الوحدة 3: النشاط الإنزيمي للبروتينات

① مفهوم الإنزيم:

وسيط حيوي ذو طبيعة بروتينية (غالبا) يحفز و يسرع التفاعلات الحيوية. يتميز بتخصص وظيفي عالي، يتميز بتأثيره النوعي اتجاه مادة التفاعل و نوع التفاعل، في شروط محددة من درجة الحرارة و درجة pH في الوسط.

- خصائص الإنزيمات:
- ضرورية لحدوث و تحفيز التفاعلات.
- لا تستهلك أثناء التفاعلات (وسائط).
- النوعية المزدوجة { - اتجاه مادة التفاعل. - اتجاه نوع التفاعل

- تأثير غياب الإنزيم: في حالة غياب الإنزيم بسبب تخريب بنيته الفراغية يتوقف التفاعل الذي يحفزه هذا الإنزيم فيحدث خلل في الوظيفة أو الخاصة الحيوية المعنية.

← ينتج التغير في بنية الإنزيم عن حدوث طفرة على مستوى المورثة التي تشرف على تركيبه أو تغير في عوامل الوسط (pH أو حرارة).

② البنية الفراغية للإنزيم:

يتميز ببنية فراغية مستقرة (ثالثية أو رباعية) تملك موقع فعال يتكامل بنيويا مع مادة تفاعله. تتشكل هذه البنية الفراغية من عدد، نوع، ترتيب محدد و دائما من الأحماض الأمينية تنشأ بينها روابط كيميائية في مواضع محددة بدقة و دائما.

يحتوي الإنزيم شق غير بروتيني: الموقع الفعال.

• الموقع الفعال: جزء من الإنزيم يتكون من عدد قليل من الأحماض الأمينية محددة و دائما تظهر في شكل جيب (شق) يتكامل بنيويا مع الركيزة (S).

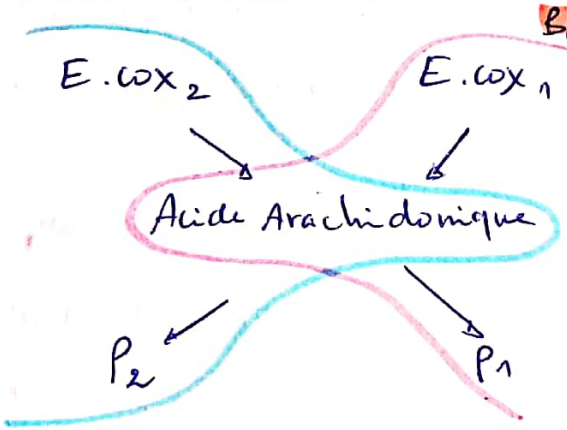
← يتكون الموقع الفعال من:

• موقع التثبيت: يثبت الركيزة بعد التعرف عليها عن طريق روابط كيميائية ضعيفة تنشأ بينه و بين الركيزة أي نوعية اتجاه مادة التفاعل.

• موقع التحفيز: يؤثر على مادة التفاعل حيث تنشأ روابط كيميائية بين AA المشكلة لموقع التحفيز و الركيزة S، أثناء هذه بعض الروابط بين مجموعة AA المكونة لموقع التحفيز.

← نوعية اتجاه نوع التفاعل.

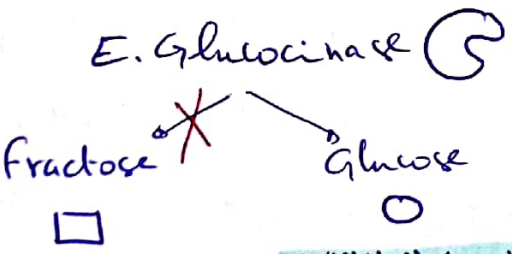
BAC 2019



التفاعل 1: $E.cox_1 + \text{Acide Arach} \dashrightarrow P_1$

التفاعل 2: $E.cox_2 + \text{Acide Arach} \dashrightarrow P_2$

← نوعية اتجاه نوع التفاعل (تشابه موقع التثبيت فيثبتان نفس الركيزة و اختلاف موقع التحفيز).



← نوعية اتجاه مادة التفاعل.

CamScanner

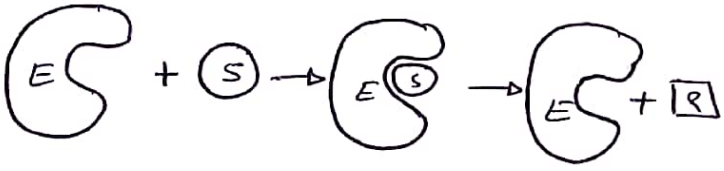
كيف أميز بين منطقة التحفيز والتثبيت ؟

- منطقة التثبيت أعمق من منطقة التحفيز.
- قد تملك منطقة التحفيز عامل مساعد يشارك في التفاعل (Zn^{++}، Cu^{++}، NAD، FAD ---) لمرافقات انزيمية Des co-enzymes.
- AA المشكلة لمنطقة التحفيز تشارك في التفاعل وقد تتشوه مع بعضها أحيانا رواسب، بينما AA المشكلة لمنطقة التثبيت فتتشوه ببعضها وبنية الركيزة فقط رواسب.
- اذا شاركت مادة أخرى في التفاعل كوسيط (H_2O، O_2، ATP ---) فإنها تتواجد جهة منطقة التحفيز.

← AA المشكلة لمنطقة التحفيز تفقد H، OH-- من أجل تحفيز التفاعل، تشكل رواسب مع الركيزة S، وتتنزع عصامات الوسيط (H_2O، O_2 --).

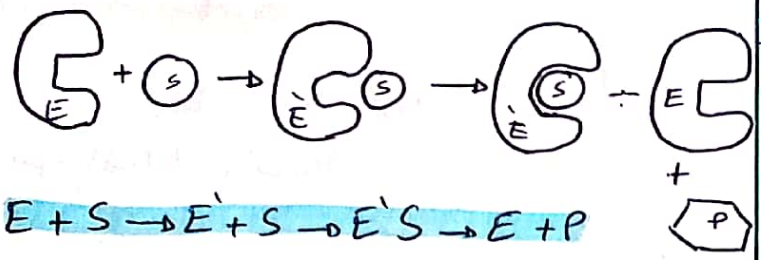
أنواع التكاملات البنيوية:

- التكامل المباشر (القفل والمفتاح): تشكل المعقد "ES" مباشرة، تتشابه بين البنية الفراغية في وجود وفي غياب الركيزة S.



$E + S \longrightarrow ES \longrightarrow E + P$

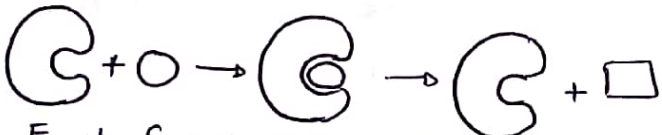
- التكامل غير مباشر (التحفيز): موجود عند اقتراب الركيزة S من الانزيم حيث تحفز على تغيير شكل الموقع الفعال (تغيير AA أماكن جذورها لتصبح في المكان المناسب لتكامل بنيوي مع الركيزة، وتنشأ رواسب معاكسة إلتأثير عليها) وسرعان ما يعود الموقع الفعال لشكله الأولي عند انتهاء التفاعل.



$E + S \rightarrow E' + S \rightarrow E'S \rightarrow E + P$

(3) أنواع التفاعلات الإنزيمية:

- تفاعل تحويل: S واحدة و P واحدة.



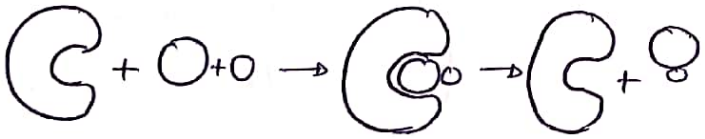
$E + S \rightarrow ES \rightarrow E + P$

- تفاعل تفكيك: S واحدة و 2P أو أكثر
← تحليل، تبسيط، إماهة، هدم ---



$E + S \longrightarrow ES \longrightarrow E + P_1 + P_2$

- تفاعل تركيب (بناء): 2S أو أكثر و P واحد.



$E + S_1 + S_2 \longrightarrow ES_1S_2 \longrightarrow E + P$

أفكار !!

- تفاعلات تحويل:
- أكسدة: E.GO يحول Glucose الى Acide Gluconique
- فسفرة: E.Gluconikase يحول Glucose الى G6P في وجود ATP ← مع اضافة مجموعة فوسفات للسكر.

④ آلية عمل الإنزيم:

يرتبط الإنزيم (E) بالركيزة (S) على مستوى الموقع الفعال بوجود تكامل بنيوي فيما بينهما.
ويشكل المعقد ES الضروري لحدوث التفاعل.
حيث ترتبط بواسطة روابط ضعيفة وجيئية انتقالية التي ترتبط الوظائف للركيزة مع الوظائف لجذور AA المشكلة لموقع التثبيت في الموقع الفعال.
- تتحول الركيزة S الى ناتج P بواسطة موقع التحفيز للموقع الفعال ثم يتحرر الناتج عن الإنزيم.

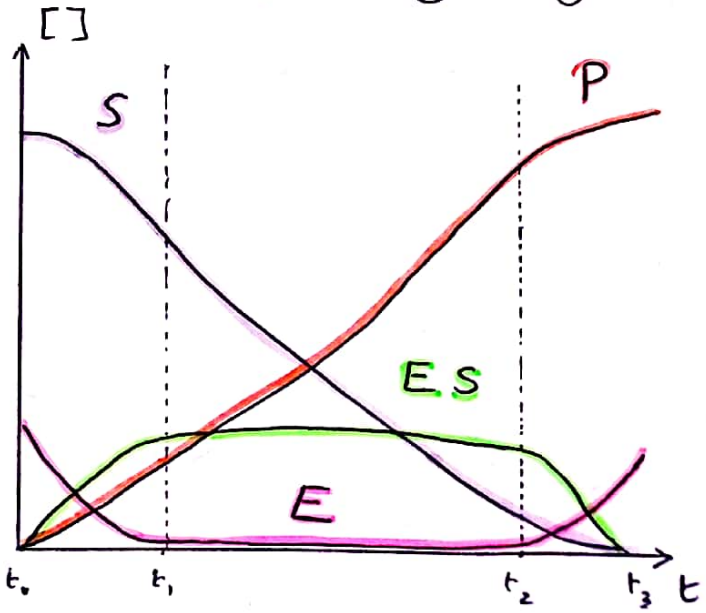
⑤ حركية الإنزيم (نشاط الإنزيم، سرعة التفاعل):

نقيس النشاط الإنزيمي حسب:
- استهلاك الركيزة S.
- كمية المادة الناتجة P.
- المعقدات ES المشكلة.
- عدد E الحرة.

$V_i = \frac{[P]}{t}$ أو $V_i = \frac{[S]}{t}$.

$t \uparrow \rightarrow V \downarrow$ / $t \downarrow \rightarrow V \uparrow$

- مراحل التفاعل الإنزيمي:



S: تتناقص لأنها تتفاعل.
P: يتزايد لأنه يتشكل بمرور الزمن.
ES: تتزايد لتزايد تشكل ES وتثبت عند تشبع E كلها. ثم تتناقص في نهاية التفاعل لقلة S.
E: يتناقص بسبب ارتباطه، تشكل ES، يثبت عند التفاعل ثم يتزايد في نهاية التفاعل وتفكك ES.

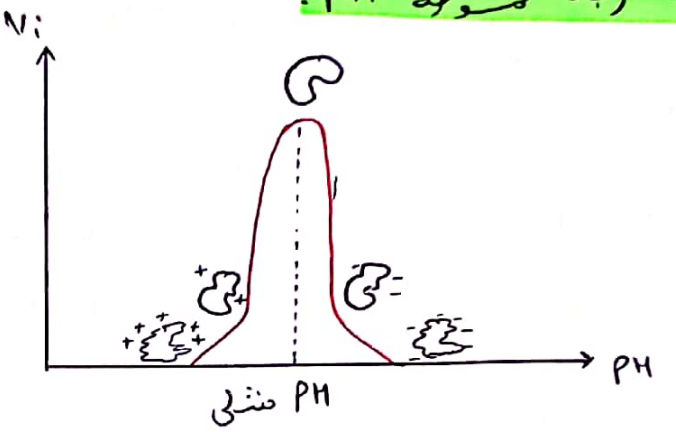
- المرحلة 01: $[t_0 ; t_1]$: ارتفاع V_i.
- استمرار تشكل ES لوجود E غير مرتبطة ووجود كمية كافية من S.
- تحويل S الى P (تناقص S وتزايد P).
- المرحلة 02: $[t_1 ; t_2]$: ثبات V_i.
- بلوغ V_i أقصاها وتثبت لتشبع كل E بـ S.
- يستمر تحويل S الى P بسرعة ثابتة.
- المرحلة 03: $[t_2 ; t_3]$: تناقص V_i.
- تناقص V_i بسبب تناقص S حتى تنفذ ويتوقف التفاعل الإنزيمي.

- خصائص حركية الإنزيم:
1. النوعية: نوعية مزدوجة
   - اتجاه نوع التفاعل.
   - اتجاه مادة التفاعل.
2. الوساطة: لا يستهلك ولا يتأثر بالتفاعل.
3. التأثير بتغير [S]: ترتفع V_i بارتفاع [S] وتثبت عندما تتشبع كل المواقع الفعالة للإنزيمات.
4. التأثير بتغير [E]: ترتفع V_i بارتفاع [E].

6. العوامل المؤثرة على النشاط الإنزيمي:

يتأثر نشاط الإنزيم بتغير درجتي الحرارة و pH. حيث يشتغل الإنزيم في مجال محدود من درجة الحرارة و pH، وخارجه يفقد بنيته الفراغية الوظيفية ويتوقف نشاطه. توجد ضمن هذا المجال قيمة مثالى يكون فيها نشاط الإنزيم أعظميا.

* درجة الحموضة pH:



- درجة pH المثالي pH. هي pH الوسط التي تكون فيها كل الجزيئات الإنزيمية الموجودة في الوسط مشاركة في التفاعل. وتتميز بأن تكون مواقعها الفعالة مستقرة كهربائيا وتسمح لها بتثبيت الركيزة لإحداث تفاعل إنزيمي. لكل إنزيم درجة pH مثالي يكون عندها نشاطه أعظميا.

- تأثير درجة pH:

تؤثر درجة pH على مجموع الحالة الكهربائية للوظائف NH_2 و COOH الحرة لـ AA في السلسلة البيبتيدية خاصة الموجودة في الموقع الفعال، وبالتالي فهي تغير من شحنة Σ الإجمالية حيث يفقد الموقع الفعال شكله الفراغي المميز بتغير حالته الشاردية وهذا ما يعيق حدوث التفاعل فتنخفض Vi.

- في الوسط الحامضي $pH < pH_i$: $\Sigma\oplus > \Sigma\ominus$

خاصة في الموقع الفعال، يشحن $\oplus$ بسبب السلوك القاعدي لـ AA: تتغير البنية بسبب زوال أو تشكل روابط شاردية في غير أماكنها الصحيحة. هذا يعيق ارتباط الركيزة وبحدث التفاعل الإنزيمي.

- في الوسط القاعدي $pH > pH_i$: $\Sigma\ominus > \Sigma\oplus$

خاصة في الموقع الفعال، يشحن $\ominus$ بسبب السلوك الحامضي لـ AA، هذا ما يعيق الارتباط مع الركيزة وبحدث التفاعل الإنزيمي.

← إذا كانت الشحنة الإجمالية كبيرة جدا (بسبب شدة حموضة أو قاعدية الوسط) يتوقف النشاط الإنزيمي نهائيا.

ملاحظات إضافية:

- pH الأمثل لعمل الإنزيم ليس بالضرورة هو pH الدم ولكنه قريب منه، فـ pH الأمثل يكون فيه إمكانية لتشكيل الروابط التي تحافظ على البنية وإمكانية ارتباط الجذور للموقع الفعال بالركيزة.

- في الأوساط عالية الحموضة أو القاعدية جدا يحدث تخريب كلي للبنية الفراغية ويتعطل النشاط الإنزيمي ← لا يمكن العودة للبنية بوضعها في pH الأمثل ← تأثير غير عكوس.

- في الأوساط القريبة من pH الأمثل يكون التخريب جزئي ← استرجاع البنية والنشاط عند العودة إلى pH الأمثل ← تأثير عكوس.

فكرة!

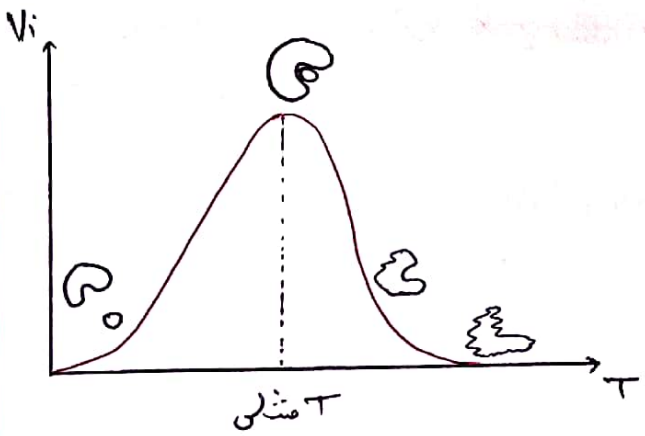
الفطر السيامية وأرانب الهيمالايا

- مختلفة الألوان في كامل جسمها

- الباقي أبيض ← البطن ← 37°C
- واكن في بعض الأماكن ← الأنف، الأذنان ← 30°C (أقل من باقي الجسم)

- يعمل: إنزيم التيروزيناز ← مسؤول عن تشكيل صبغة الميلانين التي تعطي لون
- لا يعمل

درجة الحرارة T°:



- **درجة الحرارة المثلى**: هي درجة حرارة الوسط التي تكون فيها كل الجزيئات الأنزيمية فعالة (تشارك في التفاعل) وذات بنية فراغية سليمة ومستقرة، وبالتالي حدوث تكامل بنيوي بين الموقع الفعال للأنزيم والركيزة.

- **تأثير درجة الحرارة:**

- في درجات حرارة أقل من المثلى: قلة النشاط E. لسفلة حركة الجزيئات، وبالتالي قلة تشكيل المعقدات ES لأن التقارب والتصادم يكون أصعب، تنخفض Vi.

- في درجات الحرارة تقارب الصفر: انعدام النشاط E لتوقف حركة الجزيئات وبالتالي عدم تشكيل المعقدات ES، لكنه نحافظ على بنيتها الفراغية السليمة (تثبيط نشاط E دون أن يتغير).

- في درجات الحرارة أكبر من المثلى: قلة النشاط E لتغير البنية الفراغية للجزيئات بتكسير الروابط الصيدرومينية التي تحافظ على استقرار البنية.

- في درجات الحرارة عالية جدا: انعدام النشاط E بسبب التخريب الكلي للبنية الفراغية للجزيئات حيث تتكسر كذلك الروابط الأكوبتية وتتشوه البنية.

الحرارة العالية ← يفقد البنية ← تأثير غير عكوس
الحرارة المنخفضة ← يتوقف النشاط ← تأثير عكوس

الطفرات الوراثية: ← عامل داخلي

الخلل على مستوى الكروتة المسؤولة عن تركيب E ينتج عنه تغير في السلسلة البيتيدية من حيث عدد، نوع أو ترتيب AA المسؤولة بدورها عن تحديد البنية الفراغية للأنزيم وبالتالي تخصصه الوظيفي، تغير في البنية الفراغية يمنع تكاملها مع الركيزة وبالتالي يمنع حدوث التفاعل.

(تغير AA يغير بالضرورة من نوع الرابط).

المثبطات الأنزيمية:

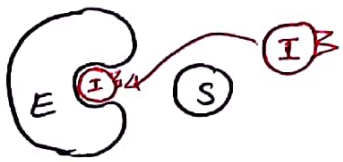
Inhibiteurs enzymatiques

هي مواد كيميائية ترتبط بالأنزيم فتقلل من نشاطه أو توقفه.

ويتم تصنيفها حسب 3 معايير: مكان الارتباط، قوة الارتباط، مصيرها.

① حسب موقع الارتباط:

- مثبط تنافسي: يتنافس المثبط I مع الركيزة S على نفس الموقع الفعال (شكل المثبط مشابه لشكل الركيزة). فيعيقها عن الارتباط بالموقع الفعال.



- مثال فكرة

دواء Glucobay (الاسم العلمي Acarbose) يستخدم لعلاج السكري حيث يثبط عمل أنزيم تفكيك السكريات في الأمعاء الدقيقة.

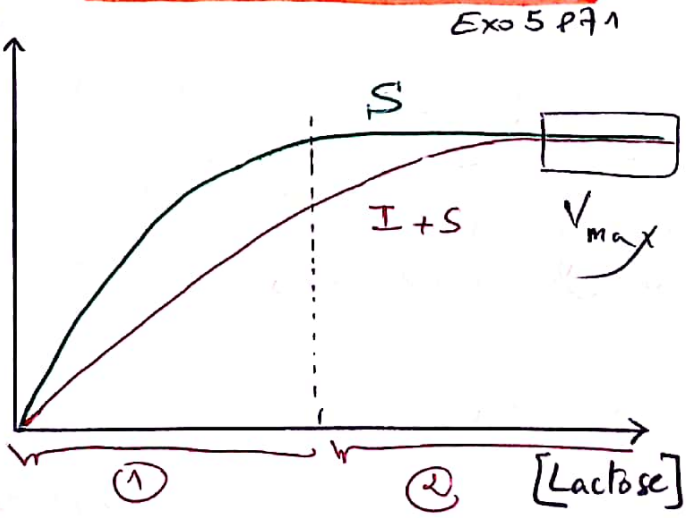


- يرتبط بـ E وبالتالي يثبط عمله فلا تتفكك السكريات، ولا ترتفع نسبة السكر في الدم. فيمكنه المصابون بداء السكري تناول السكريات.

← شرط تناوله قبل تناول السكريات كي يسهل ارتباطه بـ E في غياب الركيزة (السكر).

← مثبط تنافسي عكسي (ينفصل بخفاعة عن E)

Exo 5 p71



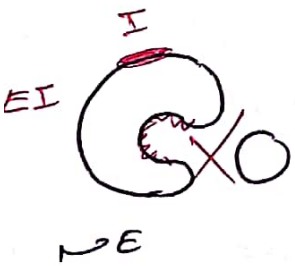
① [Lactose] ↓، وبالتالي زيادة ارتباط I كبيرة، يقل عدد المعقدات ES بسبب تشكل EI ← تقل Vi.

② [lactose] ↑، I و E بتراكيز معدومة تقل زيادة ارتباط I لأن [I] < [lactose].

تزيد زيادة ارتباط S، بالتالي تزيد المعقدات ES وتزيد Vi

← المثبط التنافسي لا يعمل في التراكيز العالية كمادة التفاعل.

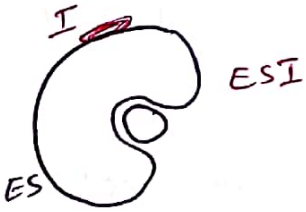
- مثبط غير تنافسي: يرتبط المثبط بموقع آخر غير الموقع الفعال، ويتكون المعقد ESI فيصبح E غير نشط. أو قد يرتبط EI (بـ E الحر) فيغير من شكل الموقع الفعال فيعيق ارتباط S.





تثبيت ✓
تحفيز ✗

- مثبط لا تنافسي: يرتبط المثبط فقط بعد ارتباط E بـ S أي بعد تشكل المعقد ES (لا يرتبط مع E حر) فتنخفض سرعة التفاعل.



② حسب قوة الارتباط:

مثبط عكسي: يرتبط المثبط بـ E بصورة ضعيفة فينفصل انفصاله (روابط ضعيفة).
لـ تنافسية غير تنافسية، لا تنافسية
← مثبطات مكيفية.



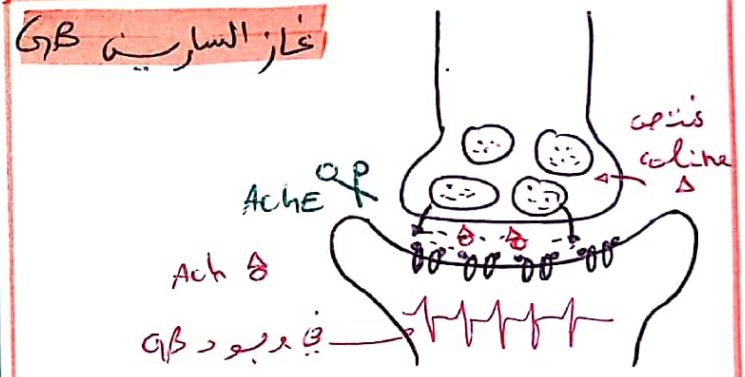
مثبط غير عكسي: يرتبط المثبط بـ E بصورة قوية تساهمية فلا ينفصل عنه بسهولة.



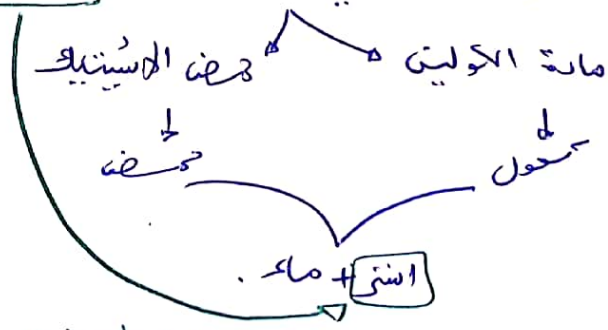
غاز السارين GB ← غاز الأعصاب: مثبط تنافسي غير عكسي يوقف عمل AchE فلا يفكك Ach ويستمر عمله. يسبب انتقال السيالة العصبية وتموجات العمل
← يؤدي لتشنجات عضلية (تقلص مستمر للعضلة)، قد تؤدي الى الوفاة" ان كانت عضلة القلب أو العضلات الصوائية ...

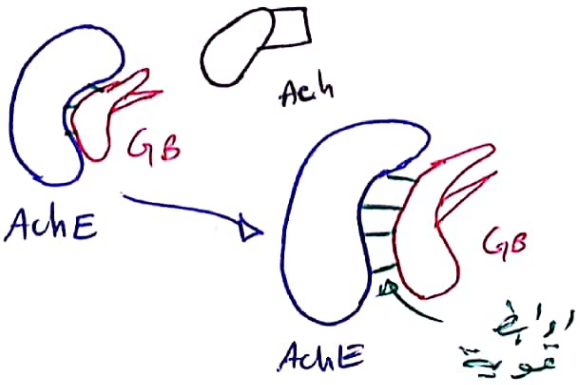
- دواء Tacrine: يثبط عمل AchE ويستخدم كعلاج للمرضى الذين يعانون من الخرف الناتج عن الزهايمر.

- المضادات الحيوية: البنسيلين يمنع تكوين جدارها الخلوي بارتباطه تساهميا مع الموقع الفعال لـ E.



AchE ← Ach ← يفكك ← يتوقف مرور السالة

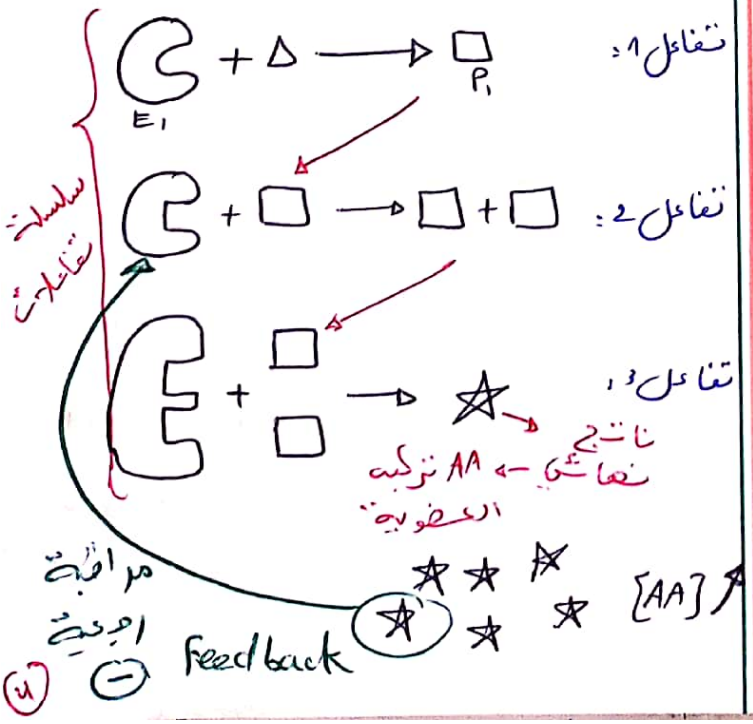




③ حسب الهدف:

مثبطات صناعية: مثل دواء ← يرتبط E تستغل لعلاج الأمراض.

مثبطات طبيعية:

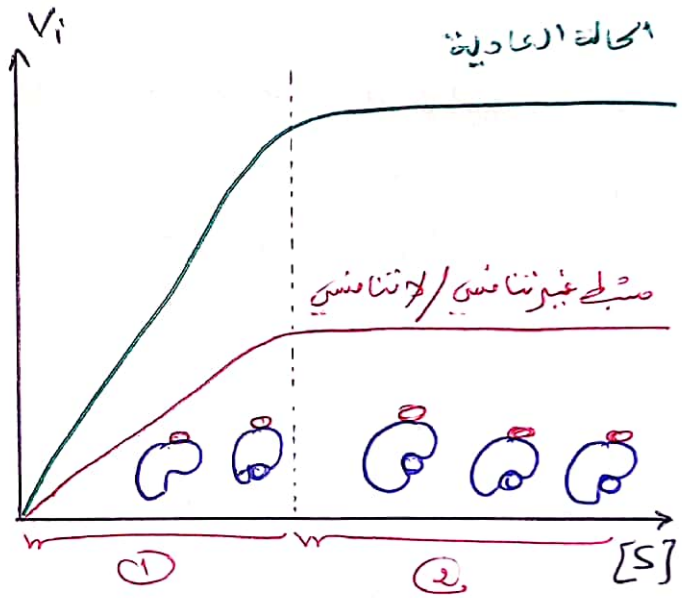


★ AA : تنتجه العضوية

↙ يتدخل في تركيب Pro ← يغير تركيب AA وبالتالي تركيب Pro .

يزيد تركيز P (AA) دون الحاجة لـ ← تنشيط سلسلة التفاعلات حيث يصبح P منشط عكسي (مراقبة رجعية ⊖) ← عكسي لي يتضيع E العودة للعمل الاحقافي حال الحاجة لـ P .

فكرة !!



① : يقل عدد المعقدات ES وبالتالي V بسبب ارتباط I ومنع حدوث التفاعل.

② : [S] ↗ : ← يزيد عمل I (يعمل عالي في وجود ES)

↙ يعزز: يزيد عمل المثبطات حيث تعمل كل من اللا تنافسية و الغير تنافسية على ES.

← المثبطات اللاتنافسية وغير تنافسية تعمل بشكل جيد في التراكيز العالية لمادة التفاعل.

⑦ تجارب سرعة التفاعل :

- الحالة o1 : تركيز متزايد من S + تركيز ثابت من E . "عدد E محدود" .

← زيادة النشاط الانزيمي (سرعة) : زيادة عدد E المشاركة في التفاعل أي زيادة المعقدات ES.

← الوصول الى السرعة الاعظمية : مشاركة كل E في التفاعل الحيوي أي ارتباط كل جزيئات E بـ S .

← ثبات سرعة النشاط الانزيمي : وجود عدد ثابت من E (عدد المعقدات ES يتعلق بتركيز S لكن تتبع E يمنع تشكل معقدات أخرى) .

الحالة o2 : تركيز متزايد من E + تركيز ثابت من S . "S محدودة" .

← تفسر زيادة سرعة النشاط E بزيادة عدد جزيئات E المتدخلة في التفاعل ، المرتبطة بـ S لتشكل ES.

← يتوقف نشاط E بسبب نفاذ S .

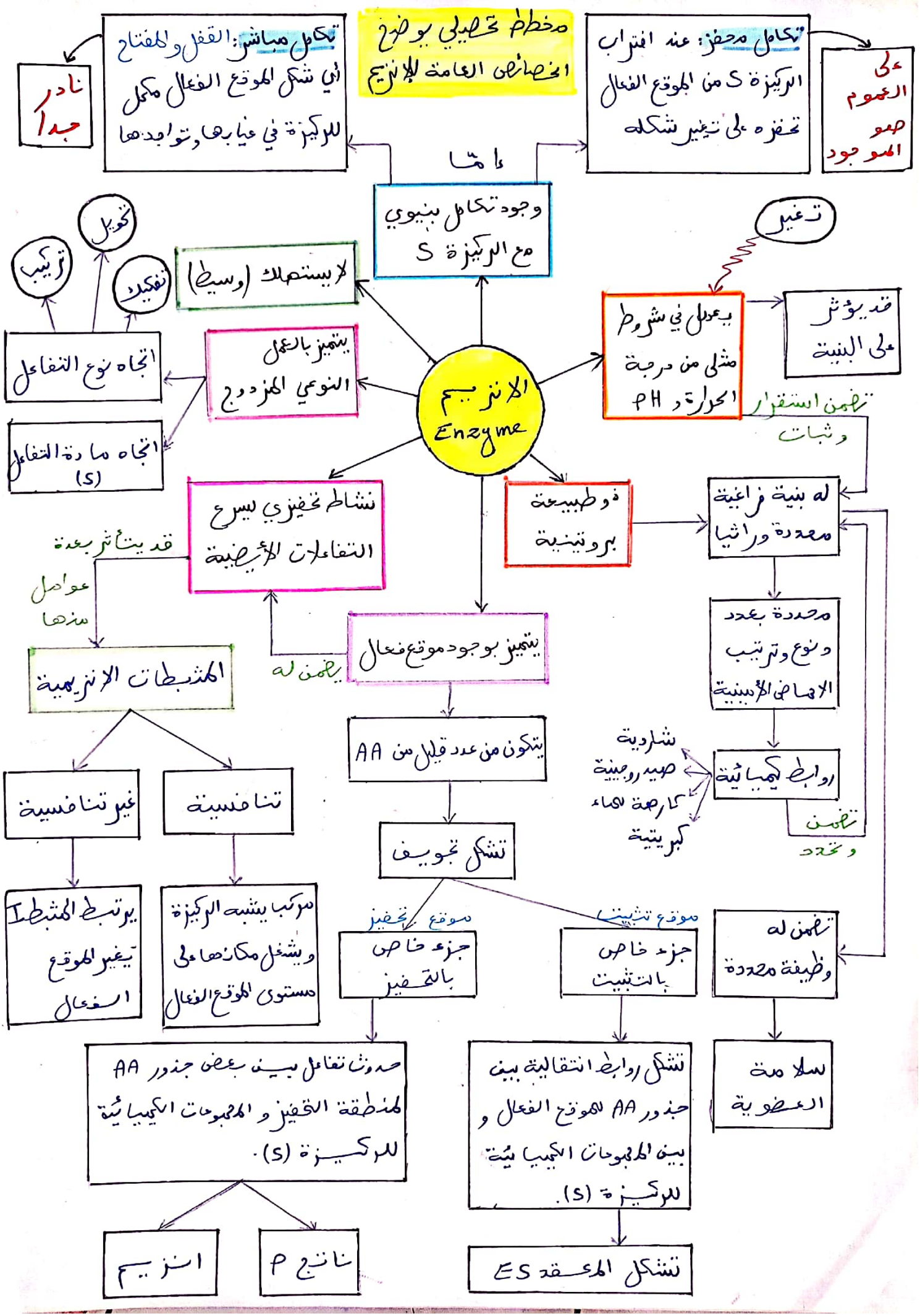
الحالة o3 : تركيز E و S متزايدان

أستمرار النشاط E ← استمرار تشكل المعقدات ES.

⑧ أهمية دراسة الانزيمات من الناحية التطبيقية :

- استخدامها في مجال الصناعة الدوائية (الاستخدام في الصناعات الغذائية وفي المراهم).

- فهم ومعالجة الأمراض الناتجة عن خلل في E لأسباب فيزيولوجية (pH ، الحرارة) أو دوائية (طفرات)


مخطط تحليلي يوضح الخصائص العامة للإنزيم
الإنزيم Enzyme
وجود تكامل بنيوي مع الركيزة S
تكامل مباشر: القفل والمفتاح أي شكل الموقع الفعال مكمل للركيزة في غيابها وتواجدها
نادر جدا
تكامل محفز: عند اقتراب الركيزة S من الموقع الفعال تحفزه على تغيير شكله
على العموم هو الموجود
لا يستهلك (وسيط)
يتميز بالعمل النوعي المزدوج
اتجاه نوع التفاعل
تركيب
تحويل
تفكيك
اتجاه مادة التفاعل (S)
يعدل في شروط مثلى من درجة الحرارة و pH
تغير
قد يؤثر على البنية
تضمن استقرار وثبات
نشاط تحفيزي يسرع التفاعلات الأيضية
قد يتأثر بعدة عوامل منها
المثبطات الانزيمية
ذو طبيعة بروتينية
له بنية فراغية معقدة وراثيا
محددة بعدد ونوع وترتيب الأحماض الأمينية
روابط كيميائية
شاردية
صبيدروجينية
كارهة الماء
كبريتية
تضمن وتحدد
يتميز بوجود موقع فعال
يضم له
يتكون من عدد قليل من AA
تشكل تجويف
موقع تحفيز
موقع تثبيت
جزء خاص بالتحفيز
جزء خاص بالتثبيت
تضمن له وظيفة محددة
السلامة العضوية
غير تنافسية
تنافسية
يرتبط المثبط I يغير الموقع الفعال
مركبا يشبه الركيزة ويشغل مكانها على مستوى الموقع الفعال
حدوث تفاعل بين بعض جذور AA لمنطقة التحفيز و المجموعات الكيميائية للركيزة (S).
تشكل روابط انتقالية بين جذور AA للموقع الفعال و بين المجموعات الكيميائية للركيزة (S).
انزيم
ناتج P
تشكل المعقد ES