

## **الفصل السابع**

### **Chapter Seven**

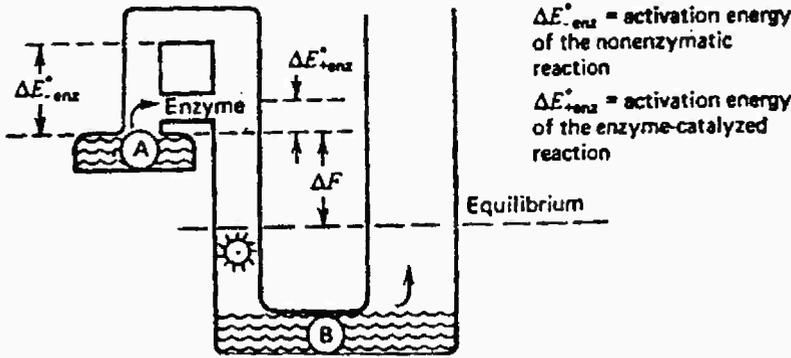
## **فعالية الانزيمات**

### **Enzymes Activity**



## مقدمة

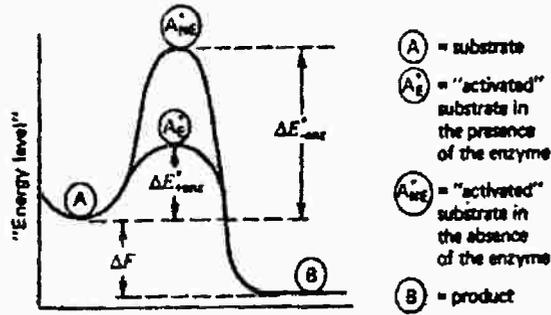
من المعلوم ان الانزيمات هي مركبات بروتينية تساعد في حدوث التفاعلات الحيوية وذلك بتقليل الطاقة اللازمة لحدوث التفاعل. ونلاحظ الشكل المرقم (٧-١) فالماء عندما ينتقل من الموضع **A** إلى الموضع **B** فانه ينجز شغلا ولكن تحويل الماء يتطلب رفعه اولا إلى مستوى معين (يتطلب طاقة معينة) ثم يسقط الماء وينجز الشغل.



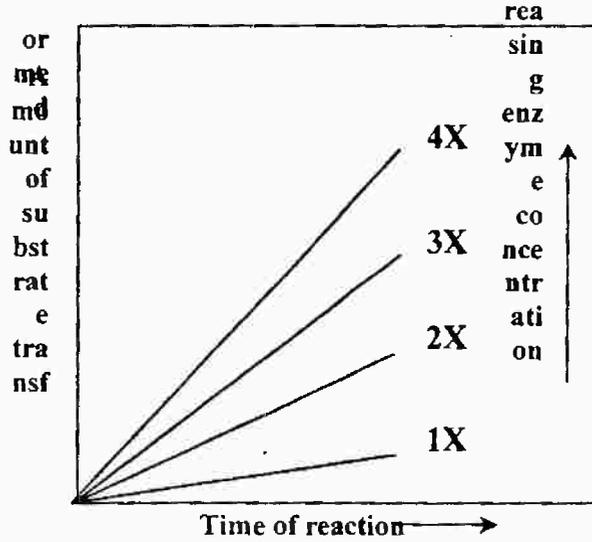
شكل رقم (٧-١): رسم تخيبي يوضح بان انتقال الماء من الموضع **A** إلى الموضع **B** يتطلب رفع الماء اولا لكي يسقط الماء وينجز الشغل.  
 عن Segel, 1968

كذلك الحال في التفاعلات الانزيمية فعند تحويل مادة التفاعل **A** إلى ناتج التفاعل **B** يتطلب اولا بعض الطاقة لتنشيط التفاعل وتسمى هذه الطاقة بطاقة التنشيط (**Activation Energy**) وان الانزيمات عادة تقلل طاقة التنشيط مقارنة بالتفاعلات غير الانزيمية (التفاعلات الكيمياوية) كما في الشكل المرقم (٧-٢).

علاقة تركيز مادة التفاعل بسرعة التفاعل الانزيمي  
 من المعلوم ان سرعة التفاعل الانزيمي تعتمد على عوامل عدة منها تركيز الانزيم  
 (شكل رقم (٧-٣)).



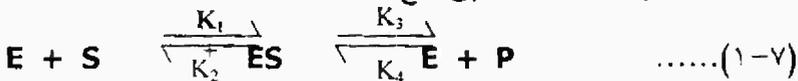
شكل رقم (٧-٢): ان الضاعلات الانزيمية تتطلب طاقة التشيط اقل مما تتطلبه الضاعلات غير الانزيمية (الكيمياء). عن: Segel, 1968



شكل رقم (٧-٣): تأثير الانزيم على سرعة الضاعل الانزيمي مفترضا ان تركيز مادة الضاعل في حدود المشعة. عن: Conn and Stumpf, 1967

وتركيز مادة التفاعل وغيرها من العوامل الأخرى. وعندما يثبت تركيز الانزيم إلى حد مناسب فان اية زيادة في تركيز مادة التفاعل تسبب زيادة سرعة التفاعل الانزيمي.

لما ميكانيكية تحويل مادة التفاعل إلى ناتج للتفاعل فيمكن تمثيلها بالمعادلة الآتية:



حيث ان **E** هو الانزيم **Enzyme**.

وان **S** هي مادة التفاعل **Substrate**.

وان **ES** هو المركب الوسطي المعقد **Complex**.

وان **P** هو ناتج التفاعل **Product**.

ويظهر ان مادة التفاعل (**S**) تتحد بالانزيم (**E**) من خلال المواقع للفعالة (**Active Sites**) أو الواقع غير للفعالة (**Allosteric Sites**) وتكوين المركب الوسطي المعقد (**ES**) الذي يمرر بعدة مراحل قبل أن يتحلل إلى ناتج التفاعل (**P**) والانزيم (**E**) مرة أخرى.

ومن ملاحظة المعادلة (٧-١) فان التفاعل الانزيمي النهائي يتضمن ما يأتي:

أ- تفاعل اتحاد الانزيم مع مادة التفاعل وتكوين المركب المعقد.

ب- تفاعل عكسي لتحويل المركب الوسطي المعقد إلى الانزيم ومادة التفاعل.

ج- تفاعل مستمر لتحويل المركب الوسطي المعقد إلى الانزيم وناتج التفاعل.

د- تفاعل ارتباط ناتج التفاعل مع الانزيم وتكوين المركب الوسطي المعقد.

هذا وقد وجد انه إذا كان تركيز مادة التفاعل غير كاف فان سرعة التفاعل الانزيمي (**V**) تعتمد على تركيز مادة التفاعل (**S**) وعامل ثابت (**K**) وسيأتي ذكره لاحقاً.

ومما يذكر انه في الحالة المتعادلة **Steady State** يكون معدل تكوين المركب الوسطي المعقد مساوياً لمعدل هدم المركب الوسطي المعقد.

أما تكوين المركب الوسطي المعقد فيتضمن ما يأتي:



وكذلك



وعند الرجوع إلى المعادلة (٧-١) يمكن القول ان معدل تكوين المركب الوسطي المعقد يتمثل بالمعادلة الآتية:

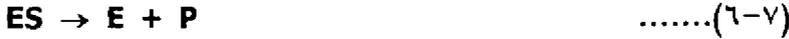


حيث ان **ES** يساوي معدل (سرعة) تكوين المركب الوسطي المعقد.

اما هدم المركب الوسطي المعقد فيحتوي على ماياتي:



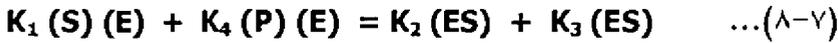
وكذلك



كما ان معدل هدم المركب الوسطي المعقد يشمل الآتي:



حيث ان **ES** يساوي معدل (سرعة) هدم المركب الوسطي المعقد.  
وبما ان معدل البناء يساوي معدل الهدم كما مر سابقاً لذلك يكون:



وعند ترتيب المعادلة المرقمة (8-7) يحصل الآتي:



ويمكن ترتيب المعادلة (9-7) إلى ماياتي:

$$\frac{(ES)}{(E)} = \frac{K_1 (S) + K_4 (P)}{K_2 + K_3} \quad \dots\dots(10-7)$$

كما يمكن كتابة المعادلة (10-7) كالآتي:

$$\frac{(ES)}{(E)} = \frac{K_1 (S)}{K_2 + K_3} + \frac{K_4 (P)}{K_2 + K_3} \quad \dots\dots(11-7)$$

هذا ويمكن اهمال الحد  $\frac{K_4 (P)}{K_2 + K_3}$  في اللحظات الأولى من التفاعل بسبب قلة تكوين نواتج

التفاعل وقلة تكوين **(ES)** و**(E)** و**(P)** لهذا تحور المعادلة (11-7) إلى ماياتي:

$$\frac{(ES)}{(E)} = \frac{K_1 (S)}{K_2 + K_3} \quad \dots\dots(12-7)$$

وعند قلب المعادلة (١٢-٧) يحدث الآتي:

$$\frac{(ES)}{(E)} = \frac{K_2 + K_3}{K_1(S)} \quad \dots\dots(13-7)$$

هذا ويمكن دمج ثوابت التوازن  $K_3, K_2, K_1$  إلى ثابت جديد هو  $km$  كالآتي:

$$\frac{K_2 + K_3}{K_1} = Km \quad \dots\dots(14-7)$$

وعند التعويض في المعادلة (١٣-٧) يحصل الآتي:

$$\frac{(E)}{(ES)} = \frac{Km}{(S)} \quad \dots\dots(15-7)$$

وتحور هذه المعادلة إلى مايلي:

$$\frac{1}{(ES)} = \frac{Km}{(E)(S)} \quad \dots\dots(16-7)$$

نفرض ان  $(E_T)$  هو التركيز الكلي للأنزيم والذي يتضمن الآتي:

$$(E_T) = (E) + (ES) \quad \dots\dots(17-7)$$

وبعبارة أخرى:

$$(E) = (E_T) - (ES) \quad \dots\dots(18-7)$$

وعند قسمة المعادلة (١٨-٧) على  $(ES)$  ينتج الآتي:

$$\frac{(E)}{(ES)} = \frac{(E_T) - (ES)}{(ES)} \quad \dots\dots(19-7)$$

ويمكن تحوير المعادلة (١٩-٧) إلى مايلي:

$$\frac{(E)}{(ES)} = \frac{(E_T)}{(ES)} - \frac{(ES)}{(ES)} \quad \dots\dots(20-7)$$

ويمكن ان تختصر المعادلة (٢٠-٧) إلى مايلي:

$$\frac{(E)}{(ES)} = \frac{(E_T)}{(ES)} - 1 \quad \dots\dots(21-7)$$

وعند الاستعاضة بالمعادلة (١٥-٧) يحصل الآتي:

$$\frac{K_m}{(S)} = \frac{(E_T)}{(E_S)} - 1 \quad \dots\dots(22-7)$$

ويمكن أن تحور المعادلة (22-7) إلى ما يأتي:

$$\frac{(E_T)}{(E_S)} = \frac{km}{(S)} + 1 \quad \dots\dots(23-7)$$

ومن المعلوم أن  $(E_T)$  و  $(E_S)$  لا يمكن قياسهما بسهولة ولكن يمكن التعبير عنهما بالسرعة البدائية  $(V)$  عند التركيز المعين لمادة التفاعل  $(S)$  وكذلك بالسرعة القصوى  $V_{max}$  للتفاعل البدائي عند التركيز المشبع لمادة التفاعل.

فالسرعة القصوى البدائية  $V_{max}$  تتناسب مع المجموع الكلي للإنزيم. أي أن

$$V_{max} \propto E_T \quad \dots\dots\dots(24-7)$$

بينما السرعة العادية في التركيز المعين لمادة التفاعل تتناسب مع كمية الإنزيم المرتبطة في المركب الوسطي المعقد. أي أن:

$$V \propto (ES) \quad \dots\dots\dots(25-7)$$

وبعبارة أخرى:

$$\frac{V_{max}}{v} = \frac{(E_T)}{(E_S)} \quad \dots\dots\dots(26-7)$$

وعند التعويض في المعادلة (22-7) يحصل الآتي:

$$\frac{V_{max}}{V} = \frac{km}{(S)} + 1 \quad \dots\dots\dots(27-7)$$

وعند ضرب طرفي المعادلة (27-7) بـ  $(S)$  ينتج الآتي:

$$\frac{V_{max} (S)}{v} = \frac{km(S)}{(S)} + (S) \quad \dots\dots\dots(28-7)$$

عند اختصار المعادلة (28-7) يحصل الآتي:

$$\frac{V_{max} (S)}{V} = \frac{km + (S)}{1} \quad \dots\dots\dots(29-7)$$

وعند قلب المعادلة (٢٩-٧) يحدث الآتي:

$$\frac{V}{V_{\max}} (S) = \frac{1}{km + (S)} \quad \dots\dots(٣٠-٧)$$

ويمكن تحويل المعادلة (٣٠-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{V}{V_{\max}} = \frac{(S)}{km + (S)} \quad \dots\dots(٣١-٧)$$

كما يمكن تحويل المعادلة (٣١-٧) إلى ما يأتي:

$$V = \frac{(V_{\max})(S)}{km + (S)} \quad \dots\dots(٣٢-٧)$$

وتسمى هذه المعادلة بمعادلة **Michaelis - Menten** نسبة إلى هذين العالمين. أما **km** فيسمى ثابت **Mechaelis** ويعني تركيز مادة التفاعل بوحدة **mole / liter** اللازم لاعطاء نصف السرعة القصوى من التفاعل. وبعبارة أخرى إذا كانت **v** تعادل  $\frac{1}{2} V_{\max}$  وبالاستعاضة في المعادلة (٣٢-٧) يكون الآتي:

$$\frac{V_{\max}}{2} = \frac{(V_{\max})(S)}{km + (S)} \quad \dots\dots(٣٣-٧)$$

وبعد الاختصار يحدث الآتي:

$$\frac{1}{2} = \frac{(S)}{km + (S)} \quad \dots\dots(٣٤-٧)$$

أو ان

$$2(S) = km + (S) \quad \dots\dots(٣٥-٧)$$

أو ان

$$km = (S) \quad \dots\dots(٣٦-٧)$$

ويلاحظ أنه إذا كان تركيز مادة التفاعل (**S**) عالياً مقارنة بالـ **km** فإن **v** تعادل **V<sub>max</sub>** ويبقى التفاعل ثابتاً. أي ان

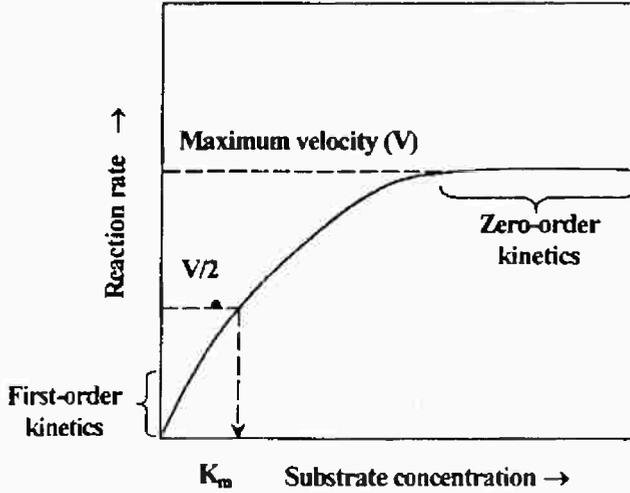
$$v = K \quad \dots\dots(٣٧-٧)$$

حيث ان **v** هي سرعة التفاعل وان **K** هي كمية ثابتة.

وان **K** هي كمية ثابتة.

وتسمى هذه الحالة من التفاعل بالـ **Zero Order Kineticx** (شكل رقم ٧-٤).

ولكن في حالة كون تركيز مادة التفاعل ومادة انتفاعل قليلة وقريبة من الـ **km** فإن سرعة التفاعل تتناسب مع تركيز مادة التفاعل ومعامل ثابت كالأتي:



شكل رقم (٧-٤): تأثير مادة التفاعل على سرعة التفاعل الانزيمي مفروضاً ان تركيز الأنزيم يبقى ثابتاً.

عن: Conn and Stumpf, 1967

$$v = K(S)$$

.....(٣٨-٧)

حيث ان **v** هي سرعة التفاعل.

وان **(S)** هو تركيز مادة التفاعل.

وان **K** هو عامل ثابت أو كمية ثابتة.

وتسمى هذه الحالة من التفاعل الـ **First Order Kinetics** كما في الشكل المرقم (٧-٤).

فعالية الانزيمات بوجود المثبطات:

### Enzymes Activity and Presence Inhibitors

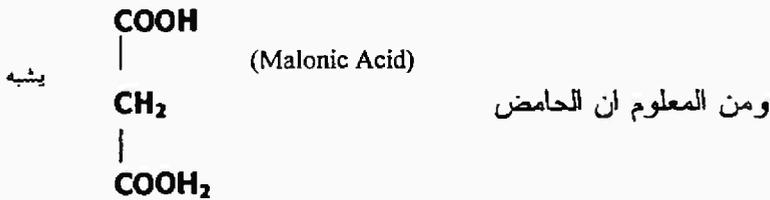
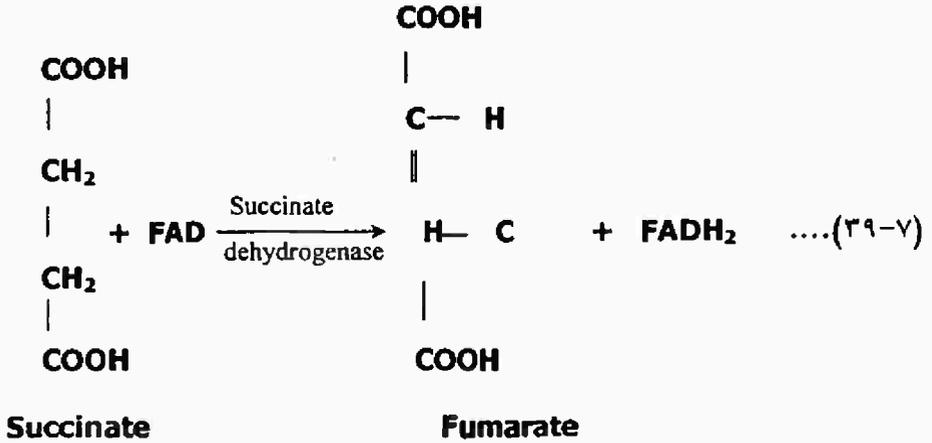
المثبطات **Inhibitors** هي المواد التي تقلل فعالية الانزيمات وبالنتيجة تقلل سرعة التفاعلات المساعدة بالانزيمات. ان المثبطات تقسم إلى مايتي:

#### ١- المثبطات التنافسية Competitive Inhibitors

وهي المواد التي تتحد بالانزيم في الموقع الفعال (**Active Sites**) للانزيم وعادة قد تشبه هذه المثبطات مادة التفاعل في الهيئة التركيبية أو تشبه نوع محور من مادة التفاعل غير الفعالة. ويمكن التخلص من هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز مادة التفاعل وبذلك

تطرد المثبط التنافسي عن المواقع الفعالة الموجودة في الانزيم.

ومن الانواع الشائعة من هذه المثبطات هو المثبط **Malonic Acid** الذي يشبه مل الانزيم **Succinate Dehydrogenase** المسبب لأكسدة الحمض **Succinate** إلى الحامض **Fumarate** كالآتي:



الحامض **Succinate** في الصيغة التركيبية وفي حالة ارتباط المركب **Malonic Acid** بالانزيم يتكون فقط المركب الوسيط المعقد الذي يتحلل إلى الانزيم ومادة التفاعل كالآتي:



حيث ان **E** هو الانزيم.

وان **I** هو المثبط التنافسي أو **malonic Acid**.

وان **EI** هو المركب الوسيط المعقد.

كما ان ثابت التوازن **K<sub>i</sub>** يمكن ان يعادل الآتي:

$$K_i = \frac{(E)(I)}{(EI)} \quad \dots (٤١-٧)$$

حيث ان **I** هو تركيز المثبط التنافسي.

ان  $K_i$  هو ثابت تحلل امركب **EI**.

ويمكن أن تحور المعادلة (٤١-٧) إلى ما يأتي:

$$EI = \frac{(E)(I)}{E_i} \quad \dots\dots(٤٢-٧)$$

اما التعبير رياضياً عن علاقة  $v$  و  $v_{max}$  و **S** و **km** بوجود المثبط التنافسي فيمكن اشتقاقه علماً بأن الإنزيم يوجد بثلاثة أشكال هي:

أ- الحالة الحرة **(E) Free Enzyme**.

ب - المركب الوسطي المعقد **(ES)** بين الإنزيم ومادة التفاعل.

ج- المركب الوسطي المعقد **(EI)** بين الإنزيم والمثبط التنافسي. فقد وجد ما يأتي:

$$(E_T) = (E) + (ES) + (EI) \quad \dots\dots(٤٣-٧)$$

ويمكن تحوير هذه المعادلة إلى ما يأتي:

$$(E) = (E_T) - (ES) - (EI) \quad \dots\dots(٤٤-٧)$$

وعند تقسيم المعادلة (٤٤-٧) على **ES** يتكون الآتي:

$$\frac{(E)}{(ES)} = \frac{(E_T) - (ES) - (EI)}{(ES)} \quad \dots\dots(٤٥-٧)$$

وكما ذكر مسبقاً في المعادلة (١٥-٧) التي يمكن التعويض بها فأن:

$$\frac{km}{(S)} = \frac{(E_T) - (ES) - (EI)}{(ES)} \quad \dots\dots(٤٦-٧)$$

وقد ترتب المعادلة (٤٦-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{km}{S} = \frac{E_T}{ES} - \frac{ES}{ES} - \frac{EI}{ES} \quad \dots\dots(٤٧-٧)$$

ثم تختصر المعادلة (٤٧-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{km}{S} = \frac{E_T}{ES} - 1 - \frac{EI}{ES} \quad \dots\dots(٤٨-٧)$$

وعند الاستعانة بالمعادلة (١٦-٧) والمعادلة (٤٢-٧) يحصل الآتي:

$$\dots\dots(٤٩-٧) \frac{km}{S} = \frac{E_T}{ES} - 1 = \frac{(I)(I)}{K_i} \times \frac{1}{(E)(S)}$$

وتختصر المعادلة (٤٩-٧) إلى ما يأتي:

$$\dots\dots(٥٠-٧) \frac{E_T}{ES} = \frac{km}{S} + 1 + \frac{(km)(I)(E)}{(S)(K_i)(E)}$$

وتختصر هذه المعادلة إلى ما يأتي:

$$\dots\dots(٥١-٧) \frac{E_T}{ES} = \frac{km}{S} + \frac{(km)(I)}{(S)(K_i)} + 1$$

وعند التعويض عن  $\frac{E_T}{ES}$  كما في المعادلة (٢٦-٧).

يحصل الآتي:

$$\frac{V_{max}}{V} = \frac{km}{S} + \frac{(km)(I)}{(S)(K_i)} + 1 \quad \dots\dots(٥٢-٧)$$

وبضرب طرفي المعادلة بـ **S** يحصل الآتي:

$$\dots\dots(٥٣-٧) \frac{(V_{max})(S)}{V} = \frac{km(S)}{(S)} + \frac{(km)(I)(S)}{(K_i)(S)} + (S)$$

وعند الاختصار يحصل الآتي:

$$\frac{(V_{max})(S)}{V} = km + \frac{(km)(I)}{(K_i)} + (S) \quad \dots\dots(٥٤-٧)$$

ويمكن الاختصار أيضاً كالآتي:

$$\dots\dots(٥٥-٧) \frac{(V_{max})(S)}{V} = km \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right) + (S)$$

وعند قلب المعادلة (٥٥-٧) يحصل الآتي:

$$\dots\dots(٥٦-٧) \frac{V}{(V_{max})(S)} = \frac{1}{km \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right) + (S)}$$

وتختصر المعادلة (٧-٥٦) إلى ما يأتي:

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{(S)}{km \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right)} + (S) \quad \dots\dots(٧-٥٧)$$

ويمكن الاستعاضة عن العامل  $\left[ km \left( 1 + \frac{I}{K_i} \right) \right]$  بالعامل الثابت الجديد  $km_{app}$  وينتج

الآتي:

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{(S)}{km_{app} + S} \quad \dots\dots(٧-٥٨)$$

لقد وجد ان العامل  $\frac{1}{K_i}$  يمثل الفة الانزيم اتجاه المثبط التنافسي وكما كانت  $\frac{I}{K_i}$  قليلة كلما كانت الفة الانزيم نحو المثبط عالية.

والخلاصة ان سرعة التفاعل ودرجة تثبيط الانزيم بوجود المثبط التنافسي تعتمد على تركيز مادة التفاعل وتركيز المثبط ومدى الفة الانزيم نحو المثبط. أي أنه يمكن الحصول على السرعة القصوى للتفاعل بزيادة تركيز مادة التفاعل.

## ٢- المثبطات غير التنافسية *None Comptitive inhibitors*

وهي المواد التي تتحد في الانزيم بالمواقع غير الفعالة *(None Active Sites)*. وهذه المواد عادة لاتشبه مادة التفاعل في الهيئة التركيبية.

اما درجة التثبيط فلا تعتمد على تركيز مادة التفاعل.

ان التفاعل العكسي لتكوين المركب المعقد من الانزيم والمثبط غير التنافسي ويمكن توضيحه كالآتي:



حيث ان  $E_{avail}$  هو الانزيم المتوفر للاتحاد مع المثبط.

وان  $I$  هو المثبط غير التنافسي.

وان  $E_{avail} I$  هو المركب الوسطي المعقد.

لما المثبط غير التنافسي فقد يتحد بالانزيم الحر او بالمركب الوسيط للمعقد ES كالآتي:



ويمكن الاشارة إلى EI و ESI بالمصطلح EI كالآتي:



ولهذا يمكن كتابة ثابت التحلل  $K_i$  للمركب EI كالآتي:

$$K_i = \frac{(E + ESI)(I)}{(EI)} \quad \dots(62-7)$$

ويذكر ان الانزيم يوجد بثلاثة أشكال هي:

$$E_T = E + ES + EI \quad \dots(63-7)$$

ويمكن تحويل المعادلة (63-7) إلى مايلي:

$$E + ES = E_T - EI \quad \dots(64-7)$$

وعند التعويض في المعادلة (62-7) يحدث الآتي:

$$K_i = \frac{(E_T - EI)(I)}{(EI)} \quad \dots(65-7)$$

ان سرعة التفاعل في أي تركيز من مادة التفاعل بغياب المثبط تتناسب مع مجموع تركيز الانزيم.

أي أن:

$$v \propto E_T \quad \dots(66-7)$$

وان سرعة التفاعل في أي تركيز من مادة التفاعل بوجود المثبط غير التنافسي تتناسب مع تركيز الانزيم غير المتحد مع المثبط. أي أن:

$$v_i \propto E_T - EI \quad \dots(67-7)$$

ويمكن تقسيم المعادلة (66-7) على المعادلة (67-7) ويحصل الآتي:

$$\dots(68-7) \quad \frac{v}{v_i} = \frac{E_T}{E_T - EI}$$

أن  $EI$  يمكن التعبير عنها بمصطلح  $E_T$  و  $I$  و  $K_i$

$$(K_i)(EI) = (E_T - EI)(I) \quad \dots(٦٩-٧)$$

فإذا ضرب طرفي المعادلة (٦٥-٧) يحصل الآتي:-

ويمكن تحويل المعادلة (٦٩-٧) إلى ما يأتي:

$$(K_i)(EI) = (E_T)(I) - (EI)(I) \quad \dots(٧٠-٧)$$

وتحور المعادلة (٧٠-٧) إلى ما يأتي:

$$(K_i)(EI) + (EI)(I) = (E_T)(I) \quad \dots(٧١-٧)$$

وترتب المعادلة (٧١-٧) إلى ما يأتي:

$$EI [K_i + I] = (E_T)(I) \quad \dots(٧٢-٧)$$

وإن  $EI$  ستعادل الآتي:

$$EI = \frac{(E_T)(I)}{K_i + I} \quad \dots(٧٣-٧)$$

وعند تعويض قيمة  $EI$  في المعادلة (٦٨-٧) يحصل الآتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{E_T}{E_T - \frac{(E_T)(I)}{K_i + I}} \quad \dots(٧٤-٧)$$

وعند تقسيم البسط والمقام في الجهة اليمنى من المعادلة (٧٤-٧) على  $E_T$  يحدث الآتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{\frac{E_T}{E_T}}{\frac{E_T}{E_T} - \frac{(E_T)(I)}{(E_T)(K_i + I)}} \quad \dots(٧٥-٧)$$

وعند إجراء التحويلات والاختصارات ينتج الآتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{1}{1 - \frac{I}{K_i + I}} \quad \dots(٧٦-٧)$$

وتحور المعادلة (٧٦-٧) إلى ما يأتي:

$$\dots\dots(٧٧-٧) \frac{v}{v_i} = \frac{I}{\frac{K_i + I - I}{K_i + I}}$$

ثم تختصر المعادلة (٧٧-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{I}{\frac{K_i + I - I}{K_i + I}} \dots\dots(٧٨-٧)$$

وتبسط المعادلة (٧٨-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{I}{K_i + I} \dots\dots(٧٩-٧)$$

وتبسط المعادلة (٧٩-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{v}{v_i} = \frac{K_i + I}{K_i} \dots\dots(٨٠-٧)$$

وعند قلب المعادلة (٨٠-٧) يحصل الآتي:

$$\dots\dots(٨١-٧) \frac{v_i}{v} = \frac{K_i}{K_i + I}$$

أي انه بوجود المثبط غير التنافسي فإن سرعة التفاعل تعتمد أيضاً على تركيز مادة التفاعل حتى حدوث الاشباع ولكن درجة التثبيط بوجود المثبط غير التنافسي **I** لا تعتمد على تركيز مادة التفاعل بل على تركيز المثبط **I** و **K<sub>i</sub>**.

اما **km** فلم تتغير وان السرعة القصوى للتفاعل **v<sub>max</sub>** تقل كثيراً.

**الأشكال البيانية المتعلقة بفعالية الانزيمات التابعة لديناميكية Hyperbolic Kinetics**

توجد أشكال بيانية عدة لتحديد تأثير تركيز مادة التفاعل أو المثبط على سرعة التفاعلات

الانزيمية وهذه الأشكال مبنية على معادلة **Michaelis - Menten** (٣٢-٧). وقد تسمى

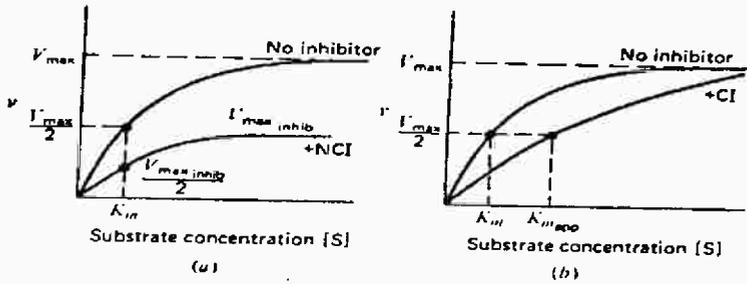
ديناميكية الانزيمات للعاملة على أساس معادلة **Michaelis - Menten** بمصطلح

الـ **Hyperbolic Kinetics**.

ان الشكل المرقم (٧-٥) يوضح علاقة سرعة التفاعل مع تركيز مادة التفاعل بوجود المثبط غير التنافسي (NCI) والمثبط التنافسي (CI).

ومما يذكر أنه عند قلب المعادلة (٧-٣١) يحدث الآتي:

$$\frac{V_{\max}}{v} = \frac{km + S}{S} \quad \dots\dots(٧-٨٢)$$



شكل رقم (٧-٥): منحنى بياني يوضح علاقة سرعة التفاعل (V) مع تركيز مادة التفاعل بوجود المثبط غير التنافسي (a) والمثبط التنافسي (b) عن: Segel, 1968

وعند قسمة طرفي المعادلة (٧-٨٢) على  $V_{\max}$  يحصل الآتي:

$$\dots\dots(٧-٨٣) \frac{1}{v} = \frac{km + S}{V_{\max}(S)}$$

ويمكن ترتيب المعادلة (٧-٨٣) إلى ما يأتي:

$$\frac{1}{v} = \frac{km}{V_{\max}(S)} + \frac{(S)}{V_{\max}(S)} \quad \dots\dots(٧-٨٤)$$

وعند اختصار المعادلة (٧-٨٤) يحصل الآتي:

$$\frac{1}{v} = \frac{km}{V_{\max}} \left( \frac{1}{S} \right) + \frac{1}{V_{\max}} \quad \dots\dots(٧-٨٥)$$

ومن الجدير ذكره ان المعادلة (٧-٨٥) تشبه معادلة الخط المستقيم الآتية:

$$Y = aX + b \quad \dots\dots(٧-٨٦)$$

حيث ان  $Y$  هو المتغير الأول.

وان  $X$  هو المتغير الثاني.

وان  $a$  هي الميل **Slope** والمشابه لـ  $\frac{km}{V_{max}}$ .

وان  $b$  هي نقطة التقاطع **Intercept**.

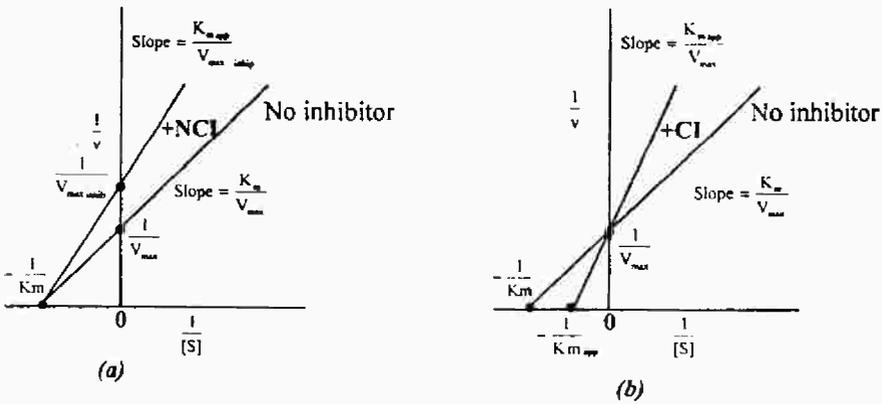
والمشابه لـ  $\frac{1}{V_{max}}$ .

وعند عمل المنحني البياني بحيث  $\frac{1}{V}$  تمثل  $Y$  و  $\frac{1}{S}$  تمثل  $X$  ينتج الشكل المرقم (٦-٧) بغياب

المثبطات ووجودها ويسمى مثل من هذا المنحني البياني باسم **Burk - Lineweaver (Plot)** نسبة إلى الباحثين.

عند قياس الميل **Slope** ونقطة التقاطع **Intercept** يمكن حساب السرعة القصوى للتفاعل  $V_{max}$  و  $km$  وغيرها من المعلومات الأخرى.

أما للنوع الآخر من المنحنيات البيانية فيسمى باسم **(Woolf Plot)** حيث يعمل بضرب طرفي المعادلة (٧-٨) بالكمية **(S)** ويحصل الآتي:



شكل رقم (٦-٧): منحني الـ Lineaver - Burk الذي يوضح علاقة  $\bar{V}$  مع  $\frac{1}{S}$  بغياب

وجود المثبط غير التنافسي (a) والتنافسي (b).

عن: Segel, 1968

$$\frac{S}{v} = \frac{Skm}{V_{max}} \left( \frac{1}{S} \right) + \frac{S}{V_{max}} \quad \dots\dots(٨٧-٧)$$

وتختصر المعادلة (٨٧-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{S}{v} = \frac{km}{V_{max}} + \frac{S}{V_{max}} \quad \dots\dots(٨٨-٧)$$

ويمكن تحويل المعادلة (٨٨-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{S}{v} = \frac{km}{V_{max}} + \frac{1}{V_{max}} (S) \quad \dots\dots(٨٩-٧)$$

أو نحور المعادلة (٨٩-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{S}{v} = \frac{1}{V_{max}} (S) + \frac{km}{V_{max}} \quad \dots\dots(٩٠-٧)$$

ويذكر ان المعادلة (٩٠-٧) تشبه معادلة الخط المستقيم (٨٦-٧) حيث أن  $\frac{S}{v}$  تمثل **Y**.

وان **S** تمثل **X**.

وان  $\frac{1}{V_{max}}$  تمثل **a**.

وان  $\frac{km}{V_{max}}$  تمثل نقطة التقاطع **b**.

وعندما تكون قيمة  $\frac{S}{v}$  صفراً يحصل الآتي:

$$0 = \frac{1}{V_{max}} (S) + \frac{km}{V_{max}} \quad \dots\dots(٩١-٧)$$

$$\frac{1}{V_{max}} (S) = - \frac{km}{V_{max}} \quad \dots\dots(٩٢-٧)$$

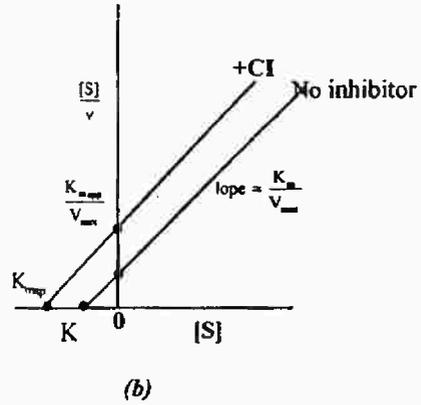
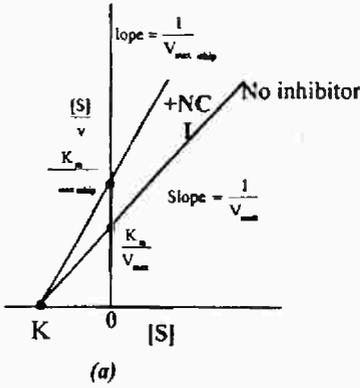
وتحور المعادلة (٩٢-٧) إلى ما يأتي:

$$\dots\dots(٩٣-٧) \frac{S}{V_{max}} = - \frac{km}{V_{max}}$$

وتختصر المعادلة (٩٣-٧) إلى ما يأتي:

$$S = - km \quad \dots\dots(٩٤-٧)$$

أن الشكل المرقم (٧-٧) يوضح منحنى (Woolf Plot) حيث يمثل علاقة  $\frac{S}{v}$  مع تركيز مادة التفاعل (S) بغياب المثبطات ووجوده ' ١١ النوع الثالث من المنحنيات البيانية فيسمى باسم (Hofstee Plot) حيث يجري بقسمة الطرف الايمن من المعادلة (٧-٣٢) على العامل S ليحصل الآتي:



شكل رقم (٧-٧): منحنى الـ Woolf Plot الذي يوضح علاقة  $\frac{S}{v}$  مع S بغياب وجود المثبط غير لتافسي (a) ولتافسي (b).

عن: Segel, 1968

$$v = \frac{V_{max} (S)}{km + S} \quad \dots\dots(٩٥-٧)$$

وتختصر المعادلة (٩٥-٧) إلى ما يأتي:

$$v = \frac{V_{max}}{km + S} \quad \dots\dots(٩٦-٧)$$

وتحور المعادلة (٩٦-٧) إلى ما يأتي:  
.....(٩٧-٧)

$$v = \frac{V_{\max}}{\frac{km}{S} + 1}$$

وتختصر المعادلة (٩٧-٧) إلى ما يأتي:  
.....(٩٨-٧)  $v = \frac{V_{\max}}{\frac{km}{S} + 1}$

وعند ضرب طرفي المعادلة (٩٨-٧) يحصل الآتي:

$$v \left( \frac{km}{S} + 1 \right) = V_{\max} \quad \text{.....(٩٩-٧)}$$

وتحور المعادلة (٩٩-٧) إلى ما يأتي:

$$\frac{vkm}{S} + v = V_{\max} \quad \text{.....(١٠٠-٧)}$$

وترتب المعادلة (١٠٠-٧) إلى ما يأتي:

$$\text{.....(١٠١-٧)} \quad \frac{v}{S} km + v = V_{\max}$$

وتحور المعادلة (١٠١-٧) إلى ما يأتي:

$$\text{.....(١٠٢-٧)} \quad v = V_{\max} - km \frac{v}{S}$$

كما قد تحور المعادلة (١٠٢-٧) إلى ما يأتي:

$$v = -km \frac{v}{S} + V_{\max} \quad \text{.....(١٠٣-٧)}$$

ومن الجدير نكره ان المعادلة (١٠٣-٧) تشبه معادلة الخط المستقيم (٨٦-٧): حيث أن  $v$  تمثل  $Y$ .

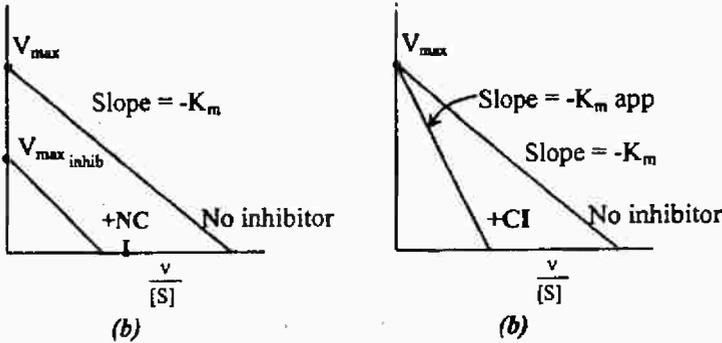
وان  $-km$  تمثل  $a$ .

وان  $\frac{v}{S}$  تمثل  $X$ .

وانه  $V_{\max}$  تمثل نقطة التقاطع  $b$ .

ان الشكل المرقم (٨-٧) يوضح Hofstee Plot حيث يمثل علاقة  $v$  مع  $\frac{v}{S}$  بغياب

ووجود المثبطات.



شكل رقم (٧-٨): منحنى الـ Hofstee Plot الذي يوضح علاقة  $v$  مع  $\frac{v}{S}$  بغياب وجود المثبط غير التنافسي (a)

والتنافسي (b).

عن: Segel, 1968

### الانزيمات التابعة لديناميكية Sigmoidal Kinetics

ان كثيرا من الانزيمات لا تظهر خصائص الـ **Hyperbolic Kinetics**

للعالمين **Michaelis - Menten** ولكنها تظهر منحنى بياني يشبه الحرف S

أو **Sigmoidal Curve** ومثل هذا المنحنى البياني يشير إلى وجود أنواع متعاونة عدة من أماكن الارتباط **Binding Sites** مع مادة التفاعل.

ان ارتباط مادة التفاعل بالانزيم يؤدي إلى حدوث تغيرات في هيئة وتركيب بروتين

الانزيم مما يؤدي إلى زيادة الفعالية الانزيم نحو مادة التفاعل. وقد ية " ليمثل مادة التفاعل هذه

باسم **Effector Activator**.

اما موقع الارتباط بمادة التفاعل فيسمى باسم **Catalytic Sites** وقد يختلف عن

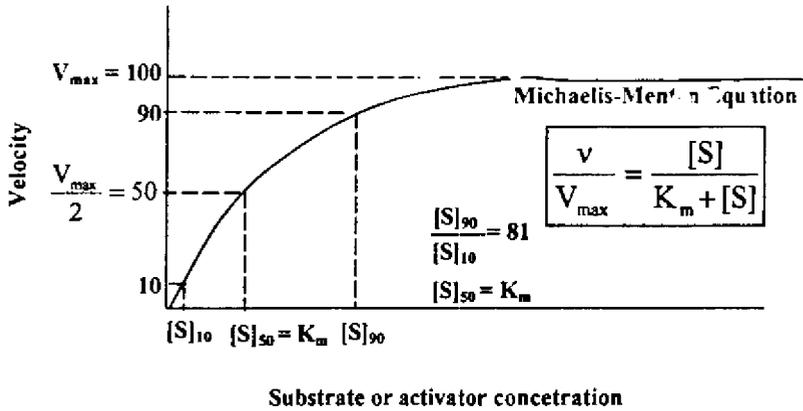
موقع ارتباط الـ **Effector** بالانزيم.

هذا ويوضح الشكل المرقم (٧-٩) ان نسبة تركيز مادة التفاعل اللازمة لاعطاء

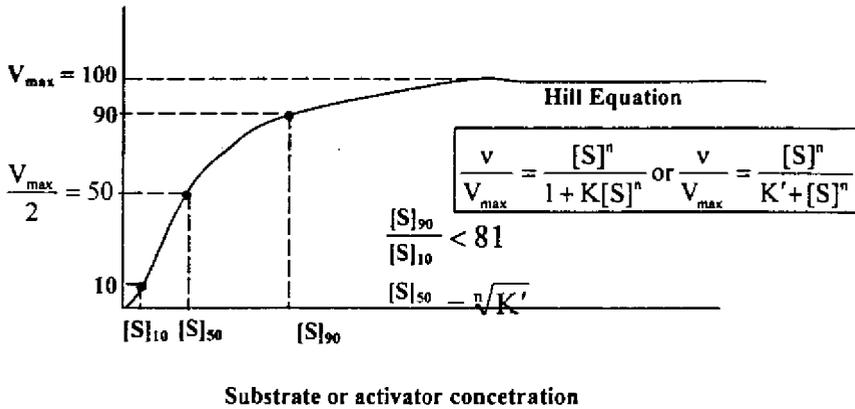
٩٠% و ١٠% من السرعة القصوى للتفاعل  $V_{max}$  هي ٨١ بالنسبة للانزيمات العاملة

بنظام **Michaelis - Menten** ولكن هذه النسبة تقل بالنسبة للانزيمات العاملة

بنظام **Sigmoidal Kinetics**.



(a)



(b)

شكل رقم (٧-٩): منحنيات عمل الانزيمات.

a. **Hyperbolic Kinetics** الانزيمات العاملة على نظام

b. **Sigmoidal Kinetics** الانزيمات العاملة على نظام

عن: Segel, 1968

ان المعادلة التي تمثل فعالية الانزيمات العاملة بنظام **Sigmoidal Kinetics** هي:

$$\dots (٧-١٠) \frac{v}{V_{max}} = \frac{(S)^n}{K' + (S)^n}$$

حيث ان **n** تمثل معامل التداخل المسمى **Interaction Coefficient**

وان  $K$  تمثل العامل الثابت المشابه لـ  $km$ .

## بعض المعلومات الأخرى

### ١- الوحدة الانزيمية **Enzyme Unit**

هي كمية بروتين الانزيم التي تعطي مايكرومول واحد من ناتج التفاعل بالدقيقة الواحدة تحت الظروف المثلى من التفاعل (توفر مادة التفاعل، وجود قيرين الانزيم **Coenzyme**، توفر الـ  $pH$  الملائم والقوة الايونية المناسبة).

### ٢- النشاط النوعي للأنزيم **Specific Activity**:

هو عدد الوحدات الانزيمية (**Enzyme units**) لكل ملغرام بروتين واحد.

### ٣- النشاط الجزيئي للأنزيم **Turnover Number (Molecular Activity)**:

هو اكبر عدد من مولات مادة التفاعل يستعملها مول واحد من الانزيم بالدقيقة الواحدة تحت ظروف التفاعل المعتدلة.

### ٤- **Michaelis - Menten** - ان معادلة

في أي تركيز من مادة لتفاعل  $km$  و  $s$  و  $v_{max}$  و  $v$  يمكن استعمالها لبيان علاقة

فان التفاعل يسير حسب  $km=100$  في حالة كون تركيز مادة التفاعل يساوي أو يزيد عن  $km$  وان ناتج التفاعل سيعادل الآتي: **Zero Order Kinetics** ديناميكية

$$P = (v_{max}) (t) \quad \dots(١٠٥-٧)$$

حيث ان  $P$  هو تركيز ناتج التفاعل.

وان  $v_{max}$  هي السرعة القصوى من التفاعل.

وان  $t$  هو الوقت.

٦- في حالة كون تركيز مادة التفاعل يساوي أو يقل عن  $km=0.01$  فان التفاعل يسير حسب ديناميكية

### الـ **First Order Kinetics** وان

$$v_{max} = (km) (K) \quad \dots(١٠٦-٧)$$

حيث ان  $K$  هو ثابت التحلل أما  $K$  فيقاس كالتالي:

$$\dots(١٠٧-٧)$$

حيث ان  $t$  هو نصف العمر أو الوقت اللازم لتحول نصف مادة التفاعل إلى ناتج التفاعل الذي يسير حسب ديناميكية **First Order Kinetics**.

لما قياس  $(S)$  و  $p$  فيتم من المعادلة (١٥-٦) المنكورة سابقا وهي:

$$S_t$$

$$P = S_n - S_t$$

فيقاس  $S_t$  ثم يقاد الناتج  $P$  كالاتي:  
.....(١٨-٦)

مثال (١-٧)  
كانت فعالية إحدى الانزيمات كالاتي:

| السرعة البدائية<br>$v$<br>u mole / liter. Min | (M) التركيز البدائي لمادة التفاعل |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------|
| 75.00                                         | $1 \times 10^{-2}$                |
| 74.90                                         | $1 \times 10^{-3}$                |
| 60.00                                         | $1 \times 10^{-4}$                |
| 56.25                                         | $7.5 \times 10^{-5}$              |
| 15.00                                         | $6.25 \times 10^{-6}$             |

احسب ماياتي:

أ-  $km$  للانزيم والسرعة القصوى للتفاعل  $V_{max}$ .

ب- ما هي السرعة لبدائية للتفاعل عندما يكون تركيز مادة لتفاعل البدائي  $2.5 \times 10^{-5}$ .

ج- إذا كان تركيز مادة التفاعل البدائي هو  $0.04 M$  فما هو تركيز ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.

الحل

أ- يمكن اعتبار  $V_{max}$  تعادل  $75 \text{ u mole / liter. min}$  لهذا تحسب قيمة  $km$  كالاتي:

$$V_{max} = \frac{km + S}{km}$$

$$60 \text{ km} = \frac{60 \text{ km} + 10^{-4}}{10^{-4}} = 75 \times 10^{-4}$$

$$60 \text{ km} = 75 \times 10^{-4} - 60 \times 10^{-4}$$

$$60 \text{ km} = 10^{-4} (75 - 60)$$

$$60 \text{ km} = 15 \times 10^{-4}$$

$$km = \frac{15 \times 10}{60} = 2.5 \times 10^{-5} M$$

وإذا افترضنا ان الانزيم يسلك سلوك معادلة **Michaelis - Menten** لذلك يمكن التأكد من ذلك

بحساب  $km$  مرة ثانية.

$$V_{max} = \frac{km + S}{km + 7.5 \times 10^{-5}}$$

$$75 = \frac{km + S}{km + 7.5 \times 10^{-5}}$$

$$km = 2.5 \times 10^{-5} M$$

وبعد إجراء الحسابات يظهر ان

وكنك الحال

$$\frac{v}{75} = \frac{S}{k_m + 6.25 \times 10^{-6}}$$

$$k_m = 2.5 \times 10^{-5} \text{ M}$$

ب- حساب v

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{S}{k_m + S}$$
$$\frac{v}{75} = \frac{2.5 \times 10^{-5}}{2.5 \times 10^{-5} + 2.5 \times 10^{-5}}$$

$$\frac{v}{75} = \frac{1}{2}$$

$$\frac{v}{75} = \frac{1}{2}$$

$$v = \frac{75}{2} = 37.5 \text{ u mole / liter . min}$$

ج- حساب ناتج التفاعل p عندما يكون تركيز مادة التفاعل  $0.4 \text{ M}$  أو  $4 \times 10^{-2}$

ولهذا يكون تركيز مادة التفاعل لكثير من  $100 \text{ km}$ .

∴ التفاعل يسير حسب ديناميكية **Zero order Kinetics** والناتج يحسب كالآتي:

$$P = V_{\max} \times t$$

$$P = 75 \times 3 = 225 \text{ u mole / liter}$$

$$= 2.25 \times 10^{-4} \text{ M}$$

مثال (٧-٢)

ان الـ  $V_{\max}$  المساوية  $28 \text{ micro mole / min}$  هي لمقدار  $10 \text{ microgram}$  مسن الانزيم

معين وثو الوزن الجزيئي  $10^4 \times 2$  احسب عدد التحول لهذا الانزيم **Turnover number**.

**الحل**

١- عدد جزيئات الانزيم تحسب كالآتي:

كل  $1 \times 10^{23} \times 6.02$  جزيئي في المول تزن  $10^6 \times 10^4 \times 12 \times 10$

**microgram**.

$$X = \frac{6.02 \times 10 \times 10}{12 \times 10^4 \times 10^6} = 5 \times 10^{13} \text{ molecule of enzyme}$$

٢- نحسب عدد جزيئات الناتج

product  $28 \times 10^{-6} \times 10^{23} \times 6.02 = 28 \times 6 \times 10^{17}$  mole of product

∴ عدد حول = عدد جزيئات الناتج

عدد جزيئات الانزيم

$$\frac{28 \times 6 \times 10^7}{5 \times 10^{13}} = \text{عدد التحول}$$

**33000 / min =**

**33000 product molecule / min**

مثال (٧-٣)

احسب قيم  $k_m$  و  $V_{max}$  للانزيم معتمداً على النتائج الآتية:

| V Product mg / min | (S) mM |
|--------------------|--------|
| 0.45               | 16     |
| 0.40               | 8      |
| 0.33               | 4      |
| 0.28               | 3      |
| 0.24               | 2      |
| 0.24               | 1.5    |

الحل

$$V = \frac{V_{max} \cdot S}{k_m + S}$$

$$\frac{k_m + 16}{k_m + 8}$$

حل المعادلة الثانية

$$0.40 k_m + 3.2 = 8 V_{max}$$

$$V_{max} = \frac{0.40 k_m + 3.2}{8}$$

$$V_{max} = 0.05 k_m + 0.4$$

حل المعادلة الأولى

$$0.45 k_m + 7.2 = 16 V_{max}$$

$$0.45 \text{ km} + 7.2 = 16 (0.05 \text{ km} + 0.4)$$

$$0.45 \text{ km} + 7.2 = 0.8 \text{ km} + 6.4$$

$$0.35 \text{ km} = 0.8$$

$$\text{km} = \frac{0.8}{0.35} = 2.27 \text{ mM}$$

$$0.21 = \frac{V_{max} \times 1.5}{2.27 + 1.5}$$

$$0.47 + 0.31 = 1.5 V_{max}$$

$$0.78 = 1.5 V_{max}$$

$$V_{max} = \frac{0.78}{1.5} = 0.52 \text{ mg product / min}$$

مثال (٧-٤)

عند أي تركيز للمادة الاساس (S) يملك الانزيم سرعة قصوى  $30 \mu \text{ mole}$  في المادة الاساس المتحولة لكل دقيقة لكل ملجرام وقيمة  $0.05 \text{ M km}$  مضهرة ١ سرعته القصوى.

٤

$$\text{km} = 0.005 \text{ M} = 5 \text{ mM}$$

$$V = \frac{1}{4} \times 30 = 7.5 \mu \text{ mole / min}$$

$$V = \frac{7.5}{\text{km} + S}$$

$$7.5 = \frac{S + S}{5 + S} + 7.5 S = 30 S$$

$$7.5 S + 37.5 = 30 S$$

$$22.5 S = 37.5$$

$$\therefore S = \frac{37.5}{22.5} = 1.66$$

مثال (٧-٥)

وضح في المعلومات الآتية لفعالية الانزيم هل أن التنشيط تنافسي أو غير تنافسي

| الحالة الثانية | الحالة الأولى<br>Product u m /<br>min | Sum |
|----------------|---------------------------------------|-----|
| 31.3           | 37                                    | 15  |
| 25.7           | 31.3                                  | 10  |
| 14.9           | 21.3                                  | 4   |
| 12.1           | 17.9                                  | 3   |
| 8.8            | 13.9                                  | 2   |

الحل

بما أن السرعة القصوى  $V_{max}$  بقيت ثابتة تقريباً فالتثبيط هو تنافسي **Competitive inhibition**.

مثال (٧-٦)

انزيم يساعد في تفاعل ما بسرعة  $35 \text{ u mole / liter. Min}$  عندما يكون تركيز مادة التفاعل  $0.01 \text{ M}$  وان تركيز  $km$  لمادة التفاعل يعادل  $2 \times 10^{-5}$ . ماهي السرعة البدائية عندما يكون تركيز مادة التفاعل  $2 \times 10^{-4} \text{ M}$ ,  $3.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $4 \times 10^{-4} \text{ M}$

الحل

نفترض بان السرعة عند تركيز مادة التفاعل  $0.01 \text{ M}$  هي القصوى  $V_{max}$  عندما يكون تركيز مادة التفاعل أكثر من  $100 \text{ km}$ .  
أ- عندما يكون تركيز  $3.5 \times 10^{-3} \text{ M}$  فان  $S$  أكثر من  $100 \text{ km}$ . وان  $v$  هي  $V_{max}$  وتعادل  $35 \text{ u mole / liter. Min}$

ب- عندما يكون تركيز  $4 \times 10^{-4} \text{ M}$  أي أن  $S$  أقل من  $100 \text{ km}$  لذلك يطبق لقانون

$$\begin{aligned} \overline{V_{\max}} &= \overline{km + S} \\ 35 &= 2 \times 10^{-5} + 4 \times 10^{-4} \\ 35 &= 0.2 \times 10^{-4} + 4 \times 10^{-4} \\ \frac{35}{V} &= \frac{4.2 \times 10^{-4}}{4.2 \times 10^{-4}} = 33.3 \text{ u mole / liter. min} \end{aligned}$$

جـ - عندما يكون  $S$  تعادل  $2 \times 10^{-4} M$

$$10 = \frac{2 \times 10^{-5}}{S} \therefore S = 2 \times 10^{-5}$$

أي أن  $10 \text{ km} = S$

$$\begin{aligned} \frac{v}{V_{\max}} &= \frac{S}{km + S} \\ \frac{v}{V_{\max}} &= \frac{S}{km + 10 \text{ km}} \\ v &= \frac{11 \text{ km}}{V_{\max}} \\ v &= 0.91 V_{\max} \\ v &= 0.91 \times 35 = 31.82 \text{ u mole / liter. min} \end{aligned}$$

مثال (V-V)

السرعة البدائية للتفاعل المساعد انزيمياً قد قيست تحت ظروف مختلفة من تراكيز مادة

التفاعل والمعلومات قد ادرجت في الجدول الآتي:

| $(\text{umole/liter. min})^{-1}$ | $S^{-1}$<br>$M^{-1}$ | $V$<br>U mole/lit<br>er. min | $S$<br>(M)            |
|----------------------------------|----------------------|------------------------------|-----------------------|
| $7.24 \times 10^{-2}$            | $12 \times 10^4$     | 13.8                         | $8.35 \times 10^{-6}$ |
| $6.25 \times 10^{-2}$            | $10 \times 10^4$     | 16.0                         | $1 \times 10^{-5}$    |
| $5.23 \times 10^{-2}$            | $8 \times 10^4$      | 19.1                         | $1.25 \times 10^{-5}$ |
| $4.20 \times 10^{-2}$            | $6 \times 10^4$      | 23.8                         | $1.76 \times 10^{-5}$ |
| $3.75 \times 10^{-2}$            | $5 \times 10^4$      | 26.7                         | $2.0 \times 10^{-5}$  |
| $3.25 \times 10^{-2}$            | $4 \times 10^4$      | 30.8                         | $2.5 \times 10^{-5}$  |

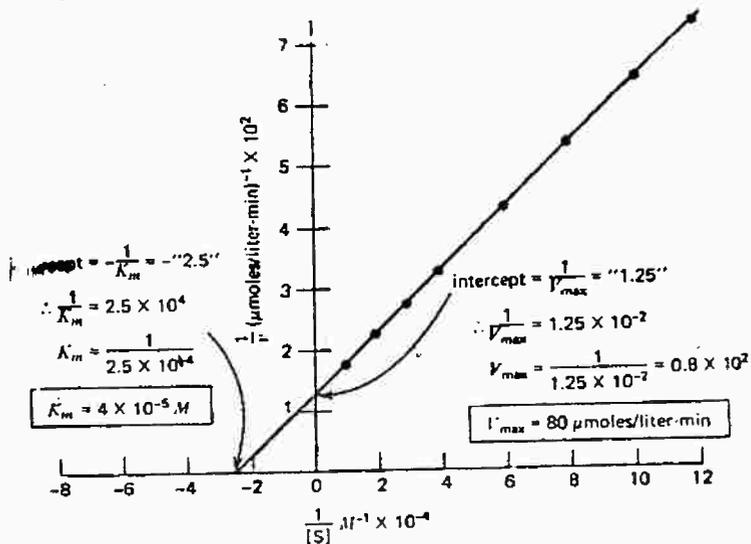
|                       |                   |      |                      |
|-----------------------|-------------------|------|----------------------|
| $2.76 \times 10^{-2}$ | $3 \times 10^4$   | 36.2 | $3.3 \times 10^{-5}$ |
| $2.25 \times 10^{-2}$ | $2 \times 10^4$   | 44.5 | $5.0 \times 10^{-5}$ |
| $1.75 \times 10^{-2}$ | $1 \times 10^4$   | 57.2 | $1 \times 10^{-4}$   |
| $1.50 \times 10^{-2}$ | $0.7 \times 10^4$ | 66.7 | $2.0 \times 10^{-4}$ |

احسب  $V_{max}$  km من الشكل المرقم (٧-١٠) حسب طريقة Lin- lineweaver

.Burk Plot

الحل

من الشكل البياني ومن قراءة  $\frac{1}{V}$  يمكن حساب نقطة التقاطع  $-\frac{1}{km}$  على محور X ونقطة التقاطع على محور Y هي  $\frac{1}{V_{max}}$  ثم نحسب  $V_{max}$  km.



شكل رقم (٧-١٠): المنحنى حسب طريقة **Lineweaver- Burk Plot** ومنه نحسب  $V_{max}$  و  $K_m$ .

مثال (٧-٨)

- لقد وجد ان تركيز مادة التفاعل هي  $10^{-5}M$  وان  $K_m$  لمادة التفاعل هي  $2 \times 10^{-3}M$  وبعد دقيقة تحول 2% من مادة التفاعل إلى ناتج التفاعل.
- ماهي نسبة مادة التفاعل التي تتحول إلى ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.
  - إذا كان تركيز مادة التفاعل البدائي هو  $10^{-6}M$  فما هي نسبة مادة التفاعل التي تتحول إلى ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.
  - ماهي السرعة القصوى  $V_{max}$  للتفاعل.
  - ماهو تركيز مادة التفاعل الذي يظهر السرعة القصوى.
  - في حالة تركيز مادة التفاعل المشبع فما هي نسبة مادة التفاعل التي تتحول إلى ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.

الحل

بسبب كون تركيز مادة التفاعل أقل من  $0.01K_m$  فإن التفاعل يجري حسب طور **First**

$$\log \frac{S_0}{S_t} = \frac{Kt}{2.3} \text{ Order Kinetics ويطبق التانوم}$$

نفرض ان تركيز  $S_0$  هو 100 % فيكون تركيز  $S_t$  بعد دقيقة هو 98 %.

$$\log \frac{100}{98} = \frac{K(1)}{2.3}$$

$$\log 1.02 = \frac{K}{2.3}$$

$$K = 2.3 \times 0.009 = 0.0207 \text{ min}^{-1}$$

نحسب  $S_t$  بعد ثلاث دقائق.

$$\log \frac{100}{S_t} = \frac{(0.0207)(3)}{2.3}$$

$$\log 100 - \log S_t = \frac{0.062}{2.3}$$

$$2 - \log S_t = \frac{0.062}{2.3}$$

$$\log S_t = 2 - \frac{0.062}{2.3} = 1.975$$

$$S_t = \text{antilog } 1.975$$

$$S_t = 94.4 \% = \frac{94.44 \times 10^{-5}}{100} = 9.44 \times 10^{-6} \text{ M}$$

$$100 \% - 94.4 \% = 5.6 \%$$

Product يكون

النتائج:

$$\frac{5.6}{100} \times 10^{-5} = 5.6 \times 10^{-7} \text{ M}$$

ب- إذا كان تركيز مادة التفاعل البدائي هو  $10^{-6} \text{ M}$  فإن التفاعل يسير حسب

طور **First Order Kinetics** وان نسبة مادة التفاعل المتحولة إلى ناتج التفاعل

س تكون  $3 \times 5.6 \times 16.8 \%$  أما كمية ناتج التفاعل المتكونة فتكون اقل مما في

الحالة أ.

ج- ان  $V_{max}$  يمكن تخمينها إذا عرفنا  $km$  والسرعة البدائية للتفاعل  $v$  وتركيز مادة التفاعل (s).

$$v = \frac{2}{100} \times 10^{-5} = 2 \times 10^{-7} \text{ mole / liter. min}$$

$$= 2 \times 10^{-1} \text{ u mole / liter. min}$$

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{S}{km + S}$$

$$\frac{2 \times 10^{-7}}{V_{max}} = \frac{10^{-3}}{2 \times 10^{-3} + 10^{-5}}$$

$$V_{max} = \frac{2 \times 10^{-7} (2 \times 10^{-3} + 10^{-5})}{10^{-5}}$$

$$V_{max} = 4.02 \times 10^{-5} \text{ mole / liter. min}$$

$$V_{max} = 40.2 \text{ u mole / liter. min}$$

د-  $V_{max}$  في حالة كون تركيز مادة التفاعل يعادل  $100km$ .

$$S = 100 (2 \times 10^{-3}) = 0.2 \text{ M}$$

هـ- ناتج التفاعل في حالة تركيز  $S$  المعادل لـ  $0.2M$  فالتفاعل يجرى حسب

الـ Zero Order Kinetics.

$$\text{Product} = V_{max} \times \text{Time}$$

$$= 4.20 \times 10^{-5} \times 3$$

$$= 12.06 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$\frac{12.06 \times 10^{-5} \times 100}{0.2 \text{ M}} = 0.069 \%$$

أما حساب  $k$  فيكون كالاتي:

$$V_{max} = K \times km$$

$$I_{-} = \frac{V_{\max}}{km} = \frac{4.02 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-3}}$$

$$K = 2.01 \times 10^{-2} \text{ min}^{-1}$$

مثال (٧-٩)

لقد اختبرت فعالية أحد الانزيمات عندما كان تركيز مادة التفاعل البدائي يعادل  $2 \times 10^{-5} \text{ M}$  وفي ظرف ست دقائق فإن نصف مادة التفاعل قد استغلقت في التفاعل وان الكمية لمادة التفاعل هي  $5 \times 10^{-3} \text{ M}$ .

احسب ما يأتي:

أ- ثابت التفاعل  $K$ .

ب- السرعة القصوى  $V_{\max}$ .

ج- تركيز ناتج التفاعل بعد خمس عشرة دقائق.

الحل

أ- بما إن تركيز مادة التفاعل هو أقل من  $0.01 \text{ km}$  لذلك يجرى التفاعل بطور First

Order Kinetics

$$T_{\frac{1}{2}} = \frac{0.693}{K}$$

$$K = \frac{0.963}{T_{\frac{1}{2}}} = \frac{0.993}{6}$$

$$K = 0.115 \text{ min}^{-1}$$

$$V_{\max} = (K) (km)$$

$$= (0.115) (5 \times 10^{-3})$$

$$= 0.575 \times 10^{-3} \text{ mole / liter. min}$$

$$\log \frac{S_0}{S_t} = \frac{Kt}{2.3}$$

$$\log \frac{2 \times 10^{-5}}{S_t} = \frac{(0.115)(15)}{2.3}$$

$$\log 2 \times 10^{-5} - \log S_t = 0.75$$

$$\log 2 + \log 10^{-5} - \log S_t = 0.75$$

$$0.3 - 5 - \log S_t = 0.75$$

$$- \log S_t = 0.75 + 5 - 0.3$$

$$- \log S_t = + 5.449$$

$$\log S_t = - 5.449$$

$$S_t = \text{antilog } - 5.449$$

$$S_t = \text{antilog } - 6 + 0.551$$

$$S_t = 0.356 \times 10^{-5} \text{ M}$$

$$\text{Product} = S_0 - S_t$$

$$= 2 \times 10^{-5} - 0.356 \times 10^{-5}$$

$$= 1.644 \times 10^{-5} \text{ M}$$

مثال (٧-١٠)

ملغرام واحد / لتر من احد الانزيمات النقية (وزنها الجزيئي 2500) والـ km

تعاذل  $2 \times 10^{-7} \text{ M}$  قد ساعدت في احدى التفاعلات بمعدل 25 m mole / liter. min

عندما كان تركيز مادة التفاعل (S) يتراوح  $3 \times 10^{-3} \text{ M}$  احسب النشاط الجزيئي

(Molecular Activity) لذلك الأنزيم.

الحل

بما ان تركيز مادة التفاعل هو اكثر من 100km لذلك يجرى "تفاعل حسب طور Zero

Order Kinetics. والسرعة.

$$v = V_{\max}$$

$$1 \text{ mole of enzyme} = 25000 \text{ gram}$$

$$= 25000000 \text{ mg}$$

$$1 \text{ mg of enzyme} = \frac{1 \times 10^{-3}}{25 \times 10^3} = 4 \times 10^{-8} \text{ mole enzyme}$$

$$\text{Molecular Activity} = \frac{25 \times 10^{-3} \text{ mole substrate / liter} \cdot \text{min}}{4 \times 10^{-18} \text{ mole enzyme / liter}}$$

$$= 6.25 \times 10^5 \text{ mole S / mole enzyme} \cdot \text{Min}$$

مثال (٧-١١)

احسب نسبة تركيز مادة التفاعل اللازمة لحدوث 90 % من السرعة القصوى ( $V_{\max}$ ) من التفاعل إلى تركيز مادة التفاعل اللازمة لحدوث حوالي 10 % من

الـ  $\left(\frac{S_{90}}{S_{10}}\right) V_{\max}$  لحد الانزيمات التابعة لنظام الـ **Hyperbolic Kinetics**.

الحل

$$\frac{v}{\max} = \frac{S}{k_m + S}$$

$$\frac{0.9}{1} = \frac{S_{90}}{k_m + S_{90}}$$

$$0.9 k_m + 0.9 (S_{90}) = S_{90}$$

$$0.9 k_m = S_{90} - 0.9 S_{90}$$

$$0.9 k_m = 0.1 S_{90}$$

$$S_{90} = \frac{0.9 k_m}{0.1} = 9 k_m$$

$$\frac{v}{V_{\max}} = \frac{S}{k_m + S}$$

$$\frac{0.1}{1} = \frac{S_{10}}{k_m + S_{10}}$$

$$0.1 k_m + 0.1 S_{10} = S_{10}$$

$$0.1 k_m = S_{10} - 0.1 S_{10}$$

$$0.1 k_m = 0.9 S_{10}$$

$$S_{10} = \frac{0.1 k_m}{0.9} = 0.111 k_m$$

$$\frac{S_{90}}{S_{10}} = \frac{9 k_m}{0.111 k_m} = 81$$

(١-٧) إن تركيز مادة للتفاعل والسرعة البدائية للتفاعل الآتي:

| Initial S (M)      | Initial velocity (u mole / liter. Min) |
|--------------------|----------------------------------------|
| $10^{-2}$          | 120                                    |
| $2 \times 10^{-3}$ | 119                                    |
| $10^{-4}$          | 100                                    |
| $2 \times 10^{-6}$ | 20                                     |
| $10^{-6}$          | 10.9                                   |

احسب مايلي:

أ- km

ب- اثبت ان الانزيم يعمل ضمن نظام **Hyperbolic Kinetics**.

ج- احسب ثابت التفاعل لنظام **First Order Kinetics**.

(٢-٧) إن أحد الانزيمات نو له km المعادل  $2.4 \times 10^{-4}M$  قد لختبر بالتركيز الآتية

من مادة التفاعل:

أ-  $2 \times 10^{-7}M$

ب-  $6.3 \times 10^{-5}M$

ج-  $10^{-4}M$

د-  $2 \times 10^{-3}M$

هـ-  $0.05 M$

إن سرعة التفاعل للمحظة عندما كان تركيز مادة لتفاعل  $0.05M$  هي  $128 u \text{ mole}$

/ liter. Min. احسب السرعة البدائية بالتركيز الأخرى من مادة التفاعل.

(٣-٧) إذا كان تركيز الانزيم للوارد في السوائل (١-٧) والسؤال (٢-٧) قد ازداد إلى

خمسة أضعاف. فما هي السرعة المقابلة لكل تركيز من مادة التفاعل.

(٤-٧) إذا كانت  $km$  تعادل  $2.5 \times 10^{-5} mM$  وان السرعة للتفاعل الانزيمي عند  $km$  تعادل  $37.5 u \text{ mole} / \text{min} - \text{liter}$ . احسب تركيز مادة التفاعل (S) عندما يكون  $K$  مساوياً  $6 \times 10^5 \text{ min}^{-1}$ .

(٥-٧) أحد الانزيمات ذو  $km$  يعادل  $1.2 \times 10^{-4} M$  قد اختبر عندما كان تركيز مادة التفاعل البدائي يعادل  $0.20M$ . وفي ظرف 30 ثانية قد تكون  $2.7 u \text{ mole} / \text{liter}$  من ناتج التفاعل. ما كمية ناتج التفاعل المتكونة بعد

أ- دقيقة واحدة.  
ب- ٩٥ ثانية.  
ج- ثلاثة دقائق.  
د- ٥ دقيقة.

هـ- ما هي نسبة مادة التفاعل الأصلية التي استعملت في الأوقات المذكورة.

(٦-٧) أحد الانزيمات ذو الـ  $km$  يعادل  $2.6 \times 10^{-3}$  قد اختبر عندما كان تركيز مادة التفاعل البدائي هو  $0.3 M$  وان سرعة التفاعل الملحوظة كانت  $5.9 \times 10^{-7} \text{ mole} / \text{liter} \cdot \text{Min}$ . احسب كمية ناتج التفاعل بعد

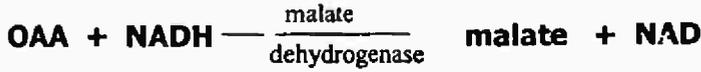
أ- ٥ دقائق.  
ب- ١٠ دقائق.

إذا كان تركيز مادة التفاعل البدائي يعادل  $2 \times 10^{-5}$ .

(٧-٧) إذا كانت  $K$  تعادل  $6 \times 10^5 \text{ min}^{-1}$  وان تعادل  $10^{-4} mM$  وان  $Km$  تعادل  $2.5 \times 10^{-5} Mm$ . احسب  $V_{max}$ .

(٨-٧) إذا كانت  $Km$  تعادل  $5 \times 10^{-5} M$  وان السرعة للتفاعل عند الـ  $Km$  تعادل  $75 \text{ mole} / \text{min} \cdot \text{Liter}$ . احسب تركيز مادة التفاعل (S) عندما يكون  $K$  مساوياً  $12 \times 10^5 \text{ min}^{-1}$ .

(٧-٩) يختزل الـ **oxaloacetate (OAA)** حسب التفاعل الآتي:



قد وجد ان معدل التفاعل (التغير في امتصاص الـ **NADH**) بالدقيقة بطول موجة **340 nm** قد حسب من تراكيز الـ **OAA** كالآتي:

| $\Delta A / \text{min}$ | <b>OAA</b>  |
|-------------------------|-------------|
| <b>0.96</b>             | <b>0.23</b> |
| <b>0.73</b>             | <b>0.12</b> |
| <b>0.44</b>             | <b>0.05</b> |
| <b>0.21</b>             | <b>0.02</b> |
| <b>0.13</b>             | <b>0.01</b> |

ارسم المنحني البياني وأحسب ثابت **Michaelis constant (km)**.