

اعداد

الأستاذ : بوالريش أحمد

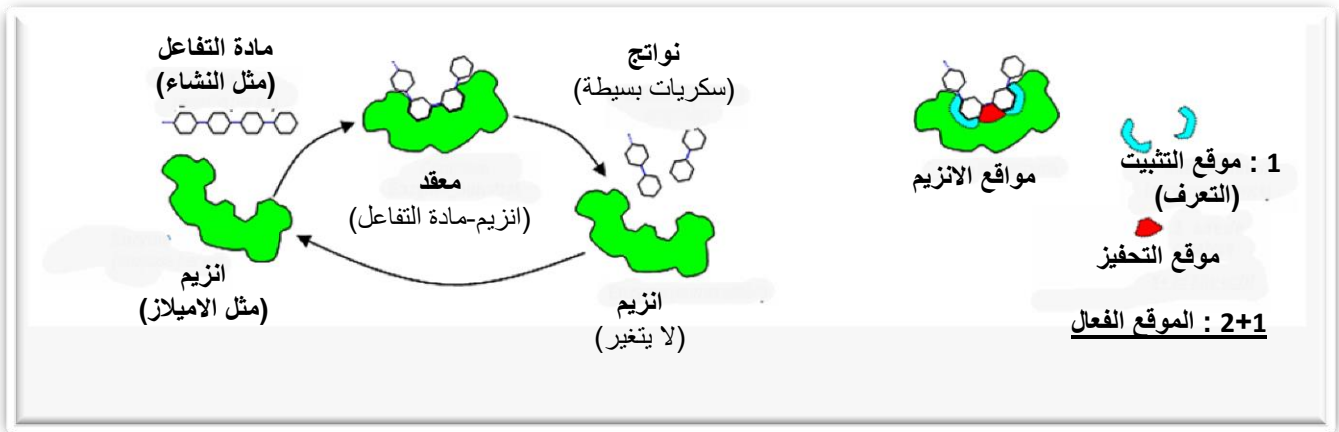
متقن القل

يتمثل النشاط الخلوي في العديد من التفاعلات الكيميائية الأيضية. تلعب الإنزيمات دوراً أساسياً في تحفيز هذه التفاعلات الحيوية.

- ❖ هل للطبيعة البروتينية للإنزيم دور في تخصصها الوظيفي؟
- ❖ ماهي خصائص التحفيز الإنزيمي؟
- ❖ وما هي العوامل القابلة لتغيير هذه الخصائص؟

I : مفهوم الإنزيم وأهميته

مثال : إنزيم الأميلاز :



كيفية عمل إنزيم الأميلاز:

❖ يعمل الإنزيم على التفكيك التدريجي لجزيئة النشاء معطياً جزيئات أقل (ديكستريانات) إلى غاية سكر ثنائي سكر (الشعير).

1 - تعريف الإنزيم (محفز حيوي) :

❖ هو محفز تنتجه العضوية ويعمل في شروط ملائمة للحياة و يؤثر بتراكيز جد ضعيفة في مادة التفاعل. حيوي : لأن الإنزيم من طبيعة بروتينية محفز : لأنه يسرع من التفاعلات الكيميائية ، ويؤثر بتراكيز ضعيفة ولا يستهلك أثناء التفاعل.

تعريف الإنزيم : الإنزيم هو بروتين نوعي يعمل كوسيط يسرع التفاعل الكيميائي بدرجة كبيرة.

كيف نتأكد من أن الإنزيم من طبيعة بروتينية ؟

- ✓ يتكون من أحماض أمينية مرتبطة بروابط ببتيدية
- ✓ له بنية فراغية
- ✓ يتخرب بالحرارة
- ✓ نشاطه يتأثر بالحرارة و بـ pH
- ✓ يمكن الكشف عنه بواسطة الكواشف الخاصة بالبروتينات

2 - المقارنة بين عمل الـ HCl (محفز كيميائي) والاميلاز (محفز حيوي): إماهة النشاء

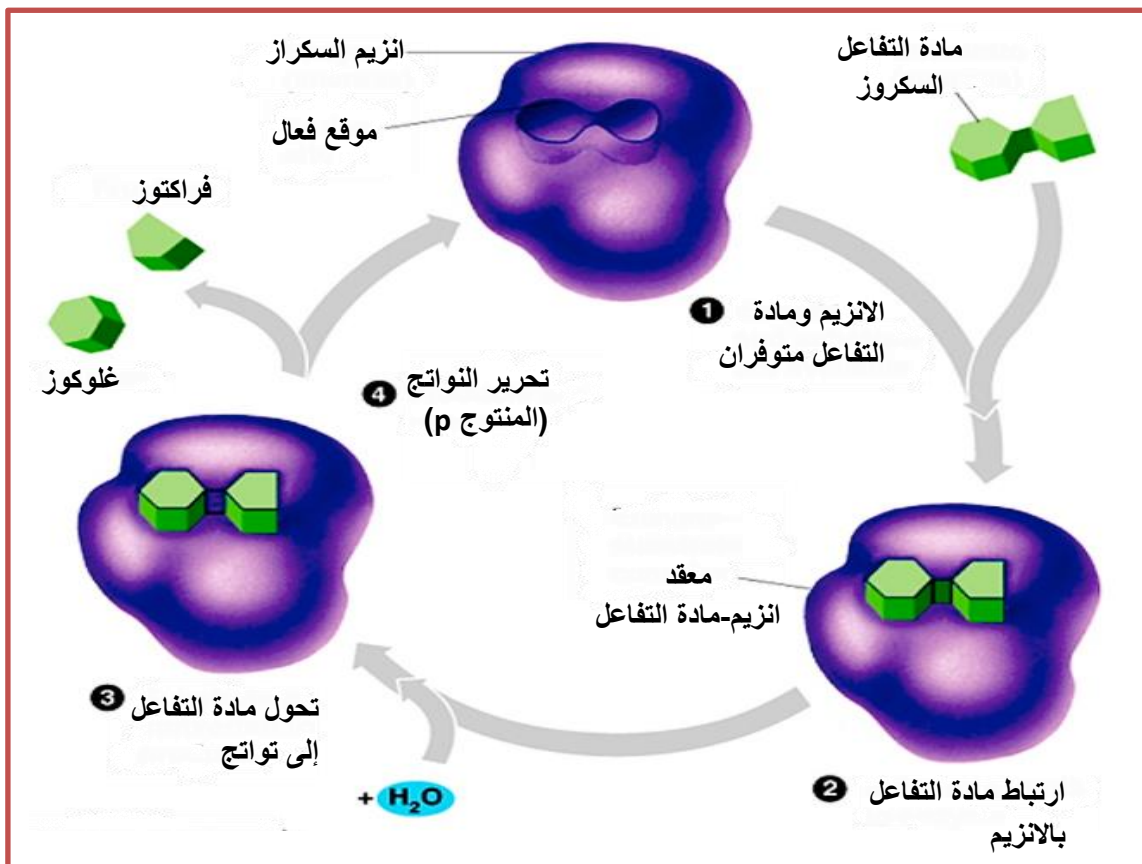
المحفزات أوجه المقارنة	المحفز الكيميائي الـ HCl	المحفز الحيوي (الاميلاز اللعابي)
سرعة التفاعل	بطيئة نسبيا	سريعة
درجة الحرارة	درجة عالية (100 م ⁰)	حرارة الجسم (37 م ⁰)
النتائج المحصل عليها	دكستريانات ثم مالتوز ثم غلوكوز (إماهة كلية)	دكستريانات ثم مالتوز (إماهة جزئية)
نوع التفاعل الكيميائي	إماهة كيميائية بحتة في وجود حمض وحرارة عالية	إماهة إنزيمية في شروط العضوية

3 - شروط عمل الإنزيم :

❖ الإنزيم وسيط حيوي يتميز بتأثيره النوعي اتجاه مادة التفاعل (الركيزة) المعينة في شروط حرارة و pH ملائمة للحياة.

II : النشاط الانزيمي وعلاقته ببنية الانزيم

1 - الإماهة الانزيمية للسكروز :



2 - إظهار النشاط الإنزيمي بالتجارب الاعتيادية :

• إظهار النشاط الإنزيمي في بذور القمح:



✓ لم تتلون المناطق القريبة من أنصاف البذور بالأزرق البنفسجي مما يدل على اختفاء النشاء . عمل الرشيم على إمهاء النشاء.

النتيجة: يفرز الرشيم إنزيم (الاميلاز) يعمل كوسيط حيوي على تبسيط النشاء .

فرضية: رشاحة القمح تحتوي على انزيمات قادرة على تفكيك النشاء إلى سكريات بسيطة ، ديكستريانات ثم الغلوكوز

ماء اليود

الوقت	1	2	3
3 min	أزرق بنفسجي = نشاء	أزرق بنفسجي = نشاء	أزرق بنفسجي = نشاء
6 min	أزرق بنفسجي = نشاء	أزرق بنفسجي = نشاء	أزرق بنفسجي = نشاء
9 min	أزرق بنفسجي = نشاء	بنفي = ديكستريانات	أزرق بنفسجي = نشاء
12 min	أزرق بنفسجي = نشاء	أصفر = غلوكوز	أزرق بنفسجي = نشاء
15 min	أزرق بنفسجي = نشاء	أصفر = غلوكوز	أزرق بنفسجي = نشاء

الاختبار بالماء اليودي

- أزرق بنفسجي = نشاء
- بنفي = ديكستريانات
- أصفر = غلوكوز

الاستنتاج

- ❖ **الأنبوب 2** : يبين التطور اللون باختبار ماء اليود ، تحول اللون الأزرق البنفسجي (وجود النشاء) إلى اللون البني (وجود الدكستريانات) ثم إلى الأصفر (وجود الغلوكوز) في 15 دقيقة .
- ❖ بالمقارنة مع الأنبوب الشاهد ، نثبت ان الرشاحة التي تمتلك القدرة عل تحليل النشاء (سكر معقد) إلى جزيئات بسيطة من سكر الغلوكوز .
- ❖ الرشاحة تحتوي على محفزات حيوية (انزيمات) التي تسرع من التفاعلات الكيميائية (إمهاء النشاء) .
- ❖ **الانبوب 3** : الانزيمات تفقد نشاطها في درجات حرارة مرتفعة.

III - كيف يمكن قياس النشاط التحفيزي

1 - قياس النشاط الإنزيمي بالتجارب المدعمة بالحاسوب.

أ - وصف التركيب التجريبي (ExAO) : مكونات التركيب التجريبي:

المفاعل الحيوي (bioreacteur) :

وهو الجزء الذي يتم فيه التفاعل ويتم فيه القياسات ويحتوي على وعاء لإجراء التفاعل توضع فيه المحاليل والمواد المتفاعلة والإنزيم. يزود الوعاء بمكان لحقن المواد المراد إضافتها للتفاعل مثل الإنزيم أو مواد التفاعل أو مواد تؤثر على التفاعل وغيرها. يكون الوعاء عادة محكم الغلق خاصة في التفاعلات التي يتم فيها قياس تركيز الغازات (الأكسجين أو ثاني أكسيد الكربون).

مسبار أو لاقط (sonde) capteur :

يمكنه الكشف عن مادة معينة في الوعاء وقياس تركيزها بصورة مستمرة. لذلك يختلف نوع اللاقط حسب نوع التفاعل المراد إجراءه ونوع المواد المتفاعلة أو الناتجة المراد قياسها. قد يستعمل لاقط آخر أو لاقطين أحدهما خاص بالحرارة والآخر خاص بدرجة pH وذلك لمتابعة تغيراتهما أثناء حدوث التفاعل.

وسائط Interfaces :

لربط اللاقط أو الواقط بالحاسوب

حاسوب مزود ببرنامج خاص logiciel:

يسمح بحساب وعرض النتائج على شاشة الحاسوب على شكل منحنيات

2- مزايا استعمال التجريب المدعم بالحاسوب EXAO في قياس نشاط الإنزيمات

- ❖ يسمح بالقياس السريع للمواد المتفاعلة أو النواتج بدقة.
- ❖ يسمح لنا بمتابعة سير التفاعل على شاشة الحاسوب بصورة لحظية (أنية). لا ننتظر إنتهاء التجربة للحصول على النتائج.
- ❖ يسمح لنا بمشاهدة تأثير إضافة مركبات أو تغيرات في شروط التفاعل مباشرة.
- ❖ يسمح بالحفاظ على النتائج في ذاكرة الحاسوب للرجوع إليها في أي وقت ومقارنتها مع النتائج الأخرى.
- ❖ كما يمكن إجراء رسم للمنحنى في نفس المعلم للتجربة السابقة لغرض المقارنة.

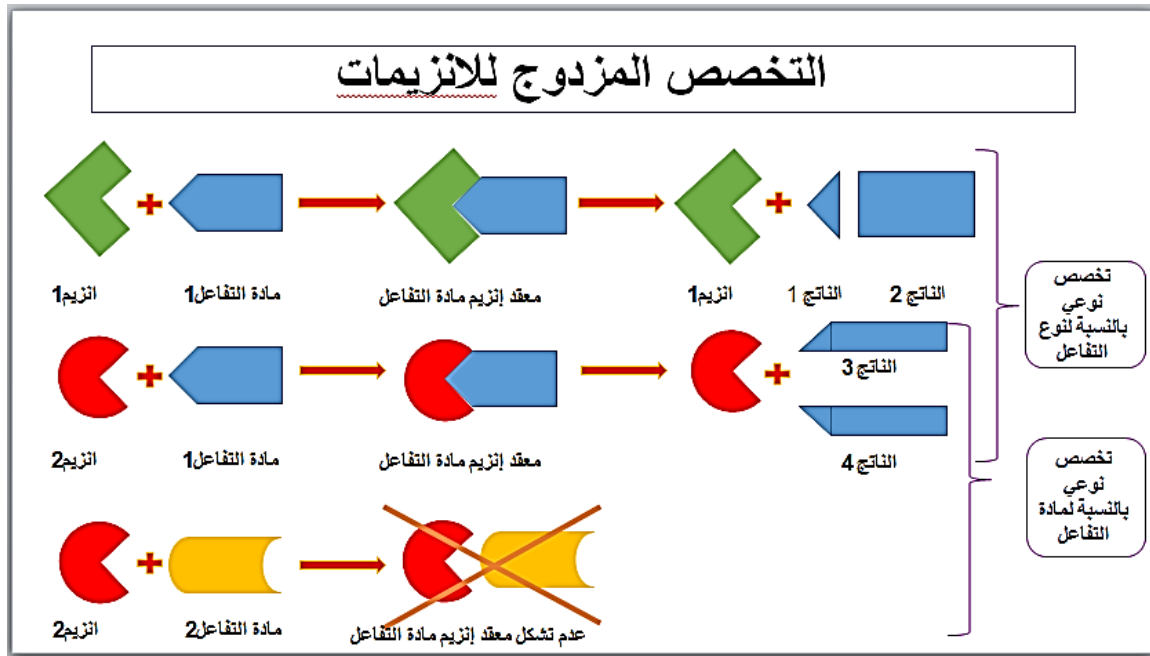
معلومات مفيدة

- ❖ يتميز التفاعل الكيميائي بحركيته (كمية المادة أو الناتج المتشكل خلال وحدة زمن).
- ❖ تسرع المحفزات الكيميائية والبيولوجية من التفاعلات الكيميائية و هي تؤثر بتركيز ضعيفة.
- ❖ يسمح تتبع تغيرات حركية التفاعل الكيميائي المحفز بيولوجيا والخاضعة لتأثير ثابت حيوي وغير حيوي باستخراج الخصائص الأساسية للمحفزات البيولوجية.
- ❖ الإنزيمات جزيئات قابلة للترشيح وهي تخرب بالحرارة مما يشير إلى أنها ذات طبيعة بروتينية.

حركية التفاعلات الإنزيمية : enzyme kinetics

- ❖ وهي دراسة سرعة التفاعل وتغيراتها مع الشروط التجريبية لإستنتاج العديد من خصائص الإنزيم وطريقة عمله.
- ❖ من أبسط طرق دراسة حركية الإنزيمات هو دراسة العلاقة بين سرعة التفاعل وتركيز مادة التفاعل :
✓ في التراكيز المنخفضة لمادة التفاعل S تكون هناك علاقة خطية بين V_0 و [S] (السرعة الابتدائية) وفي التراكيز العالية تقل الزيادة في V_0 تدريجيا إلى نقطة تتوقف فيها V_0 عن الزيادة رغم زيادة [S] وتسمى هذه بالسرعة القصوى V_{max} .

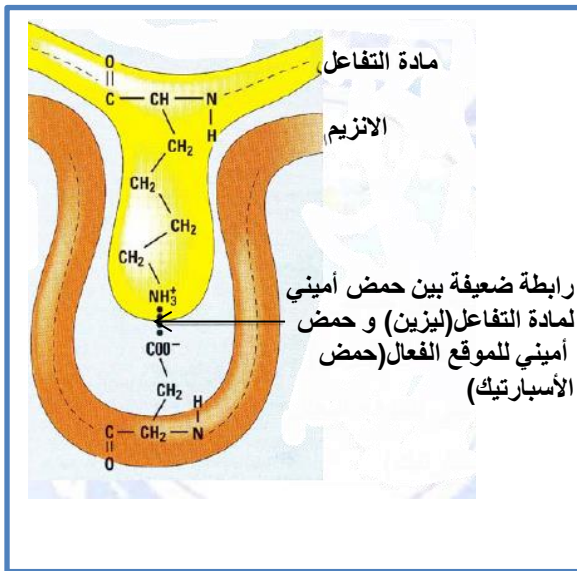
3 - التخصص المزدوج للإنزيم:



يمتلك الإنزيم تخصص وظيفي مزدوج:

- ❖ تخصص نوعي بالنسبة للتفاعل الكيميائي
- ❖ تخصص نوعي بالنسبة لمادة التفاعل.

1 - تشكل معقد "انزيم - مادة التفاعل"



يرتكز التخصص الوظيفي للإنزيم على تشكل معقد أنزيم مادة التفاعل، ينشأ أثناء حدوثه رابطة انتقالية بين جزء من مادة التفاعل ومنطقة خاصة من الأنزيم تدعى الموقع الفعال.

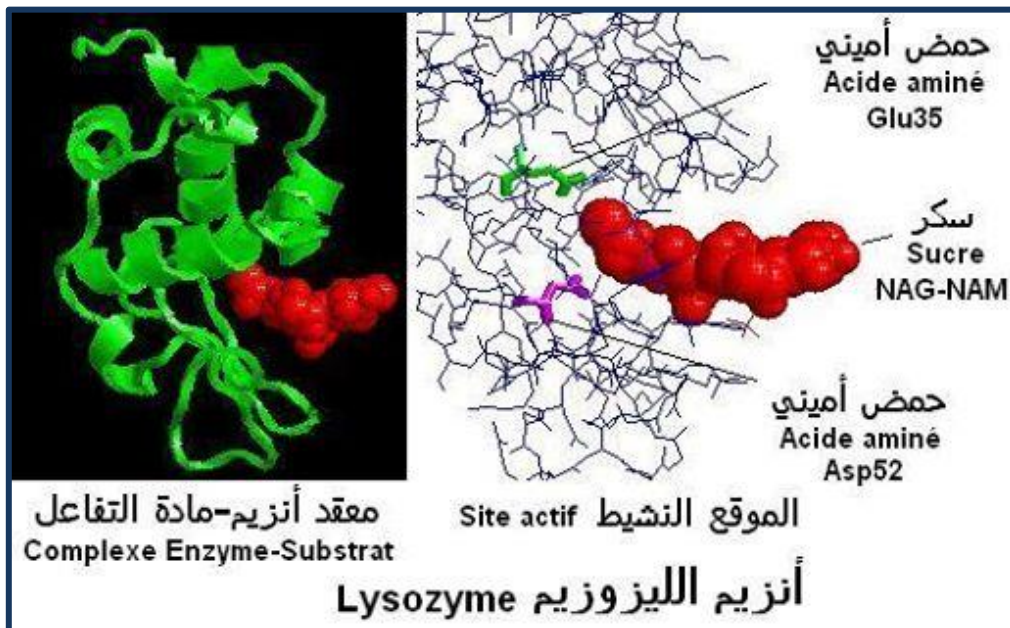
أ - الموقع الفعال :

- ❖ جزء من الإنزيم له القدرة على التعرف النوعي لمادة التفاعل و تحويلها.
- ❖ أو هو عبارة عن جزء محدد من بنية الإنزيم يجعل هذه البنية ثلاثية الأبعاد مكتملة لبنية جزء محدد من مادة التفاعل.
- ❖ أو هو منطقة صغيرة من الإنزيم تحتوي على الأحماض الأمينية التي تساهم في الارتباط بمادة التفاعل وفي حدوث التفاعل.
- ❖ قد يكون الموقع الفعال عبارة عن جيب أو تجويف في جسم الإنزيم.

مميزات الموقع الفعال للإنزيم :

ويمتاز الموقع الفعال للإنزيم بمايلي:

- ✓ يأخذ حيز صغير من الإنزيم، أي أن أغلب الأحماض الأمينية لا تشارك في التفاعل مباشرة.
- ✓ يأخذ شكل ثلاثي الأبعاد وقد يتكون من أحماض أمينية بعيدة عن بعضها في التسلسل. فإنزيم الليزوزيم مثلا يتكون موقعه النشط من الأحماض الأمينية 35 ، 52 ، 62 ، 63 ، 101 ، 107.
- ✓ تكون الروابط بين مادة التفاعل والإنزيم في الموقع الفعال ضعيفة يسهل تكسيرها.



- ✓ تكون الروابط بين مادة التفاعل والإنزيم في الموقع الفعال ضعيفة يسهل تكسيرها.

هل يمكن للإنزيم أن يحتوي عدة مواقع فعالة؟

- ❖ نعم قد يحتوي الإنزيم على أكثر من موقع فعال واحد إذا كان ذو بنية رابعة (مكون من أكثر من سلسلة ببتيدية واحدة). لكن عدد المواقع لا يجب أن يساوي عدد السلاسل الببتيدية.
- ❖ بعض التفاعلات تتطلب مادتي تفاعل أو أكثر. هل يكون لكل مادة تفاعل موقع فعال خاص بها؟
- ❖ في هذه الحالة يكون الموقع واحدا لكنه مقسم إلى جزئين كل منهما خاص بمادة محددة.
- ❖ يحدد شكل الموقع في هذه الحالة ترتيب ارتباط المادتين: عشوائي أو بالتتابع

أمثلة عن إنزيمات بمادتي تفاعل (إنزيم Glucokinase)**أمثلة عن إنزيمات بأكثر من مادتي تفاعل (aminoacyl tRNA synthetase)****كيف يتم تحديد الموقع الفعال؟**

- ✓ إذا كان الإنزيم يحتوي على ذرات معدنية في الموقع الفعال، يكون الموقع الفعال في مكان وجود الذرات المعدنية.
- ✓ إذا كان الإنزيم يحتوي على مرافق الإنزيم، يمكن مقارنة بنية الإنزيم قبل وبعد ارتباط مادة التفاعل أو مثبط تنافسي.

التكامل بين الموقع الفعال ومادة التفاعل

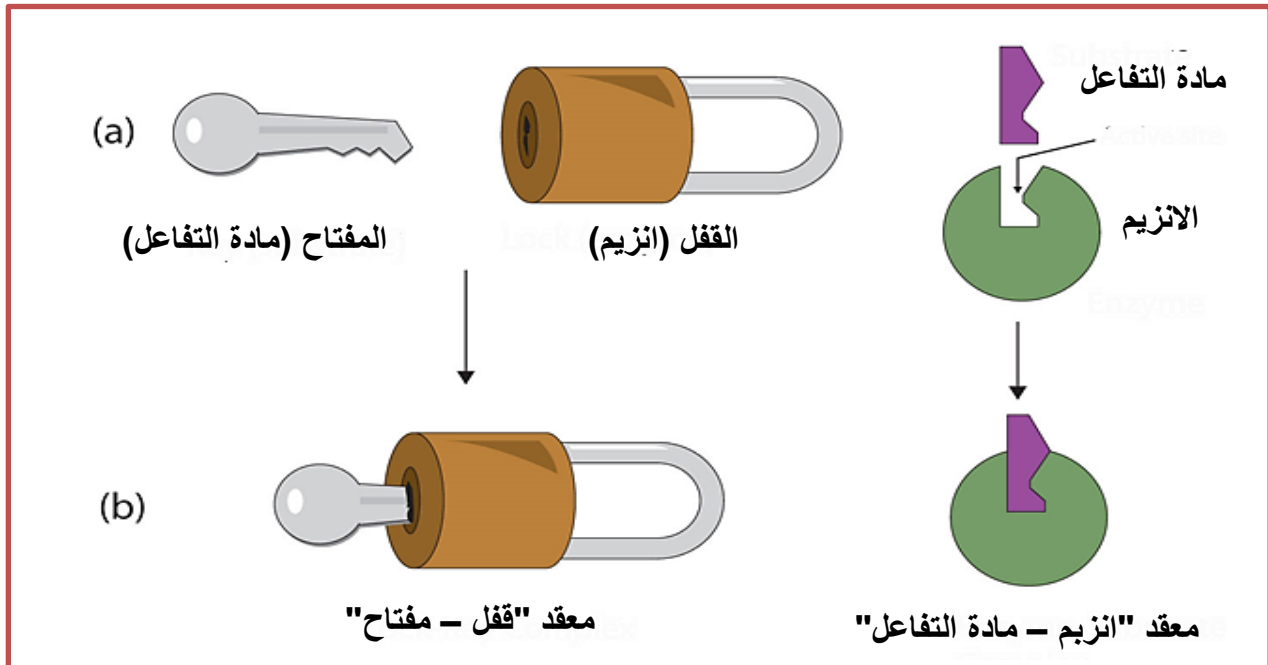
يتم التكامل بطريقتين:

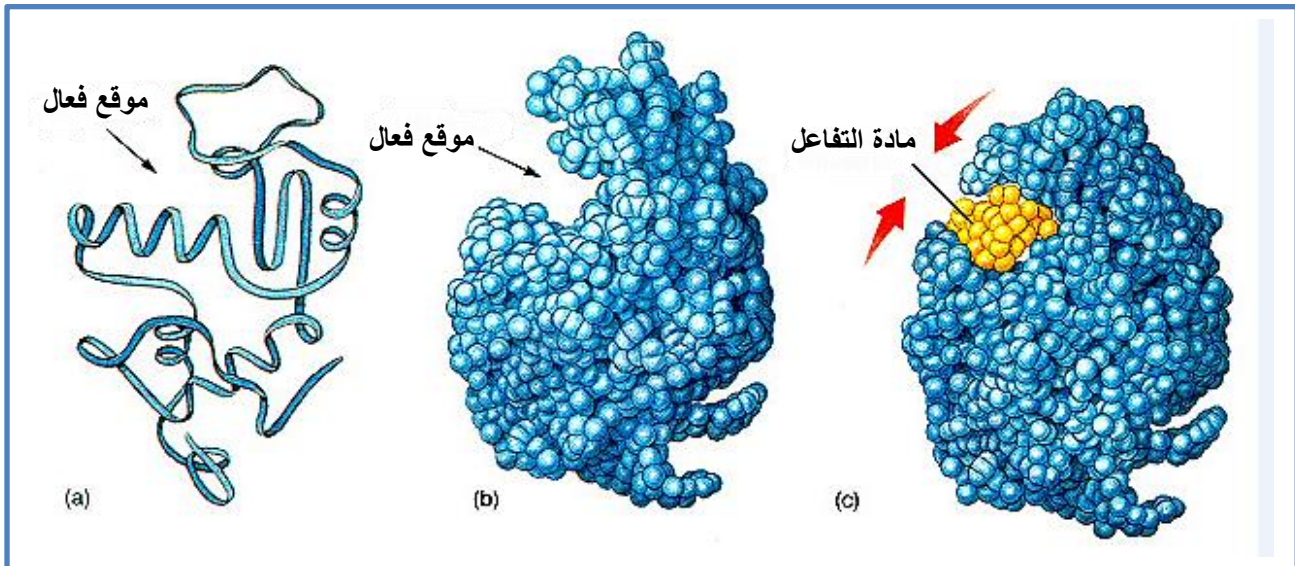
القفل والمفتاح (Clé serrure) (Lock and Key)

التوافق (التكامل) المحفز Adaptation induite

الحالة الأولى: القفل والمفتاح:

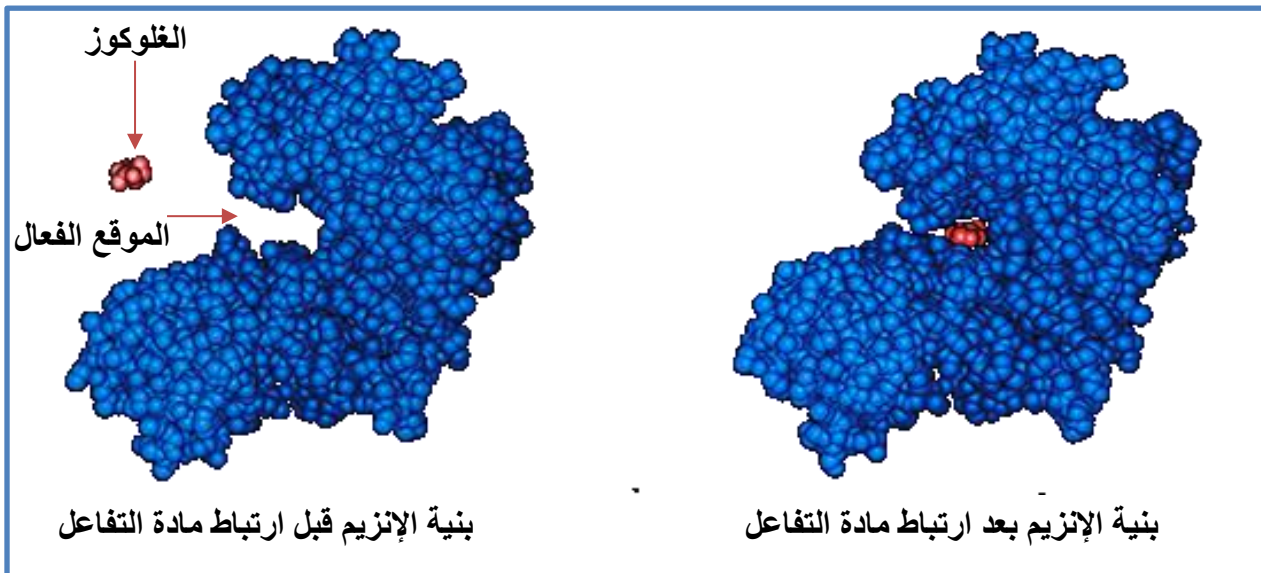
- ❖ في هذه الحالة يكون شكل الموقع الفعال مكملا تماما لشكل مادة التفاعل قبل، أثناء وبعد انتهاء التفاعل. في بعض الإنزيمات يكون هذا التكامل موجودا في وجود وفي غياب مادة التفاعل. ومثال ذلك إنزيم الليزوزيم.





الحالة الثانية: التوافق (التكامل) المحفز

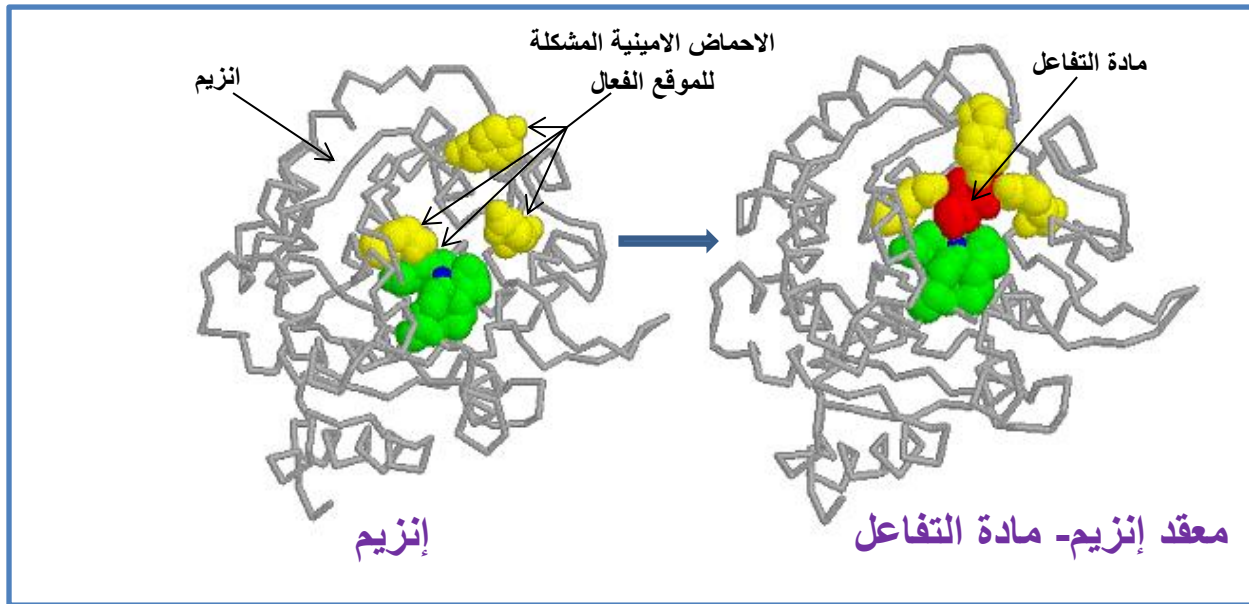
- ✓ بينما يتم التكامل في بعض الإنزيمات فقط عند إقتراب مادة التفاعل التي تحفز الإنزيم لتغيير شكله الفراغي فيصبح مكملاً لشكل مادة التفاعل : انه التكامل المحفز.
- ✓ ومثال ذلك إنزيم كربوكسي بيتيداز Carboxypeptidase A وإنزيم hexokinase



إن تغيير شكل الأنزيم يسمح بحدوث التفاعل لأن المجموعات الكيميائية الضرورية لحدوثه تصبح في الموقع المناسب للتأثير على مادة التفاعل.

كيف يتغير الموقع الفعال في حالة التكامل المحفز؟

- ❖ يمكن أن ينغلق الإنزيم على المادة بعد ارتباط مادة التفاعل.



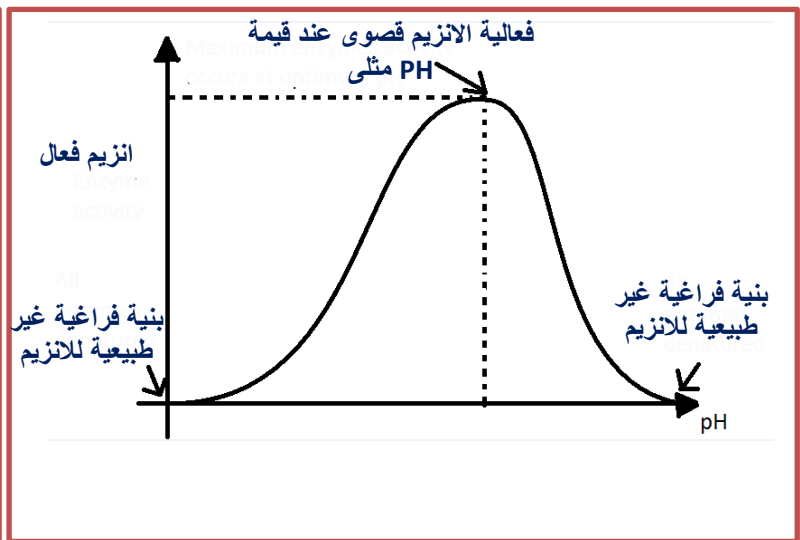
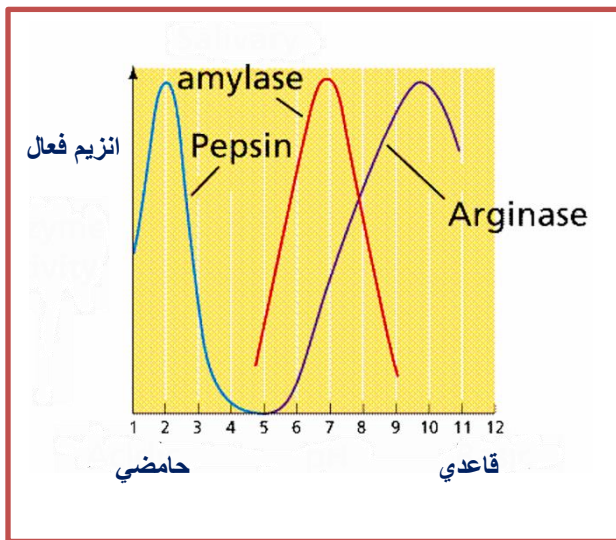
- ❖ هناك علاقة بين البنية ثلاثية الأبعاد للإنزيم و تخصصه الوظيفي:
- ✚ تتوقف البنية ثلاثية الأبعاد للإنزيم على تموضع فراغي محدد لأحماض أمينية معينة. تسمح هذه البنية بتجمع أحماض أمينية موجودة في أماكن مختلفة من السلسلة لتشكيل موقع له خصائص هندسية تكمل بنية الجزء الموافق من مادة التفاعل.

الإنزيمات من طبيعة بروتينية ، فكيف تؤثر كل من الحرارة و pH على السرعة الابتدائية للتفاعلات المحفزة إنزيميا ؟

كيف يؤثر pH الوسط على السرعة الابتدائية (الحركية الانزيمية) للتفاعل المحفز إنزيميا ؟

1 - دراسة تأثير تغيرات درجة pH الوسط على نشاط الإنزيم :

- ❖ يتأثر نشاط الإنزيم بتغير pH لأن ذلك يؤثر على الروابط المحافظة على استقرار البنية الفراغية للإنزيم خاصة منها الروابط الشاردية وحتى الهيدروجينية.
 - ❖ كما قد تؤثر درجة pH على الشحنة في الموقع الفعال مما يؤثر على التكامل بين الإنزيم ومادة التفاعل وبالتالي على الوظيفة.
 - ❖ أي أن التأثير قد يكون بصورة غير مباشرة على الوظيفة من خلال التأثير على البنية الفراغية أو قد يكون بصورة مباشرة
- بحيث:
- ❖ في الوسط الحمضي تصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية موجبة.
 - ❖ في الوسط القاعدي تصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية سالبة.
- ✚ يفقد الموقع الفعال شكله المميز، بتغير حالته الأيونية وهذا يعيق تثبيت مادة التفاعل وبالتالي يمنع حدوث التفاعل.
- ✚ لكل أنزيم درجة حموضة مثلى، يكون نشاطه عندها أعظما.



2 - تأثير درجة الحرارة:

يتم النشاط الأنزيمي ضمن مجال محدد من درجة الحرارة بحيث:

في درجات الحرارة المنخفضة :

لا تؤدي الحرارة المنخفضة إلى تكسير روابط تحافظ على استقرار البنية الفراغية لذلك لا تتأثر البنية الفراغية للإنزيم والبروتين عند الحرارة المنخفضة.

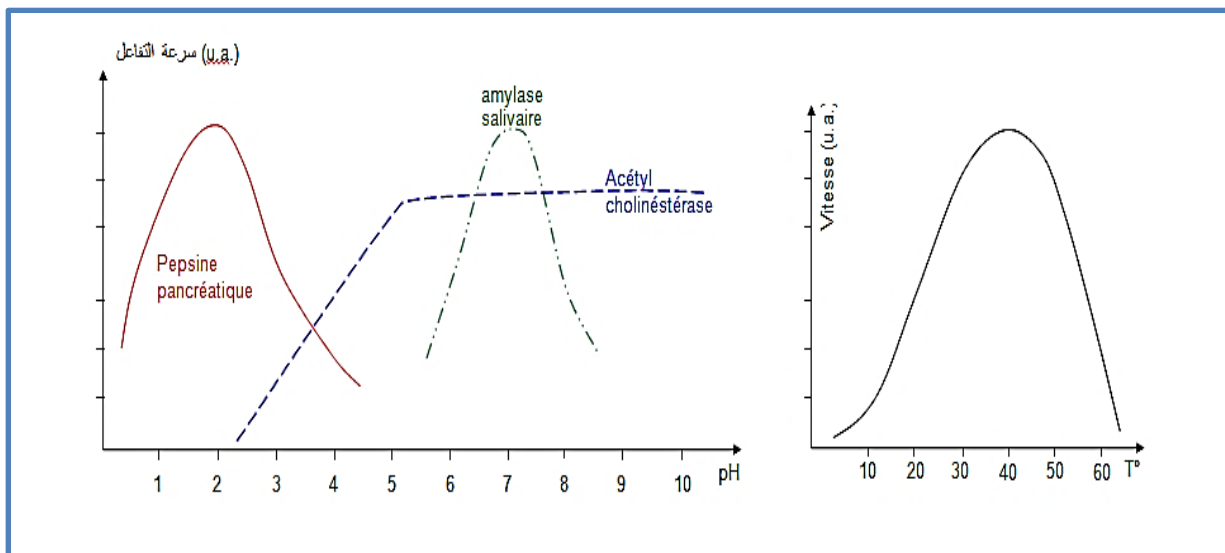
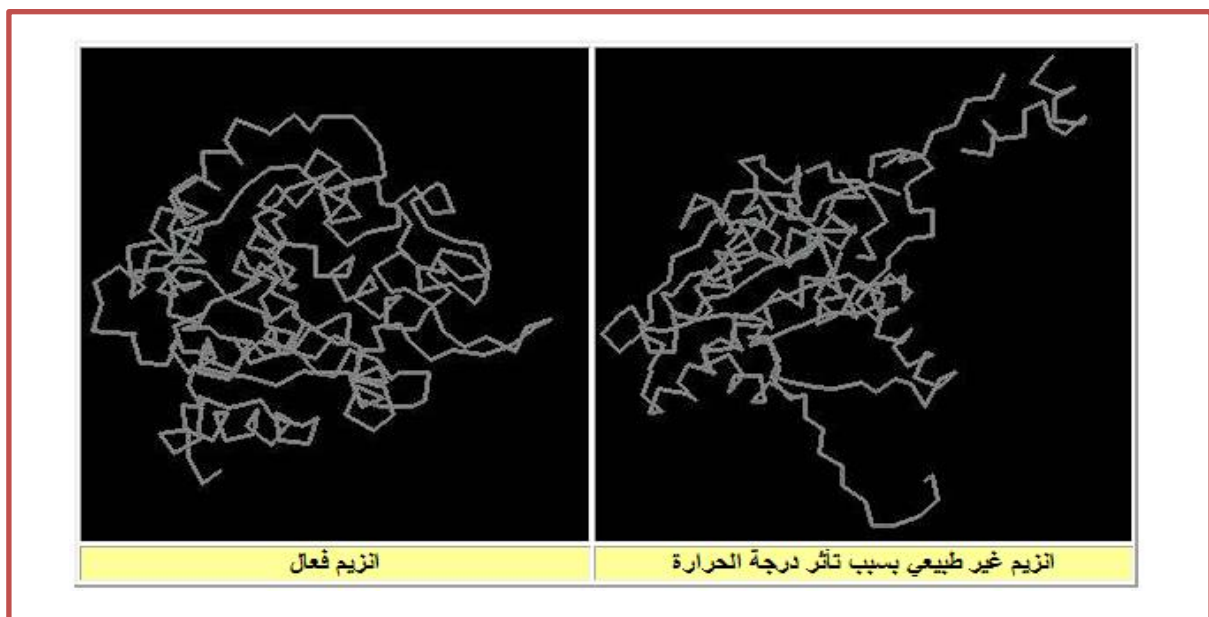
تقل حركة الجزيئات بشكل كبير، ويصبح الأنزيم غير نشط.

الحرارة المنخفضة تؤثر كذلك على سرعة التفاعلات الكيميائية التي تزداد في الحرارة المرتفعة.

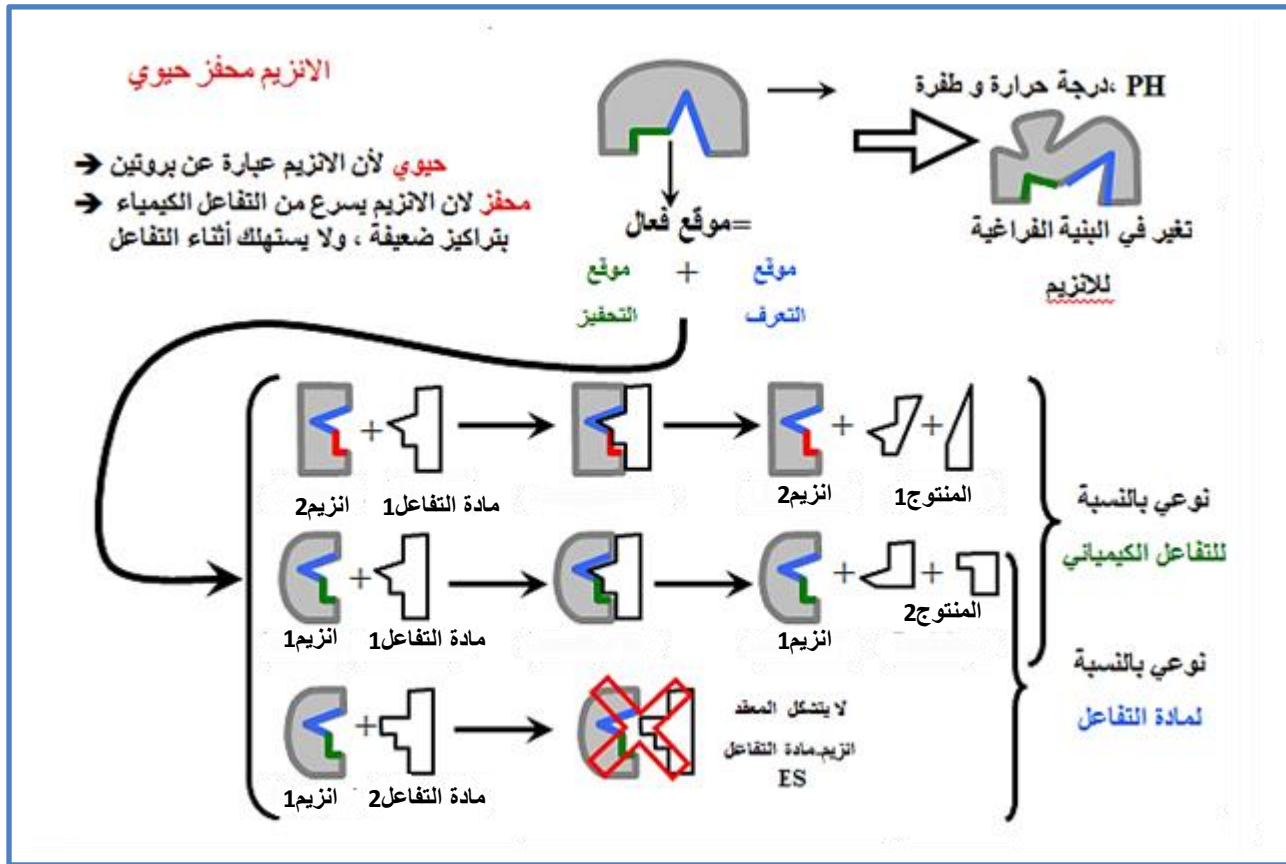
في درجات الحرارة المرتفعة (أكبر من 40م⁰) : تتخرب البروتينات نظرا لتكسير روابط تحافظ على البنية الفراغية للبروتين ومن أهمها الروابط الهيدروجينية التي تتأثر بالحرارة، و تفقد نهائيا بنيتها الفراغية المميزة وبالتالي تفقد وظيفة التحفيز.

هناك روابط أقل تأثرا بالحرارة مثل الروابط الشاردية.

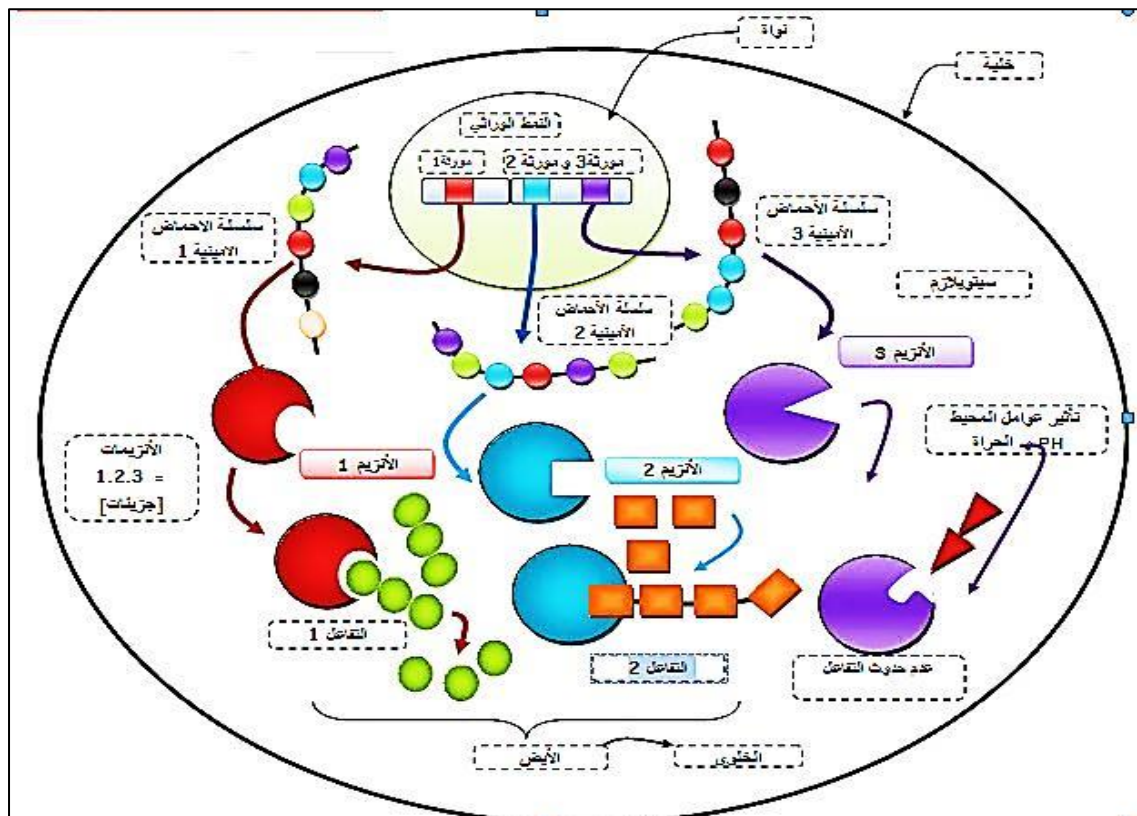
✓ يبلغ التفاعل الأنزيمي سرعة أعظمية عند درجة حرارة مثلى، هي درجة حرارة الوسط الخلوي (37م⁰) عند الانسان



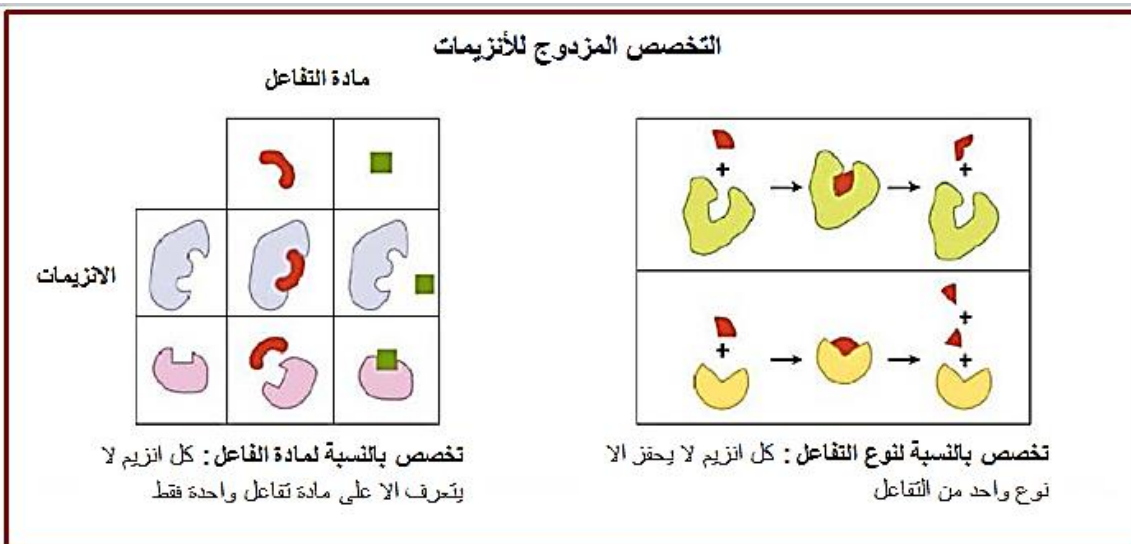
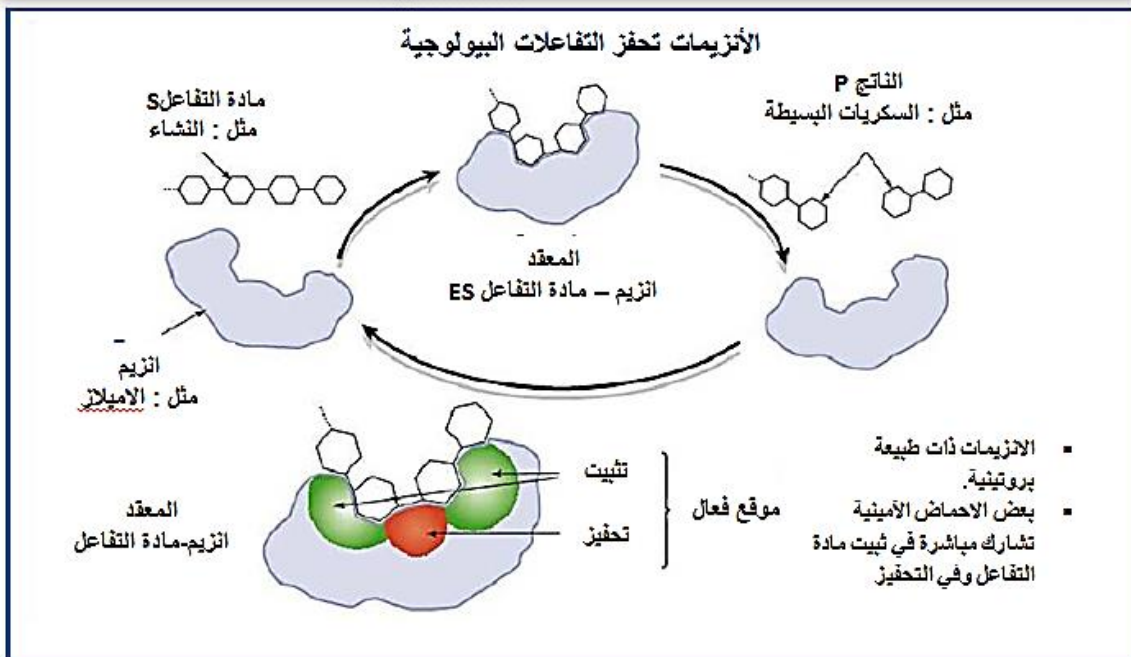
رسم 1 تخطيطي تحصيلي للوحدة 3



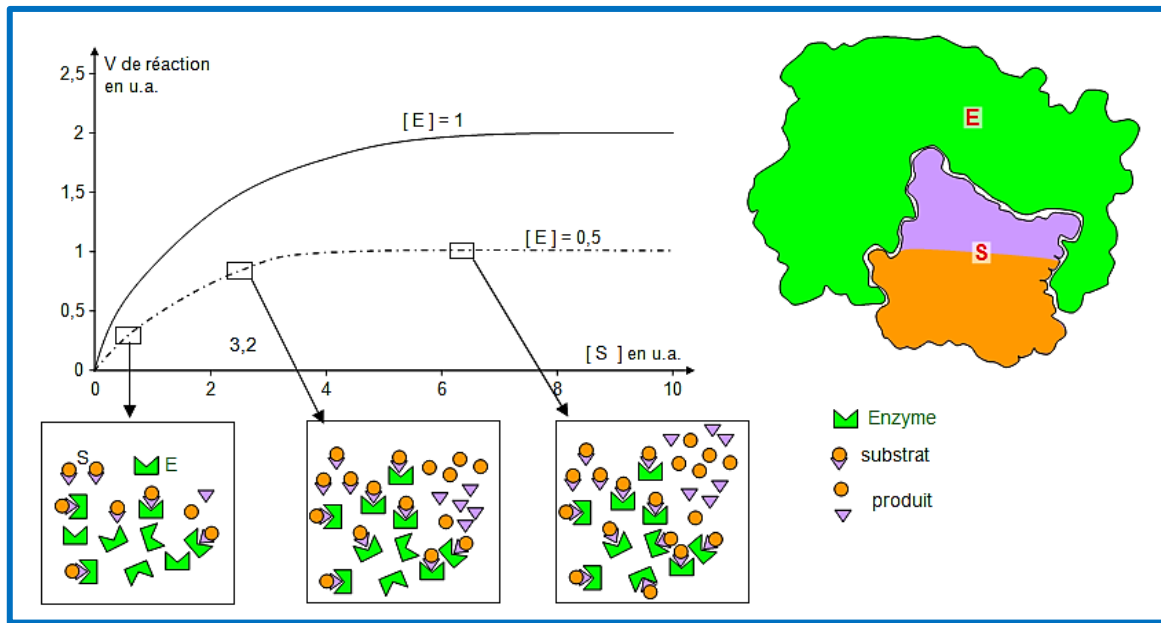
الانزيمات ، النمط الوراثي ، النمط الظاهري والمحيط



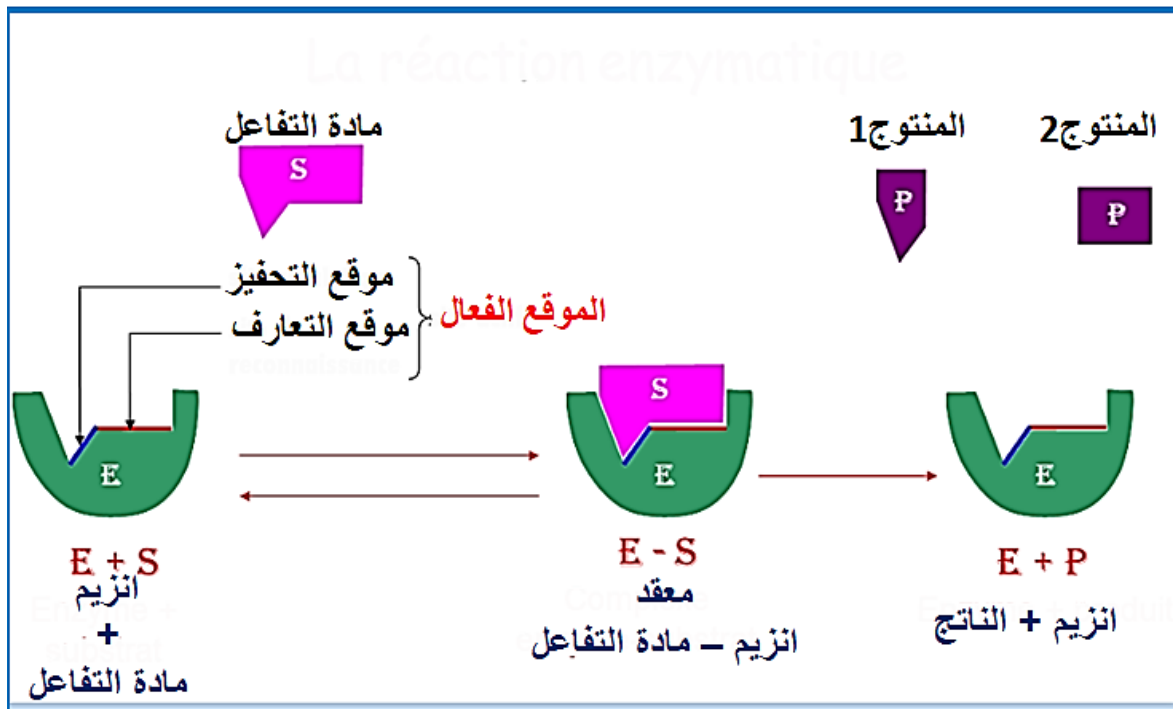
رسم 2 تخطيطي تحصيلي للوحدة 3



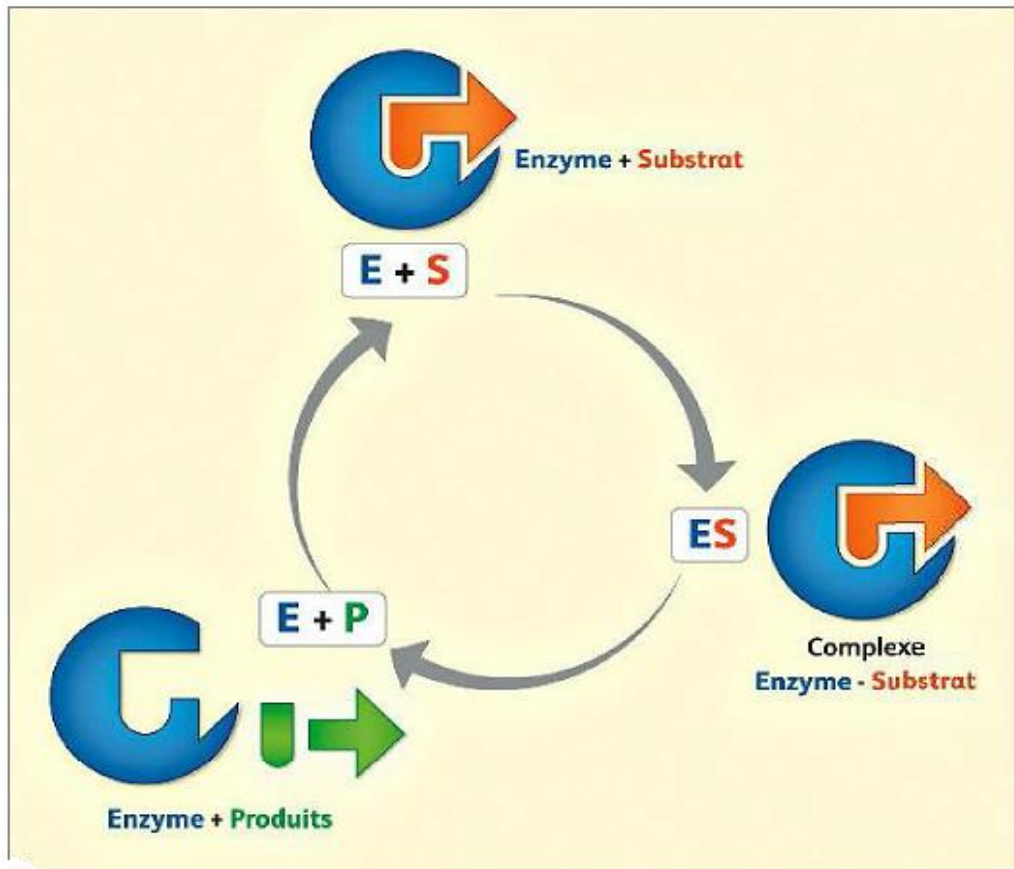
الانزيم : علاقة سرعة التفاعل الانزيمي بتركيز مادة التفاعل عند تركيزين مختلفين للانزيم



التفاعل الانزيمي



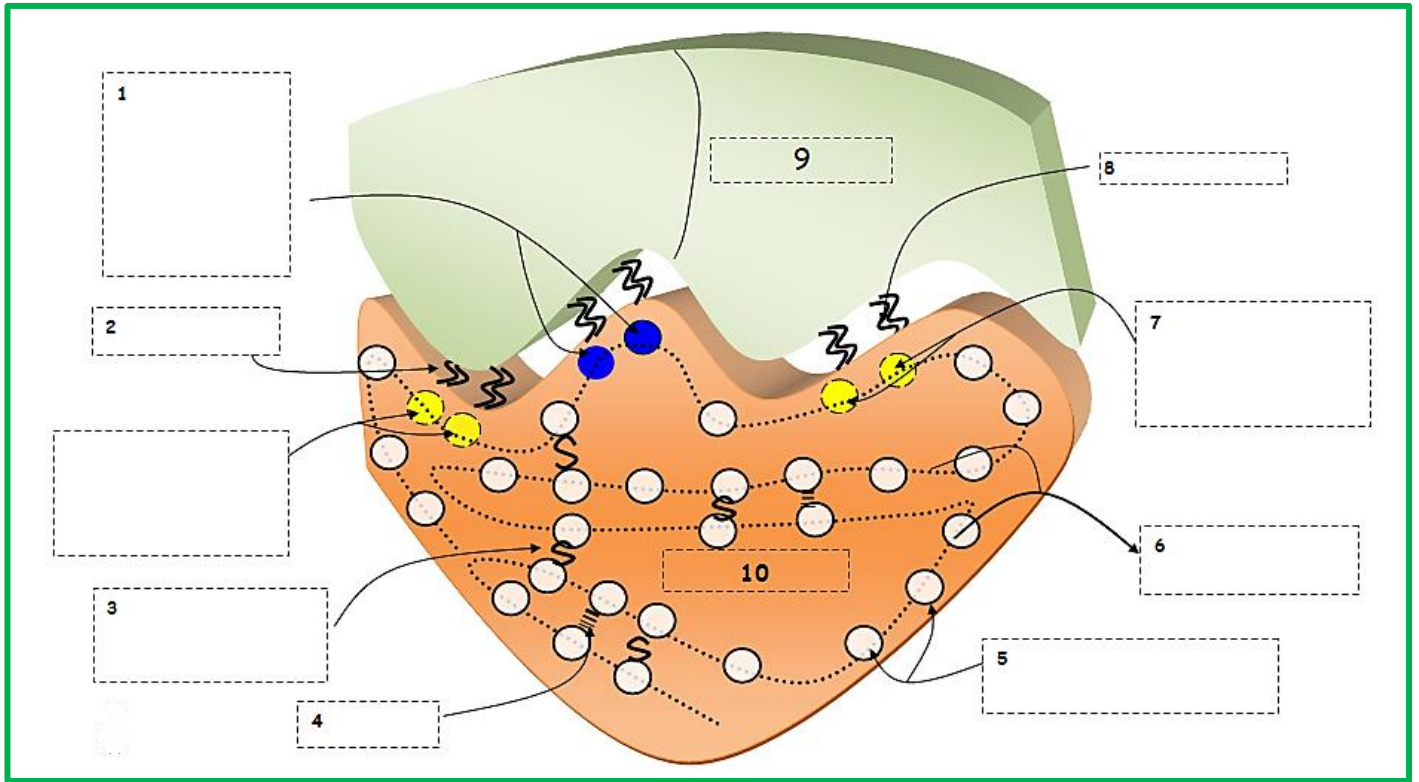
مخطط تحصيلي خاص بالوحدة 3



Modélisation d'une catalyse enzymatique.

LE SCHÉMA BILAN

تطبيق



- 1 - ضع عنوان مناسب للوثيقة ، ثم تعرف على البيانات المرقمة من 1 إلى 9.
- 2 - قدم تعليقا مفصلا على البنية الممثلة في الوثيقة