزة، والعكس بالعكس، أي قيمة K_m العالية تعبر عن ألفة منخفضة بين الأنزيم والركيزة .
- مثال:** انزيم الهيكسوكيناز الدماغى يعمل على فسفرة الغلوكوز وركيزته هي D- غلوكوز و $K_m = 0.05$ ، أي اللفة عالية جدا بين الانزيم والركيزة، وبالتالي الانزيم قادر على العمل مهما كانت كمية الغلوكوز قليلة، لأن الغلوكوز هي الغذاء الأساسي للدماغ والخلايا العصبية

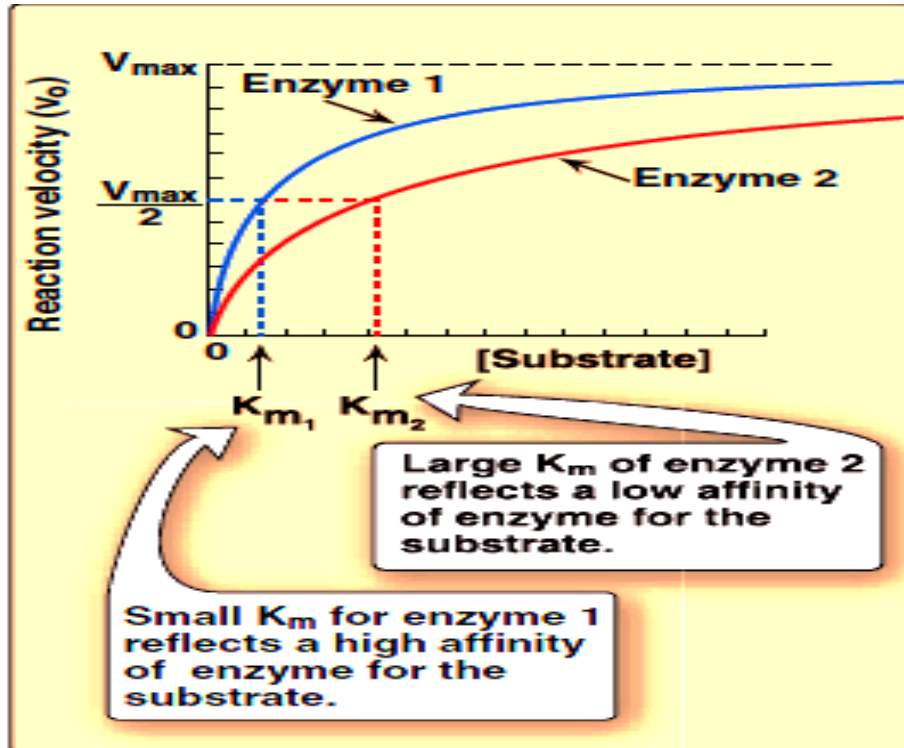


TABLE 6-6

 K_m for Some Enzymes and Substrates

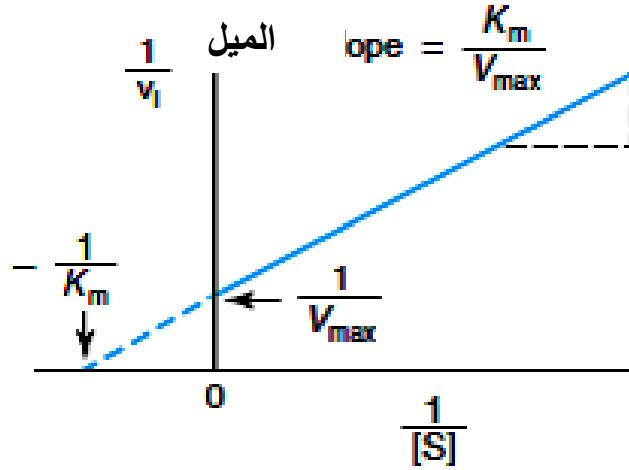
Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β -Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

٧. معادلة الخطية لينويفر-بيرك

يكون الخط البياني المشتق من معادلة ميكائيليس-منتن ليس خطي وبذلك يجعل من الصعب تحديد قيم K_m و V_{max} بدقة. ومن الأسهل تحديدهما برسم مقلوب السرعة الابتدائية بدلالة مقلوب التركيز وهو ما يدعى برسم لينويفر-بيرك Lineweaver-Burk وتصبح علاقة ميكائيليس-منتن بالشكل

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

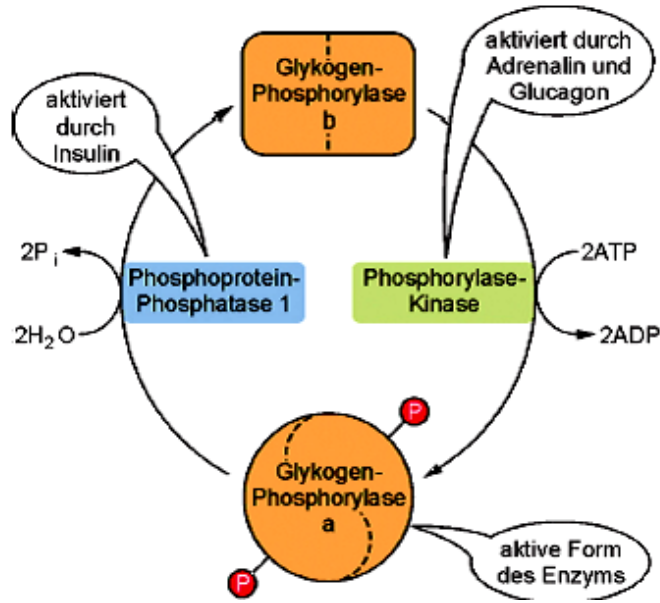
وهي عبارة عن معادلة خط مستقيم وتكون نقطة تقاطعه مع المحور Y هي $1/V_{max}$



8. الوظائف الحيوية للإنزيمات

تقوم الإنزيمات بالعديد من الوظائف ضمن العضويات الحية. تساهم الإنزيمات في كثير من الوظائف الحيوية منها:

- إحداث الحركة عن طريق حلمهة ال ATP من قبل الميوزين لتوليد التقلص العضلي.
- نظم الهضم حيث يعمل مثلاً الأميلاز والبروتياز في تحطيم جزيئات كبيرة مثل النشاء والبروتينات على التوالي إلى جزيئات أصغر مما يمكن امتصاصها من قبل الأمعاء.
- عملية نقل الإشارة و تنظيم الخلية التي تتم غالباً عبر إنزيمات الكيناز و الفوسفاتاز. إن لإنتاج الإنزيم إمكانية في أن يسرع أو يخفض استجابة للتغيرات في البنية الخلوية إن هذا من التنظيم الجيني Gene regulation يدعى بتحريض Induction أو تثبيط Inhibition الإنزيم.



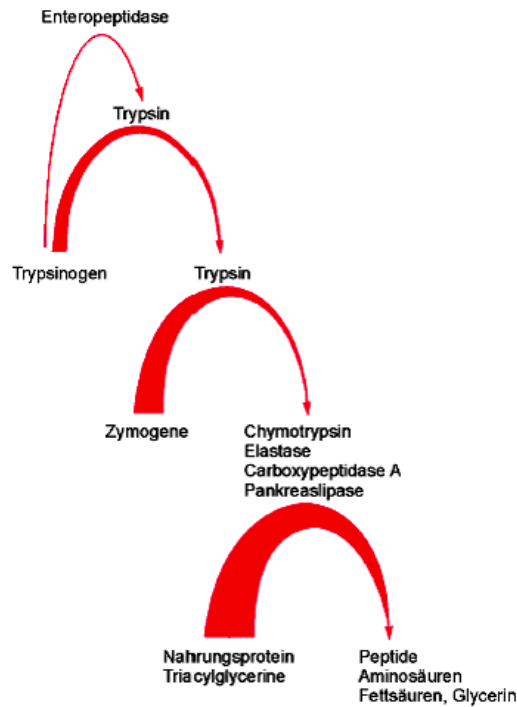
- طرق الإستقلابية: يعمل العديد من الإنزيمات معا بترتيب نوعي لإيجاد طرق استقلابية حيث يؤثر إنزيم في ركازة تعد ناتجا لتأثير إنزيم آخر. من دون وجود الإنزيمات لا يمكن للإستقلاب أن يتم أو أن يكون سريعا ليخدم متطلبات الخلية.

- تحرر الفيروسات من الخلايا مثل إنزيم Neurominidase الموجودة عند فيروس الإنفلونزا
- مضخات شوارد : مثل بعض الإنزيمات ATPase الموجودة في الغشاء الخلوي.

9 . تنظيم الأنزيمات:

يمكن أن تنظم الإنزيمات من خلال المثبطات أو المنشطات حيث يعد المنتج أو المنتجات النهائية للمسلك الاستقلابي مثبطات للإنزيمات الأولى من المسلك منظما ذلك كمية المنتج النهائي المصطنع من قبل المسالك الاستقلابية . تدعى آلية التنظيمية السابقة بآلية التلقيم الرجعي السلبي. وكذلك تنظم الإنزيمات من خلال التعديلات ما بعد الترجمة كعملية الفسفرة مثل تتمثل الاستجابة للإنسولين بفسفرة العديد من الإنزيمات مما يساعد في عملية اصطناع الغليكوجين ويسمح للخلايا بالاستجابة إلى تغيرات غلوكوز الدم. مثال آخر للتعديلات ما بعد الترجمة يتضمن تشطر السلاسل عديدة الببتيد. يعد الكيموتربيين من البروتينات ذات التأثير الهضمي الذي ينتج من البنكرياس بشكل غير فعال ثم ينقل بهذا الشكل إلى المعدة حيث ينشط .

❖ **الطلائع الإنزيمات (الزيموجينات، البروانزيمات):** هي مولدات الإنزيم و تكون فيه السلسلة الببتيدية المكونة للغنзим تحتوي على جزء ببتيدي إضافي يتم حذفه عند تنشيط الإنزيم . لاتكون عملية القص عشوائية و إنما يتم اختيار الحموض المراد قصها بشكل دقيق و اصطفائي، يؤدي إلى تغيير الشكل الفراغي للطليلة . فمثلا عند تحويل طليعة الببسين (الببسينوجين) على ببسين يفقد 20% من وزنه الجزيئي، أما عند تحويل طليعة التربيسين (التربيسينوجين) إلى تربيسين يتم إقتطاع ست حموض أمينية و بالتالي لا يتغير كثيرا في الوزن الجزيئي ، و كذلك عند تحويل طليعه الكيموتربسين على كيموتربسين فيت اقتطاع أربع حموض أمينية فقطو بالتالي لا يتغير الوزن الجزيئي كثيراً.

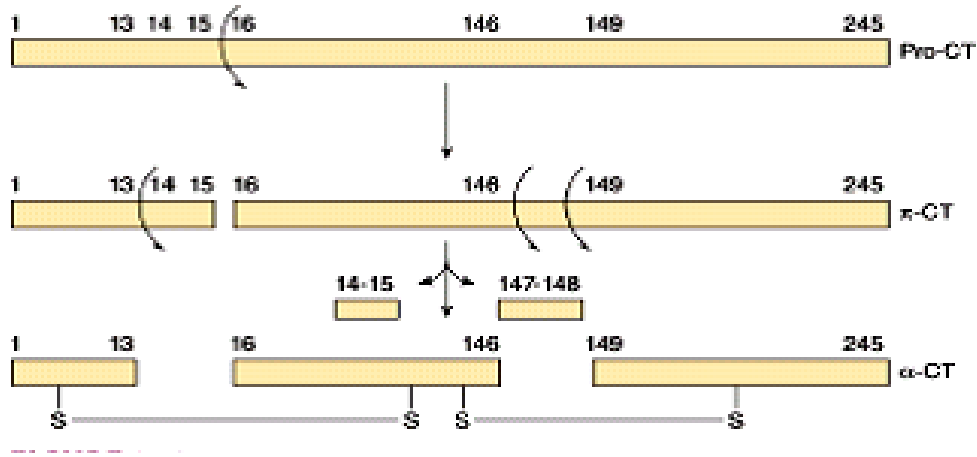


و لفهم آلية تحول طليعة الإنزيم إلى الشكل الفعال لندرس طليعة الكيموتربسين إلى كيموتربسين : تتألف طليعة الكيموتربسين من 245 حمض أميني و يتم تحويلها إلى كيموتربسين على 3 مراحل:

✓ يحصل فصل بين الحمضين 15 و 16

✓ ينتج عن المرحلة الاولى سلسلتين يحصل فيها ثلاث عمليات قطع انتقائية بين (13-14) و (147-146) و (148-149) مما يؤدي إلى اقتطاع أربع حموض أمينية

✓ ينتج عن المرحلة السابقة ثلاث سلاسل (A , B , C) لا تكون مفصولة عن بعضها إنما مرتبطة بروابط ثنائية الكبريت مشكلة الكيموتريسين -ألفا و هو الشكل الفعال القادر على الارتباط بالركيزة.



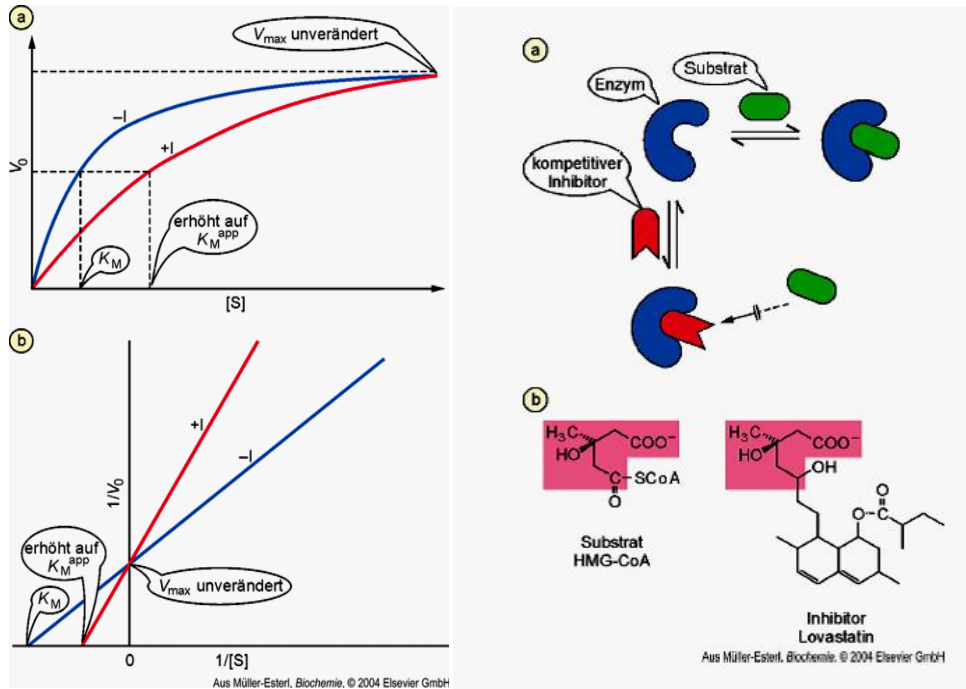
9. مثبطات الإنزيمات

هي عبارة عن جزيئات ترتبط مع الإنزيمات وتنقص من فعاليتها بارتباطها مع الإنزيم عوضا عن الركيزة يمكن لارتباط المثبط مع الإنزيم أن يكون عكوسا Reversible أو غير عكوس Irreversible

- المثبطات العكوسة: تتميز المثبطات العكوسة بارتباطها مع الإنزيم بروابط لا تكافؤية ضعيفة (روابط هيدروجينية، الروابط الكارهة للماء، و الروابط الشاردية) و بسرعة تفكك المعقد إنزيم- مثبط يوجد ثلاث أنواع من المثبطات العكوسة هي:

١- التنشيط التنافسي Comperative inhibitors:

هو التنافس المثبط و الركازة على الارتباط بالإنزيم لأن هذا النوع من المثبطات ترتبط بالمركز الفعال مانعة ارتباط الركيزة به وذلك لتشابه شكل الزمر الوظيفية في المثبطات و الركيزة. يمكن التغلب على هذا النوع من التنشيط بزيادة تركيز الركازة



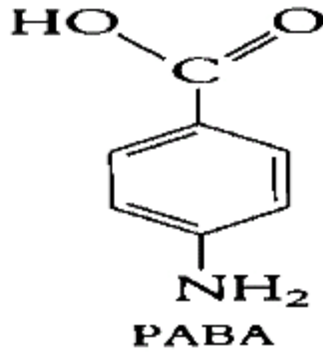
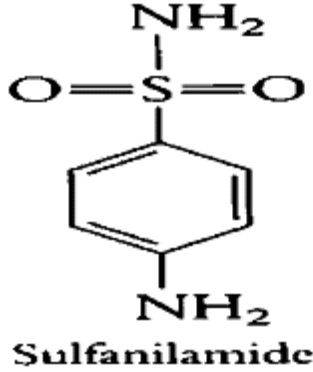
يمثل الشكل الحالة العامة للتثبيط التنافسي من خلال التمثيل الخطي لمعادلة لينويفر-بيرك. المثبط التنافسي لا يؤثر على السرعة العظمى للتفاعل ويشير تقاطع الخط البياني مع المحور X إن المثبط التنافسي يرفع من قيمة K_m الظاهري بالنسبة للركيزة. إن العديد من الأدوية تقوم بعملها العلاجي من خلال دورها التثبيطي التنافسي لفعاليات إنزيمية هامة سواء أكان ذلك في الخلايا الجرثومية أم في الخلايا الحيوانية و مثال على ذلك:

- تثبيط إنزيم Succinate dehydrogenase أحد إنزيمات دورة كريبس بوساطة الشوارد السلبية للمالونات Malonate.

- يستقلب الإيثانول في الجسم بأكسدته إلى أسيت ألدهيد و الذي يؤكسد بدوره على حمض الخل بتأثير إنزيم ألدهيد أوكسيداز . يعد التفاعل الثاني سريعاً ولذلك لا يتراكم الأسيت ألدهيد في الجسم . يثبط الدواء Disulfiram إنزيم ألدهيد أوكسيداز مسبباً ذلك تراكم الأسيت ألدهيد مع حدوث تأثيرات جانبية مثل الغثيان و الإقياء يستخدم الدواء السابق للمساعدة على التخلص من الإدمان على تناول الكحول.

◆ السلفاميدات Sulfanil Amide:

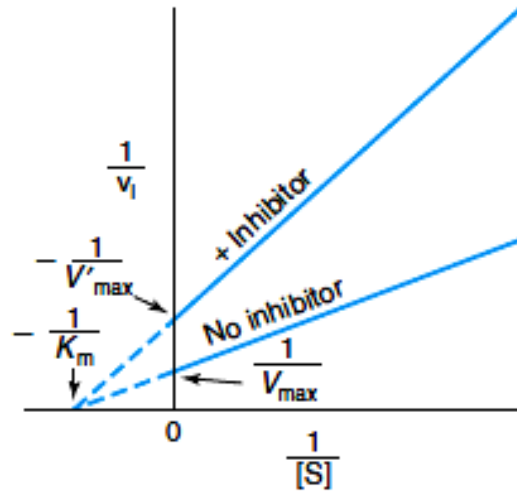
- ◀ التي تنافس حمض الجاوي (بارا أمينو حمض البنزويك PABA) على الدخول في تشكيل **حمض الورق** (حمض الفوليك¹) الضروري لنمو الخلايا الجرثومية؛ فالجراثيم لا تستطيع اصطناع حمض الورق الضروري لاستمرارية حياتها إلا بوجود الـ PABA.
- ◀ في حين أن بدن الإنسان يسلك لاصطناع هذا الحمض الورقي سبيلاً آخر، لذلك تؤثر السلفاميدات في الجراثيم فتهلكها.



التشابه بالصيغة الكيميائية بين
السلفاميد والـ PABA

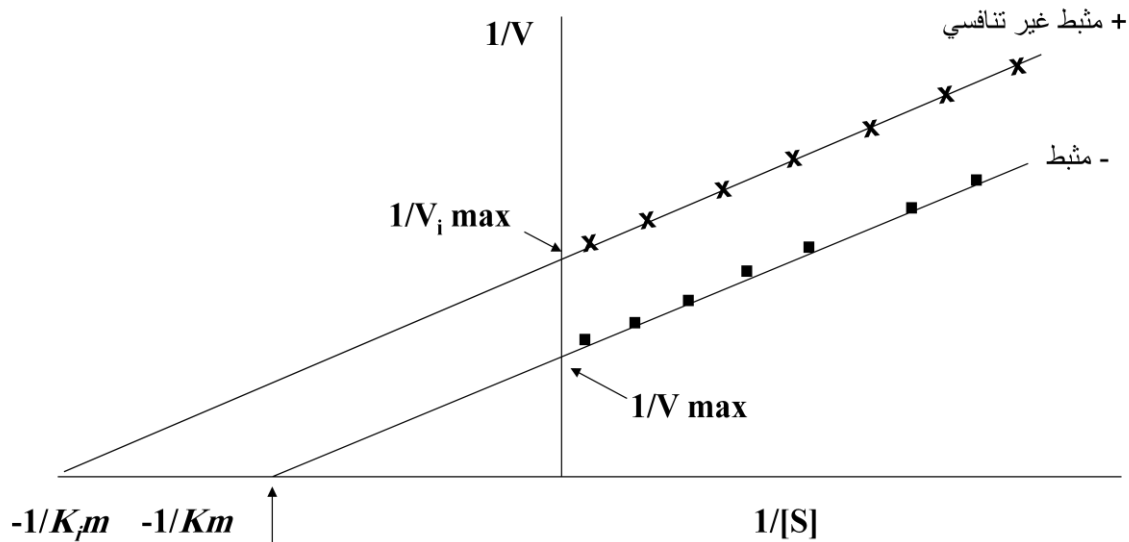
٢ - التثبيط اللاتنافسي Noncompetitive inhibition:

في هذه الحالة يمكن أن يرتبط المثبط مع الإنزيم أو مع المعقد و يكون الارتباط بين الإنزيم و المثبط في مكان بعيد عن مركز الفعال و هنا سيحاول المثبط تغيير شكل الإنزيم بحيث لا يتوافق مع الركيزة و لا يمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز الركازة و عند دراسة معادلتى سرعة التفاعل - لينوفير-بيرك- نلاحظ أن ثابت ميكائيلس - منتن لم يتغير و تتناقص السرعة العظمى و في هذه الحالة لا يمكن ان يترك المثبط الإنزيم من تلقاء نفسه بل لابد من استخدام مادة محرصة تحرضه على ترك الإنزيم (تثبيط عكوس) أما إذا لم يتم إزالة المثبط عن جسم الإنزيم فإنه يؤدي إلى تباطؤ التفاعل حتى توقفه و عندئذ يكون الإنزيم قد تخرّب (تثبيط غير عكوس)



٣- التثبيط غير التنافسي Uncompetitive inhibition

يحدث التثبيط غير التنافسي عندما يرتبط المثبط مع المعقد فقط ، بعد أن تكون الركيزة قد ارتبطت مع الأنزيم ، و لا يرتبط مع الإنزيم الحر و يكون الارتباط في مكان بعيد عن الموقع الفعال . ثم يؤدي إلى إيقاف التفاعل الجاري. أن زيادة تركيز الركيزة تزيد من التثبيط . هذا النوع من التثبيط يحدث في التفاعلات التي تشمل أكثر من ركيزة و انعكاس هذا التأثير على معادلة ميكائيلس منتن نلاحظ تناقص كلا من السرعة العظمى و ثابت ميكائيلس منتن و الشكل معادلتي لينويفر-بيرك عبارة عن خطين متوازيين.



• المثبطات اللاعكوسة Irreversible Inhibitors

ترتبط المثبطات اللاعكوسة مع الإنزيم بروابط تكافؤية حيث تحتوي تلك المثبطات عادة على زمر وظيفية محبة للإلكترونات تتفاعل مع السلاسل الجانبية للحموض الأمينية مشكلة روابط تكافؤية. تعد المثبطات اللاعكوسة نوعية لصنف واحد من الإنزيمات وهي لا تعمل بتنشيط جميع البروتينات عن طريق تحطيم بنية البروتين ولكن بشكل نوعي يتغير الموقع الفعال للإنزيم الهدف.

من الأمثلة على المثبطات اللاعكوسة مركب Diisopropylfluorophosphate ، وهي مادة موجودة في مبيدات الحشرية ، الذي يثبط إنزيم الكولين استراز بالتفاعل مع ثملات الحمض الأميني السيرين في الموقع الفعال للإنزيم في مشابك الخلايا العصبية فيؤدي هذا إلى حدوث سمية عصبية بجرعات مميتة تقدر بأقل من 100 مغ. يعمل إنزيم الأسيتيل كولين استراز الضروري لوظيفة الخلايا العصبية على تفكيك الناقل العصبي الأسيتيل كولين إلى الأسيتات الكولين.

هناك نوع آخر من المثبطات هي المعادن و من أهمها Pb^{+2} , Hg^{+2} , Ag^{+} التي تخريب السيستئين الموجود في الموقع الفعال الضرورية لصناعة الدسم و البروتينات. و تكثر حالات التسمم بالرصاص عند العمال الذين يعملون في قطاع محروقات و هذا التسمم مزمن لا يؤدي إلى الموت و لكنه يثبط انتاج الهيموغلوبين و يسبب فقر الدم و مرض البروفيريا الثانوية.

10. استعمال المثبطات:

تستخدم المثبطات الإنزيمية غالباً كأدوية و لكنها يمكن أن تعمل كذلك كسموم. يتمثل الفرق الرئيسي بين الأدوية والسموم بمقدار الكمية المستخدمة وعليه يمكن اعتبار الأدوية مواد سامة عند بعض المستويات. يعد الأسبرين مثبطاً إنزيمياً يستخدم كدواء حيث يثبط إنزيمات COX-1, COX-2 التي تنتج المرسال الالتهابي البروستاغلاندين وبالتالي يثبط الألم و الالتهاب. بينما يعد السيانيد من المثبطات الإنزيمية اللاعكوسة التي ترتبط بالنحاس و الحديد في الموقع الفعال للإنزيم Cytochrome c Oxidase مما يحدث تثبيط للتنفس الخلوي.

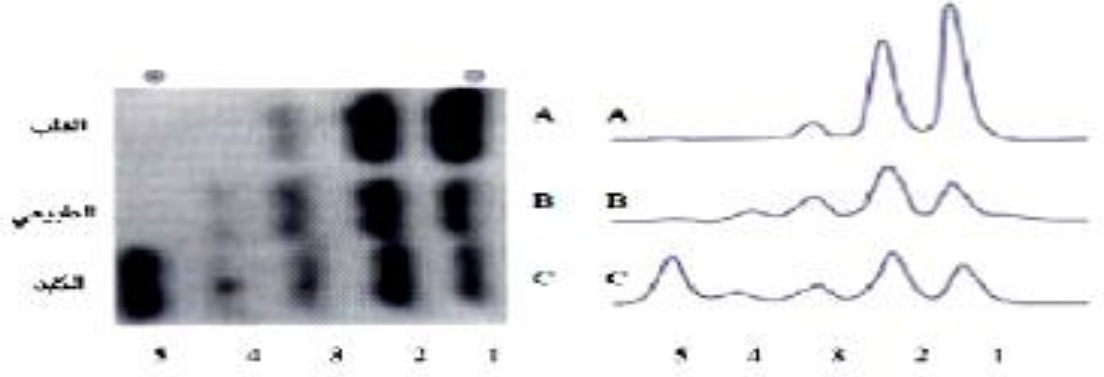
11. النظائر الإنزيمية (الإيزوإنزيمات):

النظائر الإنزيمية هي إنزيمات يختلف بعضها عن بعض بتسلسل الحموض الأمينية و لكنها تعمل على تحفيز التفاعل الكيميائي نفسه. تبدي النظائر الإنزيمية معالم حركية مختلفة (على سبيل المثال قيم ثابت ميكائيلس منتن ، السرعة العظمى) . تعد النظائر الإنزيمية ضرورية لعملية الإستقلاب من أجل تأمين المتطلبات الخاصة لنسيج معين أو لمرحلة تطورية. أصبح لدينا معلومات عن العديد من نظائر نازعات الهيدروجين و ناقلات الأمين و إنزيمات الأوكسيداز و الفوسفاتاز . ويمكن فصل النظائر الإنزيمية عن بعضها البعض بواسطة الرحلان الكهربائي.

مثال إنزيم اللاكتات ده هيدروجيناز (LDH) يتواجد هذا الإنزيم في كل الأنسجة و خاصة في العضلات الهيكلية ، الرئة، القلب ، الكريات الحمراء ، و البنكرياس و بعد استخدام الرحلان الكهربائي وجد أن له خمس نظائر و هي:

النظير	مكان تواجد	نسبته المئوية	حالات إزداده
LDH1	القلب والكريات الحمراء	25-30 %	أفات النسيج العضلي القلبي (احتشاء العضلة، احتقان القلب...)
LDH2	القلب والكريات الحمراء والكلية	32-36 %	
LDH3	الرئة والبنكرياس والعضلات الهيكلية والكريات الحمر	20-25 %	أمراض الرئة (احتشاء، احتقان)
LDH4	الكبد والعضلات	7-10 %	أمراض كبدية (تشمع، التهاب، احتقان) والأمراض التي تصيب العضلات
LDH5	الكبد والعضلات	7-10 %	

فصلت هذه النظائر المصلية على أسيتات السيللوز عند ال PH قيمته 8.6 ثم لونت لكشف الإنزيم فيظهر مقياس الضوء المستويات النسبية للنظائر الإنزيمية



يمثل A مصلا مأخوذ من مريض مصاب بإحتشاء بالعضلة القلبية و ذلك لزيادة LDH1, LDH2

يمثل B مصلا مأخوذ من شخص سوي

يمثل C مصلا مأخوذ من شخص مصاب بداء كبدي لزيادة نسبة LDH5

تفسير الاختلاف البنيوي بين النظائر الإنزيمية على الصعيد المورثي: الإنزيم عبارة عن بروتين تصنعه المورثة أو أكثر و هو مؤلف من وحدة واحدة أو عدة وحدات متماثلة أو مختلفة و بالتالي إن شرط وجود النظائر هو أن يكون الإنزيم قليل القسيمات كما في حالتنا عندما تم الحديث عن LDH. فيتألف نظير لاكتات ده هيدروجيناز من أربع سلاسل عديدة الببتيد تسمى كل منها قسيم و يوجد نوعين من القسيمات و هي M عضلي (من Muscle) و H قلبي (من Heart) و يحوي الإنزيم لاكتات ده هيدروجيناز أربع قسيمات و بما ان الفعالية الإنزيمية لا تتواجد إلا في جزئي رباعي يمكن أن تحدد القسيمات بالطرق الخمسة التالية:

HHHH, HHHM, HHMM, HMMM, MMMM

نوع القسيمات	نوع النظير
HHHH	LDH1
HHHM	LDH2
HHMM	LDH3
HMMM	LDH4
MMMM	LDH5

12. تصنيف الإنزيمات الموجودة في البلازما: يمكن تصنيف الإنزيمات الموجودة في الدم إلى مجموعتين

- الإنزيمات الوظيفية : تصنع معظم هذه الإنزيمات في الكبد و يطرحها في الدم لتقوم بوظائفها ضمنه و تكون لها وظيفة محددة منها عوامل التخثر و الرينين (الذي يفرز من خلايا الكلية)
- الإنزيمات غير الوظيفية : لا تقوم بأي وظيفة في الدم و إنما يكون مكان عملها الحقيقي هو ضمن الخلية و لكن تصل هذه الغنزييمات إلى الدم في الأحوال الفيزيولوجية الطبيعية كنتيجة لموت الخلايا و تخریبها بعد انتهاء العمر الزمني لها فتتحرر محتوياتها بما في ذلك الإنزيمات الحيوية إلى النسيج الخلالي و منه تصل إلى الدم . مثل ناقلات الأمين اسباراتات ترانس أميناز AST و ألانين تراني أميناز ALT و نازعات الهيدرجين للاكتات LDH

13. الإنزيمات و التشخيص: توجد الإنزيمات في الجسم بكميات معينة و في حالات مرضية تزداد الإنزيمات أو تنقص و بالتالي كمية الإنزيمات (فعاليتها) هي التي تحدد كون العضوية سليمة أم لا. تتناسب الزيادة في فعالية الإنزيم طردا مع شدة المرض ، و تكون ناتجة عن أحد الأسباب التالية:

- ✓ تخرب خلايا العضوية مما يؤدي إلى تحرر الإنزيمات داخل الخلية
- ✓ اضطراب في نفوذ الغشاء الخلوي
- ✓ انسداد القنية المفرزة و بالتالي انتقال المفرزات إلى الدم كما في مرض اليرقان الإندسادي حيث تنتقل مفرزات الصفراء إلى الدم.

يجب الانتباه إلى أن الزيادة في تركيز الإنزيمات ليست دوماً دليلاً على التخرب الخلوي أو الأذية النسيجية فهناك عمليات أخرى مثل زيادة معدل تقلب ، التكاثر السريع للخلايا،

❖ معايرة الإنزيمات: هي إجراءات مخبرية تستهدف قياس كمية الإنزيم ، مثلا الرحلان الكهربائي، أو فعالية الحيوية ، أي نلجأ إلى قياس النشاط التحفيزي للإنزيم و يعبر عنه بالوحدة الأنزيمية Enzyme Unit و ذلك بالاعتماد على قياس معدل تشكل ناتج معين أو تتبع التغيرات في تركيز الركازة. و كمثال على ذلك من أجل قياس إنزيم اللاكتات ده هيدروجيناز الذي يعتمد على قياس معدل أكسدة NADH إلى NAD^+ أو قياس معدل تشكل البيروفات.

وحدة النشاط الإنزيمي: هي عدد الميكرومولات من الركيزة المتفاعلة أو الناتج المتحول في الدقيقة.

من مساوئ استخدام قياس الإنزيمات كوسيلة تشخيصية هي وجود هذه الإنزيمات في خلايا الجسم المختلفة، أي أنها غير نوعية تماما فيصعب تحديد سبب الارتفاع في تركيز الإنزيم و تحديد العضو المصاب . فناقلات الأمين (AST أسبارتات ترانس أميناز، ALT ألانين ترانس أميناز) ، نازعه الهيدرجين لاكتات. ناقلة غاما غلوتامات، الفوسفاتاز القلوية و غيرها من الإنزيمات موجودة في عدة خلايا .

بعض الأنزيمات المهمة في التشخيص	
الإنزيم	التشخيص
الأميلاز	التهاب المعضلة الحاد يرافق مع الليبار والتريسين. التهاب الغدد الكفية.
الفوسفاتاز الحامضي ACP (الحموضة المثلى له PH=5)	سرطان البروستات (نوعي)
الفوسفاتاز القلوية ALP (القلوية المثلى له PH=10)	اضطرابات مختلفة في العظام (أمراض بائيات العظام - داء باجيت - أورام عظمية - التهاب العظم اليفي)، أمراض الكبد الانسدادية المتعلقة بالركودة الصفراوية
ناقلات الأمين (ستدرس بالعملي): (1) ناقل أمين غلوتامي حصرمي SCPT أو ALT (ألانين ترانس أميناز) (2) ناقل أمين غلوتامي حمضي SCOT أو AST (أسبارتات ترانس أميناز) (3) ناقل البينيد غاما غلوتاميل ترانسفيراز أو ترانس بيتيداز ICDH	أمراض الكبد المترافقة مع ضرر الخلية الكبدية (التهاب الكبد الإثنائي والسمي) احتشاء عضلة القلب أمراض الكبد وخاصة اسداد الصفراء، والإدمان على الكحول، والتشمع الكحولي والصفراوي
نازعة الهيدروجين اللبينة (اللاكتات دي هيدروجيناز) LDH	احتشاء العضلة القلبية
كرياتين فوسفوكيناز CPK	اختلال في عمل العضلات واحتشاء في العضلة القلبية
كولين استراز CHE (أنزيم نوعي) (سعره مرتفع)	ينخفض في الأمراض الكبدية يرتفع في المتلازمة الكلوية
5-نيكليوتيداز 5N (سعره مرتفع)	الأمراض الكبدية والصفراوية
سيرولوبلازمين Ceruloplasmin غلوبين مصلي Cu- يظهر فعالية أوكسيدازية (يستطيع أكسدة الأمينات المختلفة)	انخفاضه يدل على التخر الكبدى العدسي (داء ويلسون)

ناقلات الأمين: ناقلة الأمين الاسبارتات (AST) GPT ناقلة الأمين الألانين (ALT)	احتشاء العضلة القلبية التهاب الكبد الفيروسي
الأميلاز	التهاب البنكرياس الحاد
السيرولوبلازمين	التنكس الكبدى العدسي (داء ويلسون)
كيناز الكرياتينين	الأدواء العضلية واحتشاء العضلة القلبية
ناقل بيتيد الجاما جلوتاميل	أمراض كبدية مختلفة
نازعة هيدروجين اللاكتات (نظائره الأنزيمية)	احتشاء العضلة القلبية
الليبار	التهاب البنكرياس الحاد
الفسفاتاز الحمضية	سرطانة البروستات النقيلية
الفسفاتاز القلوية (نظائرها الأنزيمية)	اضطرابات عظمية مختلفة، وأمراض الكبد الانسدادية

فمثلاً ارتفاع الفوسفاتاز القلوية يكون من أمراض العظم و أمراض الكبد (الإنسدادية) و بالتالي لا يمكن تحديد المرض المناسب لهذا الارتفاع. ففي هذه الحالة نطلب تحليل إنزيم ناقلات الأمين لمعرفة إذا كان التشخيص للكبد أم العظام، فإذا كان الارتفاع في كليهما كانت العلة في الكبد (متعلق بالركودة الصفراوية) أما ارتفاع فقط في مستوى الفوسفاتاز القلوية كانت العلة في العظام. أما عند معايرة الفوسفاتاز الحمضية فارتفاعه يدل على آفة في البروستات لأنه نوعي موجود فقط في نسيج البروستات. و بالتالي نلجأ إلى معايرة الإنزيمات في تحديد موضع الآفة (كبد ، كلى ، قلب ...) و تشخيص الأمراض الناتجة عن أذية في الخلايا (تخريب ، إنسداد) و تشخيص الأمراض المناعية و الأمراض الوراثية ، و التشخيص التفريقي لبعض الحالات المرضية التي لها عوارض نفسها و لكنها مختلفة السبب و المنشأ مثال اليرقان، ضخامة الكبد ، أو الطحال و كذلك في مراقبة تطور الأمراض و مدى تحسن الذي توفره المعالجة و تقرير الشفاء و تشخيص حالات التنكس.