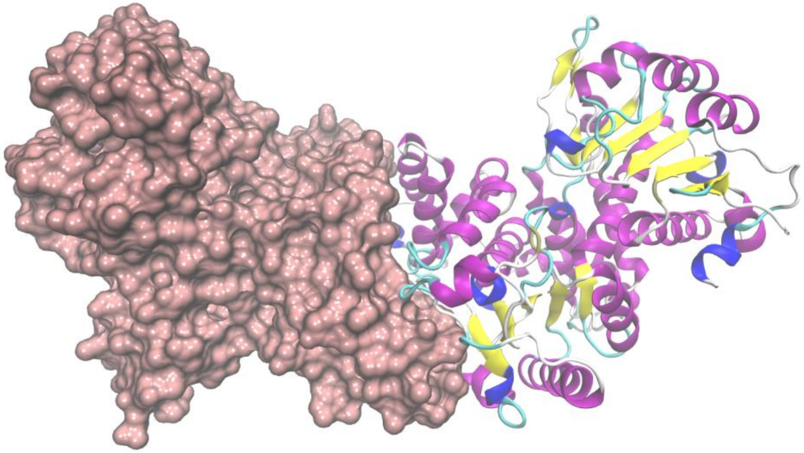
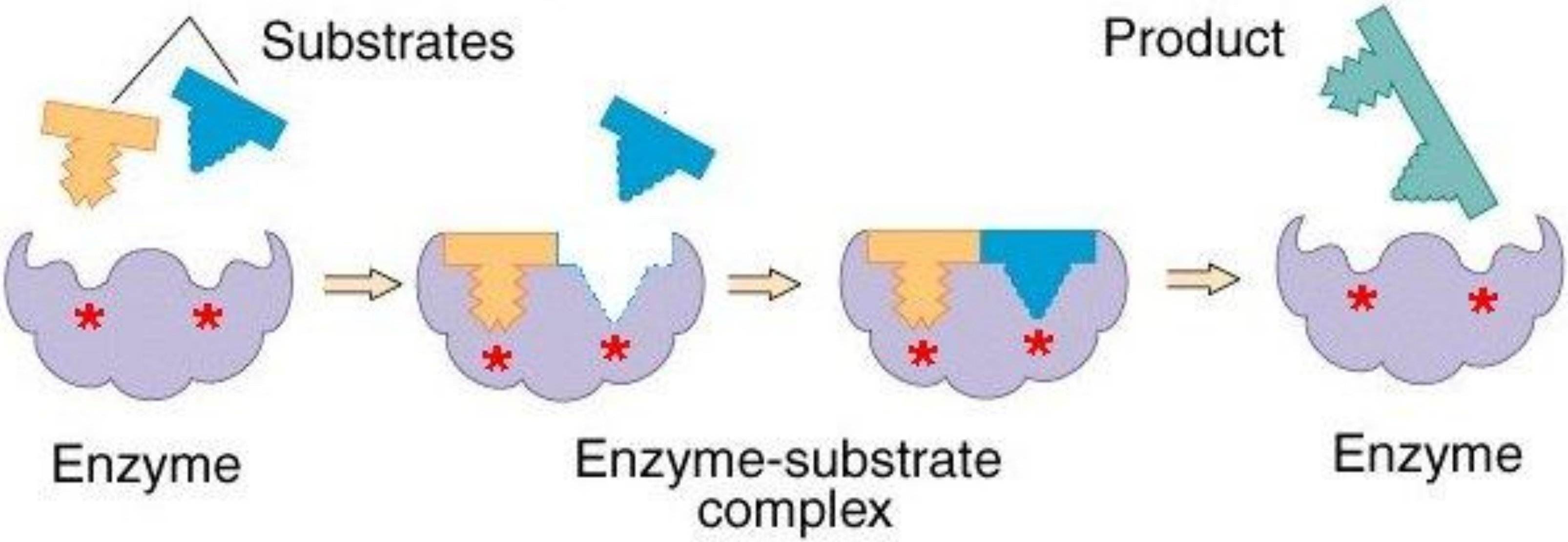


الإنزيمات

Enzymes

Amal Alamri



ما هي الإنزيمات؟

- **الوظيفة الأساسية** التي تقوم بها الخلايا الحية في الكائن الحي هي إنشاء مركبات معقدة من مواد بسيطة أوالعكس ، أي تفكيك تلك المركبات المعقدة إلى مواد أبسط
- إن هذه القدرة التي تتمتع بها الخلايا على تكوين مواد عضوية معقدة من مواد أخرى أبسط تركيبا (أو العكس) تحتاج لعدد كبير من التفاعلات الكيميائية المختلفة ، وتخضع هذه التفاعلات لآليات تتحكم في سرعتها واتجاهها عن طريق جزيئات متخصصة تسمى **الإنزيمات** ، التي يعتمد عملها على تحفيز (تسريع) التفاعلات الكيميائية داخل الخلية وتنظيمها بدقة بحسب حاجة الخلايا .

- فالإنزيمات عوامل مساعدة محفزة عضوية حيوية تصنع داخل الخلية ، وتقوم بعملها من خلال تحفيز التفاعلات داخل الخلية بطريقة **تخصصية أي أن كل إنزيم يقوم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثر من خلال العمل على مادة معينة تسمى المادة الأساس substrate أو مجموعة مواد متشابهة كيميائيا دون غيرها.**
- فالتخصص رغم اختلاف درجة تفاوته من إنزيم لآخر ، يحمي مادة الخلية نفسها ومكوناتها من الهدم ، مع ملاحظة أن عملية التنشيط التي يقوم بها الإنزيم تعني أن **الإنزيم لا يتفاعل بنفسه ولا يتأثر بنواتج التفاعل.**

تتركب الإنزيمات في تكوينها من **بروتينات** بغض النظر عن اسمها ويمكن تقسيمها من حيث التركيب إلى نوعين:

١. الإنزيمات البسيطة (Simple Enzymes)

وهي كأي بروتينات بسيطة عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المتتالية. ولا تحتوي على أي جزيء غير بروتيني.

٢. الإنزيمات المرتبطة (Conjugated Enzymes)

وهي التي تتكون من شقين ، أحدهما بروتيني والآخر غير بروتيني . علماً بأن المجموعات غير البروتينية هي جزء من المركز الفعّال في الإنزيم

وتسمى في هذه الحالة باسم المرافق الإنزيمي Co-Enzyme أو

أو العامل المعاون Co-Factor ، وهذه الأجزاء غير البروتينية ضرورية لنشاط هذه الإنزيمات.

العوامل المؤثرة في نشاط الإنزيمات

١. **تركيز الإنزيم.**

٢. **تركيز المادة الأساس** substrate التي يعمل عليها ذلك الإنزيم.

٣. **درجة الحرارة** التي يحدث فيها التفاعل.

٤. **درجة الأس الهيدروجيني للوسط (قيمة pH)**

٥. **وجود مواد مثبطة inhibitors** تعيق عمل الإنزيم أو تقلل من نشاطه الحيوي

مبدأ دراسة نشاط الإنزيمات بطريقة عملية

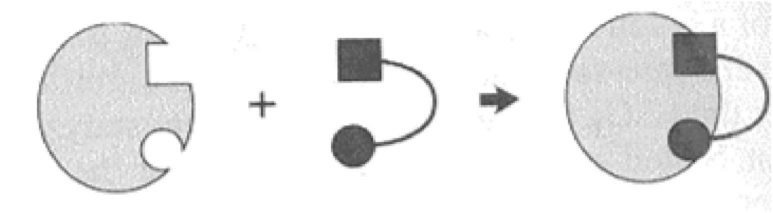
- لنتذكر ما سبق قوله من أن **الإنزيم لا يدخل فى التفاعل** ، ولهذا فإن دراسة نشاطه عمليا تتم من خلال قياس وتتبع **الموادالمتفاعلة ومدى نقصها أو اختفائها** ، وكذلك باختبار **ظهور نواتج التفاعل أو زيادتها**. فمن الواضح أن اختفاء المواد المتفاعلة أو نقصها ، وظهور نواتج التفاعل أو تزايدها يدل على أن الإنزيم نشط في تحفيزه للتفاعل في الظروف المناسبة للتفاعل

بعض التفاعلات الانزيمية تكون عكسية و تتضمن تكوين وسيط هو مركب E-S

E + S	⟷	ES	⟷	E + P
المادة الاساس + الإنزيم		مركب وسيط		الناتج

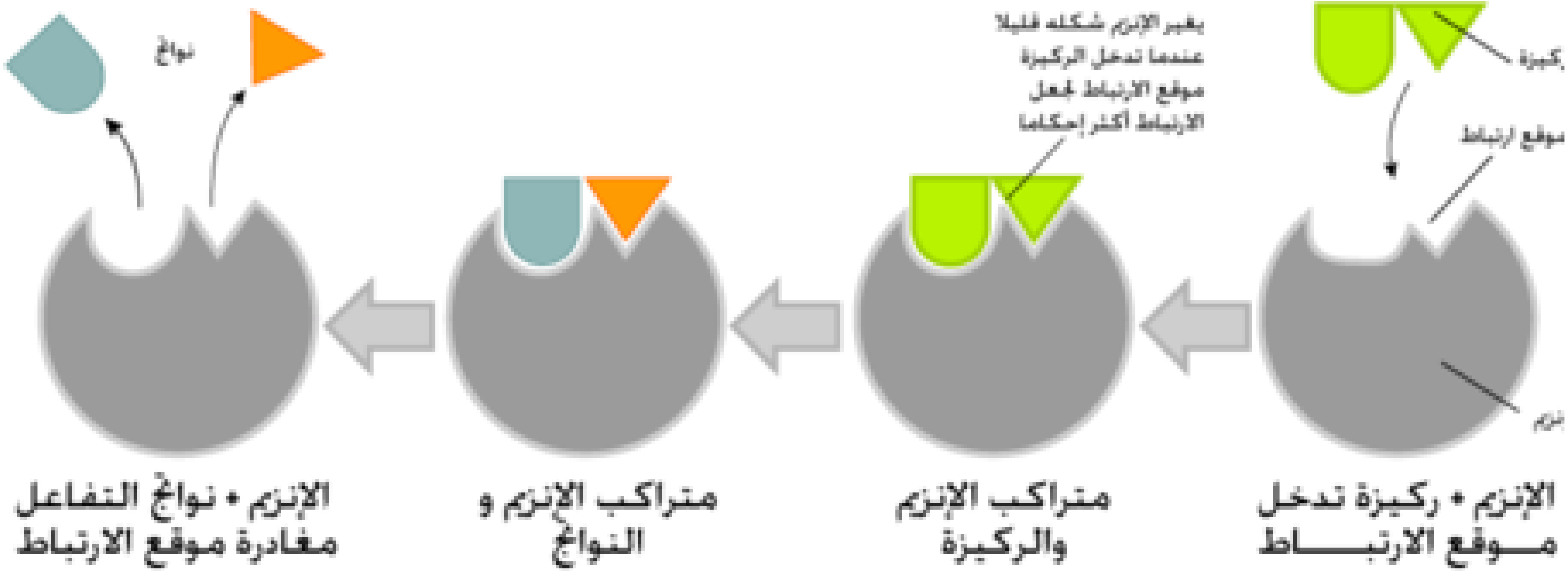
كما أن جزئ الانزيم الواحد علي الرغم من أنه يستطيع أن يتفاعل المرة تلو الاخرئ إلا أنه لا يستطيع أن يرتبط إلا **مع عدد معين من جزئيات المادة المتفاعلة في الدقيقة الواحدة وهدا يسمي ب عدد التحول** و عدد التحول يختلف من انزيم الي اخر

- ترتبط مادة التفاعل بموقع معين علي سطح الانزيم يسمي بالموقع النشط مكونا ما يسمى بالمعقد انزيميES + المادة المتفاعلة



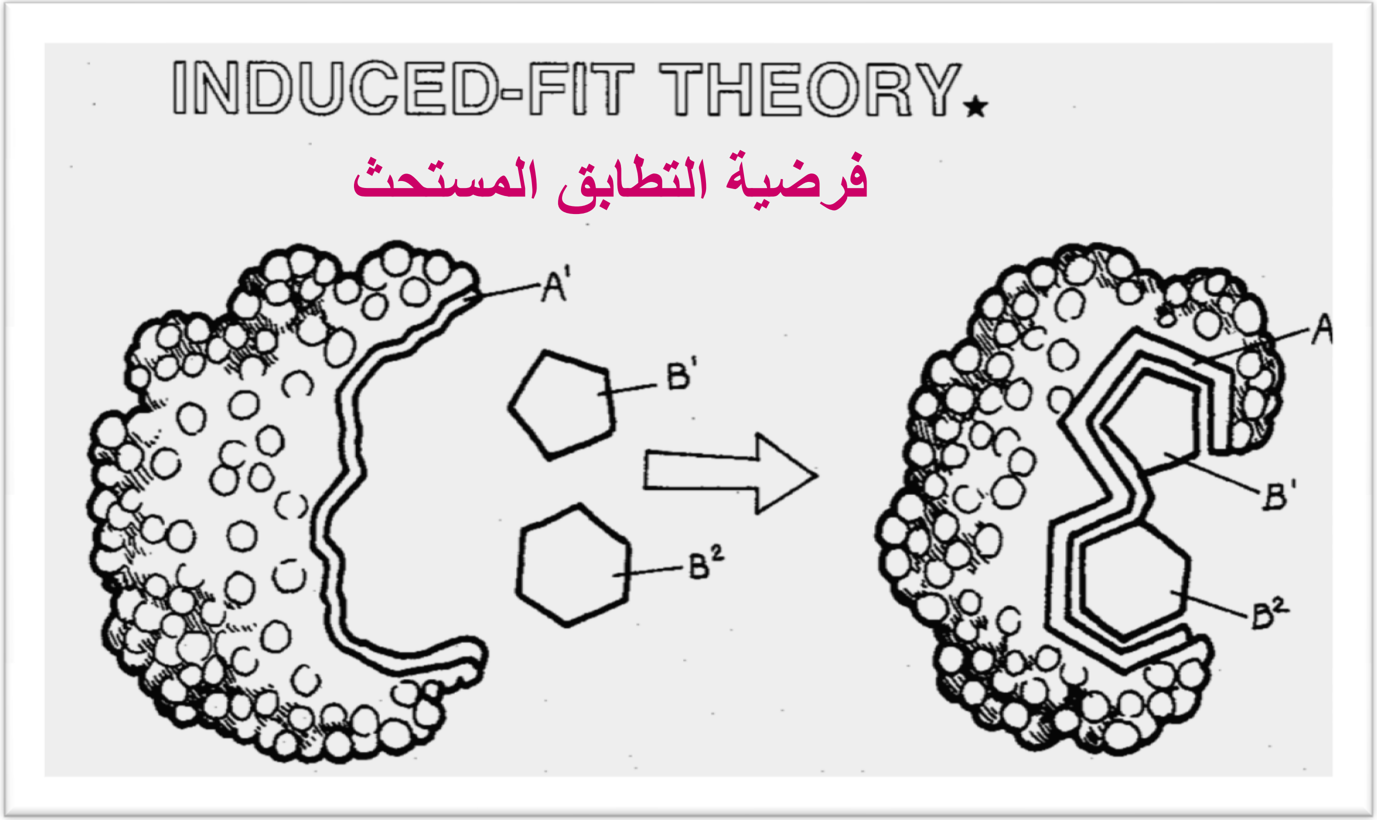
E S E-S

الانزيم المادة الأساس معقد انزيمي



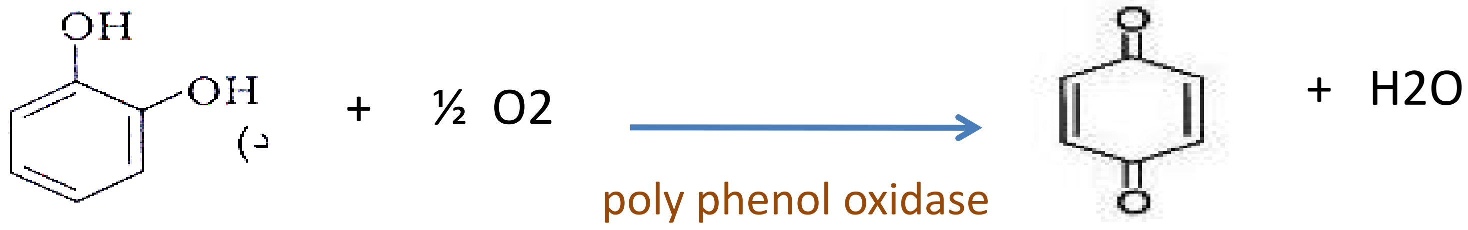
كيف يمكن تفسير خصوصية الانزيم للمادة الأساس؟

- **فرضـية التطـابق المسـتحث** تفتـرض أن الاختلافـات فـي الشـكل الثلاثي الأبعاد لسطح الموقع النشط أساسـي لخصوصية الإنزيم أي أنه يوجد نوع معين من المادة التفاعل تستطيع أن تحقق التطابق مع نوع معين من الإنزيمات



- في هدة التجربة سوف يتم تحضير مستخلص خام من إنزيم بولي فينول أكسيديز يحتوي هدا الإنزيم علي النحاس في الموقع النشط و الأس الهيدروجيني الأمثل لنشاطه هو 6.7

هدا الإنزيم يحفز تفاعل عملية الاكسدة لثاني و ثلاثي هيدروكسي فينول الى quinons



Catechol — المادة الأساس

الانزيم

Benzo quinone — الناتج

- تفاعل الأكسدة و الاختزال يصاحبه تغير في اللون كما أن هدا التفاعل نصادفه كثيرا في الطبيعة حيث هو المسؤول عن اللون البني الدي يظهر علي البطاطا وبعض الفواكة بعد تقشيرها
- ستتابع في هدا التجربة تطور التفاعل الإنزيمي بطريقة بسيطة وهي التغير في اللون و **كثافة اللون تتناسب طرديا مع نشاط الانزيم**

درجة كثافة اللون	الرمز
عديم اللون	-
باهت اللون	+
واضح اللون	++
غامق اللون	+++

الاختبارات الوصفية للكشف عن الإنزيمات

Qualitative Tests of Enzyme

١-اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول اكسيديز

٢-اختبار الطبيعة الكيميائية للبولي فينول اكسيديز

٣-اختبار خصوصية المادة (الأساس) أو المتفاعلة

٤-اختبار تأثير درجة الحرارة على نشاط بولي فينول اوكسيديز

٥-الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات

١-اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول اكسيديز

- حضري ٣ انابيب A, B, C

الانبوبة A:

١٥ قطرة من المستخلص الانزيمي+ ١٥ قطرة من الكاتيكول

الانبوبة B :

١٥ قطرة من المستخلص الانزيمي+ ١٥ قطرة من الماء المقطر

الانبوبة C :

- ١٥ قطرة من الكاتيكول + ١٥ قطرة من الماء المقطر

- ضعي الانابيب الثلاثة في حمام مائي عند 37^oC
- رجي كل انبوبة ٥ دقائق لتهويتها و دلك لإضافة الأوكسجين
- دوني اللون الظاهر

زمن التحضير بالدقائق	كثافة اللون - + ++ +++		
	A	B	C
0			
5			
10			
15			
20			
25			

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبتين B وC ؟

٢ـاختبار **الطبيعة الكيميائية** للبولي فينول اكسيديز

حضري اربع انابيب A, B, C, D

الانبوبة A:

١٥ قطرة من المستخلص **الانزيمي**+ ١٥ قطرة من **الكاتيكول**

و ضعيها في حمام مائي 37^oC لمدة ١٠ دقائق و استخدميها **كمقياس**

الانبوبة B :

١٠ قطرة من المستخلص **الانزيمي**+ ١٠ قطرة من التربسن

رجي الانبوبة جيدا و ضعيها في حمام مائي 37^oC لمدة ١٠ دقائق

و بعد دلك اضيفي ١٠ قطرة من **الكاتيكول** قارني بانبوبة A

الانبوبة C :

١٠ قطرة من المستخلص **الانزيمي**+ ١٠ قطرة **ثلاثي كلورحمض الخليك**

رجي الانبوبة جيدا انتظري ٥ دقائق ثم اضيفي ١٠ قطرة من الكاتيكول

ضعيها في حمام مائي 37^oC لمدة ١٠ دقائق و قارني بانبوبة A

- الانبوبة D :

١٥ قطرة من المستخلص الانزيمي + يضعة بلورات من **Phenyl thiourea**

استمري بالرج لمدة ٥ دقائق ضعيها في حمام مائي 37^oC لمدة ١٠ دقائق و قارني بانبوبة A

بعض العوامل المؤثرة على الانزيمات

- **انـزيم التربسـن** هـو هـو انـزيم يعمـل علـي تحـلل البروتينات بواسطة تحليله للروابط البيبتدية
- **ثلاثي كلور حمض الخليك** يعمل علـي مسخ او تغير طبيعـة البروتينـات denaturation و يعمـل علـي ترسيبها
- مادة **phenyl thiourea** لها ميل كيميائي قوي تجاه عنصـر النحـاس فبإمكانـه الارتبـاط بـه حتـي و لـو كـان مرتبطاً

الانبوبة	المادة المضافة	كثافة اللون - + ++ +++
A	مقياس	
B	التربسن	
C	ثلاثي كلور حمض الخليك	
D	Phenyl thiourea	

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنابيب B, C و D؟

٣-اختبار خصوصية المادة (الأساس)المتفاعلة

- حضري ثلاث انابيب A, B, C

الانبوبة A:

١٠ قطرة من المستخلص الانزيمي+ ١٥ قطرة من الكاتيكول

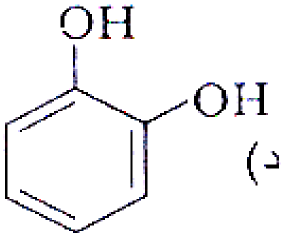
الانبوبة B :

١٠ قطرة من المستخلص الانزيمي+ ١٥ قطرة من الفينول

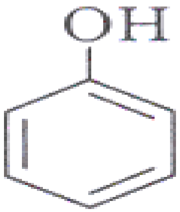
الانبوبة C :

- ١٥ قطرة من الكاتيكول + ١٥ قطرة من هيدروكينون
- رجي الانابيب و ضعيها بالحمام مائي 37^{o}C لمدة ٥ دقائق

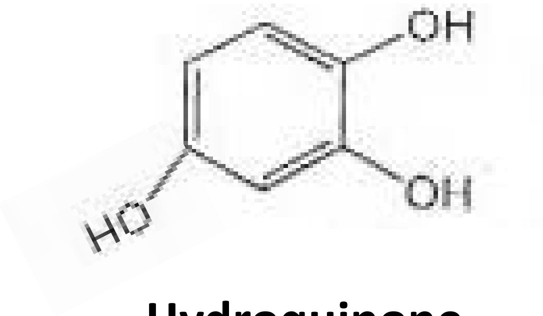
التركيب الكيميائي للمركبات



Catechol



Phenol



Hydroquinone

الانبوبة	كثافة اللون
كاتيكول	
فينول	
هيدروكينون	

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبتين B وC ؟

٤ـاختبار تأثير درجة الحرارة علي نشاط بولي فينول اوكسيديز

- حضري ثلاث انابيب A, B, C
- اضيفي ١٥ قطرة من المستخلص الانزيمي و ضعيها في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق

انبوبة A عند الصفر

انبوبة B عند 37

انبوبة C عند 70

- اضيفي ١٥ قطرة من محلول الكاتيكول في كل انبوبة مع الرج
- انتظري ١٥ دقيقة ثم افحصي الانبوبة **من دون اخراجها** من الحمام المائي

الانبوبة	كثافة اللون
0^oC	
37^oC	
70^oC	

ما الذي تتوقعين حدوثه في الأنبوبتين A وC ؟

٥-الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات

- النظرية العلمية للاختبار:

من المعلوم سابقا بأن الإنزيمات هي من أنواع البروتينات وفي دراستنا للبروتينات تعرفنا على الكاشف العام لها وهو اختباربيوريت ، و ا لمبدأ هنا أن نجري التجربة المذكورة على محاليل إنزيمات ، فإن ظهرت نتيجة إيجابية نكون قد تحققنا من أن **الإنزيم عبارة عن بروتين في طبيعته الكيميائية.**

طريقة العمل

- ضعي ١ مل من المستخلص الانزيمي
- ضعي ٢ مل من البيوريت

الانبوبة	الاستنتاج
مستخلص الانزيمي+ بيوريت	

أمثلة علي الإنزيمات

١-α-Amylase انزيم الاميليز

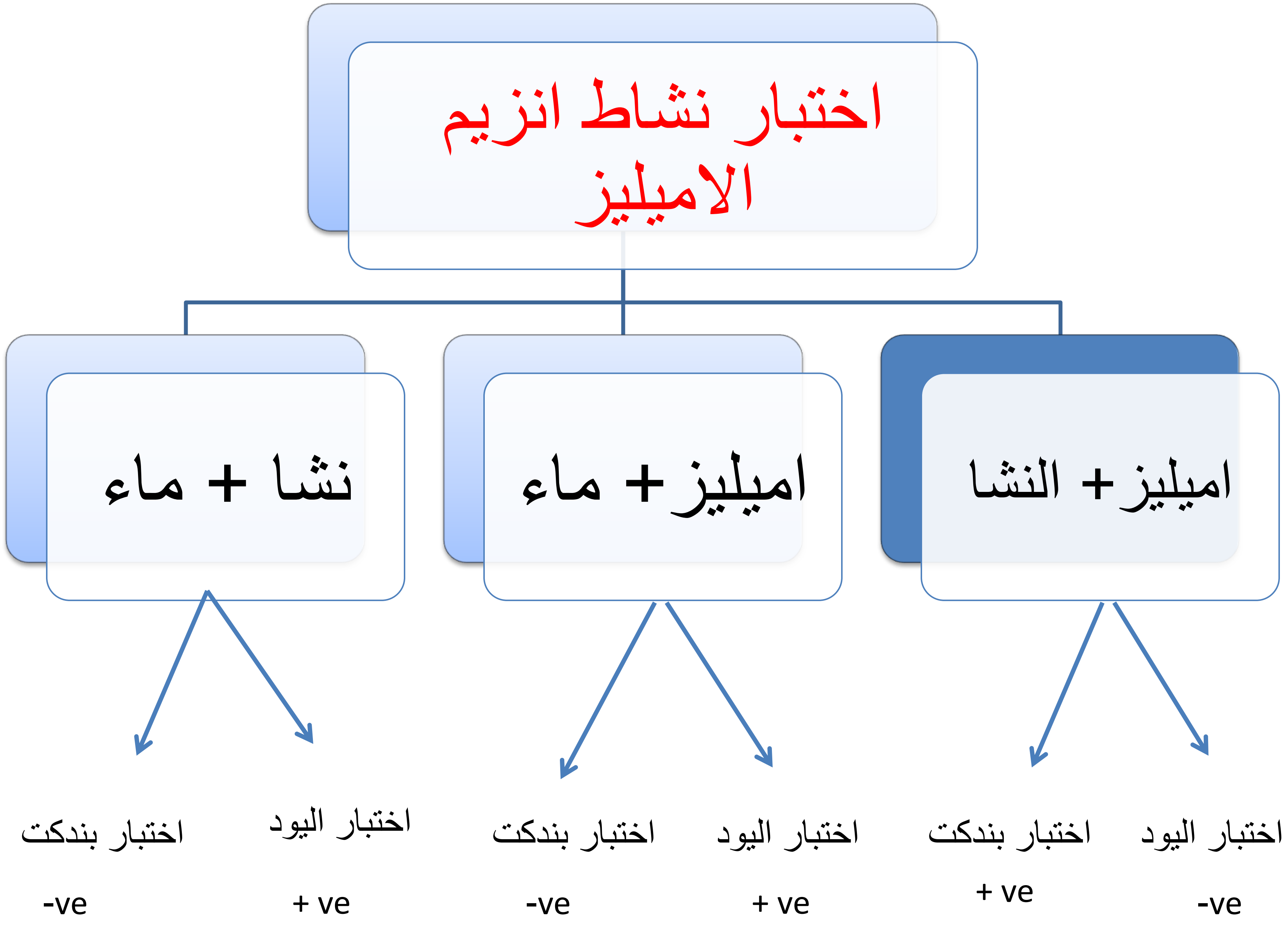
تفرزه الغدد اللعابية في الفم ليقوم بتحليل النشا الي سكريات احادية (جلوكوز)

Starch $\xrightarrow{\alpha\text{-Amylase}}$ Glucose

في هدة التجربة يتم تحضير مستخلص خام من إنزيم الاميليز من اللعاب و الس الهيدروجيني الامثل لنشاطه هو 6.7

و نختبر بقاء النشا أو اختفاءه و كدلك نختبر ظهور الجلوكوز من عدمه

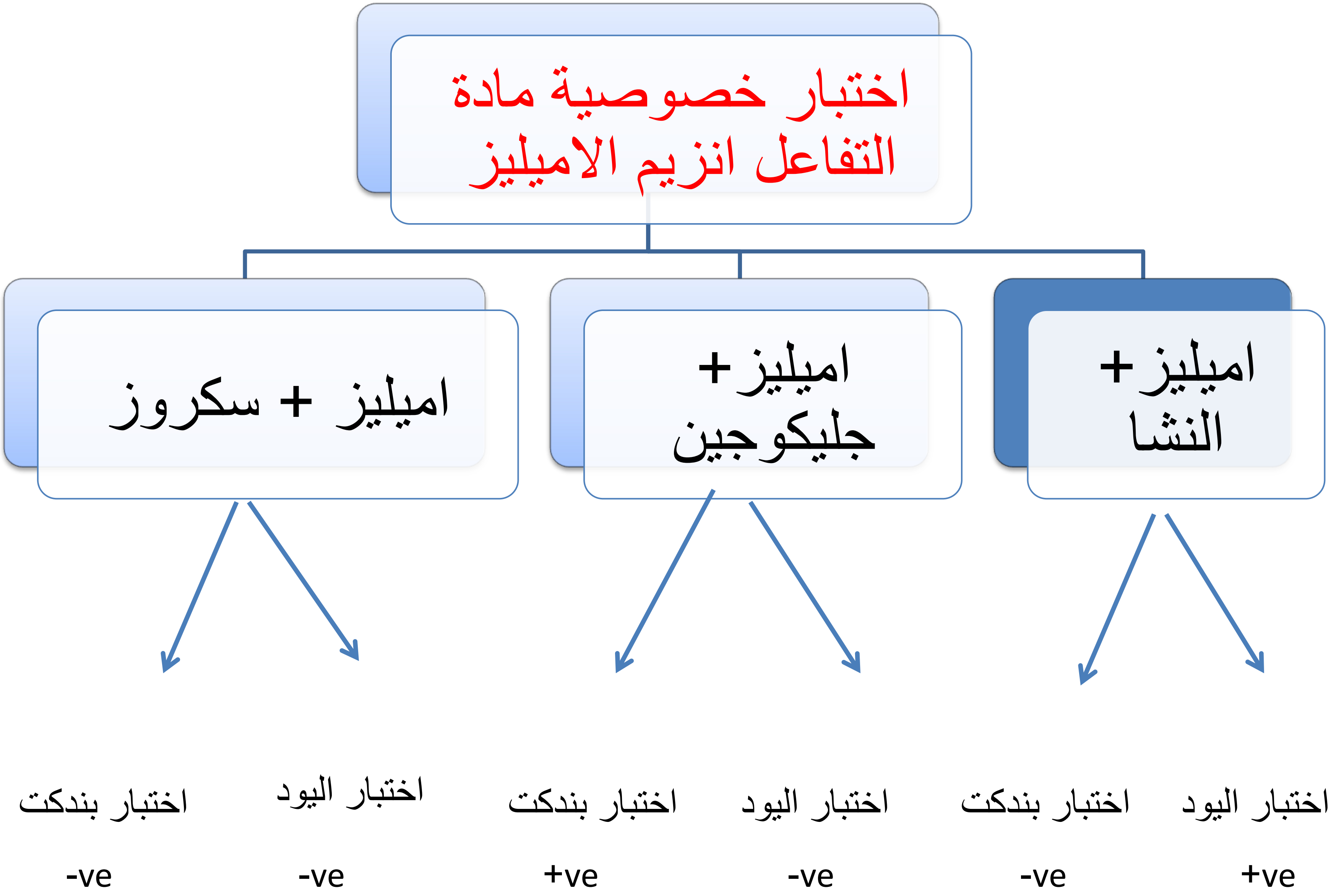
و قد سبق أن درسنا اختبار اليود للفحص عن النشا و اختبار بندكت للسكر الاحادي المختزل

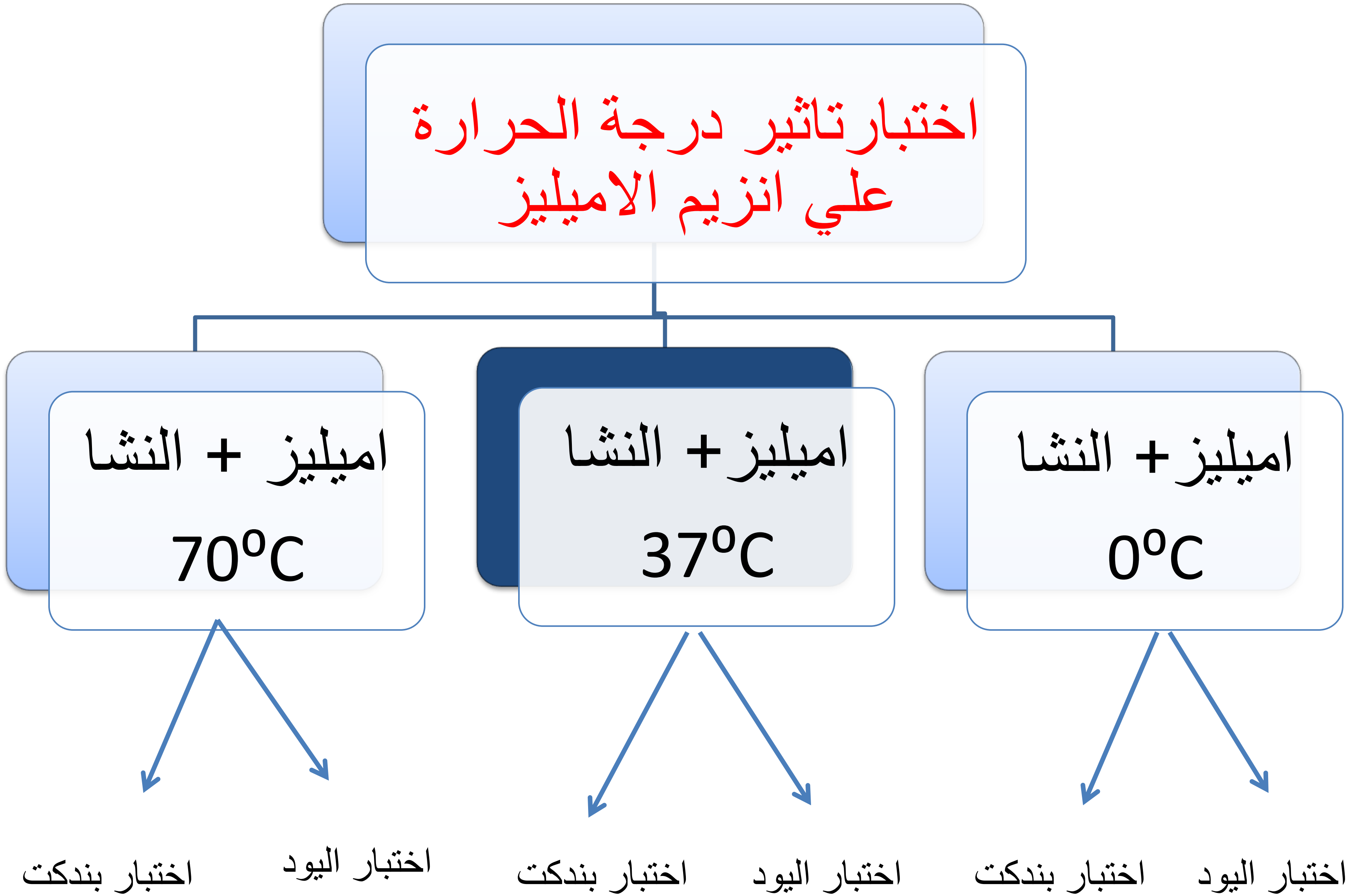

اختبار نشاط انزيم الاميليز
اميليز + النشا
اميليز + ماء
نشا + ماء
اختبار اليود
-ve
اختبار بندكت
+ ve
اختبار اليود
+ ve
اختبار بندكت
-ve
اختبار اليود
+ ve
اختبار بندكت
-ve

اختبار الطبيعة الكيميائية لانزيم الاميليز

- اميليز + نشا
- اميليز + النشا + تربسين
- اميليز + النشا + TCA
- اميليز + نشا + Phenyl thiourea

يجري اختبار اليود علي جميع الانابيب لمعرفة بقاء النشا او اختفاءه


اختبار خصوصية مادة التفاعل انزيم الاميليز
اميليز + النشا
اميليز + جليكوجين
اميليز + سكروز
اختبار اليود
+ve
اختبار بندكت
-ve
اختبار اليود
-ve
اختبار بندكت
+ve
اختبار اليود
-ve
اختبار بندكت
-ve


اختبارتاثير درجة الحرارة علي انزيم الاميليز
اميليز + النشا
0°C
اختبار اليود
اختبار بندكت
اميليز + النشا
37°C
اختبار اليود
اختبار بندكت
اميليز + النشا
70°C
اختبار اليود
اختبار بندكت

٢-انزيم السكريز sucrase

- احد انزيمات العصارة المعوية التي تفرزها خلايا الامعاء الدقيقة ليقوم بتحليل السكروز (سكر ثنائي) الي الجلوكوز و الفركتوز (سكر احادي)

sucrase

Sucrose ⟶ Glucose + Fructose

يتم الكشف عن نشاط الانزيم بالكشف عن تكوين سكريات مختزلة بواسطة تجربة بندكت

Thank you