Lec.6

أ.د/ صلاح مصطفي

كيمياء الانزيمات وتحميلها

المستوي الثالث شعبه بيوتكنولوجي

سابعا: تأثير المثبطات Effect of inhibitors

يقصد بالمثبطات : المركبات التى تقلل النشاط الإنزيمى - ومثبطات الإنزيمات قد تكون عكسية reversible أو غير عكسية Irreversible والمثبطات العكسية هى التى يستعيد الانزيم نشاطه بزوالها (لعملية الـ Dialysis مثلا) وفيها يصل النظام بسرعة إلى حالة إتزان وتتوقف درجة التثبيط على تركيز المثبط حيث أنه فى هذه الحالة يرتبط المثبط مع الإنزيم ويتكون معقد قابل للتحلل ($E + I \rightarrow EI$) أما فى حالة المثبطات الغير عكسية فإن الإنزيم يتحد مع المثبط ويعطى مركب غير متحلل ($E + I \rightarrow EI$) ويكون التثبيط العكسى متزايدا ويصبح التثبيط كاملا فى النهاية . ويمكن للمثبط أن يتحد مع الإنزيم بأحد الطرق الأربعة التالية :

١ - **Isosteric** : يتحد كل من المثبط والمادة المتفعالة بنفس المكان على الإنزيم وحيث أن الإنزيم فى أى لحظة يكون متحدا إما بجزئ المادة المتفاعلة أو بجزئ المثبط فقط فإن جزيئات المادة المتفاعلة تتنافس مع جزيئات المثبط على مكان الإتحاد وتحصل على تثبيط يطلق عليه تثبيط متنافس Competitive inhibition .

٢ - **التثبيط المتراكب أو المتداخل : Overlap inhibition** : وفيه توجد نقطة أو أكثر من نقاط إتحاد الإنزيم متماثلة لكل من المادة المتفاعلة والمثبط وتحصل أيضا فى هذه الحالة على تثبيط بالتنافس .

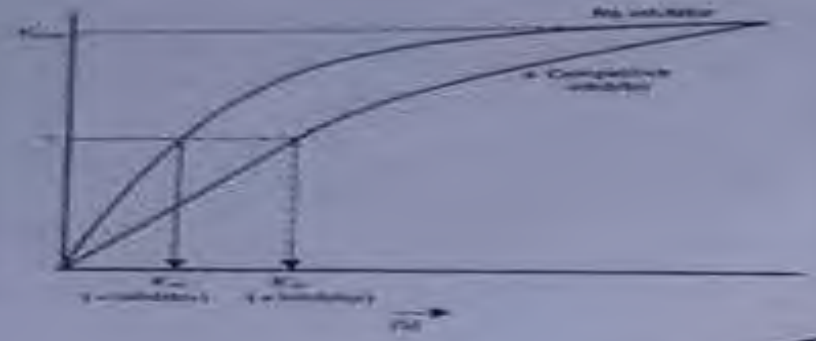
٣ - **تثبيط غير متراكب : non - overlap inhibition** : وفيه المثبط يؤثر على السرعة عن طريق إحداث تغير فى التركيب التكوينى .

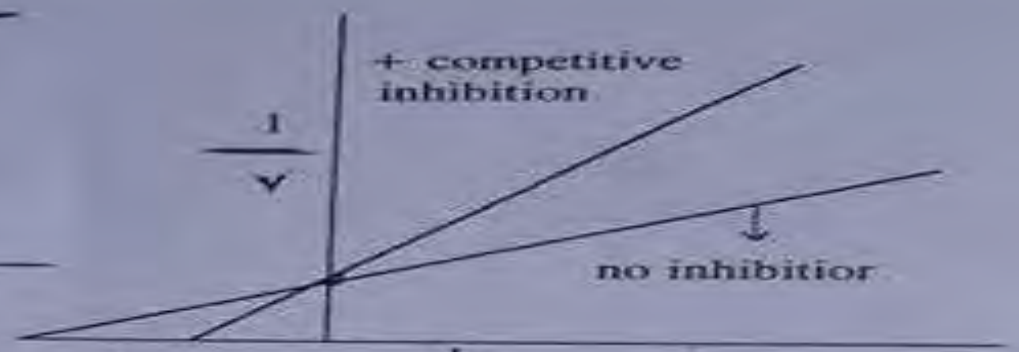
٤ - **تثبيط غير وضعى : Allo-steric inhibition** : يتحد المثبط بمكان اخر غير مكان إتحاد الإنزيم بالمادة المتفاعلة ولكن بإتحاده بالإنزيم قد يحدث نوع من التثبيط .

وبناء على ما تقدم يمكن تقسيم المثبطات إلى الأقسام التالية:

١ – التثبيط بالتنافس : Competitive inhibition : يطلق إصطلاح التثبيط المتنافس على الحالات التى يكون فيها المادة المثبطة مشابهه فى التركيب للمادة المتفاعلة وتتنافس معها على المركز النشط للإنزيم مما يودى إلى زيادة تركيز المادة المتفاعلة اللازم للحصول على نصف سرعة السرعة القصوى للإنزيم أى لزيادة قيمة ثابت ميكاليس K_m وفى وجود تركيز ثابت من المثبط يودى زيادة تركيز المادة المتفاعلة إلى تقليل أثر المثبط بحيث تكون السرعة القصوى ثابتة فى وجود أو غياب المثبط بالتنافس . ومن الأمثلة الشائعة فى هذا النوع هو تثبيط إنزيم سكسنيك ديهيدروجينيز Succinic dehydrogenase بواسطة حامض المالونك حيث لا يمكن للإنزيم التمييز بين هاتين المادتين

ويطلق على النوع السابق شرحه التثبيط بالتنافس الكامل Fully competitive inhibition وذلك بالمقارنة بالتثبيط بالتنافس الجزئى Partially competative inhibition وفى النوع الثانى يتحد المثبط بمكان أخر على الإنزيم بخلاف مركز النشاط ولكنه قريب منه بما يكفى للتأثير على جاذبية الإنزيم للمادة المتفاعلة . ويلاحظ فى هذا النوع من التثبيط أن مقدار K_m تتأثر بينما لا تتأثر السرعة القصوى للتفاعل الإنزيمى V_{max} ويمكن توضيح ذلك بالرسومات التالية :

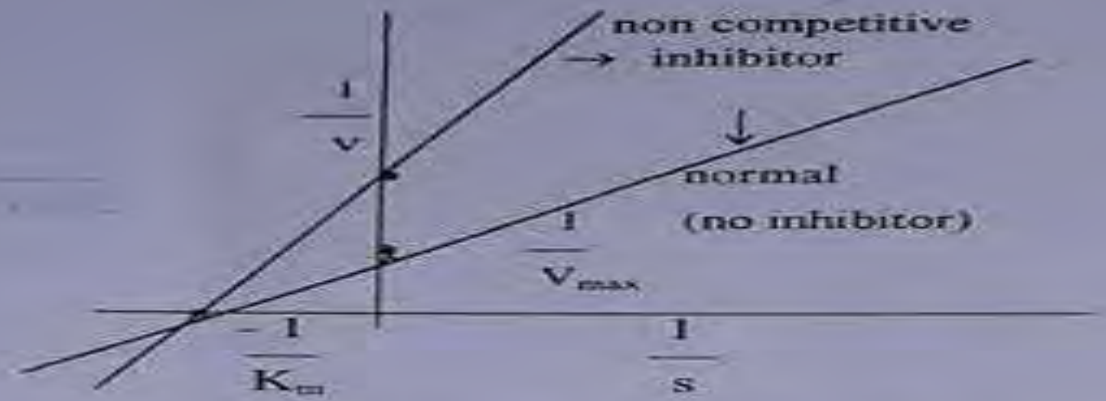




Lineweaver Burk
منحنى للتثبيط المتنافس

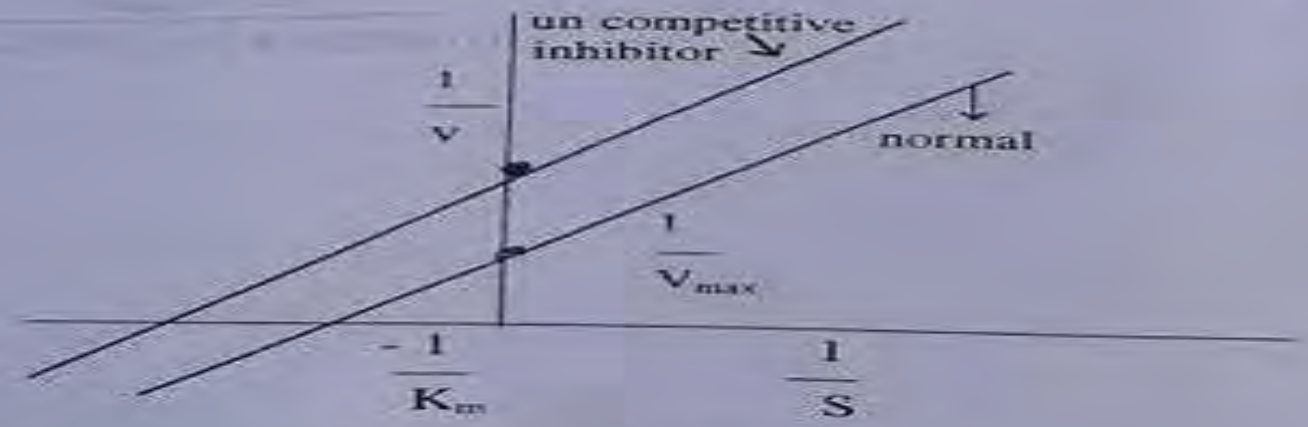
٢ – التثبيط الغير متنافس : non competative inhibition

يطلق هذا الإصطلاح على الحالات التى لا يؤثر فيها المثبط على قيمة ثابت ميكاليس K_m ولكن يؤثر على السرعة القصوى V_{max} وفى أبسط الحالات لهذا النوع من التثبيط هو تكوين معقد الإنزيم والمثبط والمادة المتفاعلة (E - S - I) ولا يتحلل هذا المركب ويكون التثبيط هنا راجعا إلى خفض التركيز الفعال للإنزيم ومثال هذا النوع هو تثبيط إنويم الأرجينيز Arginase بواسطة الأحماض الأمينية الأحادية الأمين وكذلك فى كثير من الأحيان يكون التثبيط بأيونات المعادن من هذا النوع . والشكل الآتى يوضح تأثير المثبط الغير متنافس على قيم V_{max} ، K_m



Lineweaver and Burk plots
منحنى للتثبيط الغير متنافس

Uncompetative inhibition: وفى هذه الحالة تتغير قيمة كل من V_{max} ، K_m والمنحنى الذى نحصل عليه هو منحنى خطى موازى للمنحنى الطبيعى (فى حالة Lineweaver Burk) ويلاحظ من المنحنى أن قيمة K_m تزداد وقيمة V تقل عن القيم الأصلية .



Uncompetative التثبيط

المعاونات الأنزيمية Coenzymes

الأنزيمات تتكون فقط من بيتيدات عديدة ولاتحتوى على مجاميع كيمائية اخري بخلاف الأحماض الأمنية فقط . مثال ذلك أنزيم الـ pancreatic ribonuc lei< بينما الأنزيمات الأخرى تحتاج فى نشاطها لوجود مركبات كيميائية أضافية تسمى Cocatalyst وهذه الـ Cocat. ممكن تتكون عبارة من أيونات غير عضوية مثل Fe^{+2}, Mn^{+2}, Zn^{+2} , وفى هذه الحالة فانها تسمى cofactors وهى مرتبطة بالأنزيم أو أن الـ ocat. ن عبارة من جزيئات عضوية معقدة تسمى Coenzymes وهى مرتبطة مع انزيم بجانب أرتباطها مع Substrate .

معظم الأنزيمات تحتاج لكلا من الـ Coenz. وواحد أو اكثر من الأيونات كـ Cofa مرتبط وذلك للنشاط . كما أن فى بعض الحالات يكون الـ Cocat. كجزء من Active site للأنزيم وتسمى فى هذه الحالة Prosthetic gr .

holoenzyme يطلق لفظ أحيانا على Coenz. + Cofactor .

يطلق لفظ عام (معاون مساعد Cocatalyst) على كلا من Cofactor + Coenzy. + Prosthetic g.

Cofact., Coenz. ← يعتبروا ثابتين للحرارة Stable حيث الجزء البروتينى من الأنزيم والمسمى apoenz. هو الذى يحدث له خثر .

المجموعة الفعالة: Prosthetic group:

اذا كانت الـ Cocatal. الموجودة مرتبطة بشدة أو تعتبر جزء أساسى من الأنزيم active site للأنزيم . فانة من الممكن أن يحدث فك لربط هذه المجموعة الفعالة من الـ active site , وعند فك يحدث Prosthetic group + inactive Enz. كمايلى:

$$E + Cocatalyst \rightleftharpoons E\text{-}Cocat. + S \rightleftharpoons X \rightleftharpoons E\text{-}Cocat. + P$$

جزء من الأنزيم

$$E - Cocat. + P \rightleftharpoons E + Cocat. + p$$

inactive p. group form

ب - العوامل المساعدة Cofactors:

واذا كانت الـ Cocatalyst الموجودة مرتبطـــــــة مع active site للأنزيم ويتحلل منه بسهولة

∴ اذا الأنزيم عند تحليله يعطي inactive Enz. والـ Cocat.
↓
يرتبط مع أنزيم آخر (تخليق نفسه)

والـ Cofact. تنقل مجموعات غير H ويحدث لها تغيير نتيجة لعمليات النقل .

$$B + Cofac. \rightleftharpoons E.\ Cofac. + S \rightleftharpoons x \ldots\ldots \rightleftharpoons EC + P$$
$$EC \rightleftharpoons E + C$$

مثال TPP , pyrodoxal-P

ج - المعاونات الأنزيمية Coenzymes:

الـ Coenz. المرتبطة مع الـ Substrate تستطيع الأرتباط مع Enz.

$$E\text{-}Coenz1 + Coenz2 - S \rightleftharpoons E.\ Coenz1 - S + Coenz2$$

وعندما يرتبط الـ Cocatalyst الموجود مع الـ Subs. في مركـــــب كيميائي جديد فلي هذه الحالة فان واحد مكافـــــئ Cocatalysts يتحول الى new product (C*) . أي يحدث له استهلاك داخـــل الجزئ . وتحفز كمية جديدة منه من طريق otherenz. eyat.

والمثال هنا هو CoA

$$E_1 + S_1 + C \rightleftharpoons E_1\ [C^* + P_1 \rightleftharpoons E_1 + P_2 + C$$
$$\text{or}$$
$$C - P_1$$

وبناء على ماسبق فان الـ Coenz. ـــــــــ يمكن استخدامـــه كـ donor أو acceptor ولذلك فهو أما يستهلك جزء منه أو يضاف اليه . والنشاط يقل بشدة عند فصله من الأنزيم

كما أن بصورة عامة . فان كلا من prosthetic group, Cofactor, Coenzyme يستخدموا لوصف نوع الوظيفة للأنزيم .

Cofactor or Coenz.

لو أرتبط مع الأنزيم كجزء من الـ Active site فانها تسمى فـــى هذه الحال prosthetic group

مثال ذلك — B - Vit ، Biotin

آذا مما سبق يمكن استنتاج أن الـ Coenz. بصفة عامة عبارة عن جزء مهم من التفاعل الأنزيمى ، وأحيانا يرتبط ببعض الخطوات الوسطية للتفاعل الأنزيمى .

والصورة التى يمكن أن يشتغل عليها (mode of action) للـ Cocatalyst عامة كمايلى:

توجد ثمانية طرق لكيفية عملها أو الميكانيكية mechonaim .

(أ) كحامل as Carrier داخل الجزئ (بين جزئيين مختلفين) .
(ب) مجموعة فعالة as prosthetic G. على نفس الجزئ (كجـــزء من الـــ Active site) .
(ج) تغيير شكل جزئى البروتين بحيث يصبح الأنزيم مهيئ فراغيـــا لاداء عمله active confugoration .
(د) تجميع للـ subunits (by agreegation) مثال Cu++ Metals
(هـ) تثبت الأنزيم as stabelizer to Enz. .
(و) يعمل كهيكل للأنزيم as templates for enzyme synthesis .
(ز) تعمل كبادئ لسلسلة الأنزيم as primary for enz - chain .
(ك) كمركبات وسطية as intetmediate .

المعاونات الأنزيمية Coenzymes:

عديد من الأنزيمات التى تساعد فى التفاعلات الكيميائية تحتاج لجزئيات بروتينية غير بروتينية تسمى Coenzymes — وعند وجود الأنزيـــم والـــ Coenz هـــا ——→ فان عملية التفاعل أو مساعدته سوف تتم — وحيـــث أن الـ coenz يكون مطلوب ، فان النظام الكامل أو holoenz. (ممكـــن holoenz بالأضافة كل من cofactor و (coenz. تتكون من جزء بروتين أو apoenz. لى الجزء الثابت للحرارة الغير بروتينى والمحلل وهو coenz. الـــذى رتبط مع جزء البروتين الـ apo-nz. .