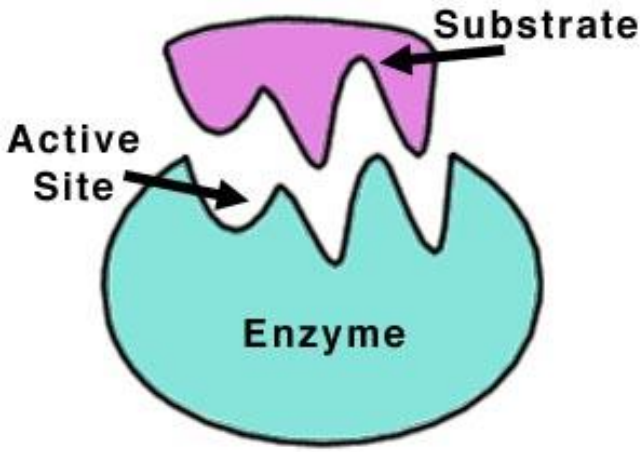
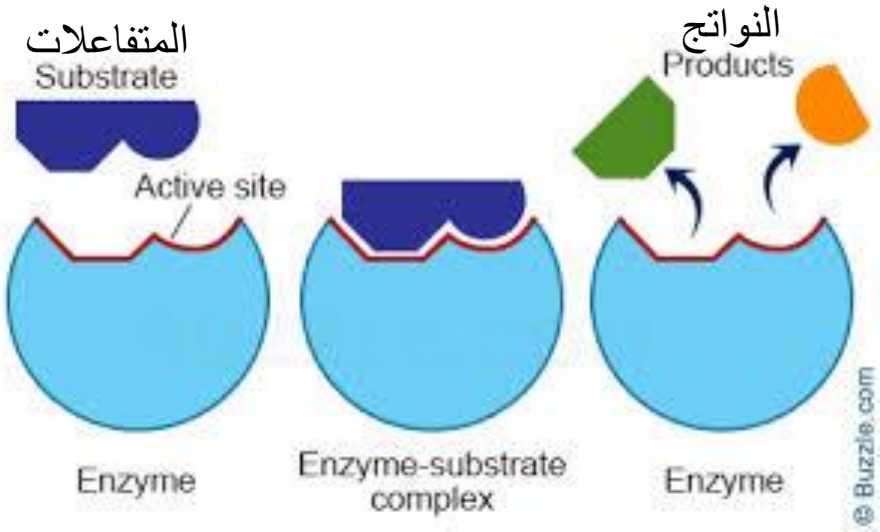
الإنزيمـــــات

Enzymes

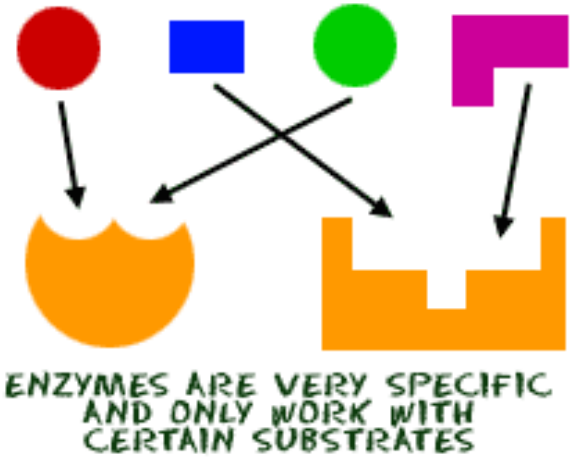


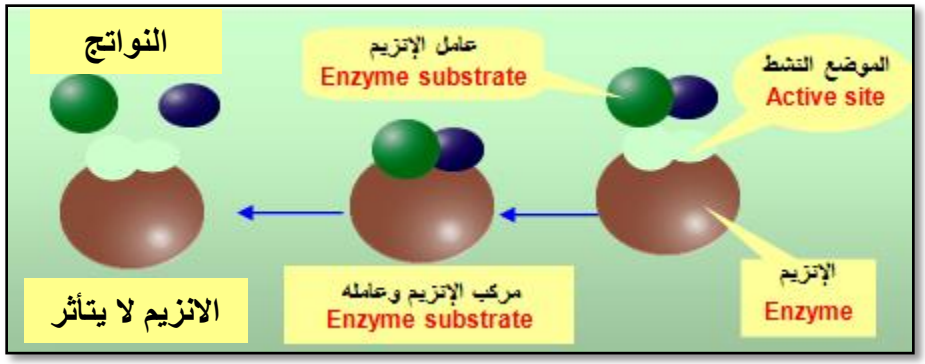
ماهي الإنزيمات ؟

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



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





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

الإنزيمات البسيطة

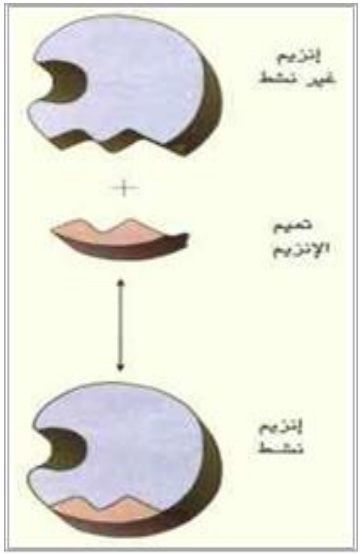
Simple Enzymes

وهي كأي بروتينات بسيطة عبارة عن سلسلة من الأحماض الأمينية المتتالية

الإنزيمات المرتبطة

Conjugated Enzymes

وهي التي تتكون من شقين ، أحدهما بروتيني والآخر غير بروتيني . علماً بأن المجموعات غير البروتينية هي جزء من المركز الفعّال في الإنزيم، وتسمى في هذه الحالة باسم " المرافق الإنزيميco-enzyme أو العامل المعاونco-factor .
وهذه الأجزاء غير البروتينية ضرورية لنشاط هذه الإنزيمات .



العوامل المؤثرة في نشاط الإنزيمات :

١- تركيز الإنزيم.

٢- تركيز المادة الأساس substrate في التفاعل التي يعمل عليها ذلك الإنزيم.

٣- درجة الحرارة التي يحدث فيها التفاعل.

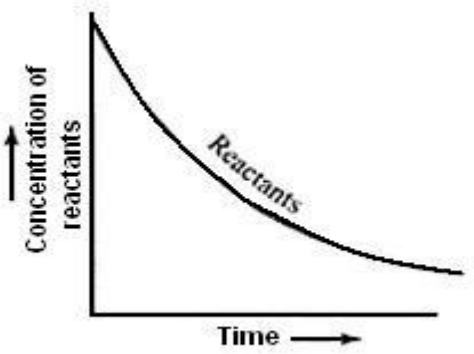
٤- درجة الأس الهيدروجيني للوسط (قيمة pH)

٥- وجود مواد مثبطة inhibitor تعيق عمل الإنزيم أو تقلل نشاطه الحيوي.

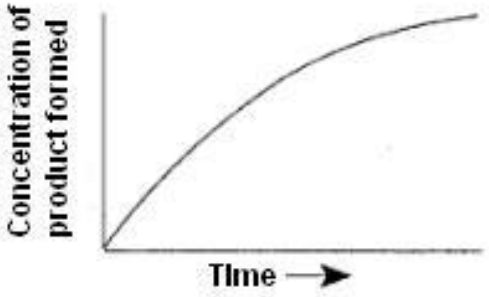
مبدأ دراسة نشاط الإنزيمات بطريقة عملية :

الإنزيم لا يدخل في التفاعل، ولهذا فإن دراسة نشاطه عملياً تتم من خلال قياس وتتبع **المواد المتفاعلة** **ومدى نقصها** أو اختفائها، وكذلك باختبار **ظهور نواتج التفاعل** أو زيادتها. فمن الواضح أن إختفاء المواد المتفاعلة أو نقصها، وظهور نواتج التفاعل أو تزايدها يدل على أن الإنزيم نشط في تحفيزه للتفاعل في الظروف المناسبة للتفاعل .

تركيز المواد المتفاعلة



تركيز المواد الناتجة

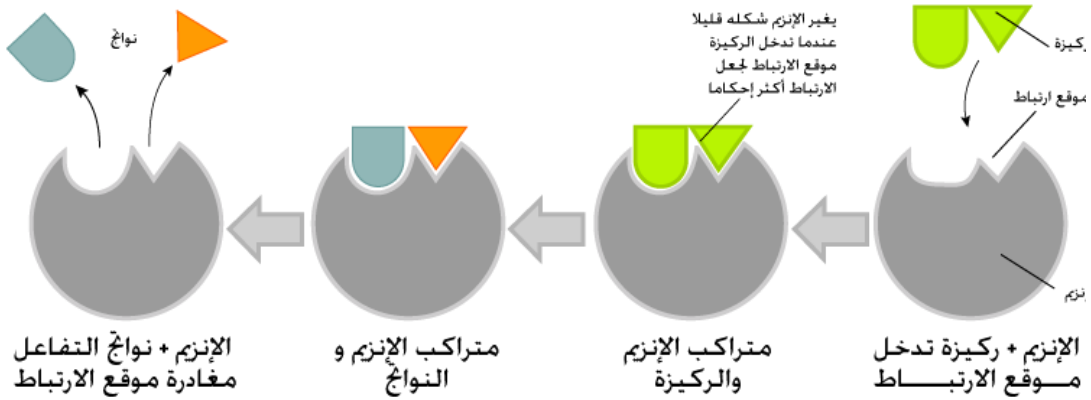


بعض التفاعلات الإنزيمية تكون عكسية و تتضمن تكوين وسيط هو مركب E-S

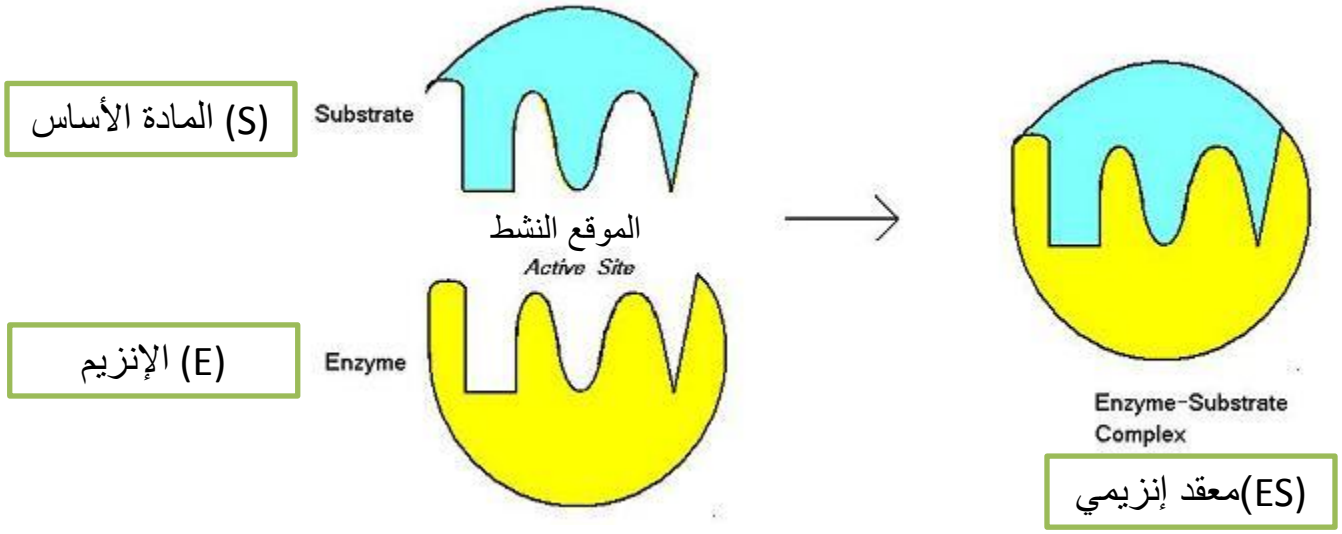
$$E+S \longleftrightarrow ES \longleftrightarrow E+P$$

المادة الأساس+ الإنزيم	مركب وسيط	الناتـــج

كما أن جزيء الإنزيم الواحد على الرغم من أنه يستطيع أن يتفاعل المره تلو الأخرى إلا أنه لا يستطيع أن **<u>يرتبط إلا مع عدد معين من جزيئات المادة المتفاعلة في الدقيقة الواحدة</u>** و هذا يسمى **عدد التحول** ، و عدد التحول يختلف من انزيم الى آخر.



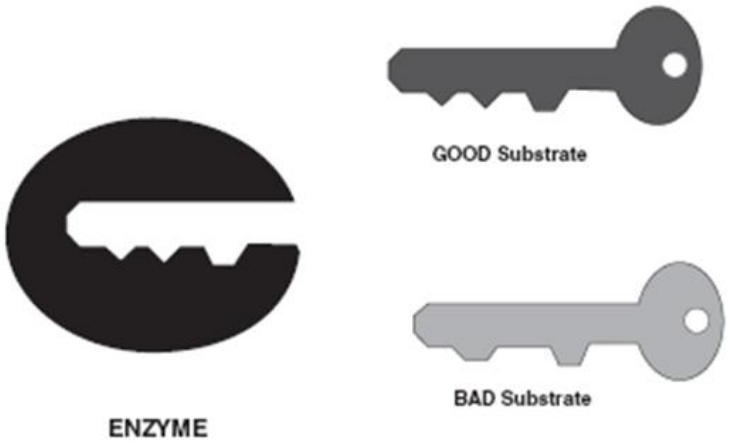
ترتبط مادة التفاعل بموقع معين على سطح الإنزيم يسمى **بالموقع النشط** مكوناً مايسمى بالمعقد الإنزيمي ES.

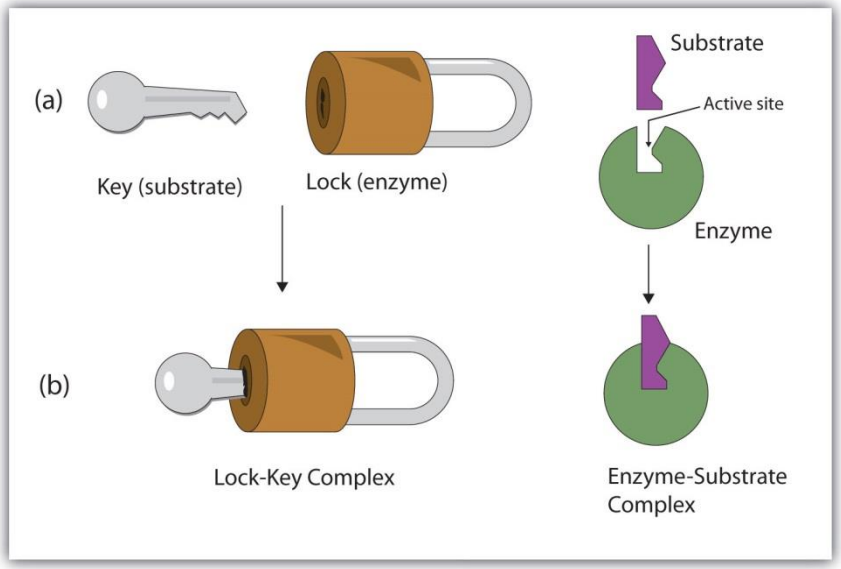


كيف يمكن تفسير خصوصية الإنزيم للمادة الأساس

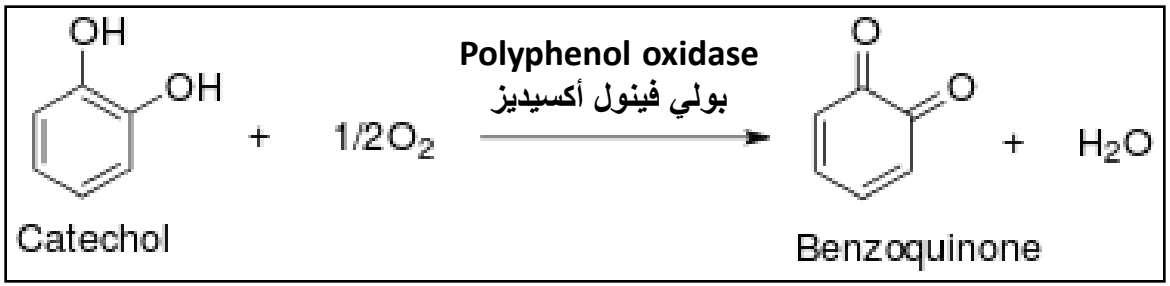
فرضية القفل و المفتاح تفترض أن **<u>الإختلافات في الشكل ثلاثي الأبعاد لسطح الموقع النشط</u>** أساسي لخصوصية الإنزيم أي أنه يوجد نوع معين من مادة التفاعل تستطيع تحقق التطابق مع نوع معين من الإنزيمات.

فرضية القفل و المفتاح



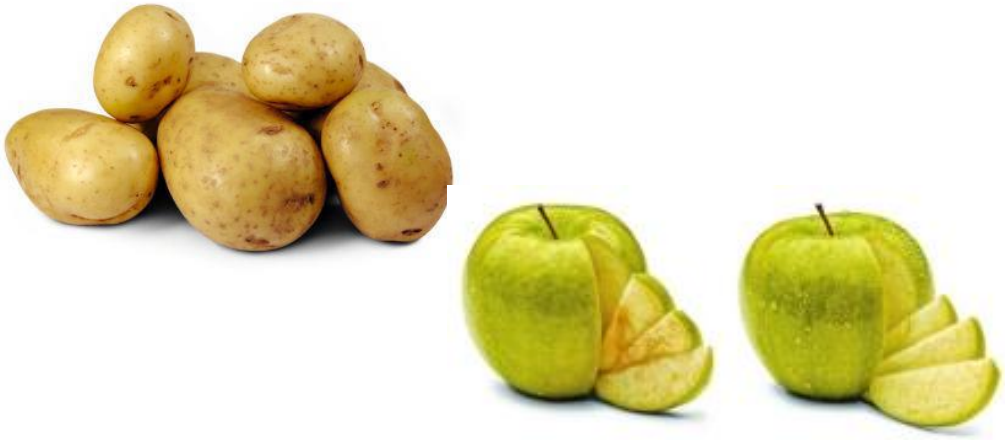


في هذه التجربة سوف يتم تحضير مستخلص خام من **إنزيم البولي فينول أكسيديز** من البطاطس يحتوي هذا الإنزيم على النحاس في الموقع النشط و الأس الهيدروجيني الأمثل لنشاطه هو 6.7 هذا الإنزيم يحفز تفاعل عملية **الأكسدة** لثاني و ثلاثي هيدروكسي فينول الى quinon .



ثنائي هيدروكسي فينول

لون بني



الاختبارات الوصفية للكشف عن نشاط بعض الإنزيمات Qualitative tests of Enzyme activity

١- اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز.

٢- إختبار الطبيعة الكيميائية لإنزيم بولي فينول أكسيديز.

٣- إختبار خصوصية مادة التفاعل (المادة الأساس) لإنزيم بولي فينول أكسيديز.

٤- إختبار تأثير درجة الحرارة على النشاط إنزيم بولي فينول أكسيديز.

٥- الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات (للإنزيمات عامة).

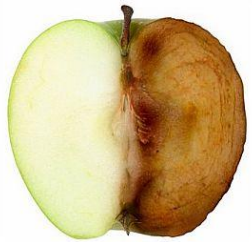
١- اختبار النشاط الإنزيمي للبولي فينول أكسيديز

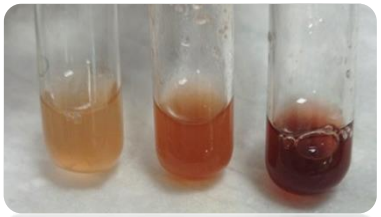
النظرية العلمية للاختبار:

دراسة نشاط الانزيم عملياً تتم من خلال قياس وتتبع نقص أو اختفاء المواد المتفاعلة، أو باختبار ظهور و زيادة نواتج التفاعل. تفاعل الأكسدة و الإختزال يصاحبه تغير في اللون، تفاعل إنزيم البولي فينول أكسيديز نصادفه كثيراً في الطبيعة و هو المسؤول عن **اللون البني** الذي يظهر على البطاطا و بعض الفواكه بعد تقشيرها و ذلك لتكون المادة الناتجة من الأكسدة و هي quinon

سنتابع في هذه التجربة تطور التفاعل الإنزيمي بطريقة بسيطة و هي **التغير في اللون**.

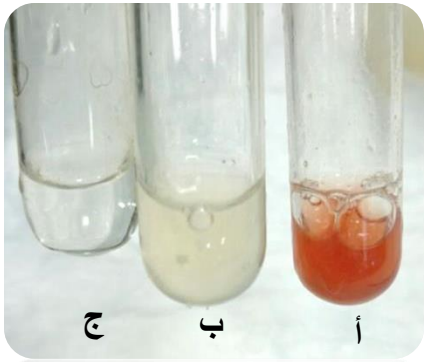
* و كثافة اللون **تتناسب طردياً** مع نشاط الإنزيم.





درجة كثافة اللون في أنبوبة الاختبار	الرمز
عديم اللون	(-)
لون باهت	(+)
لون واضح	(++)
لون غامق	(+++)

طريقة العمل:



١- حضري ٣ أنابيب اختبار (أ، ب، ج)
٢- حضري كل أنبوبة كما يلي:

أنبوبة (أ):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ قطرة من الكاتيكول

أنبوبة (ب):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ قطرة من الماء المقطر

أنبوبة (ج):
١٥ قطرة من الكاتيكول + ١٥ قطرة ماء مقطر

٣- ضعي الأنابيب الثلاثة في حمام مائي 37°C
٤- رجي كل أنبوبة ٥ دقائق لتهويتها وذلك لإضافة الأوكسجين للمحلول.
دوني اللون الظاهر.

زمن التحضين بالدقائق	كثافة اللون +،++،+++		
	أ	ب	ج
0			
5			
10			
15			
20			
25			

٢- إختبار الطبيعة الكيميائية لإنزيم بولي فينول أكسيديز:

النظرية العلمية للاختبار:

الإنزيمات هي من أنواع البروتينات، فعند اضافة إنزيم **التربسين** (إنزيم يعمل على تحلل البروتينات وذلك بواسطة تحليله للروابط الببتيدية) الى انزيم بولي فينول أكسيديز فإنه يتحطم و يفقد قدرته على أكسدة ثنائي هيدروكسي فينول. و كذلك عند اضافة **ثلاثي كلورو حمض الخليك** يستخدم عادة في المعامل حيث يعمل على مسخ أو تغير طبيعة البروتينات denaturation ويعمل على ترسيبها.

و **phenyl thiourea** مادة لها ميل كيميائي قوي تجاه عنصر النحاس فبإمكانه الارتباط به حتى و لو كان مرتبطا.

طريقة العمل :

١- حضري ٤ أنابيب (أ، ب، ج، د)
٢- حضري كل أنبوبة كما يلي:

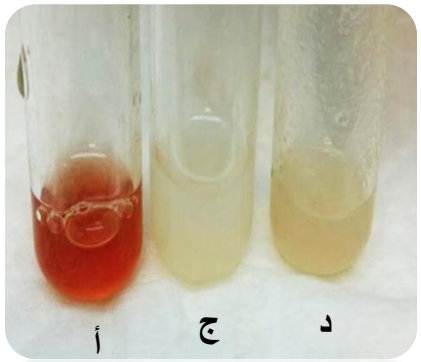
أنبوبة (أ):
١٥ قطرة من المستخلص الأنزيمي + ١٥ قطرة من الكاتيكول
رجي الأنبوبة و ضعيها في حمام مائي 37°Cلمدة ١٠ دقائق و استخدميها كمقياس.(المحضرة مسبقا)

أنبوبة (ب):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ٥ مل من التربسين، رجي الأنبوبة جيداً انتظري ٥ دقائق
ثم أضيفي ١٥ قطرة من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي 37 C لمدة ١٠ دقائق، قارني بأنبوبة (أ)

أنبوبة (ج):
١٥ قطرة من المستخلص الأنزيمي + ١٥ قطرة من ثلاثي كلورو حمض الخليك، رجي الأنبوبة جيداُ انتظري ٥ دقائق ثم أضيفي ١٥ قطرة من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي ٣٧°م لمدة ١٠ دقائق، قارني بأنبوبة (أ).

أنبوبة (د):
١٥قطرة من المستخلص الأنزيمي + بضعة بلورات من phenyl thiourea، استمري بالرج لمدة ٥ دقائق
ثم أضيفي ١٥ قطرة من الكاتيكول و ضعيها في حمام مائي ٣٧°م لمدة ١٠ دقائق، قارني بأنبوبة (أ).

الأنبوبة	المادة المضافة	كثافة اللون +،++،+++
أ	مقياس	
ب	تربسين	
ج	ثلاثي كلورو حمض الخليك	
د	Phenylthiourea	



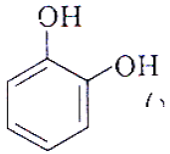
٣- إختبار خصوصية مادة التفاعل لإنزيم بولي فينول أكسيديز:

النظرية العلمية للاختبار:

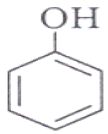
تقوم الانزيمات بتحفيز التفاعلات بطريقة **تخصصية**، أي أن كل إنزيم يقوم بتنشيط تفاعل محدد أو أكثر من خلال العمل على مادة معينة تسمى المادة الأساس أو مجموعة مواد متشابهة كيميائياً دون غيرها.

يعمل انزيم بولي فينول أكسيديز على تحفيز أكسدة مجموعة من المواد لها تركيب كيميائي متقارب و هو **احتوائها جميعا على أكثر من مجموعة فينول** ، الكاتيول و الهيدروكينون.

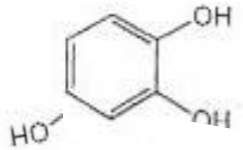
التركيب الكيميائي للثلاث مركبات متقاربة



Catechol



Phenol



Hydro quinone

طريقة العمل :

١- حضر ٣ أنابيب (أ، ب، ج)
٢- أضيفي ١٠ قطرات من المستخلص الإنزيمي لكل أنبوبة.
٢- حضري كل أنبوبة كما يلي:

أنبوبة (أ):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ قطرة من الكاتيكول.

أنبوبة (ب):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ قطرة من محلول الفينول.
رجي الأنبوبة وضعيها في حمام مائي 37 C لمدة ٥ دقائق.

أنبوبة (ج):
١٥ قطرة من المستخلص الإنزيمي + ١٥ قطرة من هيدروكينون.
رجي الأنبوبة وضعيها في حمام مائي 37 °C لمدة ٥ دقائق.
افحصي الأنابيب ثم سجلي لون كل أنبوبة.

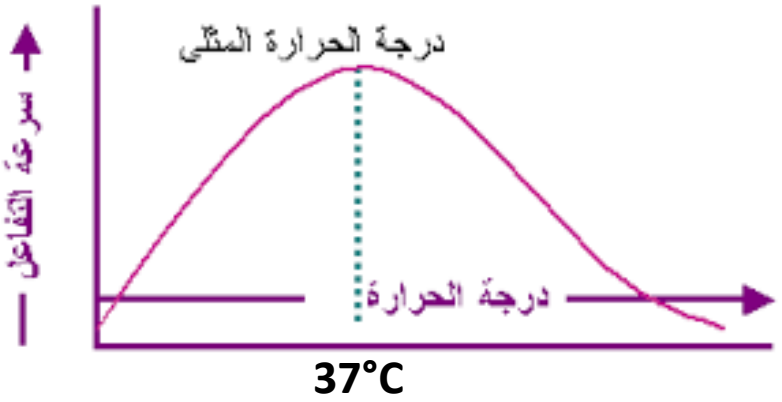
المادة الأساس	كثافة اللون +،++،+++
	10 دقائق
كاتيكول	
فينول	
هيدروكينون	

٤- إختبار تأثير درجة الحرارة على النشاط إنزيم بولي فينول أكسيديز:

النظرية العلمية للاختبار:

لكل انزيم **درجة حرارة مثلى** لنشاطه، عند هذه الدرجة يكون الانزيم **في أعلى درجات نشاطه مما يزيد من سرعة التفاعل**. عند درجات حرارة أعلى أو أقل من درجة الحرارة المثلى، يقل نشاط الانزيم و تقل تبعاً لذلك سرعة التفاعل الى أن ينعدم نشاط الانزيم عند درجات الحرارة العالية جداً أو المنخفضة جداً (صفر درجة مئوية «في الثلج»)

درجة الحرارة المثالية لنشاط انزيم البولي فينول أكسيديز هي **37 °C**.



٤- إختبار تأثير درجة الحرارة على النشاط إنزيم بولي فينول أكسيديز:

١- حضري ٣ أنابيب (أ ، ب، ج).
٢- أضيفي ١١ قطرة من المستخلص الإنزيمي وضعيها في حمام مائي لمدة ١٠ دقائق عند درجات مختلفة
أنبوبة (أ) عند صفر درجة مئوية "وعاء به ثلج"
أنبوبة (ب) عند ٣٧ م°
أنبوبة (ج) عند ٧٠ م°
٣- أضيفي ١٥ قطرة من محلول الكاتيكول في كل أنبوبة مع الرج.
٤- انتظري ١٠ دقائق ثم افحصي كل أنبوبة بدون إخراجها من حمامها المائي وسجلي ملاحظاتك على اللون في الجدول الخاص بالنتائج.

درجة الحرارة م°	كثافة اللون +،++،+++
0	
37	
70	

٥- الكشف عن الطبيعة الكيميائية للإنزيمات:

النظرية العلمية للإختبار:

من المعلوم أن الإنزيمات هي من أنواع البروتينات، و في دراستنا للبروتينات تعرفنا على سابقاً الكاشف العام لها و هو اختبار بيوريت، و المبدأ أن نجري التجربة المذكورة على محاليل إنزيمات، فإن ظهرت نتيجة إيجابية نكون قد تحققنا من أن **الإنزيم عبارة عن بروتين في طبيعته الكيميائية.**

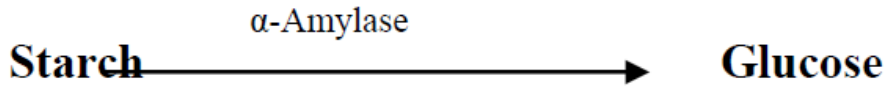
طريقة العمل:

ضعي ١ مل من المستخلص الإنزيمي + ٣ مل من بيوريت.

الأنبوبة	الإستنتاج
المستخلص الإنزيمي + بيوريت	

إنزيم الأميليز α-Amylase :

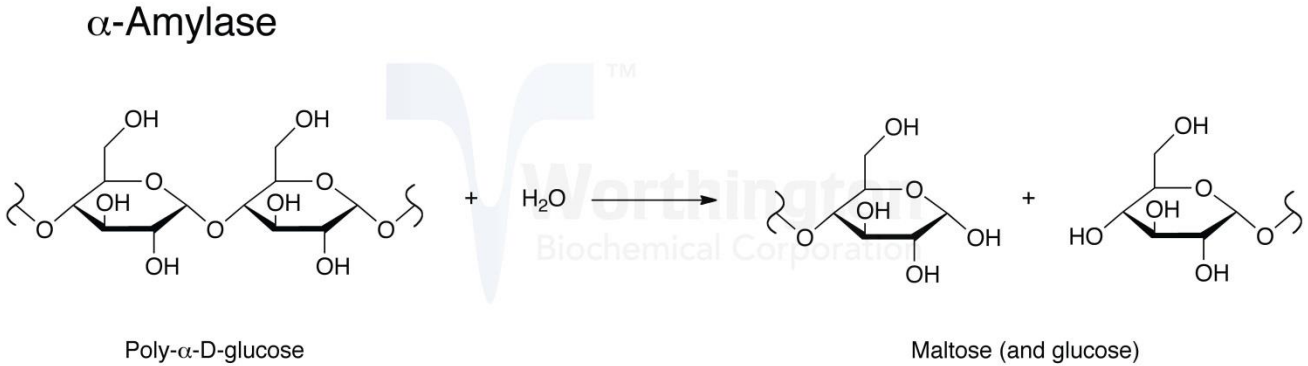
تفرزه الغدد اللعابية في الفم، ليقوم بتحليل النشا إلى سكريات أحادية (جلوكوز) .

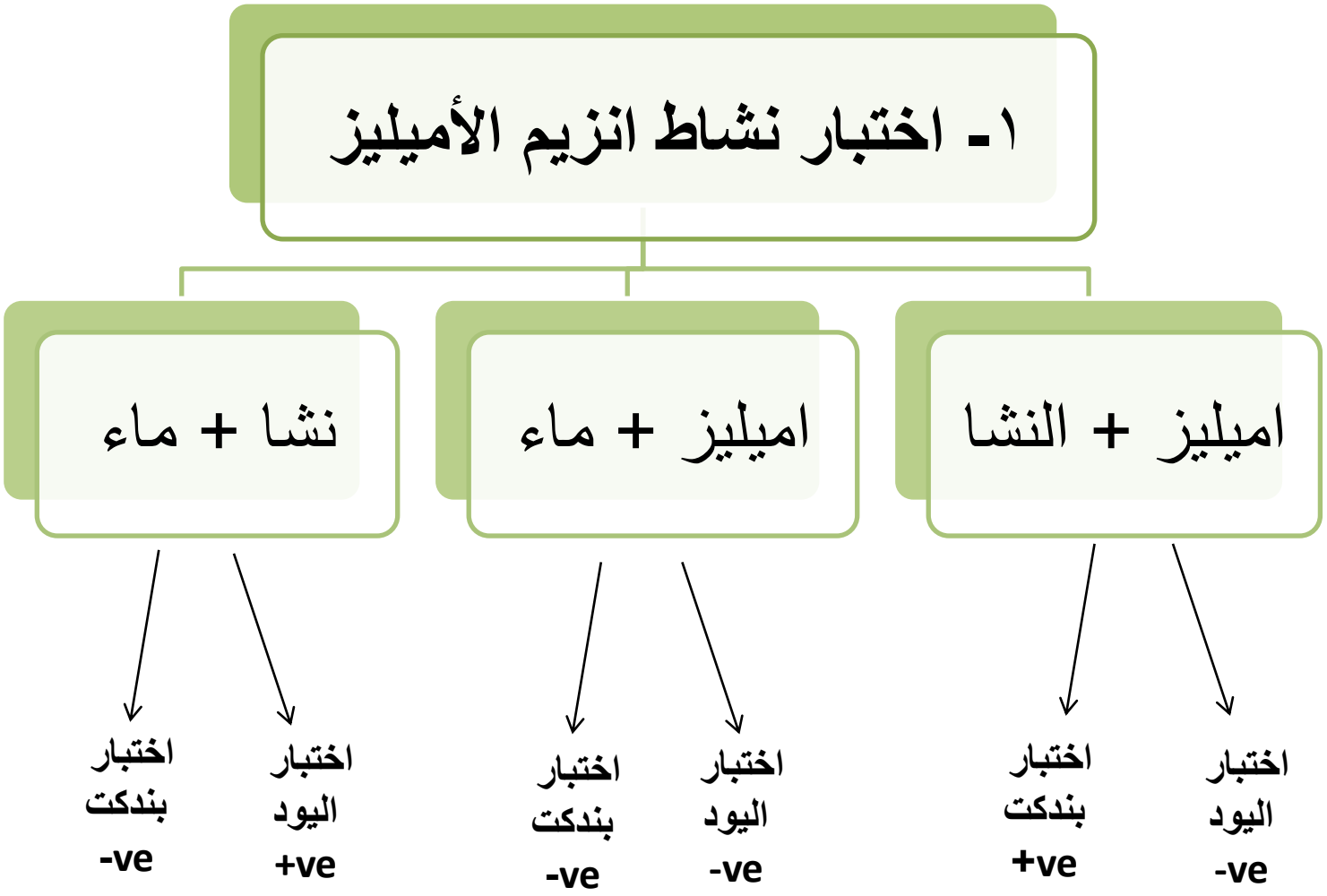


النظرية العلمية للاختبار:

الأمثل لنشاطه في هذه التجربة سوف يتم العمل على إنزيم الاميليزمن اللعاب، والأس الهيدروجيني هو ٦,٧ . ونختبر بقاء النشا أواختفاءه ، وكذلك نختبر ظهور الجلوكوز من عدمه.

و قد سبق أن درسنا اختبار اليود لفحص وجود النشا ، واختبار بندكت للسكر الأحادي المختزل .



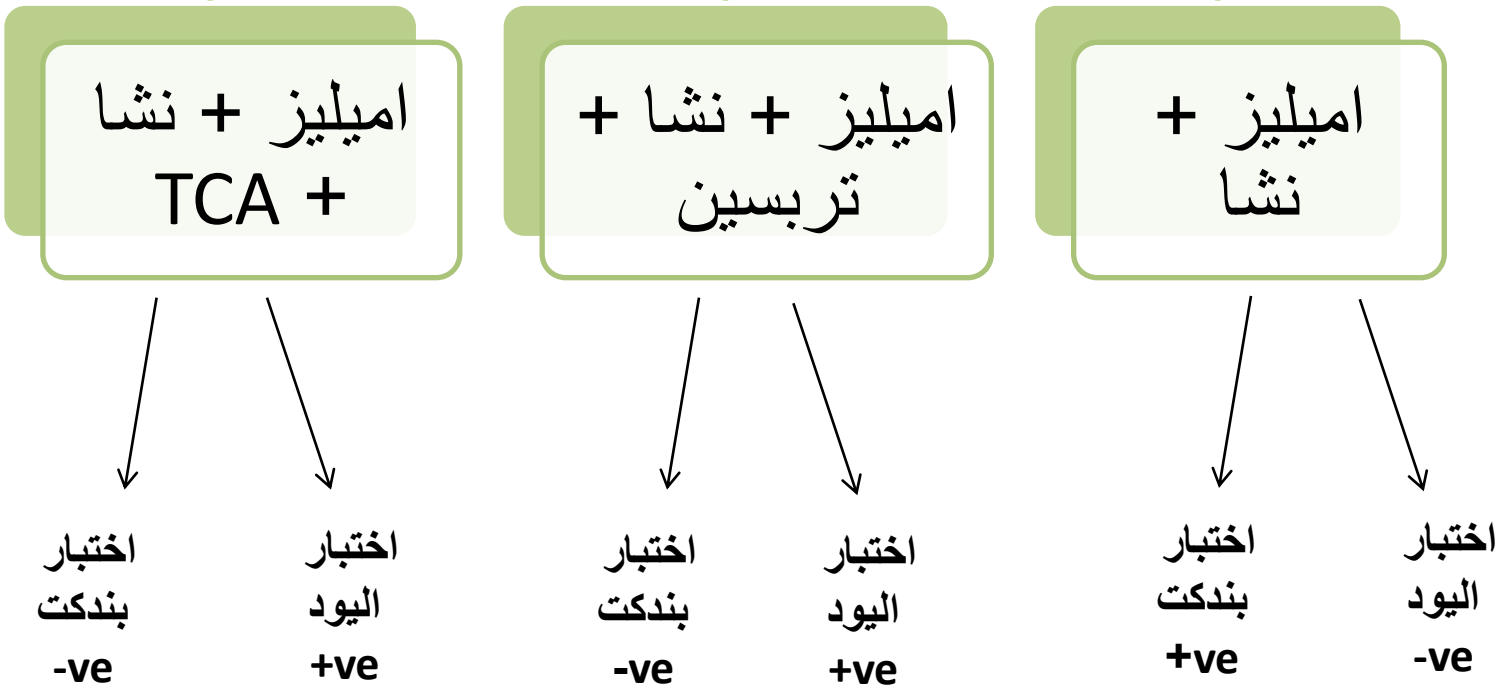


١- اختبار نشاط انزيم الأميليز

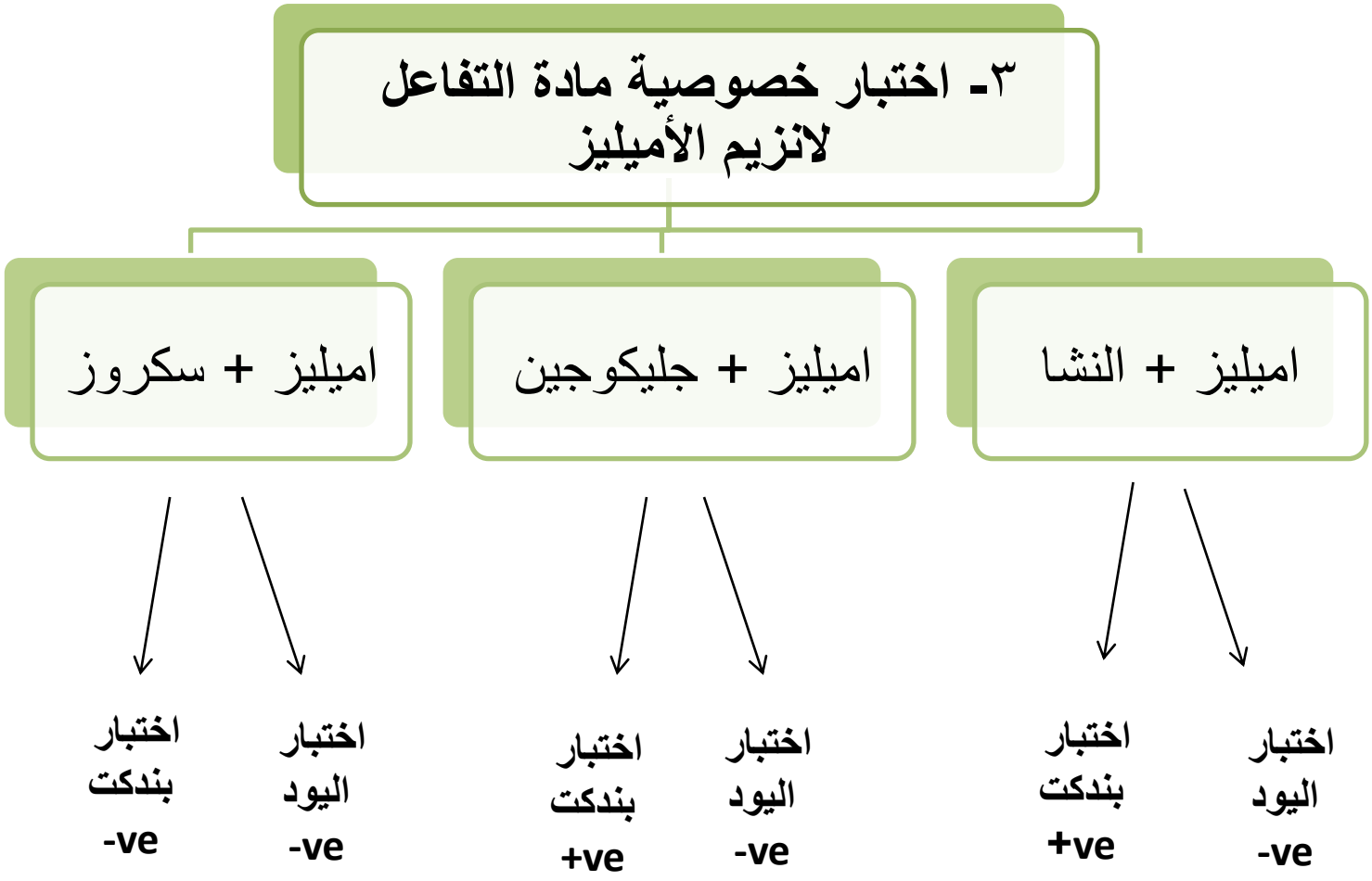
- **اميليز + النشا**
  - اختبار اليود: -ve
  - اختبار بندكت: +ve
- **اميليز + ماء**
  - اختبار اليود: -ve
  - اختبار بندكت: -ve
- **نشا + ماء**
  - اختبار اليود: +ve
  - اختبار بندكت: -ve

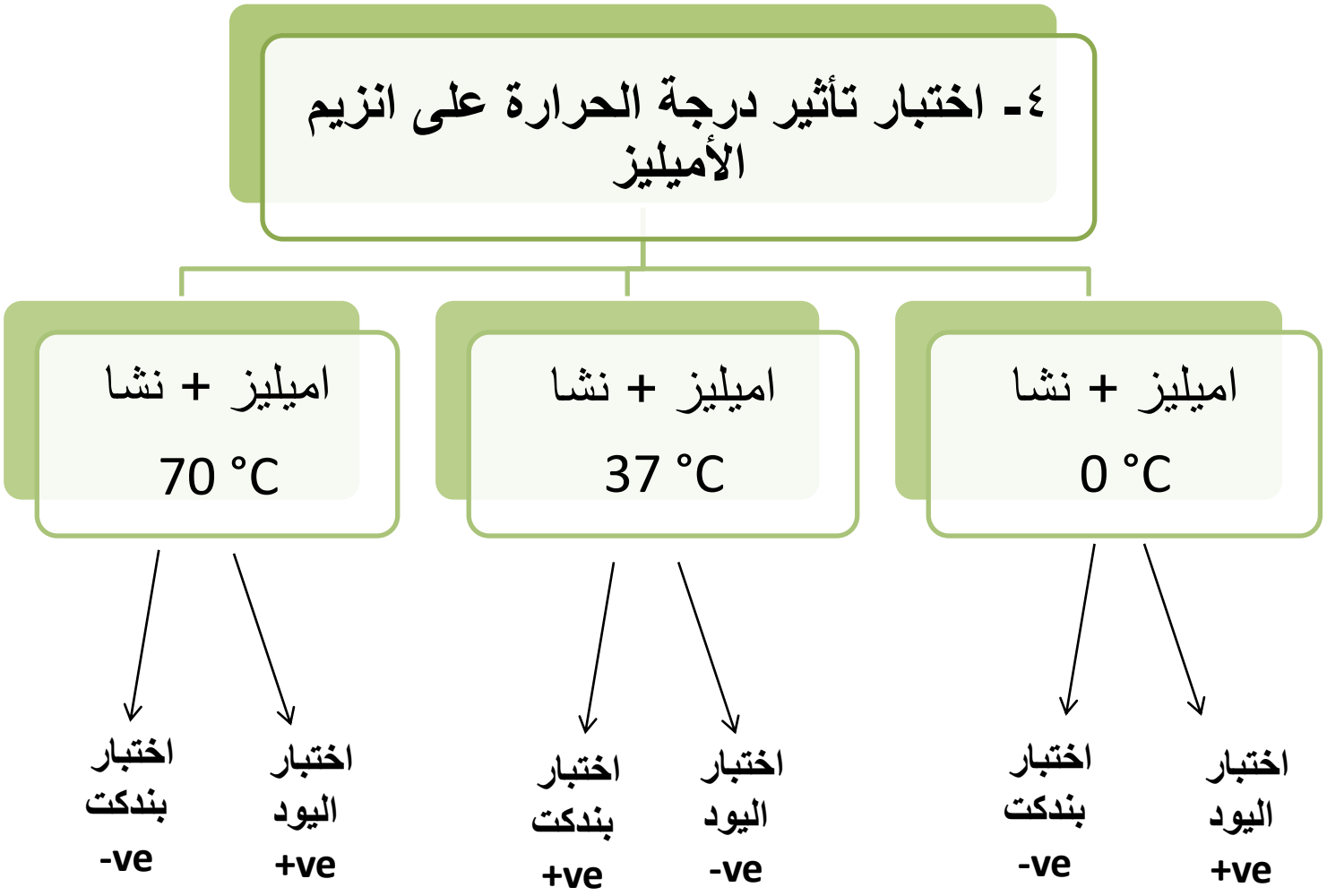
يُجرى **اختبار اليود** لمعرفة بقاء **النشا** أو اختفاءه .يُجرى **اختبار بندكت** لمعرفة ظهور **الجلوكوز** أم لا.

٢- اختبار الطبيعة الكيميائية لإنزيم الأميليز



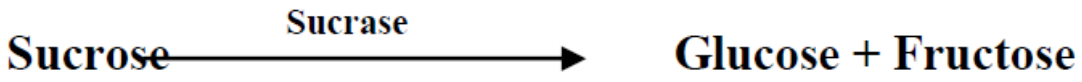
يُجرى اختبار اليود لمعرفة بقاء النشا أو اختفاءه.


٣- اختبار خصوصية مادة التفاعل لانزيم الأميليز
اميليز + النشا
اميليز + جليكوجين
اميليز + سكروز
اختبار اليود -ve
اختبار بندكت +ve
اختبار اليود -ve
اختبار بندكت +ve
اختبار اليود -ve
اختبار بندكت -ve


٤- اختبار تأثير درجة الحرارة على انزيم الأميليز
اميليز + نشا
0 °C
اميليز + نشا
37 °C
اميليز + نشا
70 °C
اختبار اليود
+ve
اختبار بندكت
-ve
اختبار اليود
-ve
اختبار بندكت
+ve
اختبار اليود
+ve
اختبار بندكت
-ve

إنزيم السكريز Sucrase :

أحد إنزيمات العصارة المعويّة التي تفرزها خلايا الأمعاء الدقيقة ليقوم بتحليل السكروز (سكر ثنائي) إلى الجلوكوز والفركتوز(سكريات أحادية).



النظرية العلمية للاختبار:

السكروز سكر ثنائي غير مختزل، متكون من إرتباط جزيئين مختلفين من سكريات مختزلة (الجلوكوز والفركتوز)، يتحلل تحت تأثير إنزيم السكريز، ويمكن الكشف عن نشاط هذا الإنزيم **بالكشف عن تكون سكريات مختزلة** وذلك عن طريق **تجربة بندكت** .