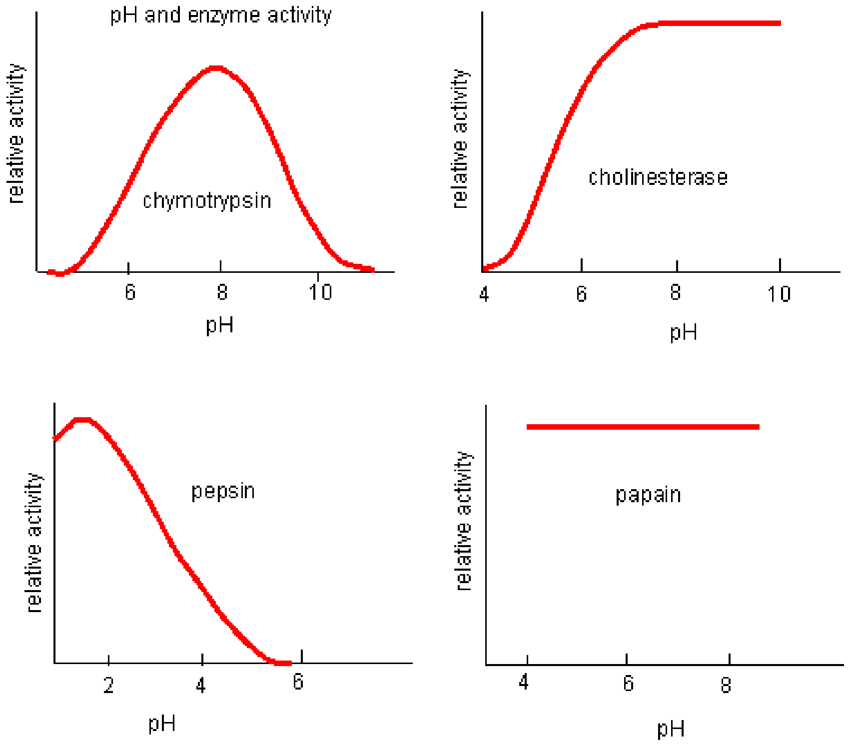
المحاضرة الثامنة

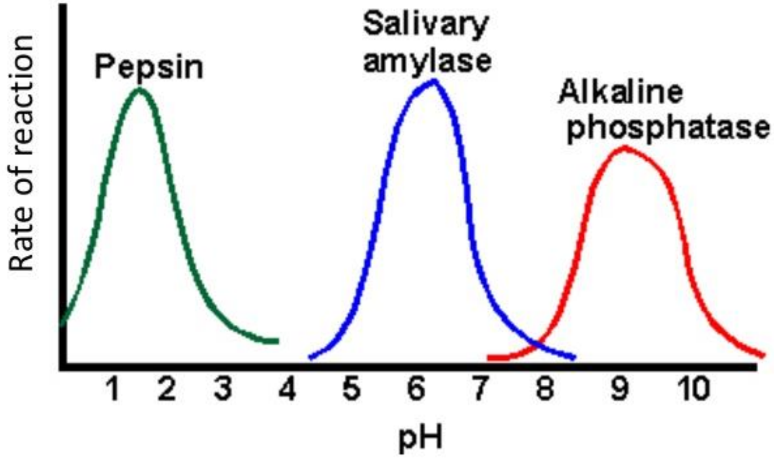
بعض العوامل المؤثرة على نشاط الإنزيم:

١- تأثير درجة الحموضة الـpH : حيث أن لكل إنزيم رقم pH أمثل Optimum يكون عنده التفاعل أقصاه ورقم أدنى Minimum لا يحدث التفاعل عند درجة أقل منه ورقم أقصى Maximum لا يحدث التفاعل إذا إرتفع الرقم الأيدروجينى عنه. ومن الملاحظ من شكل رقم ٢٢ أن شكل منحنى النشاط الإنزيمى المتأثر بدرجة الحموضة يختلف بإختلاف نوع الإنزيم. فمثلا شكل منحنى إنزيم الكيموتربسين يكون له قمة عند درجة الـpH ٨ عندها يكون النشاط الإنزيمى فى أقصى درجاته ثم يقل بعد ذلك. أو قد يبدأ النشاط عند درجة يكون pH معينة ثم يرتفع تدريجيا إلى أن يصل إلى الثبات ويظل ثابت بعدها ولا يتأثر بدرجة الحموضة مثل إنزيم الكلستروليز. ويأخذ شكل منحنى إنزيم الببسين شكلا مختلفا حيث يكون فى قمته عند درجات الـpH المنخفضة (٢) ثم ينخفض تدريجيا إلى أن يوقف النشاط الإنزيمى تمام عند الـpH ٥. وأحيانا لا يتأثر الإنزيم بدرجة الـpH كما فى حالة إنزيم البابابين.



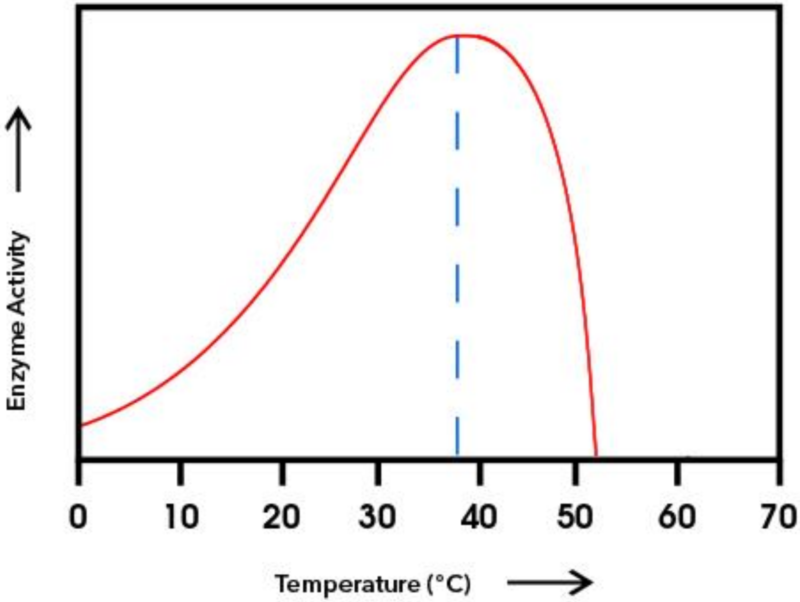
شكل رقم ٢٢: تأثير درجة الحموضة على النشاط الإنزيمى

وعلى العموم يمكن تقسيم درجة تأثر الإنزيمات بدرجة حموضة الوسط إلى ثلاثة أقسام من خلال شكل رقم ٢٣ حيث يلاحظ أن هناك إنزيمات تنشط فى الوسط الحامضى مثل إنزيم الببسين وأخرى فى المتعادل مثل إنزيم الأميليز وثالثة فى القلوى مثل إنزيم الفوسفاتيز.



شكل رقم ٢٣: تقسيم الإنزيمات تبعا لتأثرها بدرجات الحموضة

٢- درجة الحرارة Temperature : حيث تزداد سرعة التفاعل الإنزيمى تدريجياً بزيادة درجة الحرارة حتى تصل إلى درجة حرارة معينة يكون عندها النشاط الإنزيمى فى أقصاه وهى الدرجة المثلى Optimum temperature حتى يصل إلى حد معين ثم يقل النشاط الإنزيمى بعد ذلك نتيجة حدوث عملية الدنترة للبروتين الإنزيمى Enzyme denaturation. وإذا رفعت الحرارة عن هذه الدرجة يحدث تناقص فى النشاط الإنزيمى إلى أن يتوقف التفاعل. ويلاحظ من شكل ٢٤ أن النشاط الإنزيمى يكون منخفض فى درجات الحرارة المنخفضة ثم يزداد تدريجيا إلى أن يصل إلى أقصاه عند درجة حرارة ٤٠ درجة مئوية ثم ينخفض سريعا نتيجة لتأثر البروتين بدرجات الحرارة التى تكون أعلى من ٥٠ درجة مئوية.

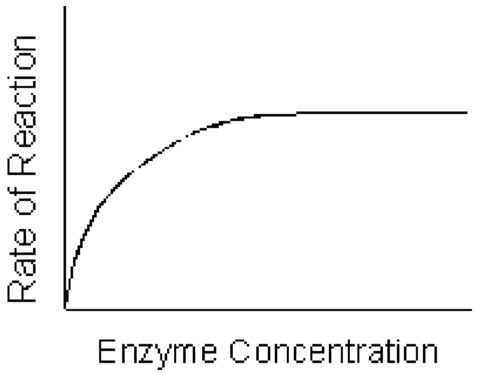


شكل رقم ٢٤: تأثير درجة الحرارة على النشاط الإنزيمى

ومثال لعملية الدنترة فى البروتين ما يحدث لبياض البيض (الألبيومين) عند تعرضه للحرارة المرتفعة. ويمكن أن تحدث الدنترة نتيجة مؤثرات كيماوية مثل الأحماض المركزة والقواعد والمعادن الثقيلة والكحولات والأشعة فوق البنفسجية.

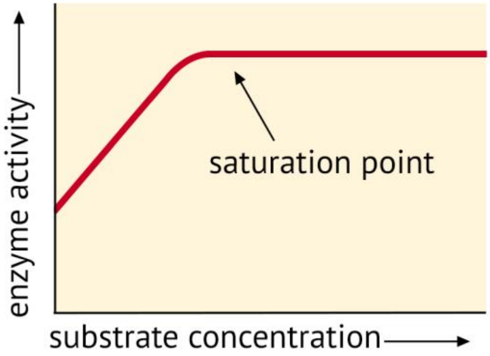
٣- تركيز الإنزيم Enzyme concentration كلما زاد تركيز الإنزيم كلما زاد النشاط الإنزيمى (شكل ٢٥) حتى يصل إلى درجة معينة يكون النشاط

الناط الإنزيمى فيها ثابت ولا يصبح لزيادة التركيز بعدها أى تأثير على نشاط الإنزيم.

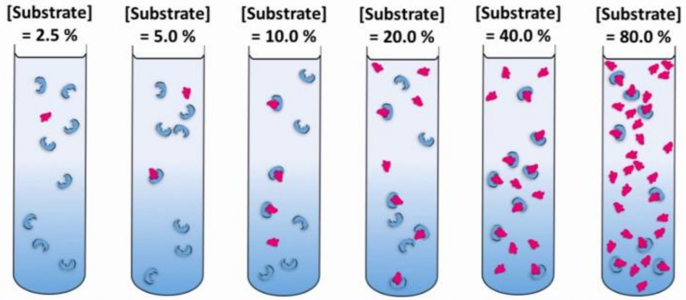


شكل رقم ٢٥: تأثير تركيز الإنزيم على النشاط الإنزيمى

٤- تركيز مادة التفاعل Substrate concentration كلما زاد تركيز مادة التفاعل كلما زاد النشاط الإنزيمى إلى حد معين وبعدها يتوقف هذا النشاط (شكل ٢٦). حيث يصل الإنزيم إلى حالة تسمى التشبع الإنزيمى Saturation point أو إلى إشغال المواقع النشطة بمواد التفاعل (شكل ٢٧) أو ناتج التفاعل قبل إنفصالها. وتحت هذه الظروف فإن الزيادة فى تركيز مادة التقاعل لا تؤثر على معدل التفاعل بالزيادة ألا إذا أضيف المزيد من تركيز الإنزيم.



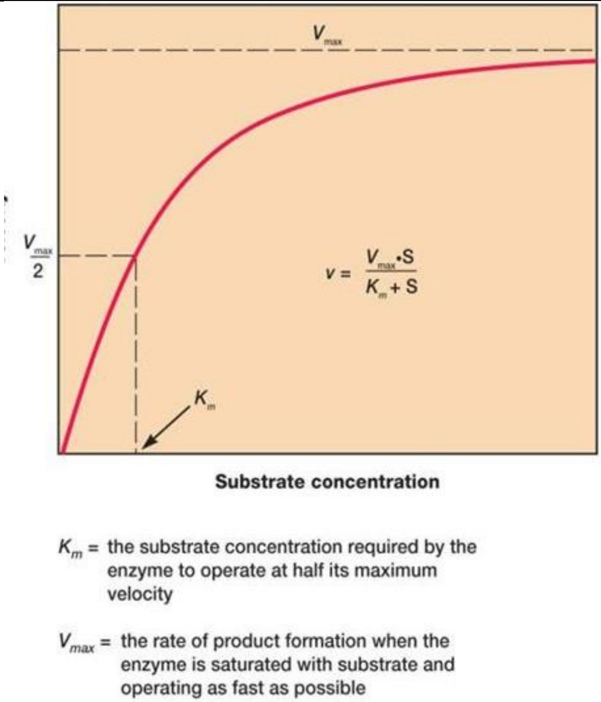
شكل رقم ٢٦: تأثير تركيز مادة التفاعل على النشاط الإنزيمى



Substrate Concentration / %	2.5	5.0	10.0	20.0	40.0	80.0
Total no. of substrate molecules that *can* be converted into products *per unit volume per unit time*	1	2	4	8	8	8

شكل رقم ٢٧: إشغال المواقع النشطة للإنزيم بمواد التفاعل

ولدراسة تأثير تركيز مادة التفاعل على النشاط الإنزيمى أهمية كبرى فى تقدير درجة التشبع الإنزيمى V_{max} ومنها يمكن استنتاج قيمة ثابت ميكاليس K_m وهو تركيز مادة التفاعل المقابل لنصف قيمة درجة التشبع الإنزيمى (شكل ٢٨) (راجع الدروس العملية).



شكل رقم ٢٨: العلاقة بين ثابت ميكاليس K_m ودرجة التشبع الإنزيمى V_{max}

٥- المثبطات Inhibitors تعتبر المثبطات الإنزيمية من الطرق الفعالة للتحكم فى نمو البكتيريا، فمن المثبطات الإنزيمية ما يستخدم فى عملية التعقيم مثل السيانيد والسليمانى التى تتحد مع الإنزيم وتمنع نشاطه وبالتالى يتوقف النمو الميكروبى.

المثبطات الإنزيمية Enzymes inhibitors

تقسم هذه المثبطات على حسب تفاعلها مع الإنزيم إلى :

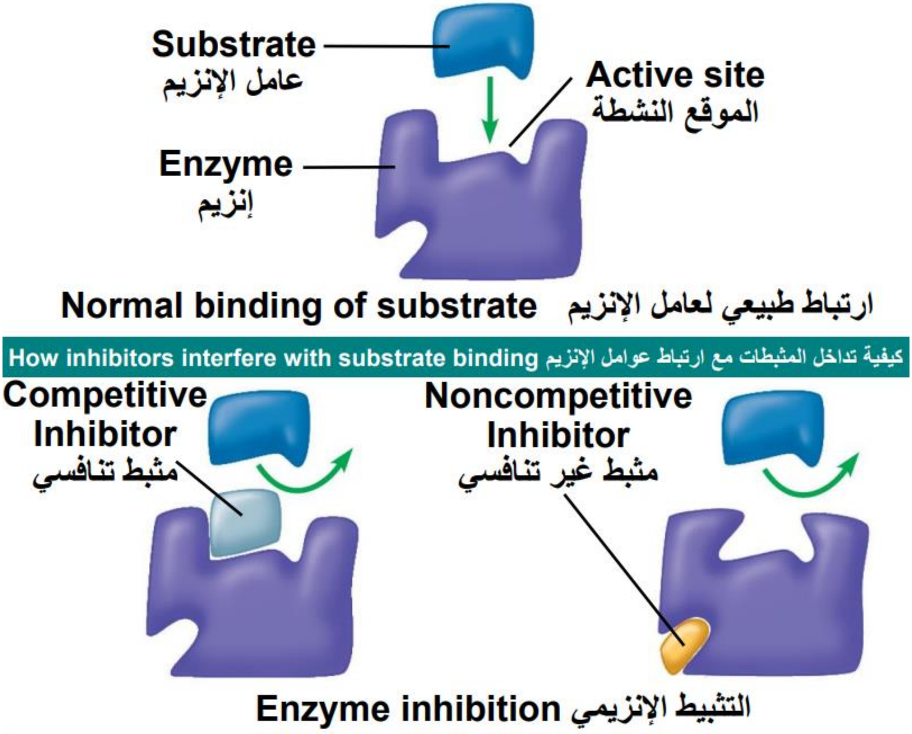
أ- مثبطات تنافسية Competative inhibitors :

حيث تتنافس تلك المثبطات مع مادة التفاعل على الإرتباط بالمواقع النشطة على الإنزيم (شكل ٢٩) لأنها تشبه مادة التفاعل الأصلية فى التركيب الكيميائى أو الشكل الفراغى وعندما يتحد المثبط مع المواقع النشطة على الإنزيم لا ينفصل ويتوقف النشاط الإنزيمى، ومن أمثلتها مركب السلفانيل أميد Sulfanil amide. والمثال على ذلك تستطيع البكتيريا أن تحول حمض البارأمينو بنزويك (PABA) إنزيميا إلى حمض الفوليك وعند تواجد مركب السلفانيل أميد فإن قدرته على الإتحاد مع الإنزيم أكبر من (PABA) وبالتالى يحدث التثبيط التنافسى مع الإنزيم ولا يتكون حمض الفوليك. ولقد إستفادت البشرية من هذه الظاهرة فى مجال صناعة الأدوية، نظراً لأن الخلية الآدمية لا تحتاج إلى PABA لتخليق حمض الفوليك وبالتالى فإن مركبات السلفا تستخدم كدواء حيث تقتل البكتيريا بتثبيط إنزيماتها ولا تؤثر على الخلية البشرية.

ب- مثبطات لا تنافسية Non competative inhibitors

تلك المثبطات لا تتنافس مع مادة التفاعل على الموقع النشط للإنزيم ولكنها تعمل على جزء آخر من الإنزيم أو تتحد مع المرافقات الإنزيمية أو prosthetic group حيث يؤدى ذلك إلى عرقل عمل الإنزيم فيقل النشاط الإنزيمى. والمثال على ذلك، يرتبط السيانيد مع الحديد مما يؤدى إلى ضعف قدرة هيموجلوبين الدم على الإرتباط بالأكسجين ومن هنا يحدث تثبط

للإنزيمات التى تحتاج فى نشاطها إلى أيونات معدنية حيث ترتبط المثبطات اللاتنافسية مع هذه الأيونات المعدنية وبالتالى تمنع التفاعل الإنزيمى .



شكل رقم ٢٩: مقارنة بين المثبطات التنافسية وغير التنافسية

التثبيط العكسى وغير العكسى Reversible and Irreversible inhibition

التثبيط العكسى Reversible inhibition

يحدث عندما يترابط الإنزيم بالمثبط سواء أكان تنافسى أو غير تنافسى يتكون معقد إنزيمى يتفكك بسهولة مرة أخرى إلى الإنزيم والمثبط.

بينما التثبيط غير العكسى Irreversible inhibition.

يمكن الكشف عن حدوث هذا النوع من التثبيط بدراسة حركيات الإنزيمات enzymes kinetics فنجد أنه يحدث فى إتجاه واحد ولا يرتد، والمثال على ذلك، البنسلين يوقف نمو الميكروبات عن طريق منعه للخطوة الأخيرة من تكون الجدار وخصوصا الروابط العرضية cross linking حيث يتحد البنسلين مع إنزيم ترانسببتيديز المسئول عن تكوين تلك الروابط ويكون معقد بلا رجعه فيما يعرف باسم التثبيط غير العكسى.

التثبيط بالتغذية العكسية Feedback inhibition

وقد تعمل المثبطات اللاتنافسية كمواد منظمة للتفاعل الإنزيمى عن طريق التثبيط الرجعى أو عن طريق التغذية العكسية فيما يعرف بـ Feedback inhibition. وعملية التثبيط العكسى هذه تمنع الإنزيم من إنتاج مواد جديدة (Product) حيث يقوم الناتج النهائى للإنزيم بتثبيط خطوة من خطوات التفاعل مما يؤدى إلى وقف التفاعل. والمثال على ذلك، يستطيع ميكروب *E. coli* إنتاج حمض الأيزوليوسين Isoleucine من الحمض الأمينى الثريوثين Threonine إنزيميا (خمس خطوات). وعندما يزداد تركيز الحمض الأمينى الأيزوليوسين فى بيئة النمو فإن النشاط الإنزيمى يتوقف مؤقتا إلى أن يستهلك

هذا الحمض ثم يعود مرة أخرى. ويمكن الإستفادة من عملية التثبيط العكسى فى مجال التخمرات الصناعية كوسيلة للتحكم فى تنظيم إنتاج الأحماض الأمينية والفيتامينات فيما يعرف باسم تنظيم الإنزيمات Enzymes regulation.

تنظيم الإنزيمات Enzymes regulation

تنظم الكائنات الراقية إنزيماتها بواسطة الهرمونات أو الجهاز العصبى أما الخلية الميكروبية فتنظم إنزيماتها بطرق أخرى منها على سبيل المثال :

١- التنظيم بالتثبيط العكسى أو التنظيم بالناتج النهائى.

٢- التنظيم المرتبط بالطاقة.

٣- التنظيم بالمسبقات precursors.

٤- التنظيم بالتحكم فى تركيز مادة التفاعل substrate.

٥- التنظيم بالتحكم فى تركيز المرافقات الإنزيمية والعوامل المساعدة.

٦- التنظيم بالتحكم فى تركيز الإيونات المعدنية.

٧- التنظيم بالتحكم فى درجة الـpH.