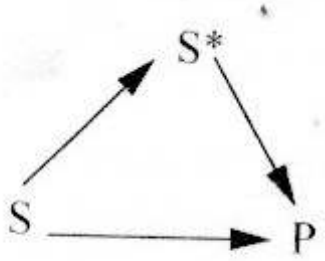
www.Endbook.net

آنزیم‌ها:

آنزیم‌ها غالباً ساختمان پروتئینی داشته و سرعت واکنش‌های بیوشیمیایی را افزایش می‌دهند. به آن‌ها بیوکاتالیزور هم گفته می‌شود. امروزه مشخص شده که بعضی از مولکول‌های RNA هم فعالیت آنزیمی دارند که به آن‌ها ریبوزیم (Ribozyme) گفته می‌شود.

DNA zyme ← DNA هم دیده شده که می‌تواند فعالیت آنزیمی داشته باشد.

Abzyme ← آنتی‌بادی‌هایی که دارای فعالیت آنزیمی هستند.



transition state ⟵ حالت موقت گذار

نیمه عمر آن بسیار کوتاه

است در حد نانوثانیه

هیچ وقت بطور قابل جداسازی نیست

نظریات موجود درباره آنزیم‌ها:

۱- قفل و کلید

۲- القایی

۳- نظریه‌ای که امروزه مطرح است این است که آنزیم‌ها دیگر با S واکنش نمی‌دهند بلکه با S^* واکنش می‌دهند.

در اثر برخوردهایی که Sها با هم دارند به صورت S^* در آمده و آن موقع آنزیم با S^* وارد واکنش می‌شود.

استخراج Ab ⟵ تولید Ab برعلیه S^* ⟵ S^* تزریق به حیوان

تفاوت‌های آنزیم‌ها با کاتالیزورهای شیمیایی:

۱- انزیم‌ها به واسطه داشتن ساختمان پروتئینی به تغییرات pH و دما حساس بوده بنابراین در دامنه محدودی از دما و pH عمل می‌کنند.

۲- انزیم‌ها عملکرد اختصاصی دارند یعنی بر روی یک یا چند نوع سوبسترا اثر می‌گذارند.

تمام کاتالیزورها بدون تغییر ثابت تعادل و اکنش سرعت واکنش را افزایش می‌دهند.

$$A+B \underset{K-1}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} C+D$$

رفت $V=K_1[A][B]$

برگشت $V=K_1[C][D]$

برگشت $V=V$ رفت

آنزیم کاری روی ثابت تعادل واکنش آزاد واکنش تاثیری ندارد فقط انرژی اکتیواسیون را کم می‌کند

تعادل K

سرعت k

$$\frac{[C][D]}{[A][B]} = \frac{K_1}{K-1} \Longrightarrow Keq = \frac{K_1}{K-1}$$

Keq

ثابت تعادل

www.Endbook.net

آنزیم‌ها از لحاظ ساختمانی:

۱- آنزیم‌های ساده:

آنزیم‌هایی که فقط دارای بخش پروتئینی دارند (کوفاکتور و کوآنزیم نمی‌خواهند)

مثل کیموتریپسین

۲- آنزیم‌های کمپلکس:

به آن‌ها هولو آنزیم (Holoenzyme) گفته می‌شود

- بخش پروتئینی (آپوآنزیم)
- بخش غیر پروتئینی
  - کوآنزیم
  - کوفاکتور

وقتی بخش غیر پروتئین، آلی باشد مثل ویتامین‌ها ← کوآنزیم

وقتی بخش غیر پروتئینی، معدنی باشد مثل یون‌ها ← کوفاکتور

نمونه‌ای از کوفاکتورهای آنزیمی:

کوفاکتور Zn^{2+}

مثال آنزیمی

کربونیک انیدراز، الکل دهیدروژناز، کربوکسی پپتیداز، RNA پلیمراز، ترانس کریپتاز معکوس (در ویروس HIV)، سوپراکسید دسموتاز سیتوزولی

Cu^{2+}

تیروزیناز (سنتز ملانین)، سیتوکروم اکسیداز، سوپراکسید دسموتاز سیتوزولی، لیزیل اکسیداز (سنتز کلاژن)، Δ^9 desaturase (کار آن تبدیل اسیدهای چرب اشباع به غیر اشباع)

Fe^{2+}

سیتوکروم اکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز، آکونیتاز، پرولیل و لیزیل هیدروکسیلاز،

Ni

اوره آز

Mg

تمام کینازها، گلوکز ۶ فسفاتاز

Mn^{2+}

آرژیناز، دی‌نیتروژناز، سوپراکسیددسموتاز میتوکندریایی و باکتریایی

Se

گلوتاتیون پراکسیداز، دیدنیاز، تیوردوکسین ردوکتاز

Mo

گزانتین اکسیداز (سنتز اسیداوریک)

K^+

پیروات کیناز

www.Endbook.net

۸۱

ویتامین	شکل فعال (کوآنزیم)	گروهی را که در واکنش‌ها انتقال می‌دهد	نقش بیوشیمیایی
(۱) تیامین (B_1)	تیامین پیروفسفات (TPP)	آلدهید	شرکت در دو دسته از واکنش‌ها: ۱- دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو α کتواسیدها (پیروات دهیدروژناز، dKG (دهیدروژناز) ۲- کوآنزیم آنزیم ترانس کتولاز در پنتوز فسفات

(۲) ریبوفلاوین (B_2)، فلاوین مونو نوکلئوتید (FMN)، انتقال الکترون و پروتون، به عنوان کوآنزیم دهیدروژنازها و اکسیدازها

فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD)

$$B_2 + Pi \rightarrow FMN$$

$$FMN + AMP \rightarrow FAD$$

تفاوت FAD و FMN در یک AMP است.

(۳) نیاسین (B_3)، NAD - NADP، یون هیدرید (H^-)، کوآنزیم دهیدروژنازها و ردوکتازها

اسیدنیکوتینیک

نیکوتین آمید

(۴) اسید پنوتنیک (B_5)، کوآنزیم (پیش‌ساز) A و ACP (Acyl carrier protein) این دو ناقل آسیل‌اند، آسیل $R-\overset{O}{\overset{\|}{C}}-$

کوA: متابولیسم مواد سه گانه (قند، لیپید pra)

ACP: سنتز اسیدهای چرب

(۵) پیریدوکسین(B_6)، پیریدوکسال فسفات PLP، آمین، کوآنزیم آمینوترانسفرازها و آمینواسید دکربوکسیلاز و گلیکوژن فسفریلاز عضلانی

(۶) بیوتین (B_8) (H)، کربوکسی بیوتین B_8-CO_2، CO_2

کوآنزیم کربوکسیلازها:

پیروات کربوکسیلاز (گلوتئوژنز)

استیل کوA کربوکسیلاز (سنتز اسید چرب)

پروپیونیل کوA کربوکسیلاز (اکسیداسیون اسیدهای چرب فرد کربن)

کروتونیل کوA کربوکسیلاز (کاتابولیسم لوسین)

(۷) فولات (B_9) تتراهیدروفولات (THF)، THF در انتقال واحدهای تک کربنه مثل متیل، فرمیل در واکنش‌ها نقش دارد.

(۸) کوبالامین (B_{12})، متیل کوبالامین، الکیل، ۱) تبدیل هموسیستئین به متیونین

۵′- داکسی آدنوزیل کوبالامین، هیدروژن، ۲) L- متیل مالونیل کوA ← سوکسنیل کوA اکسیداسیون اسیدهای چرب فرد کربن

www.Endbook.net

۸۲

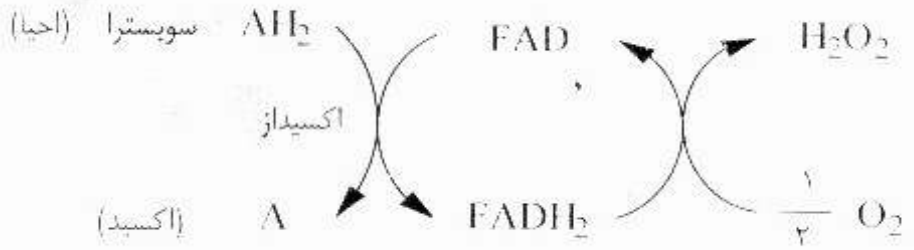
طبقه‌بندی آنزیم‌ها:

آنزیم‌ها را به ۶ دسته تقسیم می‌کنند:

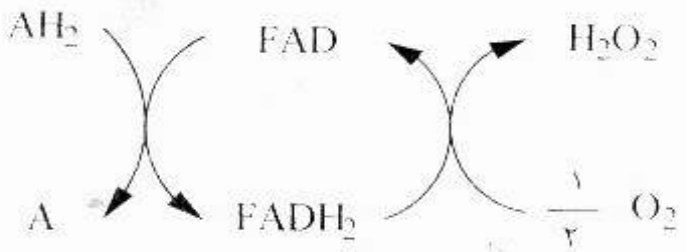
Class 1 : اکسید ردوکتازها:

واکنش‌های اکسیداسیون و احیا را کاتالیز می‌کنند. (اکسیدازها، دهیدروژنازها، اکسیژنازها، هیدروپراکسیدازها)

اکسیدازها از اکسیژن به عنوان پذیرنده هیدروژن استفاده می‌کنند.



پراکسید هیدروژن محصول اکسیدازهاست



الذهید دهیدروژناز ← یک فلاووپروتئین (FAD) در کبد است، حاوی Mo و آهن غیر هم، روی الدهیدها و سوبسترای N هیدروسیکلیک اثر می‌کند.

آنزیم‌های اکسیداز دارای گروه‌های پروستتیک FAD و FMN می‌باشند به همین دلیل آن‌ها را فلاووپروتئین هم می‌گویند. (پیوند آن‌ها محکم است اما کووالان نیست) در کلیه وجود دارد.

مثال)

D آمینواسید اکسیداز (FAD)

دآمیناسیون اکسیداتیو aa ها ← L آمینواسید اکسیداز (FMN)

} در کاتابولیسم اسیدهای امینه شرکت می‌کنند.

Mo ← گزانتین اکسیداز (FAD) ← ساخت اسید اوریک (مهم در حیوانات اوریکوتلیک)

گلوکز اکسیداز (FAD) ← در قارچ‌ها وجود دارد در آزمایشگاه از آن برای تعیین قند خون استفاده می‌شود.

دهیدروژنازها:

از کوآنزیم‌های NAD (اتصال سست) و FAD (گروه پروستتیک) به عنوان پذیرنده هیدروژن استفاده می‌کنند.

www.Endbook.net

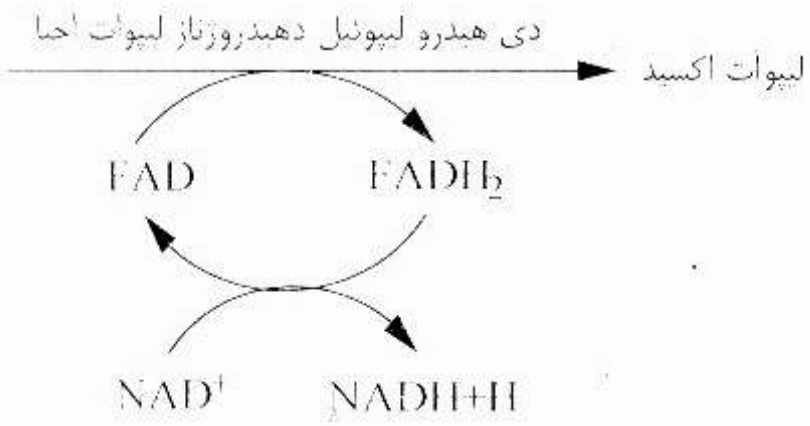
مثال)

دهیدروژنازهای وابسته به FAD :

۱- سوکسینات دهیدروژناز ⟵ در چرخه کربس

۲- اسیل کوA دهیدروژناز ⟵ β اکسیداسیون اسیدهای چرب

۳- گلیسرول ۳ فسفات دهیدروژناز میتوکندریایی ⟵ شاتل گلیسرول فسفات



دهیدروژنازها را اکسیدازهای بی‌هوازی هم می‌نامند.

دهیدروژنازهای وابسته به $NADP^+$ در مسیر پنتوز فسفات و بیوسنتز اسیدهای چرب وجود دارند.

اکسیژنازها: وابسته به NAD^+ در مسیر چرخه اسید سیتریک، گلیکولیز، زنجیره تنفسی میتوکندری

اکسیژنازها مستقیماً ورود اکسیژن به داخل سوبسترا را کاتالیز می‌کنند.

دی‌اکسیژنازها: تریپتوفان دی اکسیژناز هموژنتیزات دی‌اکسیژناز، ۳،۴- هیدروکسی ترانیلات دی اکسیژناز

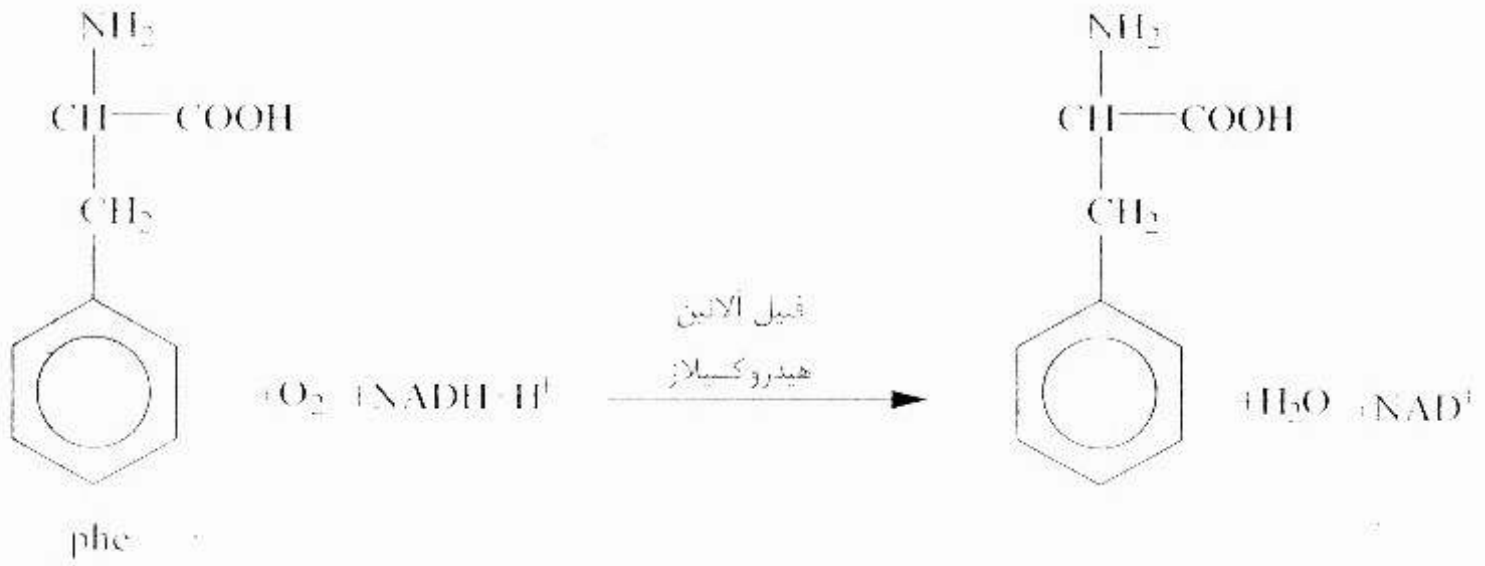
مونواکسیژنازها:

$$A + O_2 \longrightarrow AO_2$$

$$A + O_2 + NADH + H^+ \longrightarrow AOH + H_2O + NAD^+$$

یک اتم اکسیژن را وارد ساختمان سوبسترا و دیگری را به صورت آب در می‌آورند.

چون مونو اکسیژنازها در ساختمان سوبسترا یک گروه OH اضافه می‌کنند به آن‌ها هیدروکسیلاز گفته می‌شود.



www.Endbook.net

پراکسی‌زوم‌ها ← غنی از اکسیدازها (تولید H_2O_2) و کاتالاز (تجزیه H_2O_2) هستند.

$$Drug + O_2 + NADH + H^+ \xrightarrow[\text{cytp 450}]{\text{منواکسیژناز}} Drug{-}OH + H_2O + NAD^+$$

Drug + O₂ + NADH + H⁺ ← پیروپیرن، آنیلین، آمینو پیرین، مورفین، بنزفتامین

Drug — OH + H₂O + NAD⁺ ← حلالیت

cytp 450 ← شبکه آندوپلاسمی صاف کبد

حلالیت

آنزیم‌های اکسیداز را دهیدروژنازهای هوازی هم می‌گویند. از اکسیژن به عنوان پذیرنده هیدروژن استفاده می‌کند محصول واکنش این آنزیم‌ها آب یا پراکسید هیدروژن H_2O_2 است

پس مونواکسیژنازها در سم‌زدایی داروها هم نقش دارند.

هیدرو پراکسیدازها:

- کاتالاز ← از یک H_2O_2 به عنوان دهنده الکترون و از دیگر به عنوان پذیرنده الکترون استفاده می‌کند.
- پراکسیداز

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{کاتالاز}} 2H_2O + O_2$$

$$H_2O_2 + \text{ترکیب احیا کننده } (AH_2) \xrightarrow{\text{پراکسیداز}} \text{ترکیب اکسید } (A) + 2H_2O$$

$$H_2O_2 + \text{گلوتاتیون احیا} \xrightarrow{\text{گلوتاتیون}} \text{گلوتاتیون اکسید} + 2H_2O_2$$

سؤال)

کدامیک محصول مشترک آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز است؟ اکسیژن

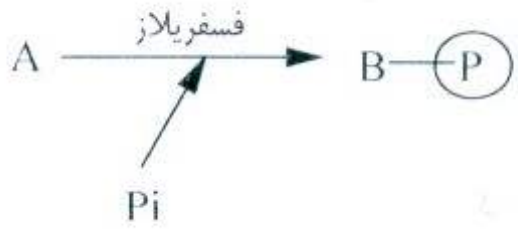
$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow[\text{سوپراکسید دسموتاز}]{\text{SOD}} H_2O_2 + O_2$$

O_2^- ← آنیون سوپراکسید

Class II : ترانسفرازها:

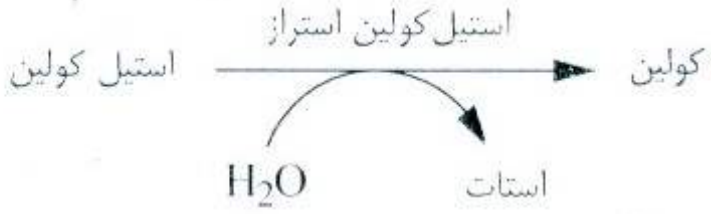
جابجایی گروه‌های عاملی را بر روی سوبسترا کاتالیز می‌کنند. آمینوترانسفراز، متیل ترانسفراز ترانس کتولاز، ترانس آلدولاز، کینازها، فسفریلازها، RNA و DNA پلی‌مرازها

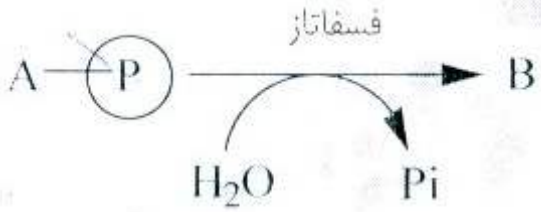
www.Endbook.net



Class III : هیدرولازها

با افزودن آب به سوبسترا باعث شکستن آن می‌شوند: آمیلاز، لیپاز، پپتین، تریپسین، استراز (استیل کولین استراز)، نوکلئاز، فسفاتاز، فسفودی استراز

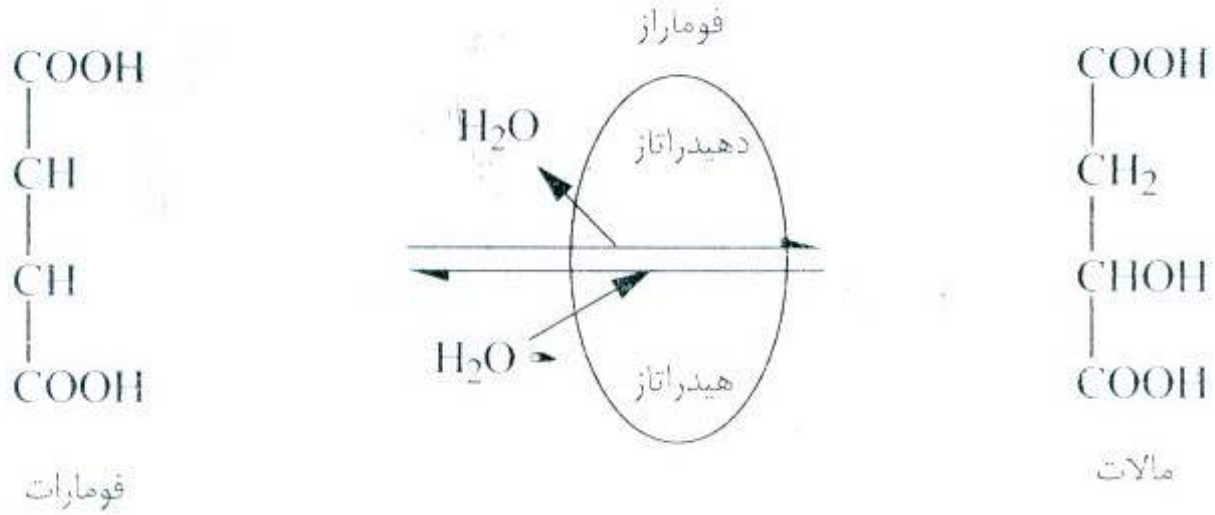




Class IV : لیازها:

با افزودن یک گروه عاملی به سوبسترا باعث حذف اتصال دوگانه می‌شوند یا با خارج کردن یک گروه عاملی از ساختمان سوبسترا، اتصال دوگانه ایجاد می‌کنند.

مانند سنتازها، دکربوکسیلازها، آلدولاز، فوماراز، انولاز، اکونیتاز، د آمیناز، نیولاز، هیدراتاز، دهیدراتاز



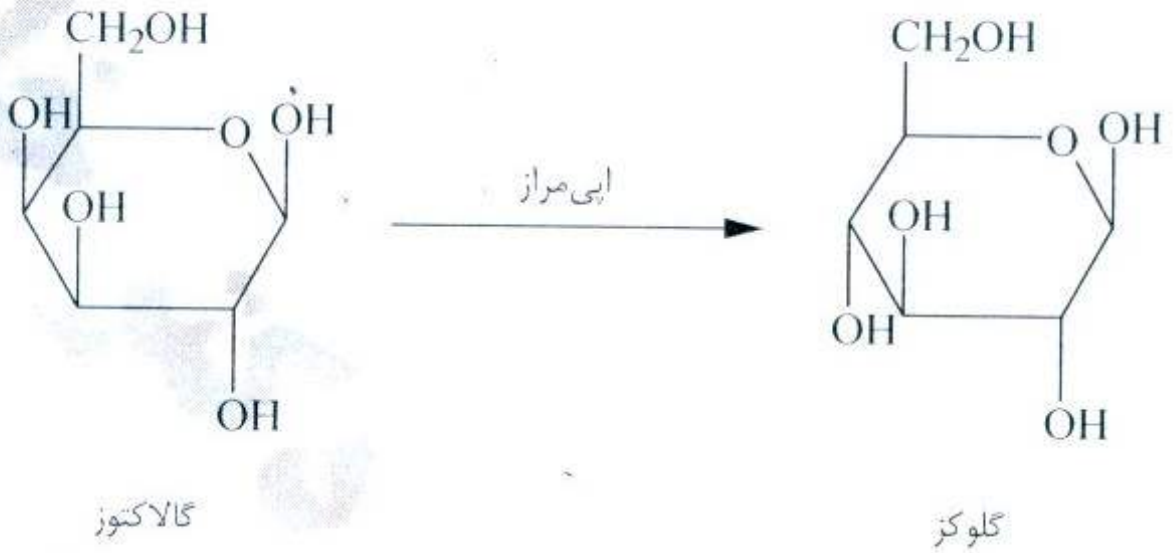
درست است که آب اضافه شده ولی سوبسترا شکسته نشده پس هیدرولاز نیست.

www.Endbook.net

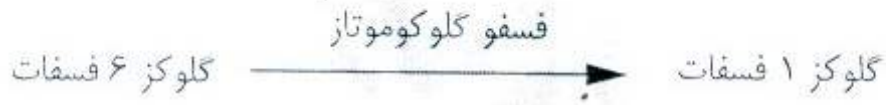
Class V ؛ ایزومرازها:

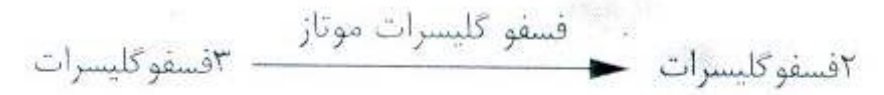
نوع آرایی درون مولکولی اتم‌ها را کاتالیز می‌کنند. مانند اپی‌مراز، موتاز، و راسماز

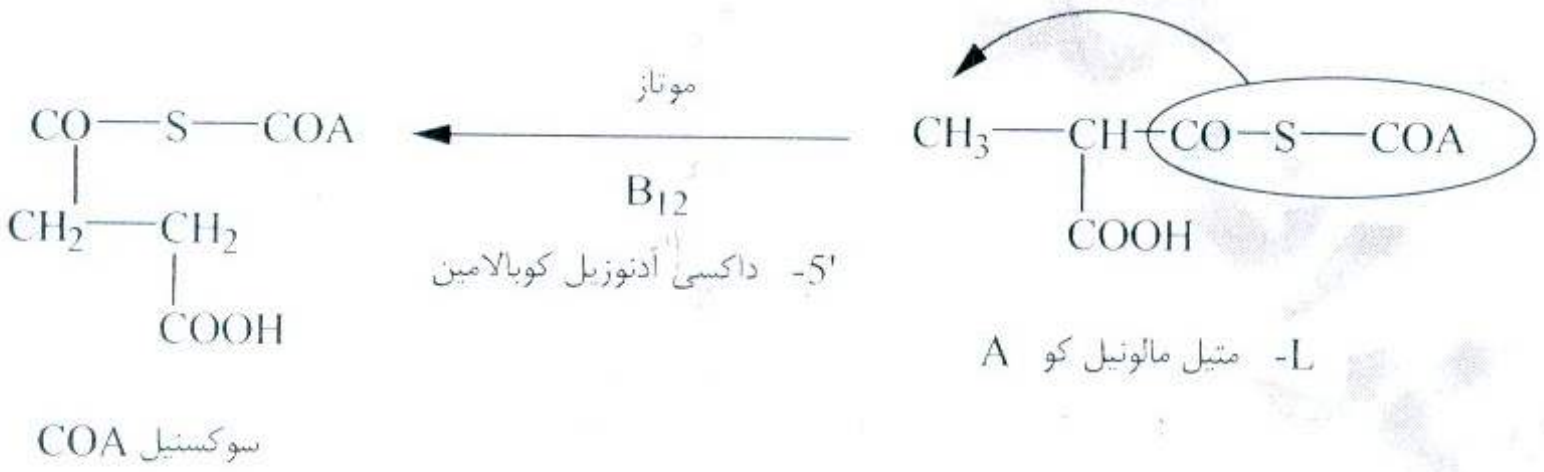
اپی‌مراز در تبدیل اپی‌مرها به یکدیگر نقش دارد. هر گاه تفاوت دو مولکول تنها در آرایش فضایی یک اتم کربن باشد آن دو را اپی‌مر می‌نامند.



موتاز در جابجایی درون مولکولی گروه‌های عاملی را کاتالیز می‌کند:







راسمازها در تبدیل ایزومرهای D و L به یکدیگر نقش دارند.

D متیل مالونیل کوآ ⟵ L متیل مالونیل کوآ ⟸ در اکسیداسیون اسید چرب فرد کربن

www.Endbook.net

Class VI ؛ لیگازها:

در اتصال دو ماده به هم نقش دارند.

مثال)

سنتتاز، کربوکسیلاز

تعیین فعالیت آنزیم:

(۱) واحد فعالیت آنزیم (IV):

یک IV مقدار آنزیمی است که در مدت ۱ دقیقه ۱ میکرومول سوبسترا را در شرایط مطلوب به محصول تبدیل می‌کند.

(۲) واحد کاتال:

یک کاتال مقدار آنزیمی است که در مدت ۱ ثانیه ، ۱ مول سوبسترا را به محصول تبدیل می‌کند.

(۳)فعالیت مخصوص:

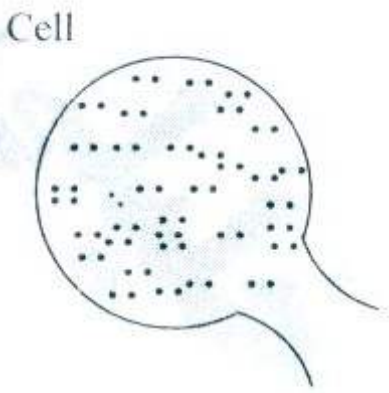
Specific activity

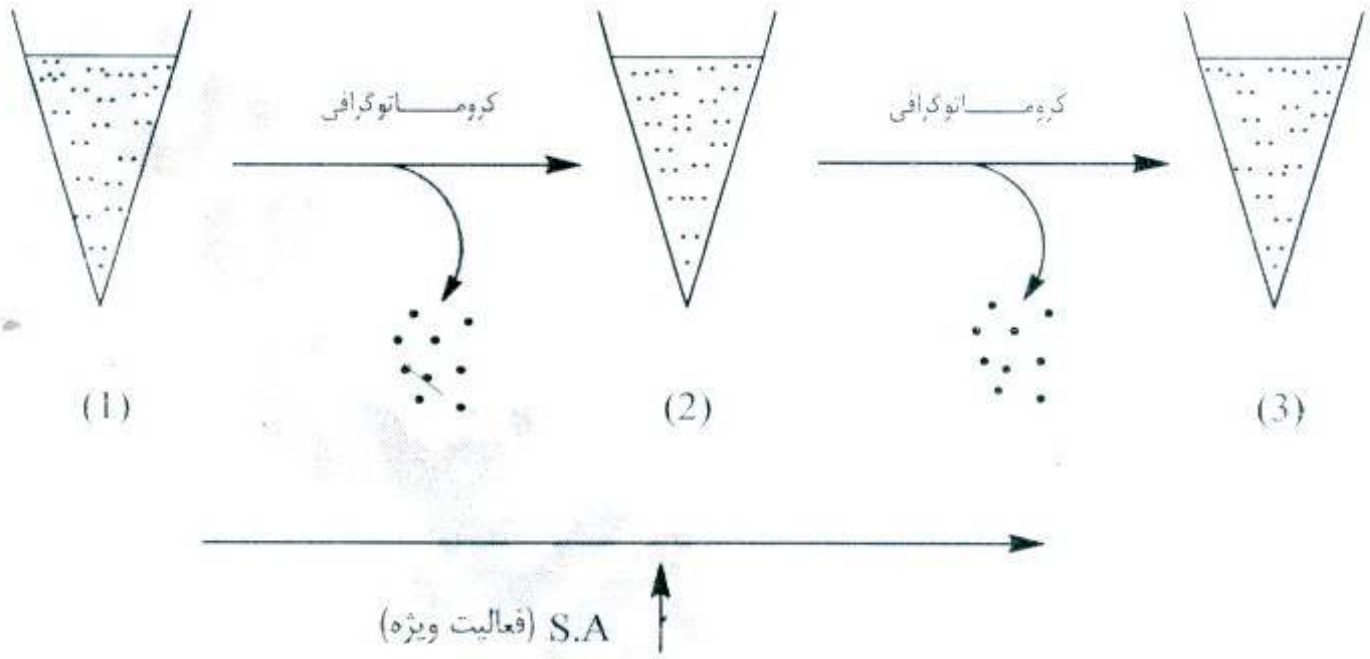
این پارامتر در فرآیند خالص‌سازی آنزیم‌ها تعیین می‌شود.

$$S.A = \frac{\text{تعداد IU}}{\text{پروتئین mg}}$$

www.Endbook.net

هر چه آنزیم خالص‌تر شود مقدار آن بیشتر خواهد بود.





سؤال)

یک محلول آنزیم که حاوی ۱۰ mg پروتئین است در مدت ۵ دقیقه ۲۰ میلی مول سوبسترا را به محصول تبدیل می‌کند. تعداد IU و فعالیت مخصوص را تعیین کنید.

$$\frac{۱۰\,m\,mol \times ۱۰۰۰ \rightarrow \mu\,mol}{۵} = ۲۰۰۰\ IU \qquad S.A = \frac{۲۰۰۰}{۱۰} = ۲۰۰$$

Keat

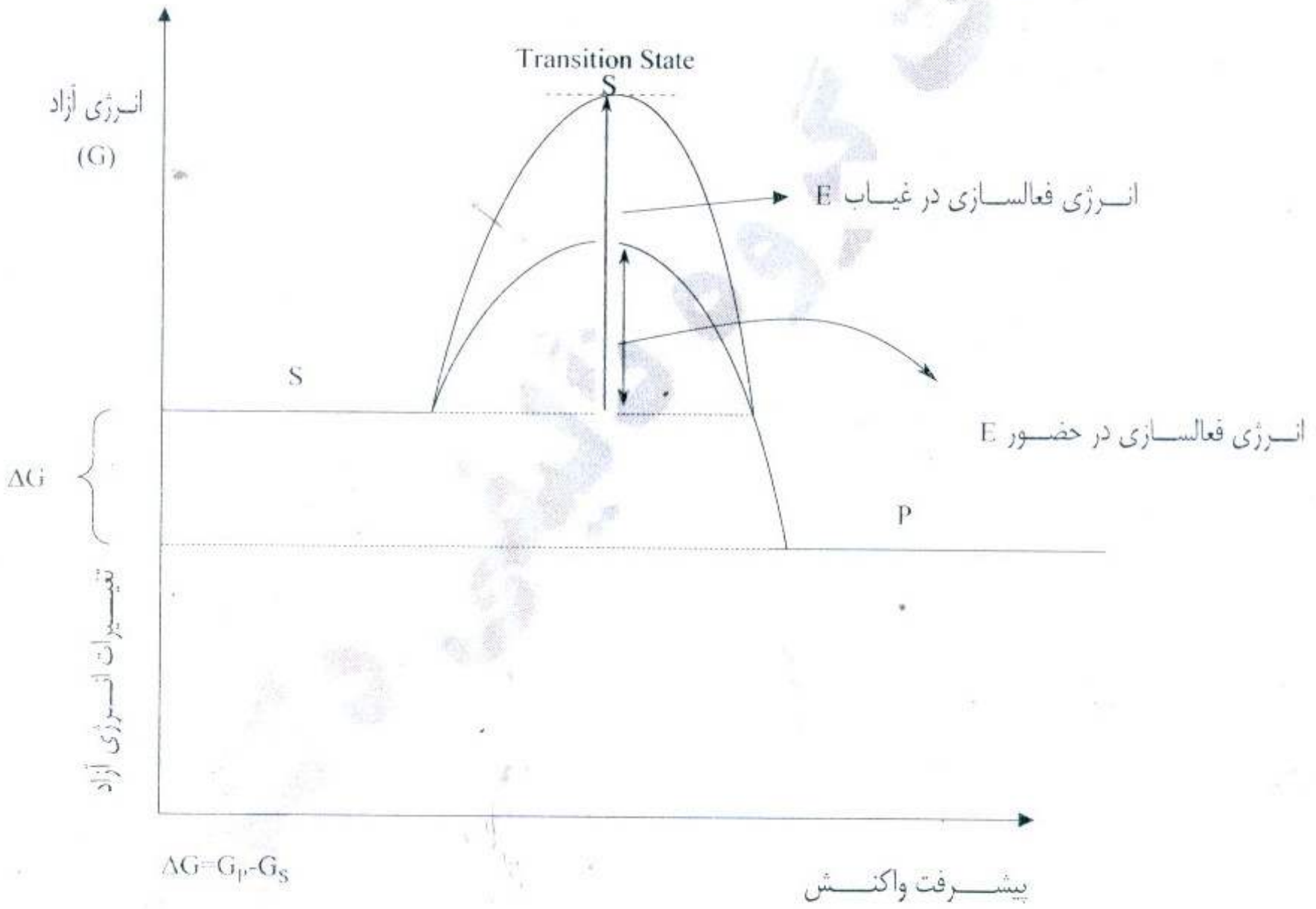
عدد تبدیل یا توسایی (Turnover number): تعداد مولکول‌های سوبسترا که در واحد زمان توسط هر مولکول آنزیم به محصول تبدیل می‌شوند ← از این تعریف برای شناسایی و مقایسه قدرت کاتالیزوری آنزیم‌ها استفاده می‌شود.

$$K_{cat} = \frac{V_{max}}{[E]}$$

www.Endbook.net

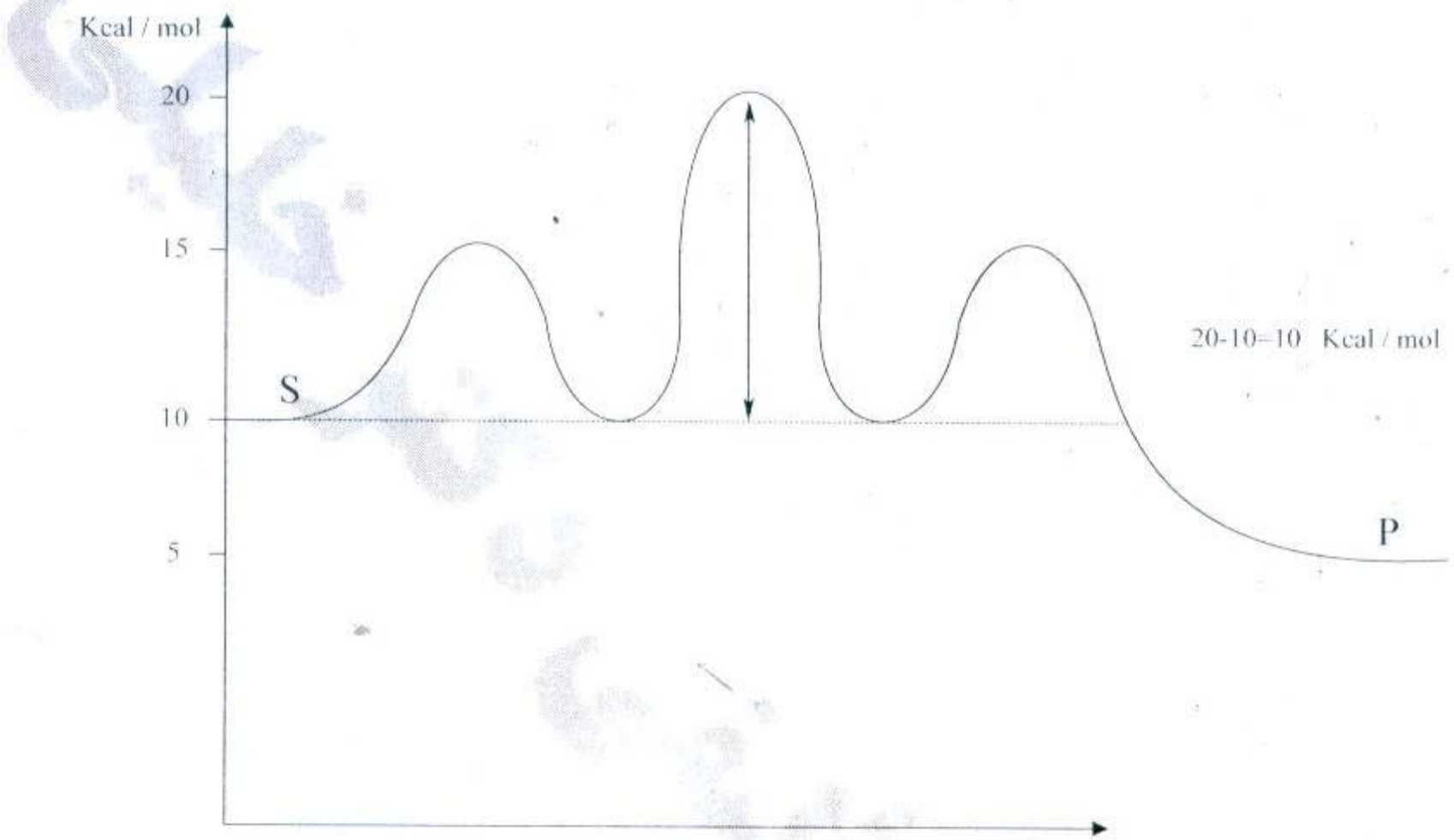
مکانیسم کاتالیز آنزیمی:

آنزیم‌ها با کاهش انرژی فعالسازی به سرعت انجام واکنش کم می‌کنند.



www.Endbook.net

در نمودار زیر انرژی فعالسازی را تعیین کنید.



کینتیک آنزیم:

در مبحث کنتیک عوامل مؤثر بر سرعت واکنش آنزیمی مطرح می‌شود.

۱- اثر pH بر فعالیت آنزیم:

اکثر آنزیم‌ها در pH حدود ۷ بیشترین فعالیت را دارند در حالی که آنزیم پپسین در pH =۲ ، اسید فسفاتاز در pH =۵ و آلکالاین فسفاتاز در pH =۹ ماکزیمم فعالیت را دارند.

سؤال)

تغییرات pH چگونه بر فعالیت آنزیمی اثر می‌گذارد؟

۱- تغییر کانفورماسیون

۲- تغییر وضعیت یونیزاسیون اسیدآمینه‌ها در جایگاه فعال

۳- تغییر وضعیت یونیزاسیون سوبسترا

۴- هر سه مورد

گزینه ۴ صحیح است.

۹۰

www.Endbook.net

اگر محیط اسیدی یا قلیایی شود بر روی COO^- سوبسترا هم تأثیر می‌گذارد پس گزینه ۲ هم درست است.

* هرچه K_m کمتر آنزیم تمایل بیشتری به سوبسترا دارد

* گلوتاتیون پراکسیداز از یک سلنوسیستئین در ساختار خود نیاز به سلنیوم دارد

هاپایی ← تیول پروتئاز
HIV پروتئاز ← آسپارتیل پروتئاز
کاتپسین ← آسپارتیل پروتئاز
کیموتریپسین ← سرین پروتئاز

* کربنیک انیدراز
الکل دهیدروژناز
کربوکسی پپتیدار
} برای فعالیت خود نیاز به Zn دارند

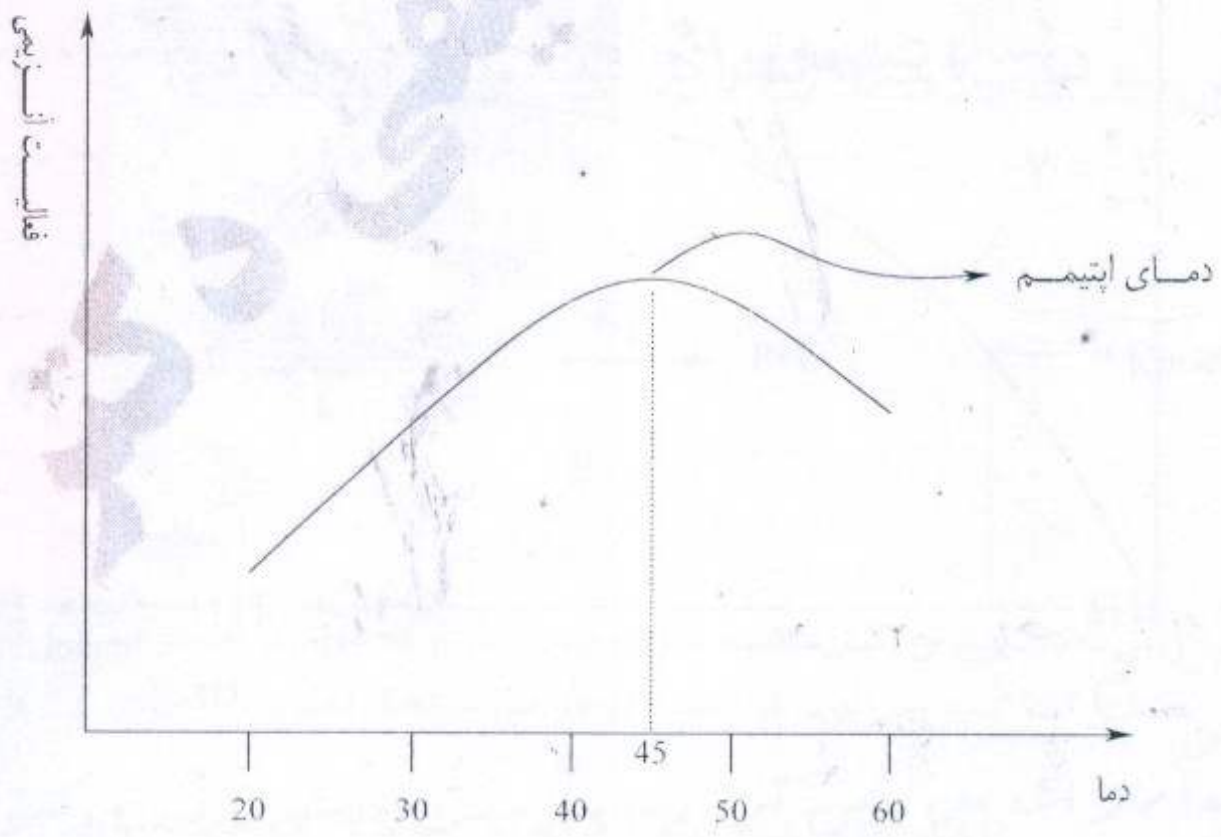
لاکتات دهیدروژناز ← سیتوزول
گالاکتوزیل ترانسفراز ← گلژی
گلوکز ۶ فسفاتاز ← شبکه آندوپلاسمی
گلوتامات دهیدروژناز ← میتوکندری

* اگر در واکنشی غلظت سوبسترا خیلی بیشتر از K_m باشد ← $V = V_{max}$

۲- اثر دما بر سرعت:

افزایش دما باعث افزایش سرعت واکنش‌ها می‌شود. با توجه به این‌که آنزیم‌ها ساختمان پروتئینی دارند در دماهای بالا دناتوره شده و غیرفعال می‌شوند.

$\frac{K_{cat}}{K_m}$ => با آن معیار کاتالیتیکی آنزیم‌های مختلف سنجیده می‌شود.



www.Endbook.net

آنزیم Taq پلیمراز که در PCR استفاده می‌شود می‌تواند دماهای بالای ۸۰ – ۷۰ را هم تحمل کند.

۹۲

قانون Q_{10}:

به ازای هر ۱۰ افزایش دما سرعت واکنش دو برابر می‌شود.

۳– اثر غلظت آنزیم:

با فرض ثابت بودن غلظت سوبسترا با افزایش غلظت آنزیم، سرعت واکنش زیاد می‌شود. V_{max} سرعتی است که در آن تمام مولکول‌های آنزیم از سوبسترا اشباع می‌باشند. با تغییر غلظت آنزیم می‌توان V_{max} را تغییر داد.

جلسه ششم:

۴– اثر غلظت سوبسترا بر سرعت:

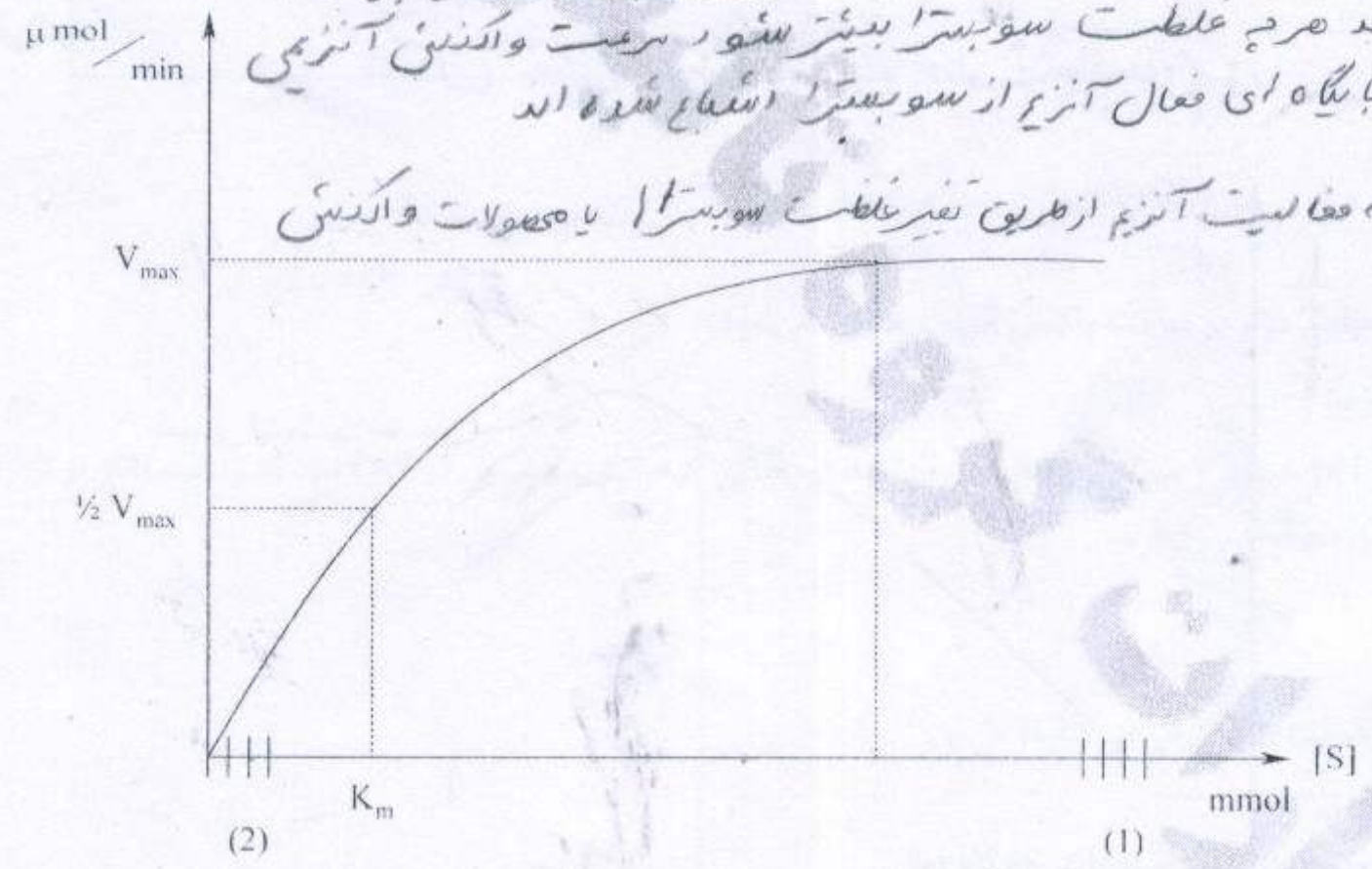
۱- $\uparrow\uparrow [S]$ ← غلظت سوبسترا

۲- $\downarrow\downarrow [S]$

۳- $[S]$ حد واسط

* با افزایش غلظت سوبسترا سرعت واکنش آنزیم افزایش می‌یابد تا به ماکزیمم یا V_{max} برسد. از این نقطه هرچه غلظت سوبسترا بیشتر شود، سرعت واکنش آنزیمی تغییر نمی‌کند زیرا جایگاه‌های فعال آنزیم از سوبسترا اشباع شده‌اند

- در واکنش‌های تعادلی، فعالیت آنزیم از طریق تغییر غلظت سوبسترا یا محصولات واکنش تنظیم می‌گردد.



(۱) در این حالت کینتیک واکنش از درجه صفر است، یعنی سرعت به غلظت سوبسترا بستگی ندارد.

$[S] \ggg K_m \Rightarrow V = K.[S]$

(۲) در این حالت کینتیک واکنش از درجه اول است، یعنی سرعت شدیداً به غلظت سوبسترا بستگی دارد به طوری که تغییرات

www.Endbook.net

ناچیز در غلظت سوبسترا با نوسانات شدید در سرعت همراه است:

$$[S] \ll K_m \Rightarrow V = K.[S]$$

هیچ یک از دو حالت فوق برای یک سلول زنده قابل تحمل نمی‌باشد به همین دلیل به طور ذاتی غلظت سوبسترا برای آنزیم‌های سلولی همواره در محدوده‌ای است که سرعتی برابر $\frac{۱}{۲} V_{max}$ را فراهم می‌کند. این غلظت را Km یا ثابت میکائیلیس می‌نامند.

واحد K_m $\Leftarrow$ mM

$$[S] = K_m \Rightarrow V = \frac{۱}{۲} V_{max}$$

نمودار بالا نمودار میکائیلیس – منتن نامیده می‌شود.

معادله میکائیلیس – منتن:

$$V = \frac{V_{max}.[S]}{K_m + [S]}$$

سؤال)

اگر در یک واکنش آنزیمی غلظت سوبسترا ۴ برابر Km باشد چه رابطه‌ای میان V و V_{max} برقرار است؟

$$[S] = nK_m \Rightarrow V = \frac{n}{n+۱} V_{max} \qquad V = \frac{۴}{۵} V_{max}$$

سؤال)

اگر در یک واکنش آنزیمی سرعت ۸۰٪ V_{max} باشد چه رابطه‌ای میان غلظت سوبسترا و Km برقرار است؟

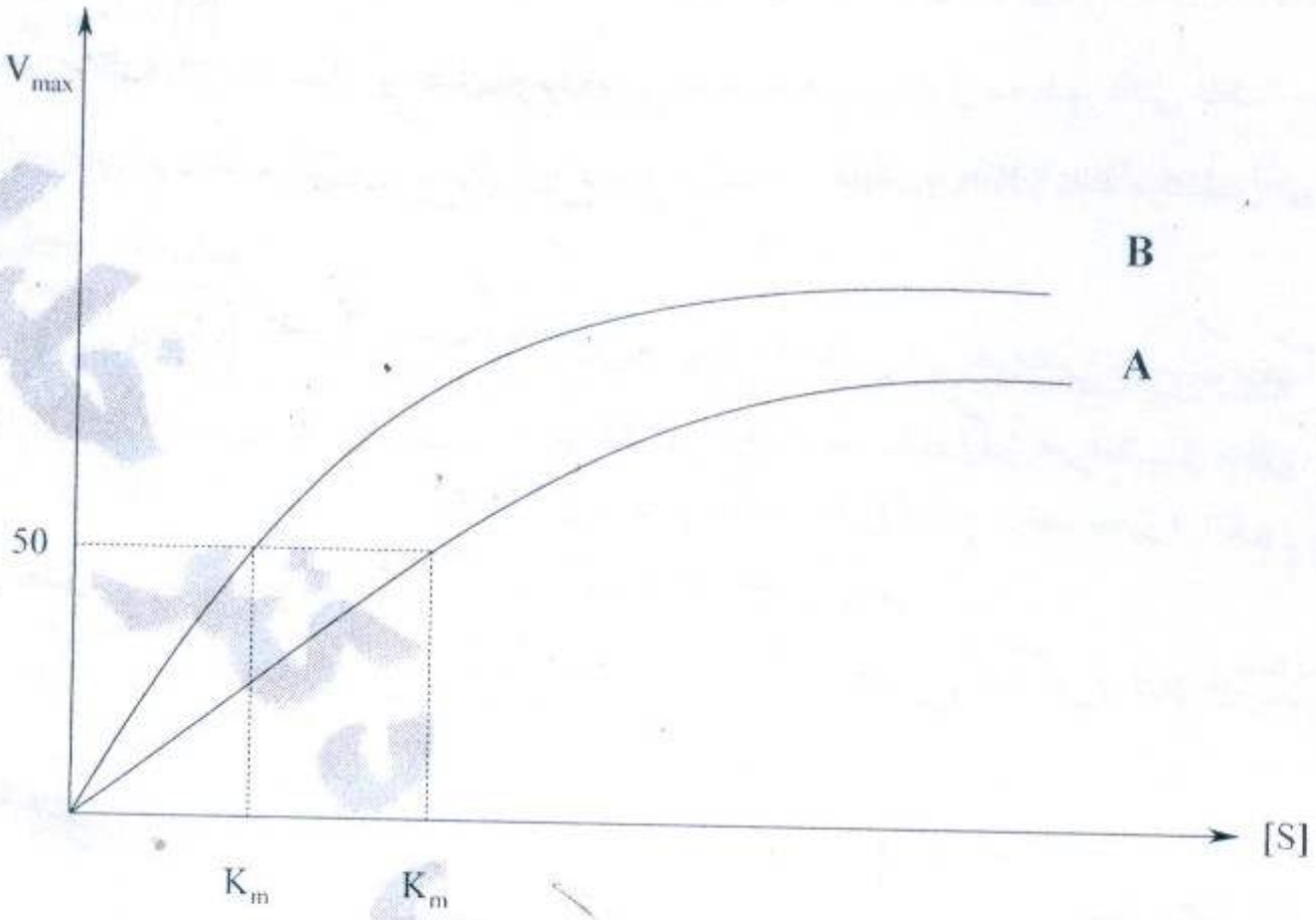
$$V = \frac{۴}{۵} V_{max} \Rightarrow [S] = ۴K_m$$

$$S + E \underset{K\text{-}1}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} SE \xrightarrow{K_2} P + E \qquad Km = \frac{K_{-1} + K_2}{K_1}$$

اهمیت Km:

Km در یک واکنش آنزیمی تحت شرایطی نشان دهنده میل ترکیبی آنزیم به سوبسترا است. هر چه Km برای آنزیمی بزرگ‌تر باشد یعنی میل ترکیبی به سوبسترا کمتر است، یعنی آنزیم در غلظت‌های بالا سوبسترا فعال است و برعکس.

www.Endbook.net

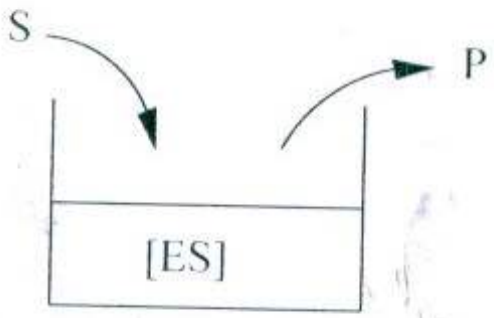


روابط و کنتیک میکائیلیس منتن بر پایه دو فرض استوار است:

۱- فعالیت آنزیم را در سرعت‌های اولیه اندازه گیری کردند. سرعت اولیه همان لحظات ابتدایی واکنش آنزیم با سوبسترا است. در این شرایط غلظت محصول بسیار ناچیز است به همین دلیل می‌توان از واکنش $E + P \longrightarrow ES$ صرف نظر کرد.

۲- میکائیلیس منتن حالت پایدار (steady state) را در نظر گرفتند. در این حالت تغییر غلظت کمپلکس آنزیم- سوبسترا در واحد زمان صفر است.

به ازای هر یک s که می‌آید یک p خارج می‌شود.



$$\frac{d\,[ES]}{dt} = 0$$

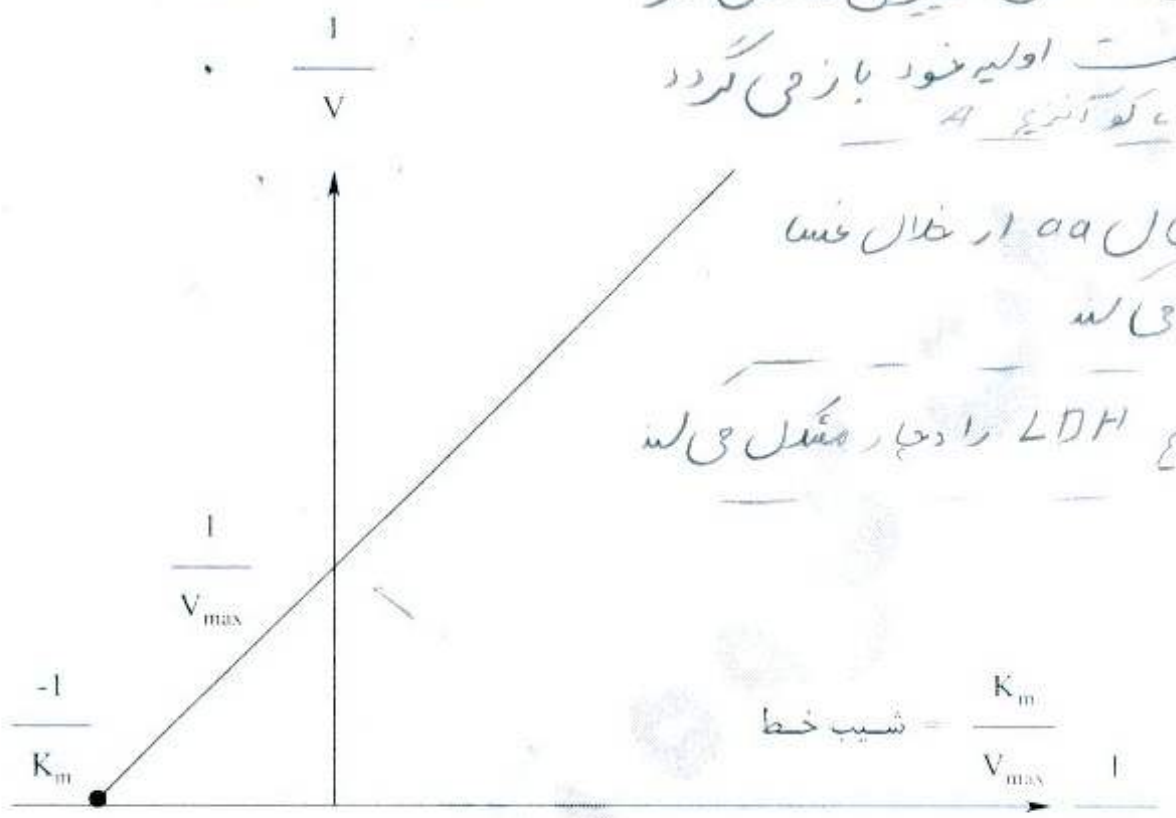
به دلیل سهمی بودن (هیپر بولیک) منحنی میکائیلیس ، Km و V_{max} به طور تقریبی حاصل می‌شود.
برای برطرف کردن این مسئله معادله میکائیلیس را وارونه کرده تا یک نمودار خطی بدست آید.

www.Endbook.net

معادله لاین ویور – برک:

$$y = mx + b$$

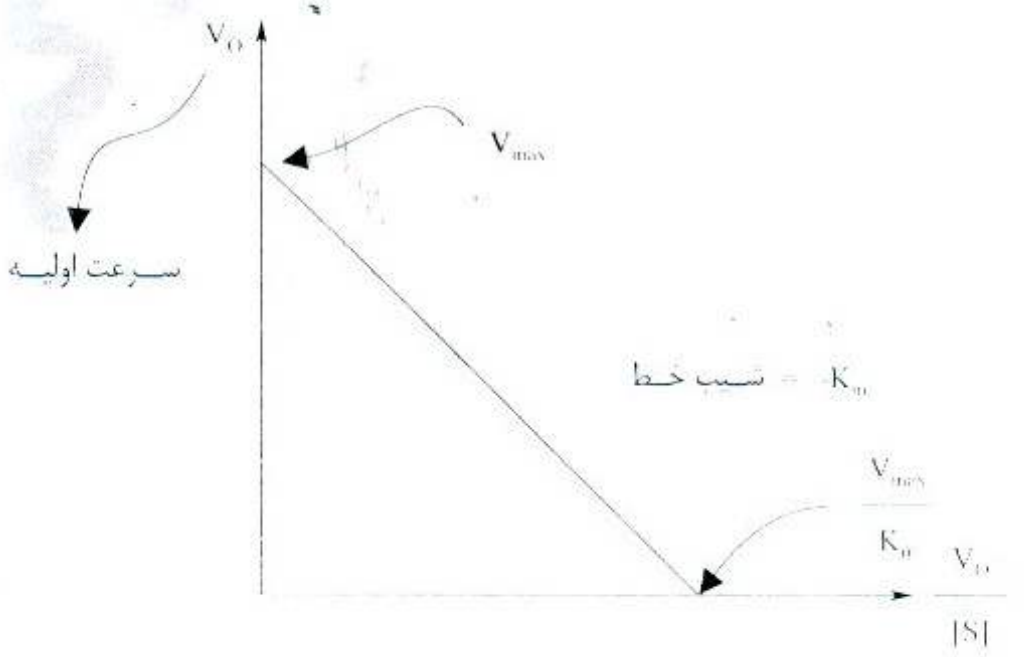
$$V = \frac{V_{max}.[S]}{K_m.[S]} \xrightarrow{\text{وارونه}} \frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$



سومین معادله‌ای که برای این مسئله بیان شده نمودار ادی – هافستی Eadi – Hofsste است.

معادله ادی – هامنستی

$$V_i = V_{max} - K_m \frac{V_i}{[S]}$$



www.Endbook.net

انواع مهار کننده‌های آنزیمی:

۱) مهارکننده‌های برگشت‌ناپذیر:

این مهار کننده‌ها با اتصال سخت و محکم و یا به طور کووالانسی به جایگاه فعال متصل شده و آنزیم را به طور دائمی غیرفعال می‌کنند.

این مهارکننده‌ها از قوانین میکائیلیس منتن تبعیت نمی‌کنند و از آن‌ها برای شناسایی اسید آمینه‌های کلیدی در جایگاه فعال آنزیم استفاده می‌کنند.

مثال)

۱- دی ایزو پروپیل فلوئوروفسفات (DIFP) :

DIFP با اتصال به اسیدآمینه سرین در جایگاه فعال آنزیم‌ها را مهار می‌کند. (مثل آنزیم‌های سرین پروتئاز، استیل کولین استراز)

با مهار استیل کولین استراز، غلظت استیل کولین در مغز افزایش می‌یابد. در تهیه گازهای جنگی اعصاب استفاده می‌شود. همچنین در حشره کش‌ها و سموم آفات نباتی هم استفاده می‌شود.

۲- یدواستات (یدو استامید):

با اتصال به اسیدآمینه سیستئین در جایگاه فعال آنزیم‌ها را مهار می‌کند. یدواستات آنزیم گلیسر آلدهید ۳ فسفات دهیدروژناز در گلیکولیز را مهار می‌کند.

۳- آسپرین (استیل سالیسلات) :

به طور برگشت ناپذیر و از طریق استیله کردن آنزیم سیکلو اکسیژناز در مسیر ساخت پروستاگلاندین‌ها را مهار می‌کند.

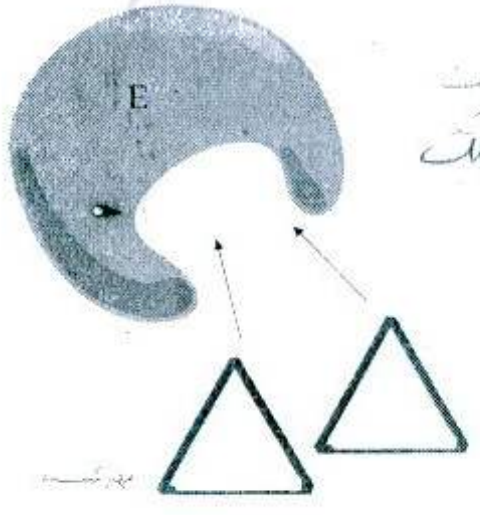
۴- آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین:

با مهار برگشت ناپذیر آنزیم **ترانس پپتیداز** در ساخت پپتیدوگلیکان دیواره باکتری‌ها عمل می‌کند.

مهارکننده‌های برگشت‌پذیر:

۱- مهارکننده‌های رقابتی (competitive):

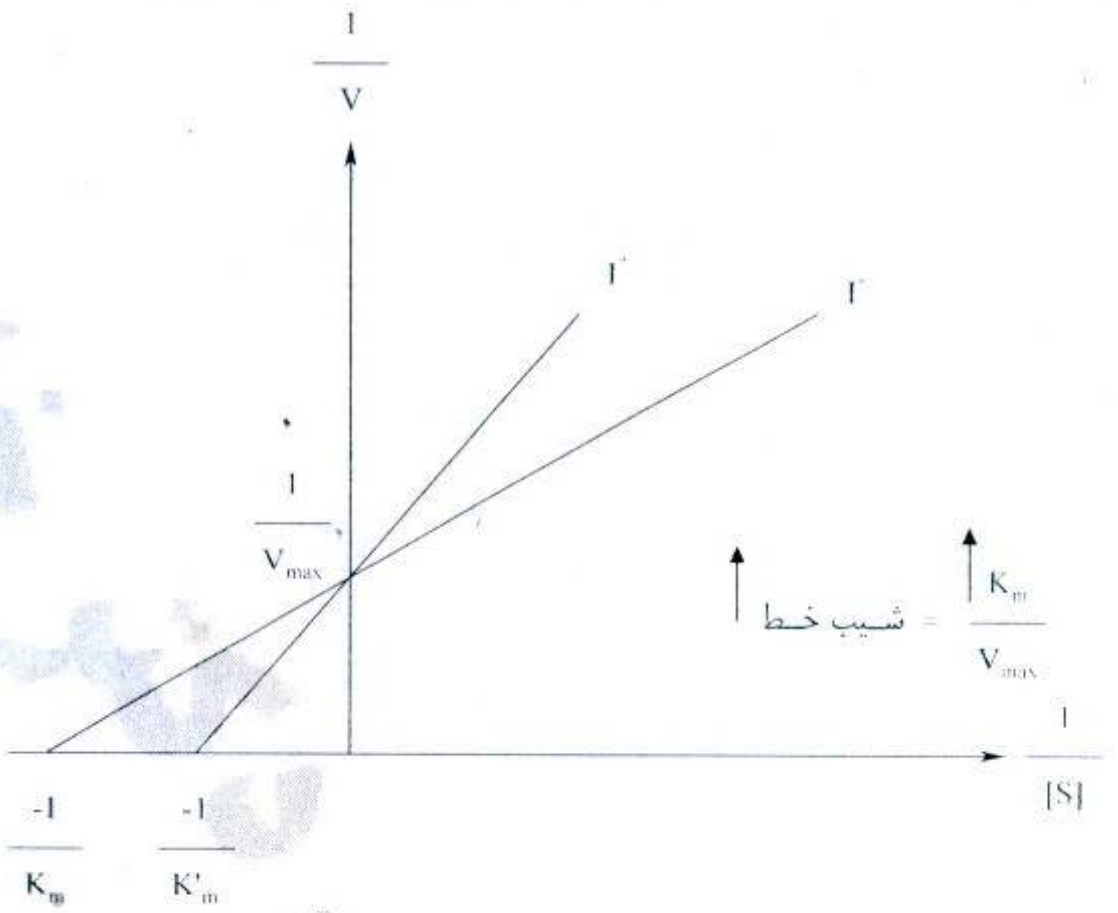
این مهارکننده‌ها به دلیل شباهت ساختمانی با سوبسترا برای اتصال به جایگاه فعال آنزیم رقابت می‌کنند.

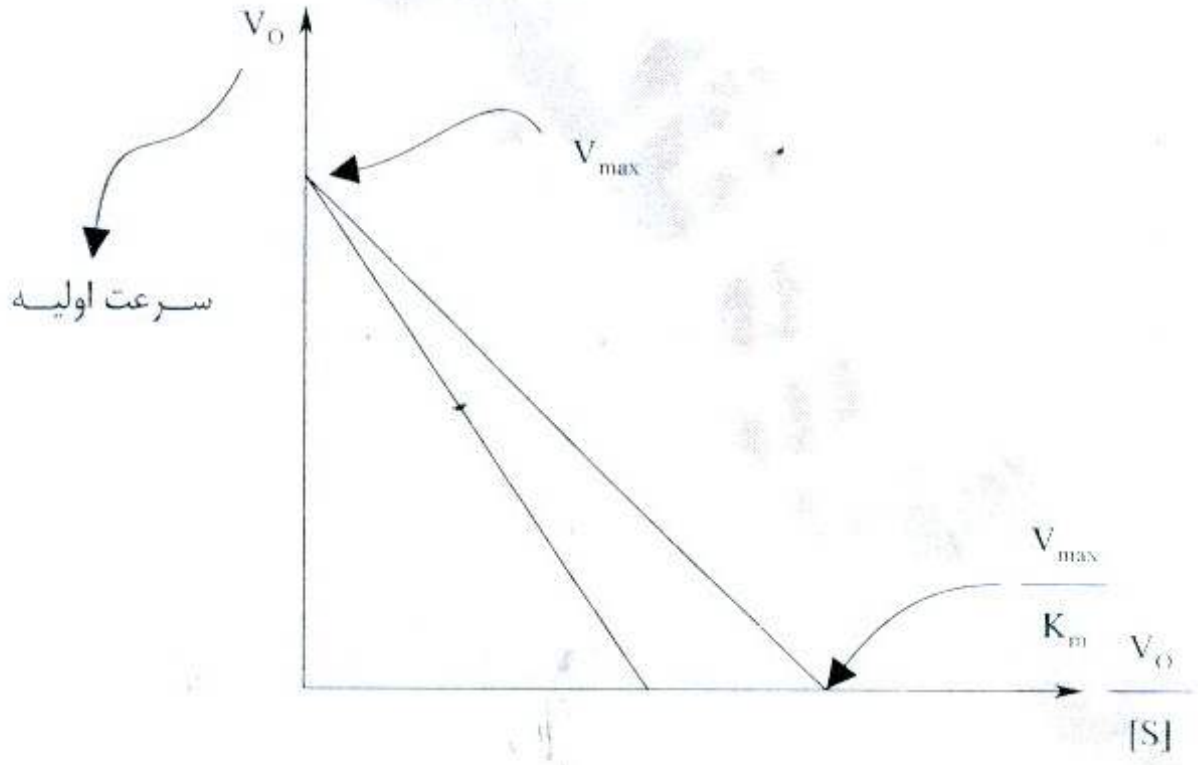


- اسید مالونیک مهارکننده رقابتی آنزیم سوکسینات دهیدروژناز است زیرا ساختمانی شبیه سوکسینیک اسید دارد

۹۴

www.Endbook.net





$$K'_m = \alpha K_m$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{Ki}$$

www.Endbook.net

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

$$+I \quad \Updownarrow Ki \quad EI$$

$$Ki = \frac{[E][I]}{[EI]} \rightarrow \text{چرا؟}$$

سؤال)

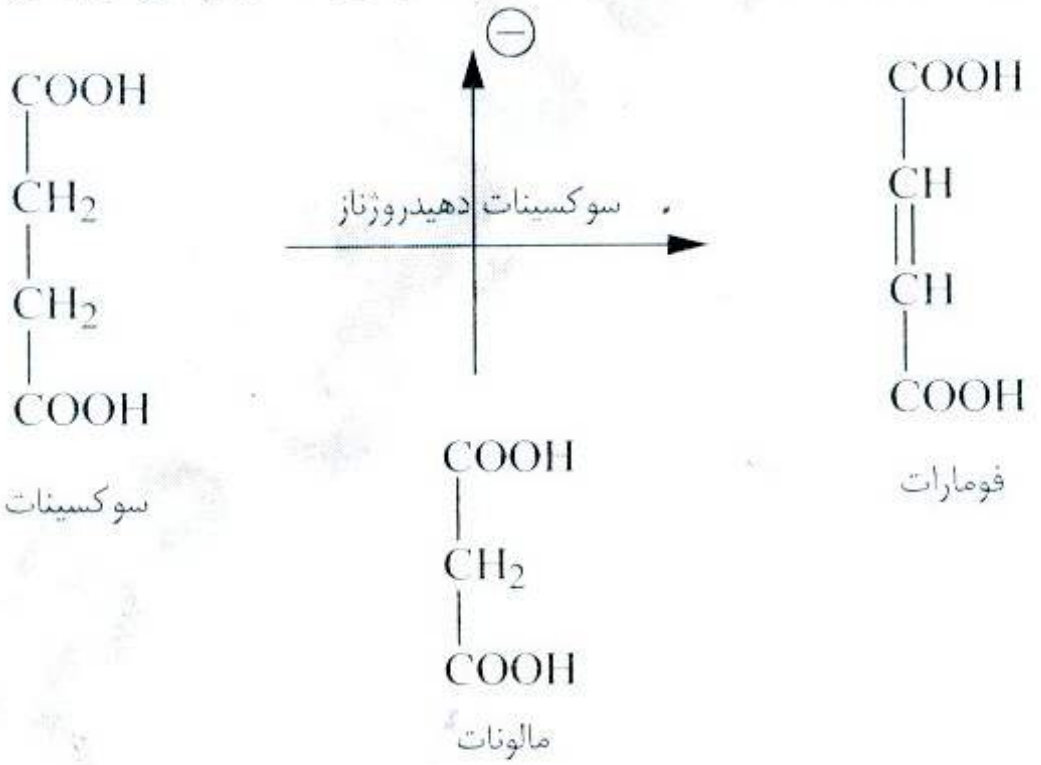
اگر در یک واکنش آنزیمی غلظت مهارکننده رقابتی و Ki برابر باشد، Km در حضور مهارکننده را تعیین کنید.

$$\alpha = ۱ + \frac{Ki}{Ki} = ۲۰ \Rightarrow K'_m = ۲K_m$$

مثال)

۱- مالونات:

به دلیل شباهت ساختمانی با سوکسینات آنزیم سوکسینات دهیدروژناز در چرخه کربس را به طور رقابتی مهار می‌کند.



۲- داروهای سولفانامیدی:

به دلیل شباهت ساختمانی با پاراآمینو بنزوئیک اسید (PABA : یک جزء ضروری برای ساخت اسید فولیک در باکتری‌هاست) باعث مهار سنتز اسیدفولیک و توقف رشد باکتری می‌شود.

۳- آلوپورینول:

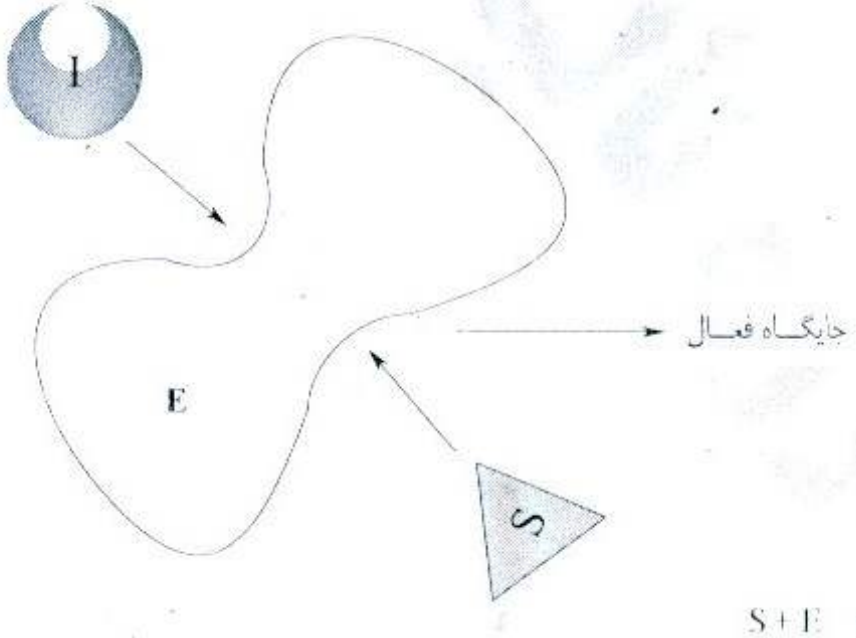
به دلیل شباهت ساختمانی با باز هیپو گزانتین، انزیم گزانتین اکسیداز در مسیر سنتز اسید اوریک را مهار کرده، باعث کاهش تولید اسید اوریک در بیماران نقرسی می‌شود.

www.Endbook.net

اگر فردی متانول دریافت کند، به او اتانول تزریق می‌کنند تا از طریق واکنش‌های بالا، جلوی کوری را بگیرند.

۲) مهارکننده‌های برگشت پذیر غیر رقابتی: noncompetitive

در این نوع مهار، مهارکننده به محل غیر از جایگاه فعال آنزیم متصل می‌شود. با افزایش غلظت سوبسترا اثر بازدارندگی مهارکننده کاهش نمی‌یابد.



$$S + E \rightleftharpoons SE \rightarrow E + P$$

I غیررقابتی — I غیررقابتی

Ki — Ki'

EI — ESI

www.Endbook.net

غیر رقابتی
- Pure: $Ki = K'i$ ← در طبیعت نادرند. اما در آزمون‌ها اگر نوع را مشخص نکنند منظورشان این نوع است.
- Mixed: $Ki \neq K'i$

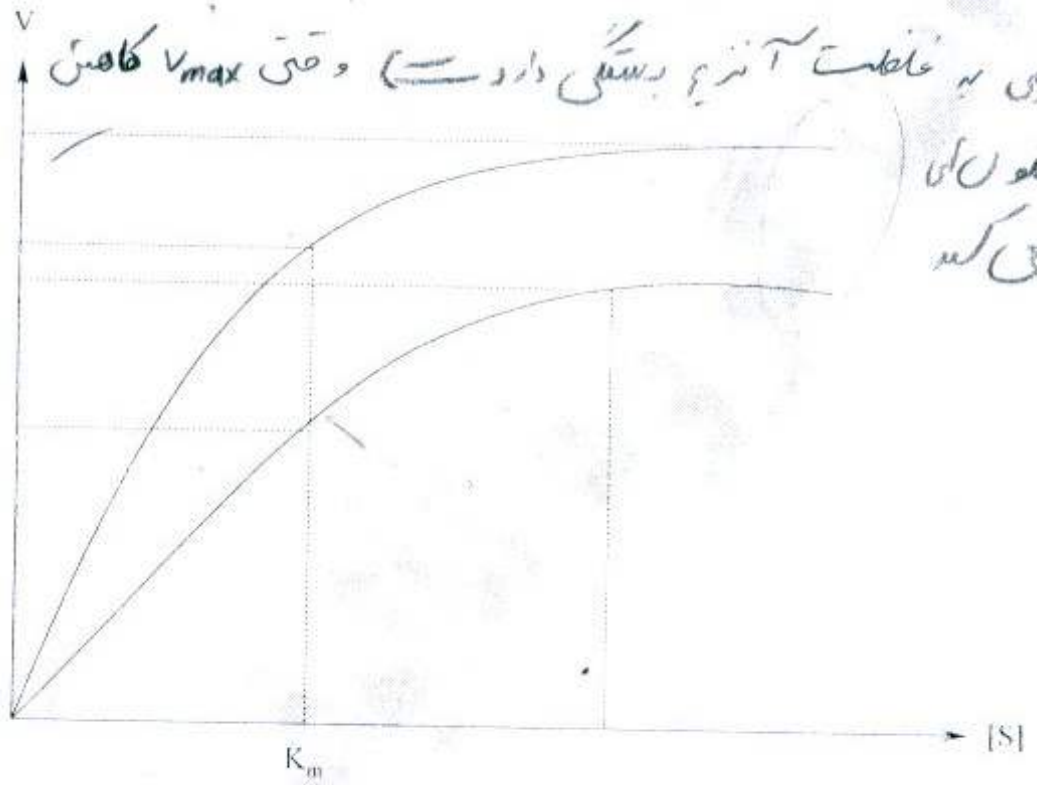
با شیب

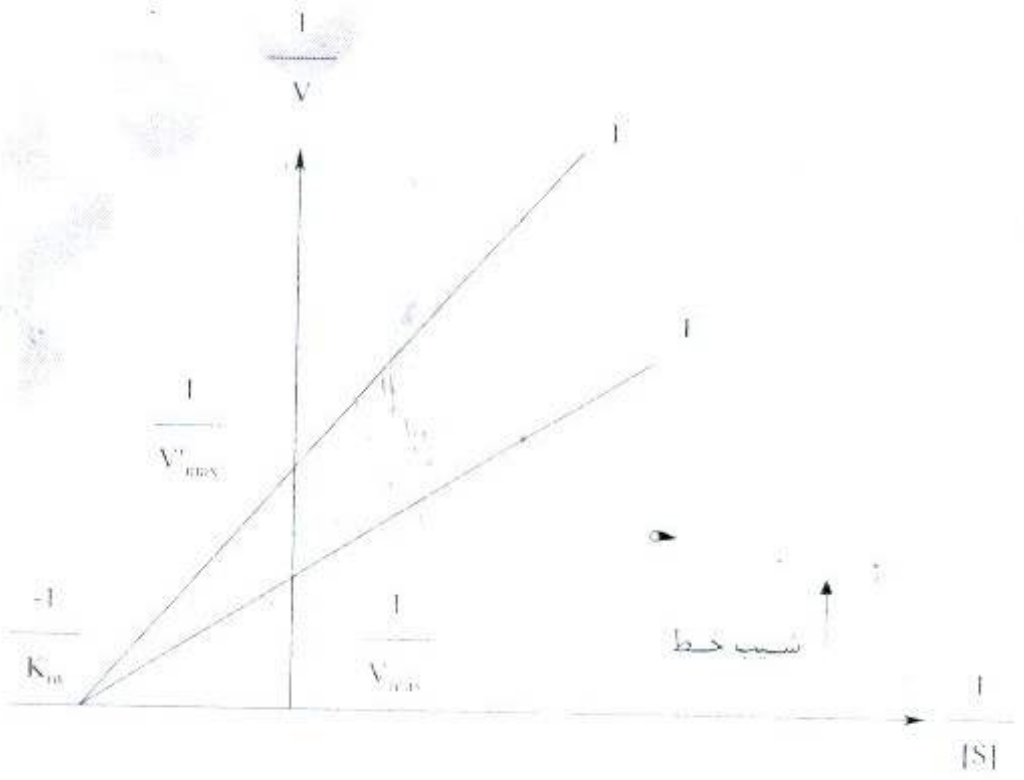
Km/V_{max}	V_{max}	K_m	
↑	—	↑	رقابتی
↑	↓	—	غیر رقابتی
—	↓	↓	نارقابتی

* در حضور مهارکننده غیر رقابتی خالص، Km ثابت، V_{max} کاهش و شیب خط افزایش می‌یابد.

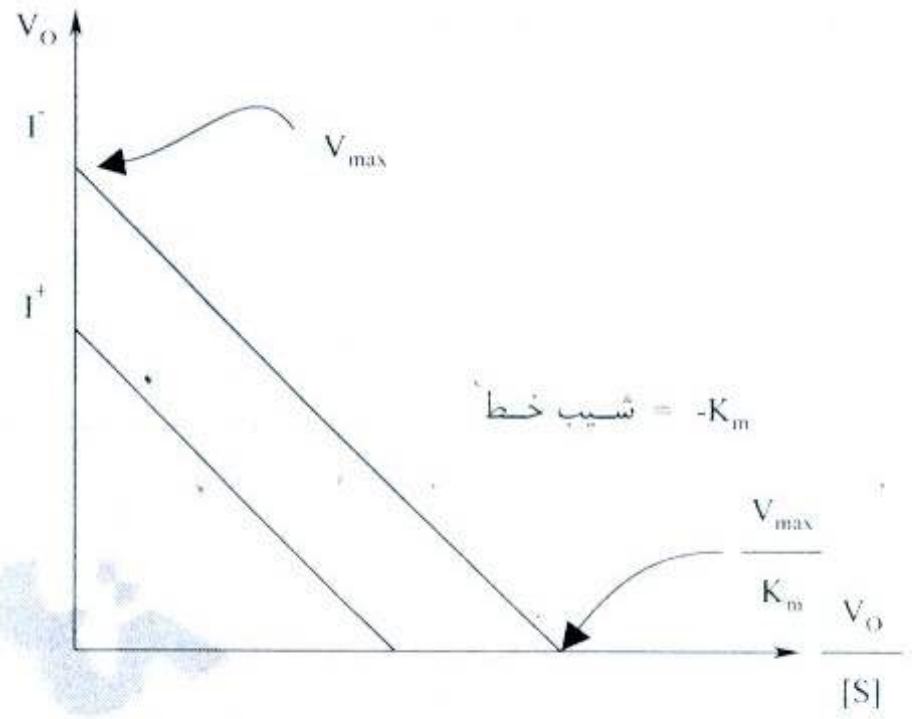
هر دو (K_2 ، K_1) را کم می‌کند پس $K_m = \frac{K_{-1} + K_2 \downarrow}{K_1 \downarrow}$

Km ثابت است. (چون هم با E و هم با SE واکنش می‌دهد)

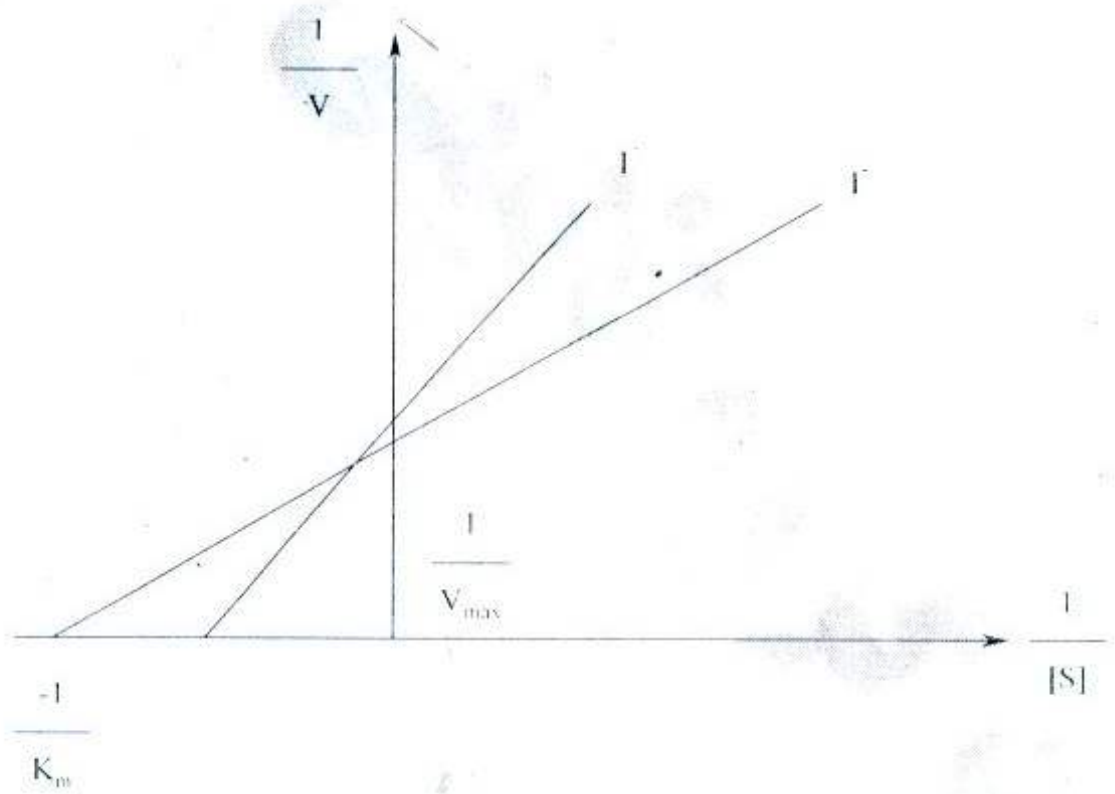




www.Endbook.net



اگر مهارکننده غیررقابتی از نوع Mixed باشد هم Km و هم V_{max} تغییر می‌کنند.



در سلول‌های مهار آنزیم‌ها توسط یون‌ها نمونه‌هایی از مهار غیر رقابتی می‌باشد.

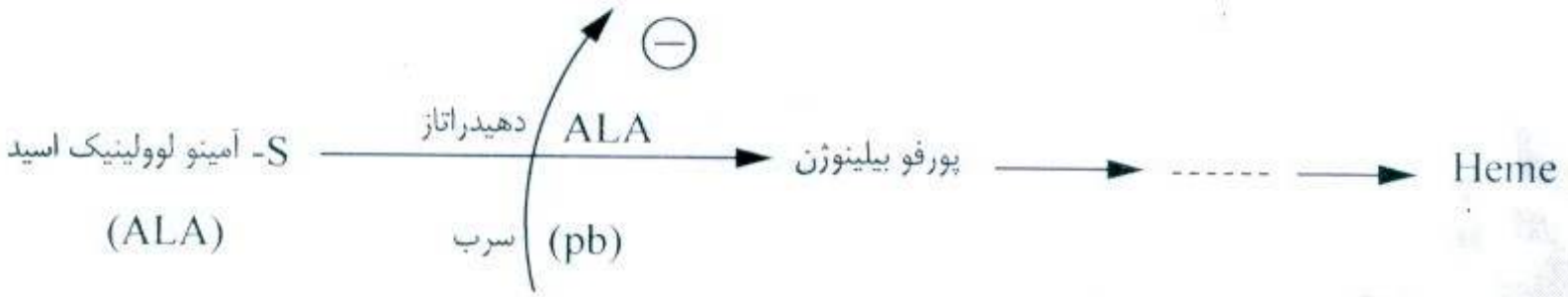
مثال)

۱- مهار آنزیم انولاز در مسیر گلیکولیز توسط فلوئور

۲- مهار آنزیم سیتوکروم اکسیداز در زنجیره تنفسی توسط سرامید (CN^-)

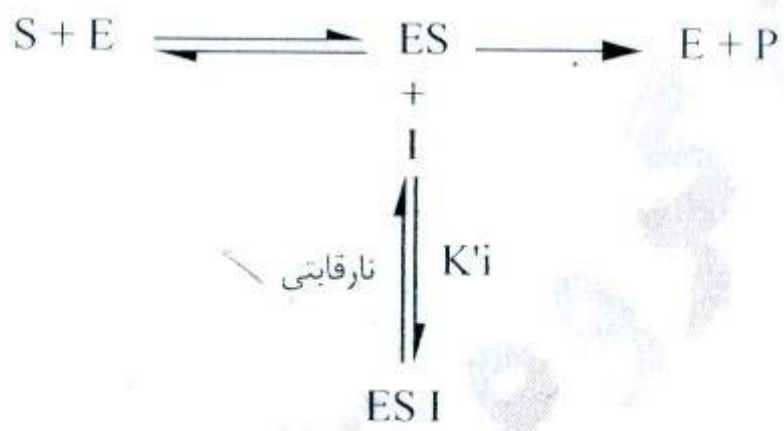
۳- مهار آنزیم ALA دهیدراتاز در مسیر سنتز هم توسط سرب

www.Endbook.net

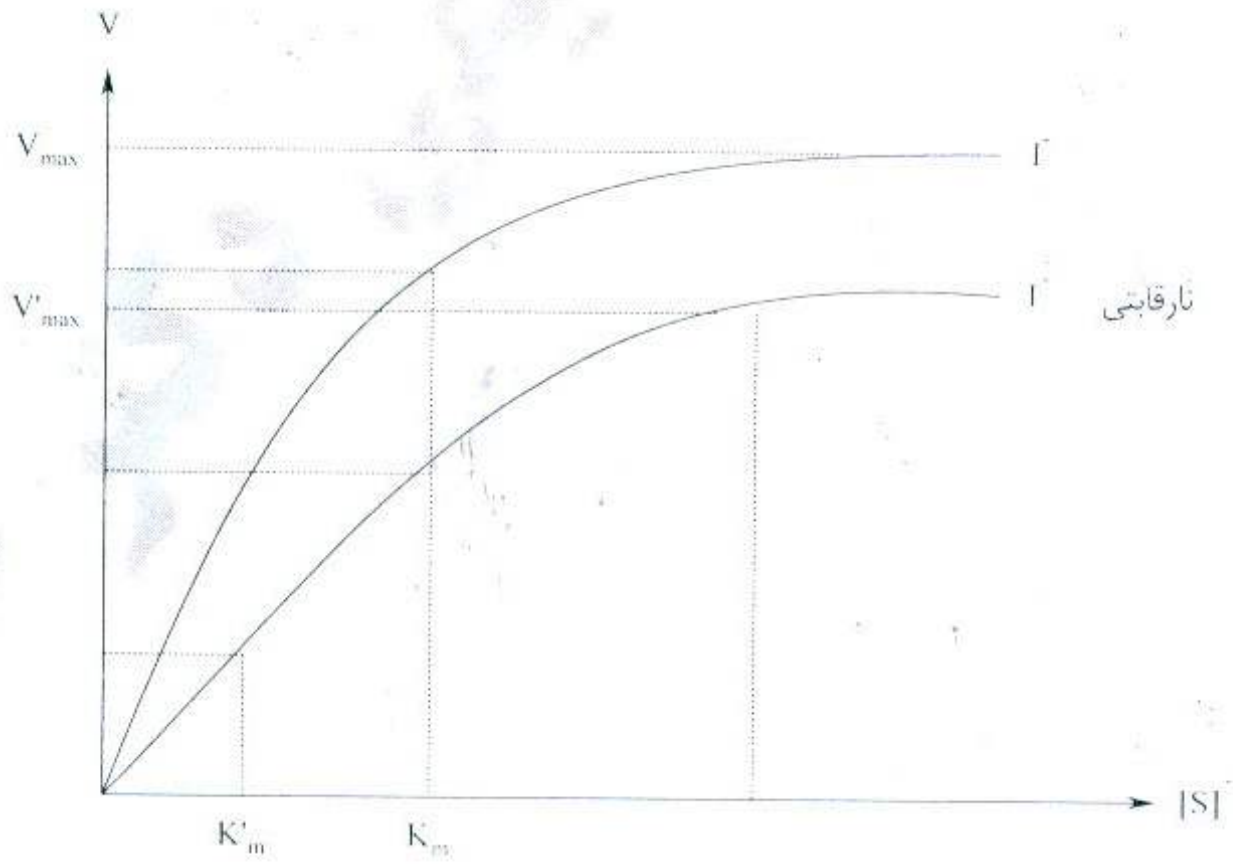


۳) مهار برگشت‌پذیر نارقابتی: uncompetitive

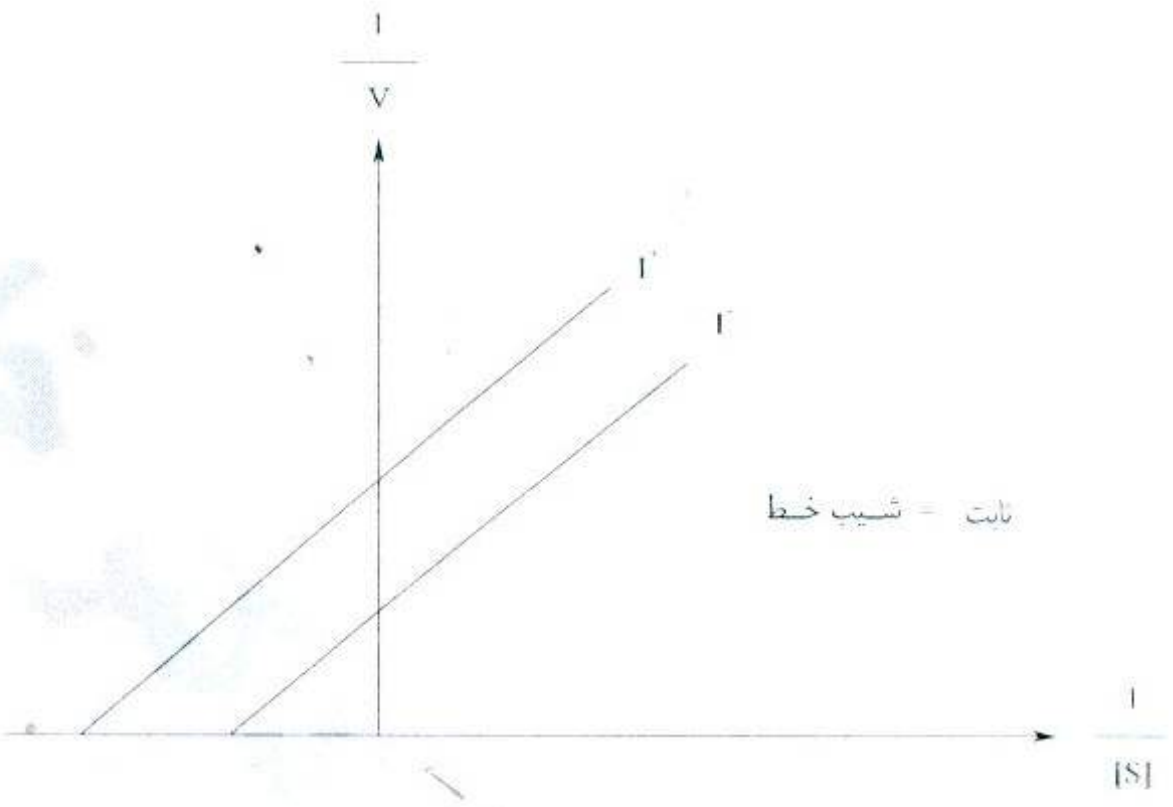
همانند مهار غیر رقابتی به محلی غیر از جایگاه فعال آنزیم متصل می‌شود. بنابراین با افزایش غلظت سوبسترا اثر بازدارندگی آن کاهش نمی‌یابد.

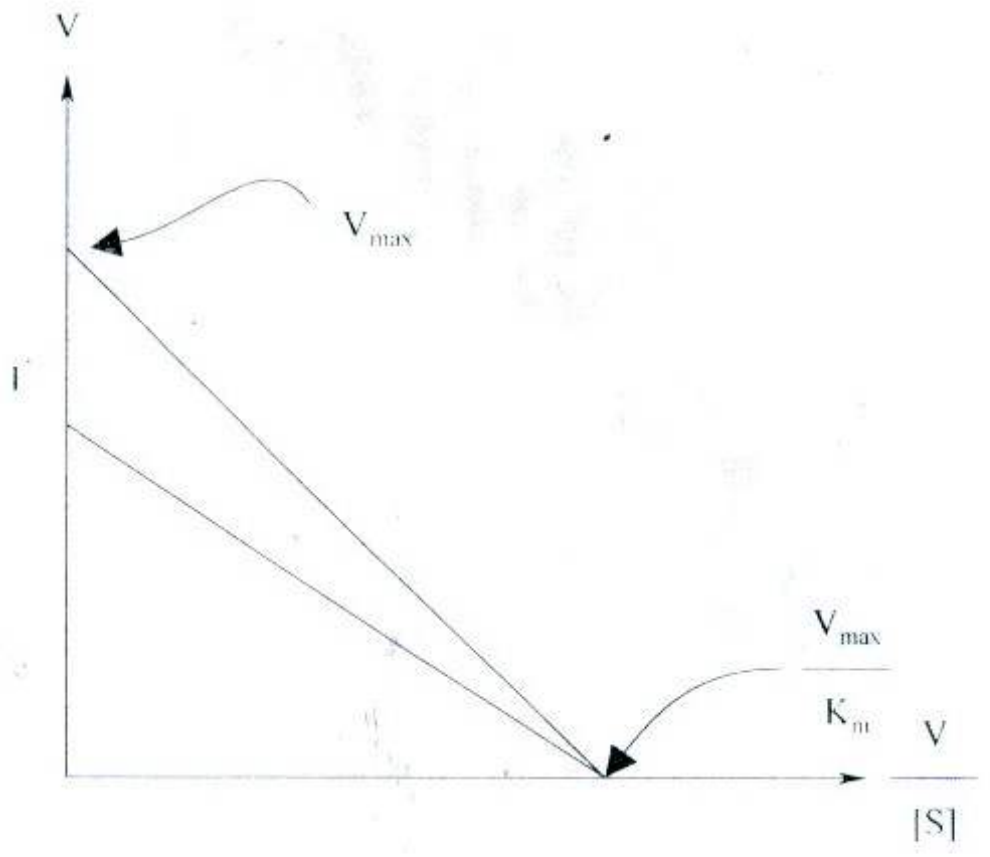


در حضور این نوع مهار Km و V_{max} کاهش ولی شیب خط ثابت باقی می‌ماند.



www.Endbook.net





مثال)

۱- مهار آنزیم آلکالاین فسفاتاز جفتی توسط فنیل الانین نوعی مهار نارقابتی محسوب می‌شود.

$$V'_{max} = \frac{V_{max}}{\alpha} \qquad K'm = \frac{Km}{\alpha}$$

www.Endbook.net

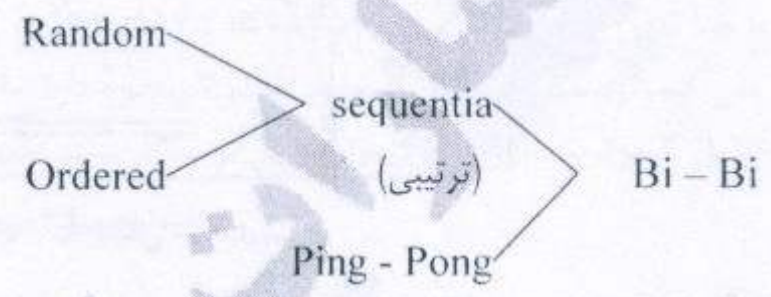
انواع واکنش‌های آنزیمی:

۱- $S \rightarrow P$ — uni – uni

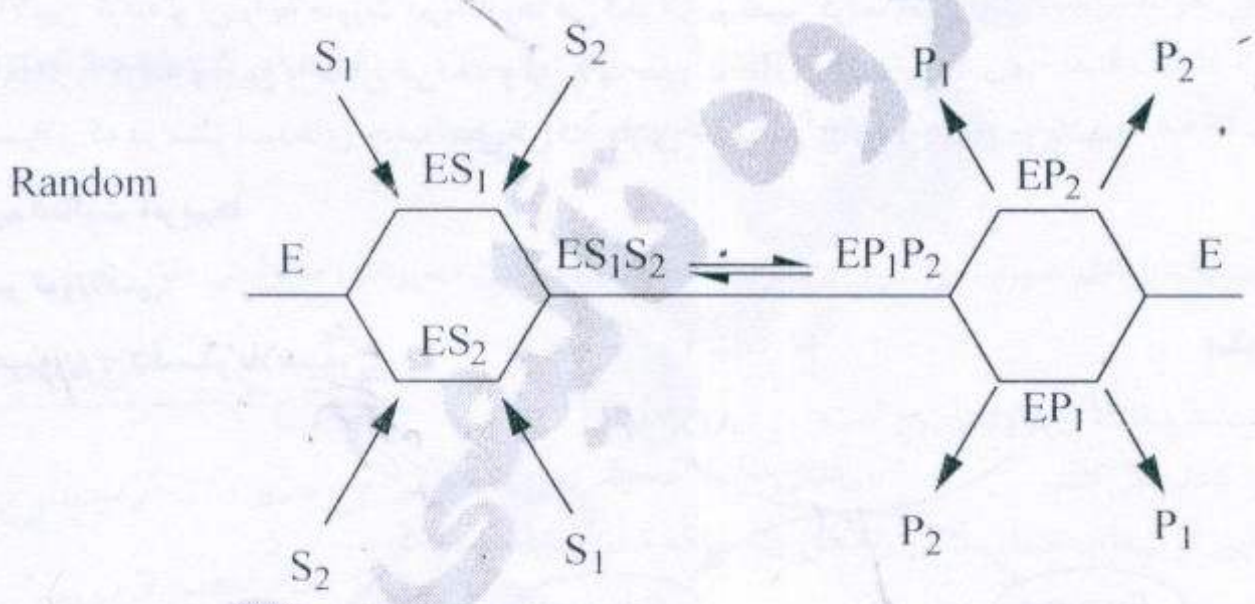
۲- $S_1 + S_2 \rightarrow P$ — Bi – uni

۳- $S \rightarrow P_1 + P_2$ — uni – Bi

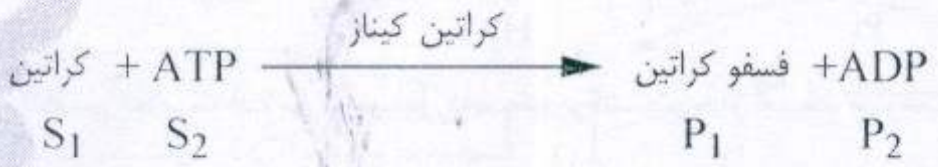
۴- $S_1 + S_2 \rightarrow P_1 + P_2$ — Bi – Bi ← اکثر واکنش‌های بدن از این نوع‌اند.

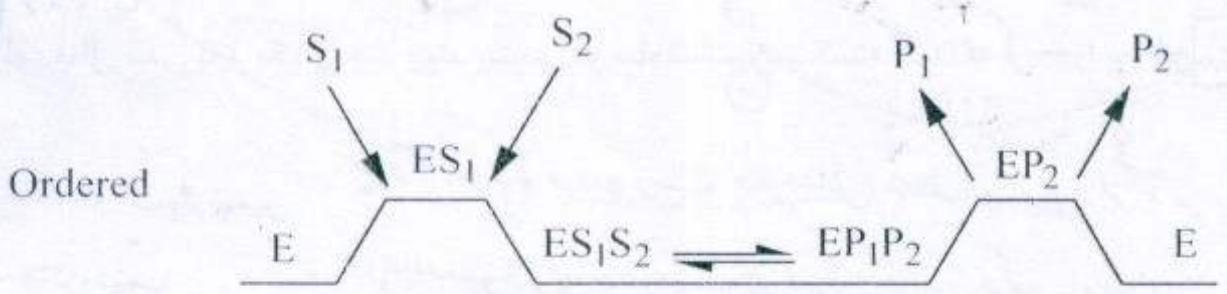


در این حالت آمدن sها و خارج شدن pها تصادفی است.



کینازها به این روش عمل می‌کنند:



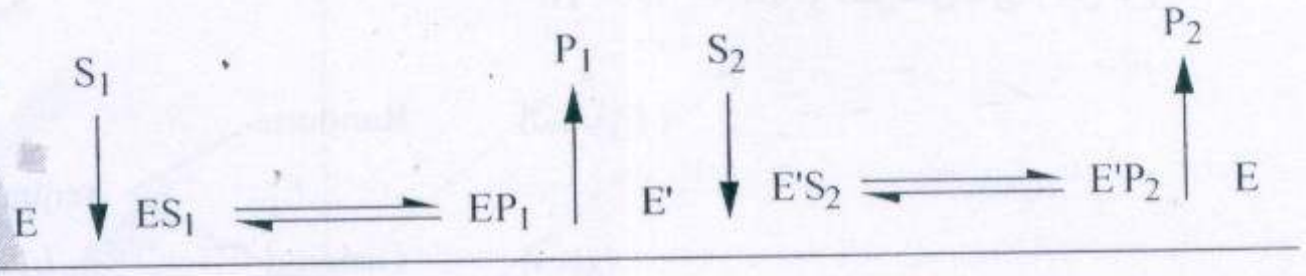


www.Endbook.net

دهیدروژنازهای وابسته به NAD^+ به این روش عمل می‌کنند.

$$\text{اتانول} + NAD^+ \xrightarrow[\text{الکل دهیدروژناز}]{} \text{استالدهید} + NADH$$

Ping-Pong :



در این روش کمپلکس سه تایی نداریم. آنزیم در وسط واکنش تغییر می‌کند آنرا با E′ نشان می‌دهیم.

ترانس آمینازها به این روش عمل می‌کنند:

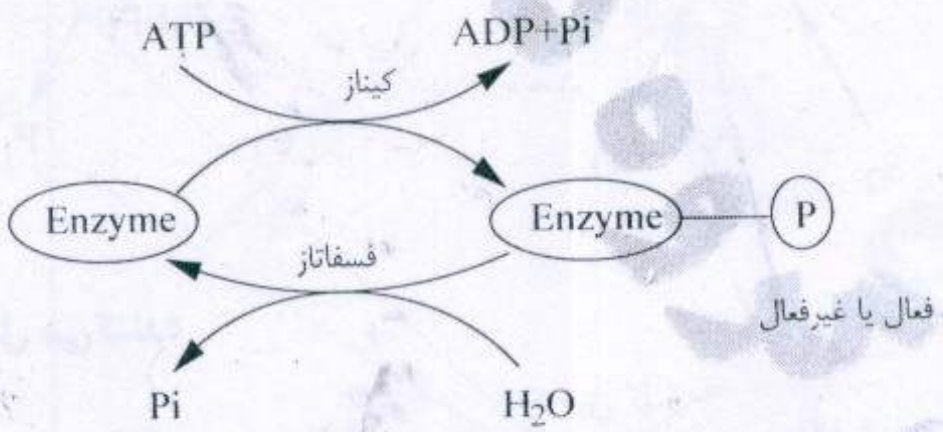
$$\text{آلانین} + \alpha\ KG \xrightarrow{\text{آلانین آمینو ترانسفراز}} \text{پیرووات} + \text{گلوتامات}$$

آنزیم، آمین را از آلانین گرفته و آن را به صورت پیروات رها می‌کند. آنزیم تغییر کرده، آمین دارد.
در مرحله بعد αKG را گرفته و آمین را به آن می‌دهد و آن را به صورت Glu رها می‌کند.
استیل کوآ کربوکسیلاز که در سنتز اسیدهای چرب عمل می‌کند دارای مکانیسم ping-pong می‌باشد.

انواع روش‌های تنظیم فعالیت آنزیم‌ها

۱- تنظیم با واسطه تغییر کووالانسی:

الف) فسفریلاسیون - دفسفریلاسیون؛



متداولترین و مهمترین روش تنظیم فعالیت آنزیم در سلول‌هاست. برگشت‌پذیر است. سرعت بالایی دارد. برای سلول کم هزینه است (تنها با مصرف یک ATP)

ب) تجزیه پروتئولیتیکی؛

برخی از آنزیم‌ها برای فعال شدن باید یک یا چند پیوند پپتیدی در ساختمانشان شکسته شود که آن‌ها را پرو آنزیم یا زیموژن می‌نامند.

مثل)

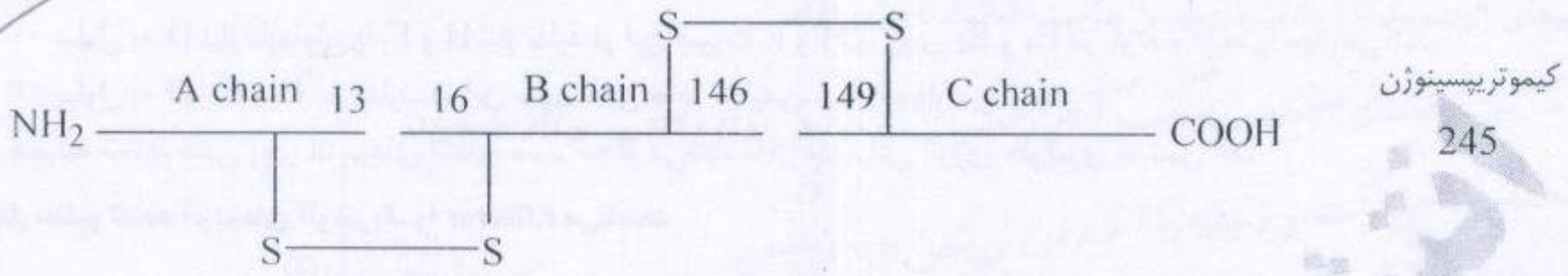
کیموتریپسینوژن ⟵ کیموتریپسین

پروترومبین ⟵ ترومبین

این واکنش‌ها برگشت ناپذیرند.

پرو آنزیم‌ها به صورت غیرفعال هستند برخی از آنزیم‌های دستگاه گوارش (پپسینوژن، تریپسینوژن، پروکربوکسی پپتیداز و ...) و فاکتورهای انعقاد (پروترومبین، فیبرینوژن و ...) به این شکل فعال می‌شوند

www.Endbook.net



با جدا شدن اسیدآمینه‌های شماره ۱۴ ، ۱۵ ، ۱۱۷ ، ۱۴۸ به کیموتریپسین تبدیل می‌شود.
پس کیموتریپسین هم مثل انسولین است. ۳ زنجیره دارد اما چون پیوندها از نوع دی‌سولفیدی است ساختمان چهارم ندارد.
تبدیل کیموتریپسینوژن به کیموتریپسین توسط تریپسین صورت می‌گیرد.

کیموتریپسینوژن ⟶ کیموتریپسین
(تریپسین)

۲- تنظیم با واسطه القا با سرکوب سنتز آنزیم:

این نوع تنظیم مختص آنزیم‌هایی است که در شرایط فیزیولوژیک خاص با دوره خاصی از رشد و نمو لازم هستند. بدن خیلی از این روش استفاده نمی‌کند چون هزینه بر است.

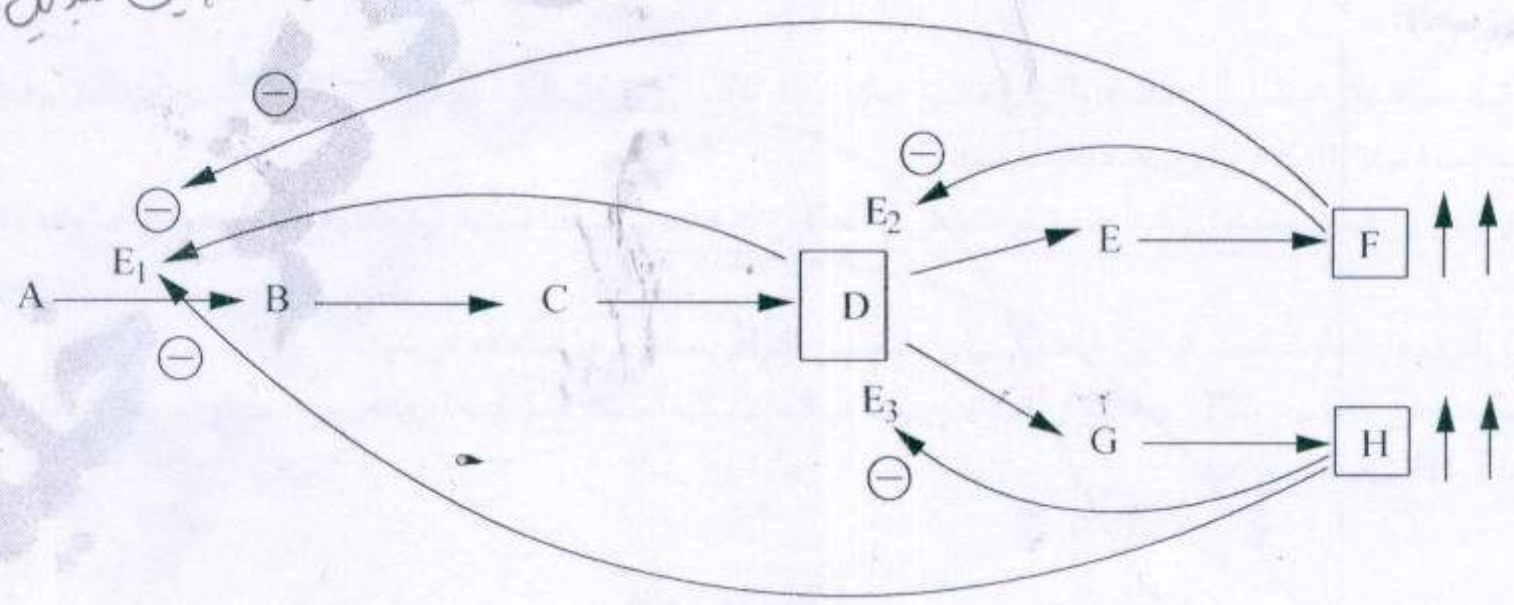
بعد از صرف وعده غذا که غلظت قند خون افزایش یابد سنتز آنزیم گلوکوکیناز در سلول‌های کبد توسط انسولین القا می‌شود. در حالی که بین دو وعده غذایی که قند خون کاهش می‌یابد سنتز آنزیم در کبد سرکوب می‌شود.

۳- تنظیم آلوستریک:

که توسط آنزیم‌های آلوستریک با ناظم صورت می‌گیرد. این آنزیم‌ها در تنظیم سرعت مسیرهای متابولیکی نقش دارند.

ویژگی‌های آنزیم‌های آلوستریک:

معمولاً چند زیرواحدی هستند و تعداد زیرواحدها زوج است.
واکنش‌های یک طرفه را کاتالیز می‌کنند.
در مسیرهای متابولیکی این آنزیم‌ها در ابتدای مسیر یا محل چند شاخه شدن مشاهده می‌شوند.



www.Endbook.net

۱- سلول به D نیاز دارد ولی به F و H نیاز ندارد در این صورت F و H بر روی E_2 و E_3 اثر کرده و آن‌ها را مهار می‌کنند.

۲- سلول به D ، E و H نیاز ندارد. در این صورت این نقاط تنظیمی، E_1 را مهار می‌کنند.

همیشه تنظیم شدن روی آنزیم‌های ابتدای مسیر انجام می‌شود تا از هدر رفتن انرژی جلوگیری به عمل آید.

عوامل تنظیم کننده آنزیم‌های آلوستریک را Effector می‌نامند:

⊕ آنهایی که با اتصال به آنزیم، میل ترکیبی آن را به سوبسترا افزایش می‌دهند.

(فعال کننده)

Effector

⊖ آنهایی که با اتصال به آنزیم، میل ترکیبی آن را به سوبسترا کاهش می‌دهند.

(مهار کننده)

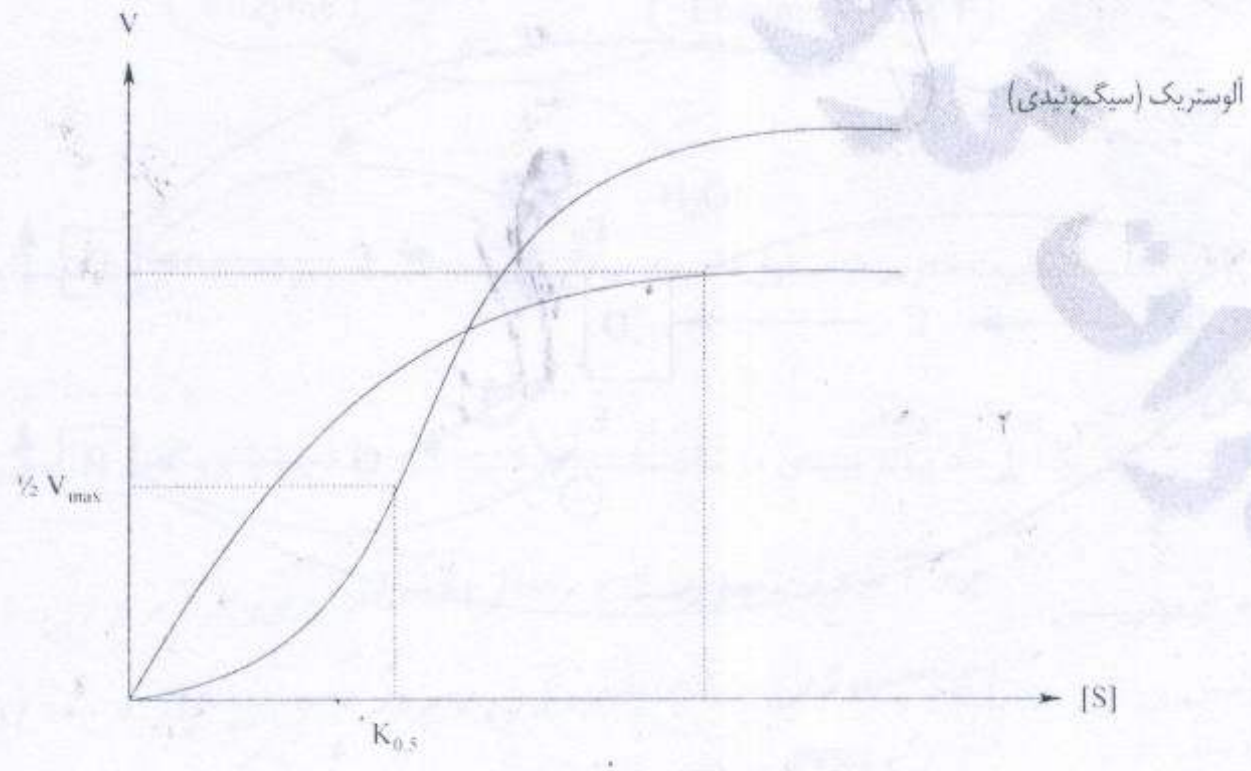
تمام آنزیم‌های آلوستریک دارای دو شکل فضایی R و T هستند:

Rform : میل ترکیبی آنزیم ↑

آلوستریک

Tform : میل ترکیبی E ↓

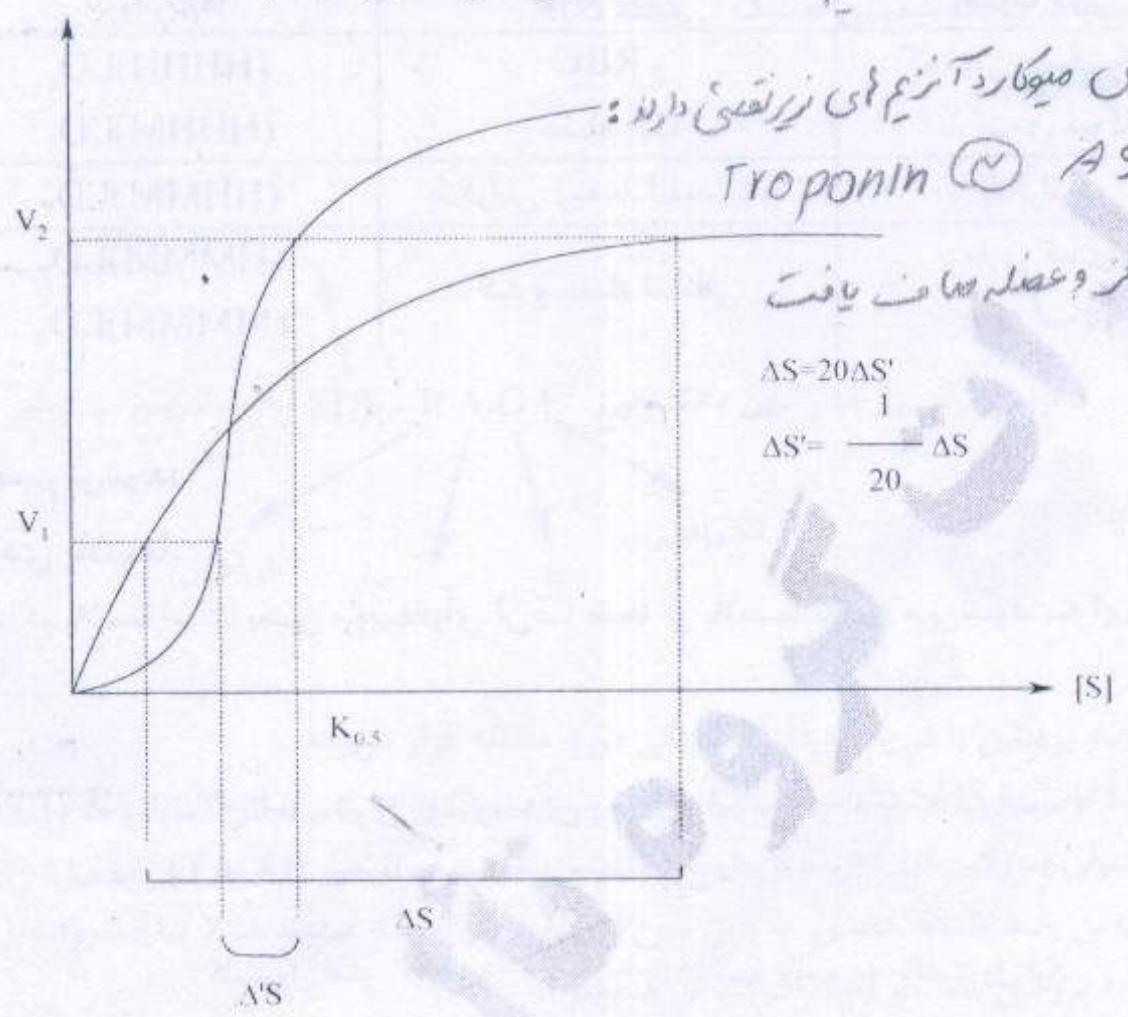
آنزیم‌های آلوستریک از منحنی میکائیلیس منتن تبعیت نمی‌کنند. برای این آنزیم‌ها غلظتی از سوبسترا که $\frac{1}{2} V_{max}$ را فراهم می‌کند. $K_{0.5}$ نام دارد.



۱۸

www.Endbook.net

آنزیم‌های آلوستریک در غلظت‌های پایین سوبسترا فعالیت ناچیزی دارند.



آنزیم‌های آلوستریک به تغییر غلظت سوبسترا حساس هستند به طوری که محدوده خاصی با تغییر ناچیز غلظت سوبسترا، سرعت تا حدود زیادی افزایش یا کاهش می‌یابد.

تنظیم آلوستریک سریعترین نوع تنظیم فعالیت آنزیم در سلول‌هاست.

ایزوآنزیم‌ها (ایزوزیم‌ها):

آنزیم‌هایی که ساختمان متفاوتی داشته ولی همگی یک نوع واکنش را کاتالیز می‌کنند. میل ترکیبی ایزوآنزیم‌ها برای یک سوبسترای واحد متفاوت است (Km ایزوآنزیم‌ها متفاوت است)

ایزوآنزیم‌ها توسط ژن‌های متفاوتی کد می‌شوند ولی از آنجایی که این ژن‌ها شبیه به یکدیگرند آن‌ها را خانواده ژنی (gene family) می‌نامند.

توزیع بافتی ایزوآنزیم‌ها متفاوت است. از این خاصیت برای تشخیص افتراقی بیماری‌ها استفاده می‌شود.

الکتروفورز یک روش مرسوم برای جداسازی ایزوآنزیم‌ها در آزمایشگاه است هر چه ایزوآنزیمی سریع‌تر به سمت قطب مثبت حرکت کند آن را با (I_1) مشخص می‌کنند.

$$\text{پیروات} + NADH \xrightarrow[(LDH)]{\text{لاکتات دهیدروژناز}} \text{لاکتات} + NAD^+$$

www.Endbook.net

LDH از لحاظ ساختمان تترامر است که از دو نوع زیرواحد H (قلبی) و M (عضلانی) تشکیل شده. از ترکیب این زیرواحدها ۵ نوع ایزوآنزیم حاصل می‌شود.

ایزوآنزیم‌ها	توزیع بافتی	اهمیت بالینی
LD_1(HHHH)	RBC و عضله قلب	کم‌خونی همولیتیک و انفارکتوس میوکارد
LD_2(HHHM)		
LD_3(HHMM)	پانکراس، ریه‌ها، لنفوسیت‌ها	پانکراتیت
LD_4(HMMM)	کبد و عضله اسکلتی	بیماری کبدی و عضله اسکلتی
LD_5(MMMM)		

انواع آنزیم‌های پلاسما

آنزیم‌های پلاسما به دو دسته تقسیم می‌شوند:

۱) آنزیم‌های عملکردی پلاسما:

محل فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما است یعنی سوبسترای آن‌ها فقط در پلاسما یافت می‌شود. به این‌ها آنزیم‌های خارج سلولی هم گفته می‌شود.

مثل)

۱- لیپوپروتئین لیپاز (LPL) که وظیفه آن تجزیه تری گلیسریدهای وجود در لیپوپروتئین‌های پلاسماست.

۲- لستین کلسترول آسیل ترانسفراز (LCAT) ← استریفیه کردن کلسترول‌های آزاد پلاسما

$$\text{کلسترول استر} \xleftarrow{\text{LCAT}} \text{اسید چرب} + \text{کلسترول آزاد}$$

۳- سرولوپلاسمین ← پروتئینی است که در ذخیره مس پلاسما نقش دارد. دارای فعالیت آنزیم فرو اکسیدازی می‌باشد.

$$Fe^{2+} \xrightarrow{\text{فرد اکسیدازی}} Fe^{3+}$$

۴- فاکتورهای انعقاد خون

۵- سیستم کمپلمان

۲) آنزیم‌های غیر عملکردی پلاسما:

برای این آنزیم‌ها در پلاسما سوبسترایی وجود ندارد. محل فعالیت آن‌ها داخل سلول‌هاست. پس در حالت طبیعی غلظت آن‌ها در پلاسما ناچیز است.

افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در پلاسما نشان دهنده آسیب و تخریب بافت‌هاست که اندازه‌گیری آن‌ها در تشخیص بیماری‌ها مهم است.

آنزیم غیر عملکردی پلاسما	اهمیت تشخیصی
۱- آمیلاز و لیپاز	پانکراتیت
۲-آلکالن فسفاتاز	بیماری استخوانی و اختلالات انسدادی کبد
۳- اسید فسفاتاز	تومور پروستات
۴- گاما – گلوتامیل ترانسفراز	اختلالات انسداد کبدی (مجاری صفراوی بسته می‌شوند)، الکلیسم
۵- کراتین کیناز	انفارکتوس میوکارد و اختلالات عضله اسکلتی
۶-* آلانین آمینوترانسفراز ALT	هپاتیت
۷- * آسپارتات آمینوترانسفراز AST	هپاتیت و انفار کتوس میوکارد