

الفصل السابع

Chapter Seven

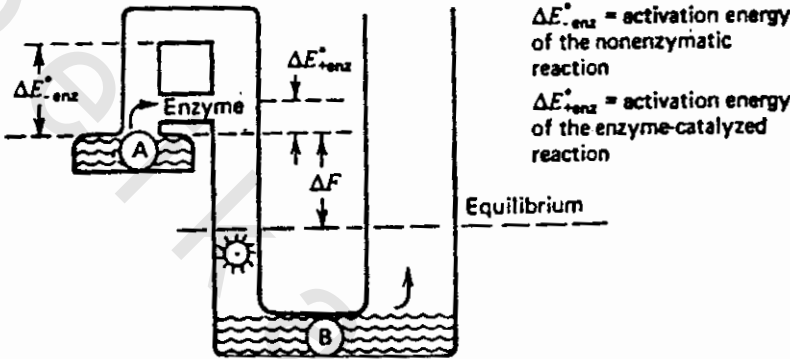
فعالية الانزيمات

Enzymes Activity

obeikandi.com

مقدمة

من المعلوم ان الانزيمات هي مركبات بروتينية تساعد في حدوث التفاعلات الحيوية وذلك بتقليل الطاقة اللازمة لحدوث التفاعل. ونلاحظ الشكل المرقم (١-٧) 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.



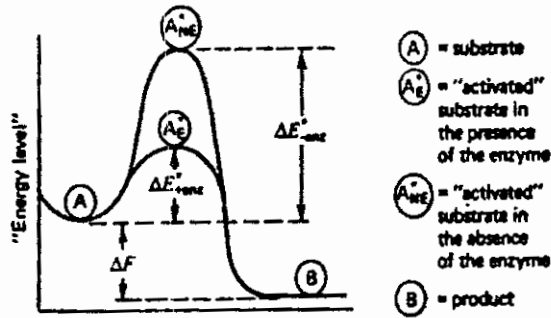
شكل رقم (١-٧): رسم تخيبي يوضح بان انتقال الماء من الموضع **A** إلى الموضع **B** يتطلب رفع الماء اولا لكي يسقط الماء وينجز الشغل.
 عن Segel, 1968

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 (٢-٧).

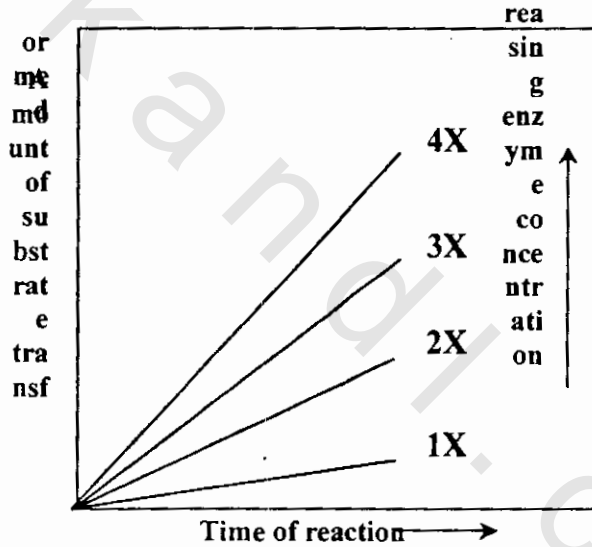
علاقة تركيز مادة التفاعل بسرعة التفاعل الانزيمي

المعلوم ان سرعة التفاعل الانزيمي تعتمد على عوامل عدة منها تركيز الانزيم

(شكل رقم (٣-٧)).



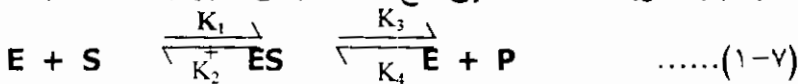
شكل رقم (٧-٢): ان التفاعلات الانزيمية تتطلب طاقة التشبث اقل مما تتطلبه التفاعلات غير الانزيمية (الكيمائية). عن: Segel, 1968



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

وتركيز مادة التفاعل وغيرها من العوامل الأخرى. وعندما يثبت تركيز الانزيم إلى حد مناسب فإن 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 الفعالة (**Allosteric Sites**) وتكوين المركب الوسطي المعقد (**ES**) الذي يمر 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 مايتي:



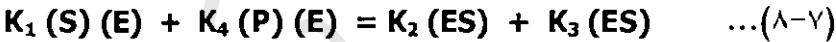
وكذلك



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 مايتي:

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

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 ناتج

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

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

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_1 , K_2 , K_3 إلى ثابت جديد هو K_m كالآتي:

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

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

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

وتحور هذه المعادلة إلى ما يأتي:

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

لنفرض أن (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 ما يأتي:

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

ويمكن أن تختصر المعادلة (٢٠-٧) إلى ما يأتي:

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

وعند الاستعاضة بالمعادلة (١٥-٧) يحصل الآتي:

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

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

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

ومن المعلوم أن (E_T) و (ES) 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 للانزيم. أي أن

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

بينما السرعة العادية في التركيز المعين لمادة التفاعل تتناسب مع كمية الانزيم 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:

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

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 **Meachelis** ويعني تركيز مادة التفاعل بوحدة **mole / liter** اللازم لاعطائه 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

$$km = (S) \quad \dots\dots(٣٦-٧)$$

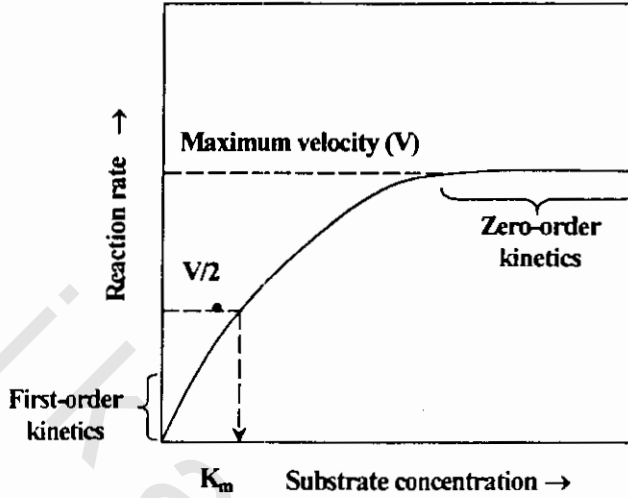
ويلاحظ أنه إذا كان تركيز مادة التفاعل **(S)** عالياً مقارنة بالـ **km** فإن **v** تعادل **V_{max}** ويبقى التفاعل ثابتاً. أي ان

$$v = K \quad \dots\dots(٣٧-٧)$$

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 مفترضاً ان تركيز الأنزيم يبقى ثابتاً.

عن: Conn and Stumpf, 1967

$$v = K(S)$$

.....(٧-٣٨)

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

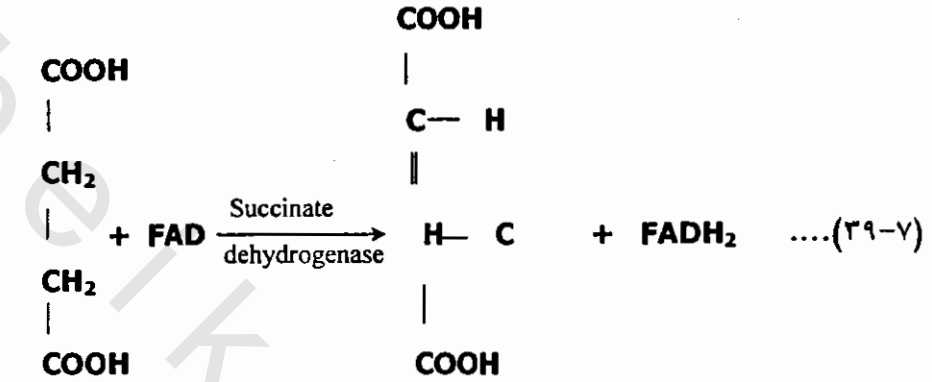
المثبطات **Inhibitors** هي المواد التي تقلل فعالية الانزيمات وبالنتيجة تقلل سرعة التفاعلات المساعدة بالانزيمات. ان المثبطات تقسم إلى ماياتي:

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 التنشيط بزيادة تركيز مادة التفاعل وبذلك

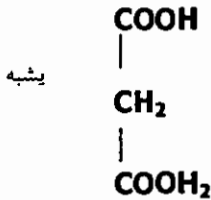
تطرد المثبط التنافسي عن المواقع الفعالة الموجودة في الانزيم.

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



Succinate

Fumarate



(Malonic Acid)

ومن المعلوم ان الحامض

الحامض **Succinate** في الصيغة التركيبية وفي حالة ارتباط المركب **Malonic Acid** بالانزيم يتكون فقط المركب الوسطي 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 الوسطي المعقد.

كما ان ثابت التوازن K_i 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 المركب **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 علمياً 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 ب 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 ايضاً كالاتي:

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

وعند قلب المعادلة (٥٥-٧) يحصل الآتي:

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

وتختصر المعادلة (٥٦-٧) إلى ماآتي:

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

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

الآتي:

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

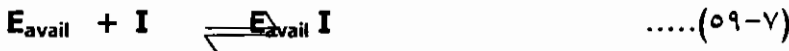
لقد وجد ان العامل $\frac{1}{K_i}$ يمثل الفة الانزيم اتجاه المثبط التنافسي وكما كانت $\frac{I}{K_i}$ قليلة كلما كانت الفة الانزيم نحو المثبط عالية.

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 Competitive inhibitors

وهي المواد التي تتحد في الانزيم بالمواقع غير الفعالة (None Active Sites). وهذه المواد عادة لا تشبه 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:

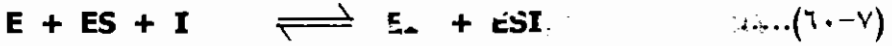


حيث ان E_{avail} هو الانزيم المتوفر للاتحاد مع المثبط.

وان I هو المثبط غير التنافسي.

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

اما المثبط غير التنافسي فقد يتحد بالانزيم الحر او بالمركب الوسطي للمعقد ES كالآتي:



ويمكن الاشارة إلى EI و ESI بالمصطلح EI كالآتي:



ولهذا يمكن كتابة ثابت التحلل K_i للمركب EI كالآتي:

$$K_i = \frac{(E + ESI)(I)}{(EI)} \quad \dots\dots(٦٢-٧)$$

ويذكر ان الانزيم يوجد بثلاثة أشكال هي:

$$E_T = E + ES + EI \quad \dots\dots(٦٣-٧)$$

ويمكن تحويل المعادلة (٦٣-٧) إلى مايلي:

$$E + ES = E_T - EI \quad \dots\dots(٦٤-٧)$$

وعند التعويض في المعادلة (٦٢-٧) يحدث الآتي:

$$K_i = \frac{(E_T - EI)(I)}{(EI)} \quad \dots\dots(٦٥-٧)$$

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

أي أن:

$$v \propto E_T \quad \dots\dots(٦٦-٧)$$

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

$$v_i \propto E_T - EI \quad \dots\dots(٦٧-٧)$$

ويمكن تقسيم المعادلة (٦٦-٧) على المعادلة (٦٧-٧) ويحصل الآتي:

$$\dots\dots(٦٨-٧) \quad \frac{v}{v_i} = \frac{E_T}{E_T - EI}$$

أن EI يمكن التعبير عنها بمصطلح ET 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 مايلي:

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

وتحور المعادلة (٧٠-٧) إلى مايلي:

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

وترتب المعادلة (٧١-٧) إلى مايلي:

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

وان 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 التحويرات 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:

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

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:

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

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_i .

اما km فلم تتغير وان السرعة القصوى للتفاعل V_{max} نقل كثيراً.

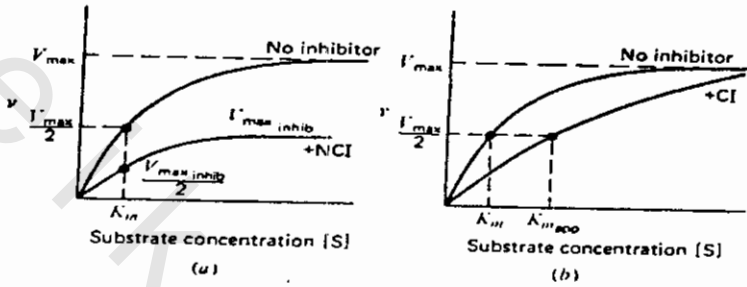
الأشكال البيانية المتعلقة بفعالية الانزيمات التابعة لديناميكية **Hyperbolic Kinetics**

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 العاملة على أساس معادلة **Michaelis - Menten** بمصطلح **Hyperbolic Kinetics**.

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

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

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



شكل رقم (٥-٧): منحنى يبين علاقة سرعة التفاعل (V) مع تركيز مادة التفاعل بوجود المثبط غير

التنافسي (a) والمثبط التنافسي (b) عن: Segel, 1968

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

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

ويمكن ترتيب المعادلة (٨٣-٧) إلى مايلي:

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

وعند اختصار المعادلة (٨٤-٧) يحصل الآتي:

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

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

$$Y = aX + b \quad \dots\dots(٨٦-٧)$$

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**.

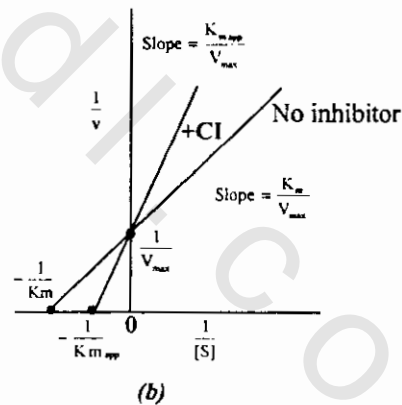
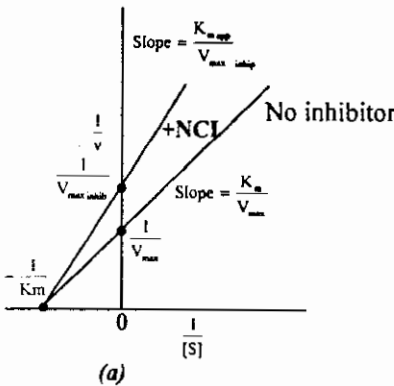
والمشابه لـ $\frac{1}{V_{max}}$.

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

المثبطات ووجودها ويسمى مثل من هذا المنحني البياني باسم **(Lineweaver - Burk 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 النوع 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 Lineweaver - Burk الذي يوضح علاقة \bar{V} مع $\frac{1}{S}$ بغياب

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

عن: Segel, 1968

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

وتختصر المعادلة (٨٧-٧) إلى ما يأتي:

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

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

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

أو نحور المعادلة (٨٩-٧) إلى ما يأتي:

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

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

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

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

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

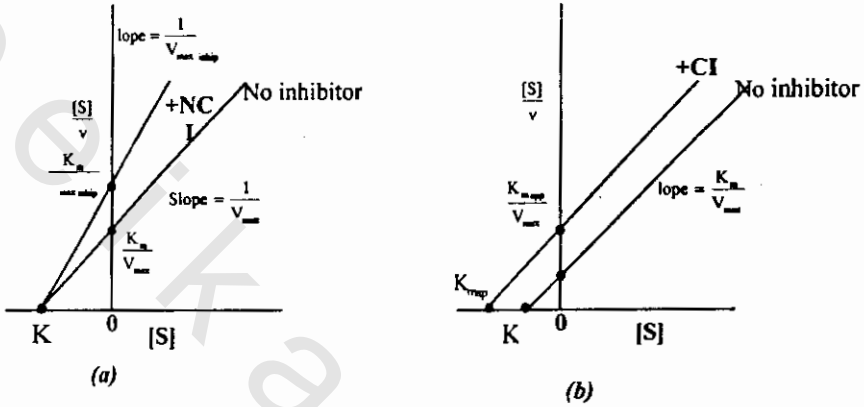
ونحور المعادلة (٩٢-٧) إلى ما يأتي:

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

وتختصر المعادلة (٩٣-٧) إلى ما يأتي:

$$S = - k_m \quad \dots\dots(٩٤-٧)$$

أن الشكل المرقم (٧-٧) يوضح منحني (Woolf Plot) حيث يمثل علاقة $\frac{S}{v}$ مع تركيز مادة التفاعل (S) بغياب المثبطات ووجوده ' النوع الثالث من المنحنيات البيانية فيسمى باسم (Hofstee Plot) حيث يجري بقسمة الطرف الايمن من المعادلة (٧-٢٢) على العامل S ليحصل الآتي:



شكل رقم (٧-٧): منحني Woolf Plot الذي يوضح علاقة $\frac{S}{v}$ مع S بغياب وجود المثبط غير التنافسي (a) ولتنافسي (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:

$$v = \frac{V_{\max}}{\frac{km}{S} + \frac{S}{S}} \quad \dots\dots(٩٧-٧)$$

وتختصر المعادلة (٩٧-٧) إلى ما يأتي:

$$\dots\dots(٩٨-٧) \quad v = \frac{V_{\max}}{\frac{km}{S} + 1}$$

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

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

وتحور المعادلة (٩٩-٧) إلى ما يأتي:

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

وترتب المعادلة (١٠٠-٧) إلى ما يأتي:

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

وتحور المعادلة (١٠١-٧) إلى ما يأتي:

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

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

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

ومن الجدير ذكره ان المعادلة (١٠٣-٧) تشبه معادلة الخط المستقيم (٨٦-٧): حيث أن

v تمثل Y .

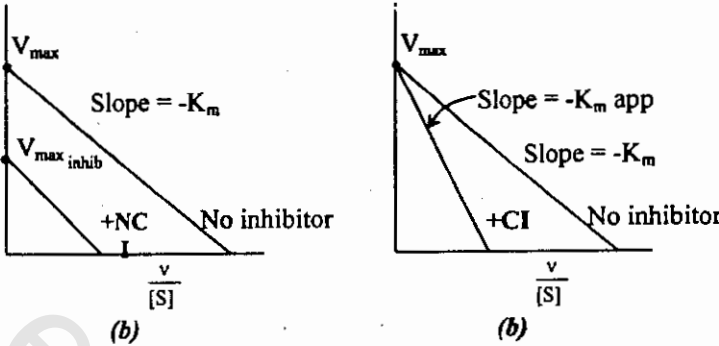
وان $-km$ تمثل a .

وان $\frac{v}{S}$ تمثل.

وانه V_{\max} تمثل نقطة التقاطع b .

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

وجود المثبطات.



شكل رقم (٨-٧): 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 " تمثل مادة التفاعل هذه

باسم **Effector Activator**.

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

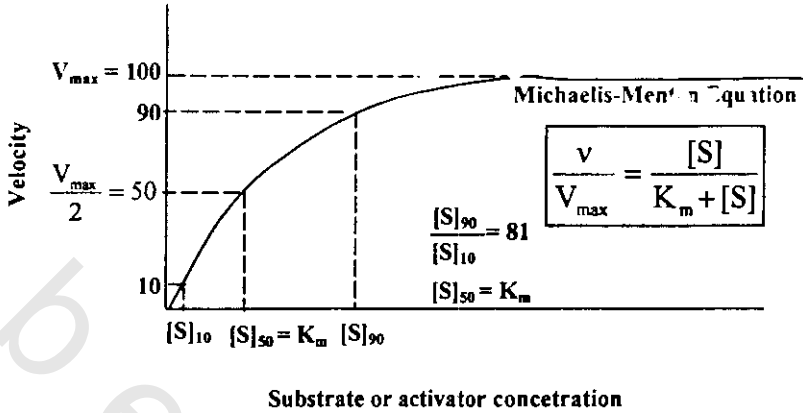
موقع ارتباط الـ **Effector** بالانزيم.

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

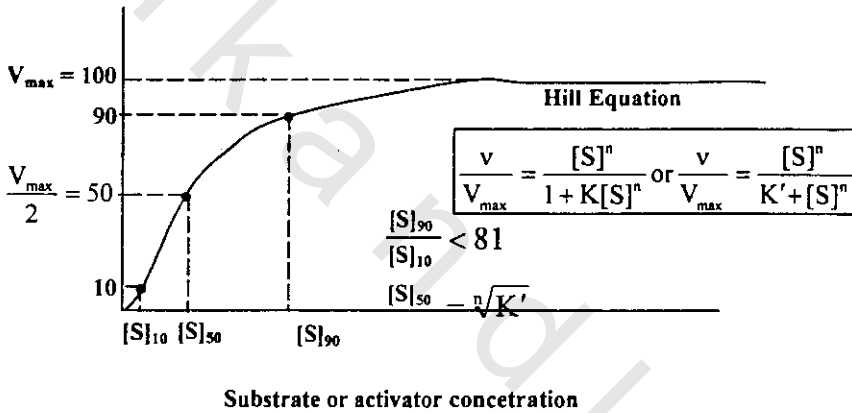
٩٠% و ١٠% من السرعة القصوى للتفاعل V_{max} هي ٨١ بالنسبة للانزيمات العاملة

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

بنظام **Sigmoidal Kinetics**.



(a)



(b)

شكل رقم (٧-٩): منحنيات عمل الانزيمات.

a الانزيمات العاملة على نظام **Hyperbolic Kinetics**

b الانزيمات العاملة على نظام **Sigmoidal Kinetics**

عن: Segel, 1968

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

$$\frac{v}{V_{max}} = \frac{(S)^n}{K' + (S)^n} \dots (٧-١٠٤)$$

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 قرين الانزيم **Coenzyme**، توفر الـ **pH** الملائم والقوة الايونية المناسبة).

٢- النشاط النوعي للأنزيم Specific Activity:

هو عدد الوحدات الأنزيمية (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.

Michaelis - Menten :- ان معادلة

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

فان للتفاعل يسير حسب $100km$ -٥ في حالة كون تركيز مادة للتفاعل يساوي أو يزيد عن

وان ناتج التفاعل سيعادل الآتي: **Zero Order Kinetics** ديناميكية

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

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 $0.01 km$ فان التفاعل يسير حسب ديناميكية

الـ First Order Kinetics وان

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

حيث ان K هو ثابت التحلل أما K فيقاس كالتالي:

$$\dots\dots(١٠٧-٧)$$

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) المذكورة سابقاً وهي:

$$S_t$$

$$P = S_0 - S_t$$

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

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

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

احسب ماياتي:

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

ب- ما هي السرعة البدائية للتفاعل عندما يكون تركيز مادة لتفاعل البدائي 2.5×10^{-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:

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

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

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

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

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

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

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

وكذلك 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

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

$$\frac{v}{75} = \frac{2.5 \times 10^{-5}}{2 \times 2.5 \times 10^{-5}}$$

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

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

ج- حساب ناتج التفاعل p عندما يكون تركيز مادة التفاعل 0.4 M أو 4×10^{-2}

ولهذا يكون تركيز مادة التفاعل لكثير من 100 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 microgram مسن انزيم

معين وذو الوزن الجزيئي 2×10^4 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 $10^6 \times 10^4 \times 10 \times 12 \text{ microgram}$

.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

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

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

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

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

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

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

$$\text{km} = \frac{0.8}{\frac{0.35}{V_{\max}} \times 1.5} = 2.27 \text{ mM}$$

$$0.21 = \frac{0.35}{2.27 + 1.5}$$

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

$$0.78 = 1.5 V_{\max}$$

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

مثال (٤-٧)

عند أي تركيز للمادة الاساس (S) يملك الانزيم سرعة قصوى 30 u mole في المادة الاساس المتحولة لكل دقيقة لكل ملجرام وقيمة 0.05 M km مضهرة $\frac{1}{4}$ سرعته القصوى.

٤

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

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

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

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

$$7.5 + 5 + 7.5 S = 30 S$$

$$7.5 S + 3 \times 5 = 30 S$$

$$22.5 S = 37.5$$

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

مثال (٧-٥)

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

الحالة الثانية	الحالة الأولى Product u m / 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 M وأن تركيز km لمادة التفاعل يعادل 2×10^{-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 M هي القصوى V_{max} عندما يكون تركيز مادة التفاعل أكثر من 100 km .

أ- عندما يكون تركيز $3.5 \times 10^{-3} \text{ M}$ فإن S أكثر من 100 km . وأن 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 km لذلك يطبق لقانون

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

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

أي أن $10 \text{ km} = S$

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

مثال (V-V)

السرعة الابتدائية للتفاعل المساعد انزيمياً قد قيست تحت ظروف مختلفة من تراكيز مادة التفاعل والمعلومات قد ادرجت في الجدول الآتي:

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

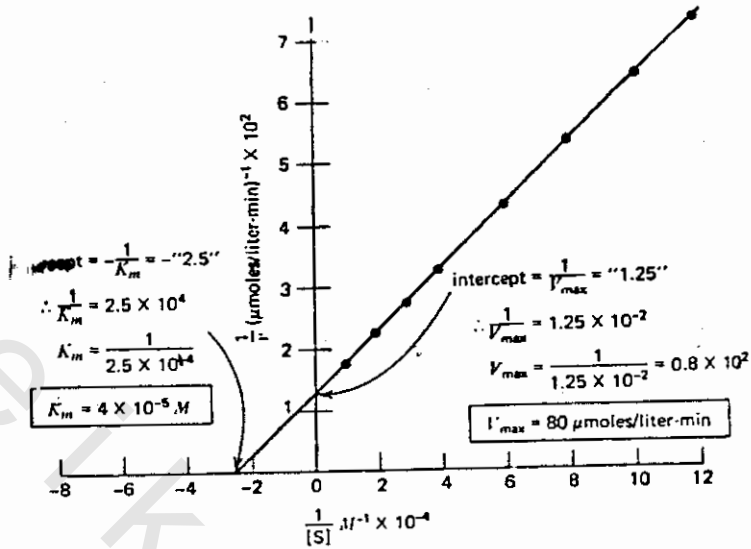
2.76×10^{-2}	3×10^4	36.2	3.3×10^{-5}
2.25×10^{-2}	2×10^4	44.5	5.0×10^{-5}
1.75×10^{-2}	1×10^4	57.2	1×10^{-4}
1.50×10^{-2}	0.7×10^4	66.7	2.0×10^{-4}

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

.Burk Plot

الحل

من الشكل البياني ومن قراءة $\frac{1}{S}$ و $\frac{1}{V}$ 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 K_m و v_{\max} .

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.

أ- ماهي نسبة مادة التفاعل التي تتحول إلى ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.

ب- إذا كان تركيز مادة التفاعل البدائي هو $10^{-6} M$ فما هي نسبة مادة التفاعل التي تتحول إلى ناتج التفاعل بعد ثلاث دقائق.

ج- ماهي السرعة القصوى v_{\max} للتفاعل.

د- ماهو تركيز مادة التفاعل الذي يظهر السرعة القصوى.

هـ- 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 $0.01 K_m$ فإن التفاعل يجرى حسب طور **First**

$$\log \frac{S_0}{S_t} = \frac{K t}{2.3} \text{ Order Kinetics يطبق التانوم}$$

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} M فإن التفاعل يسير حسب

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

سكنون $3 \times 5.6 \times 16.8 \%$ 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).

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

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

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

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

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

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

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

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 $0.2M$ 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 كالآتي:

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

$$I_1 = \frac{V_{\max}}{k_m} = \frac{4.02 \times 10^{-5}}{2 \times 10^{-3}}$$

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

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 استغلّت في التفاعل وإن الـ k_m 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 km لذلك يجرى التفاعل بطور **First**

Order Kinetics.

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

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

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

$$\begin{aligned} V_{\max} &= (K) (k_m) \\ &= (0.115) (5 \times 10^{-3}) \\ &= 0.575 \times 10^{-3} \text{ mole / liter. min} \end{aligned}$$

$$\log \frac{S_0}{S_t} = \frac{K t}{2.3}$$

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

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

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

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

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

$$- \log S_t = + 5.449$$

$$\log S_t = - 5.449$$

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

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

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

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

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

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

مثال (٧-١٠)

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

تعاادل $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ 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 الانزيم.

الحل

بما ان تركيز مادة التفاعل هو اكثر من 100km لذلك يجري "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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

احسب ما يأتي:

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 الـ km المعادل $2.4 \times 10^{-4} M$ قد لختبر بالتركيز الأتي

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 لتفاعل الملحوظة عندما كان تركيز مادة لتفاعل $0.05 M$ هي $128 u \text{ mole}$

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

(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 الابتدائي 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 2.6×10^{-3} قد اختبر عندما كان تركيز مادة التفاعل الابتدائي 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

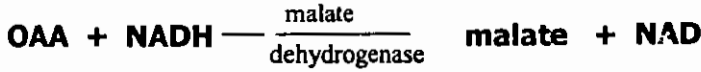
أ- ٥ دقائق.
ب- ١٠ دقائق.

إذا كان تركيز مادة التفاعل الابتدائي يعادل 2×10^{-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** كالاتي:

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

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