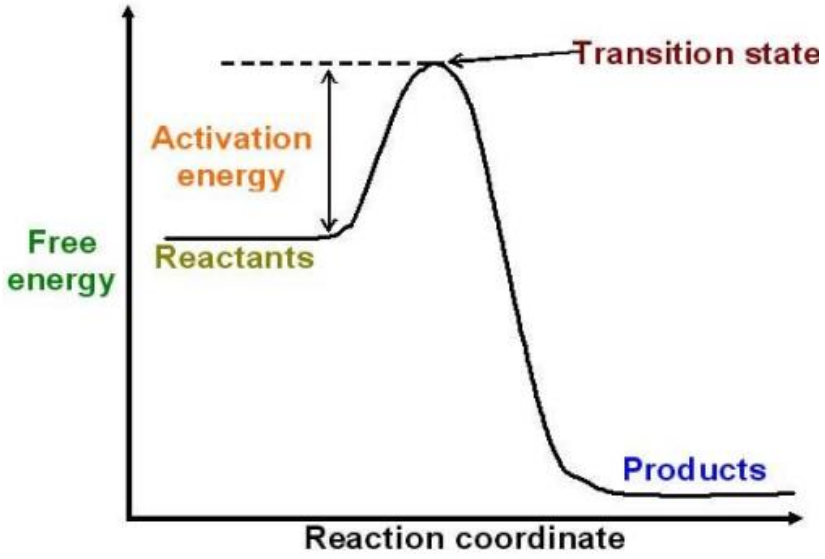
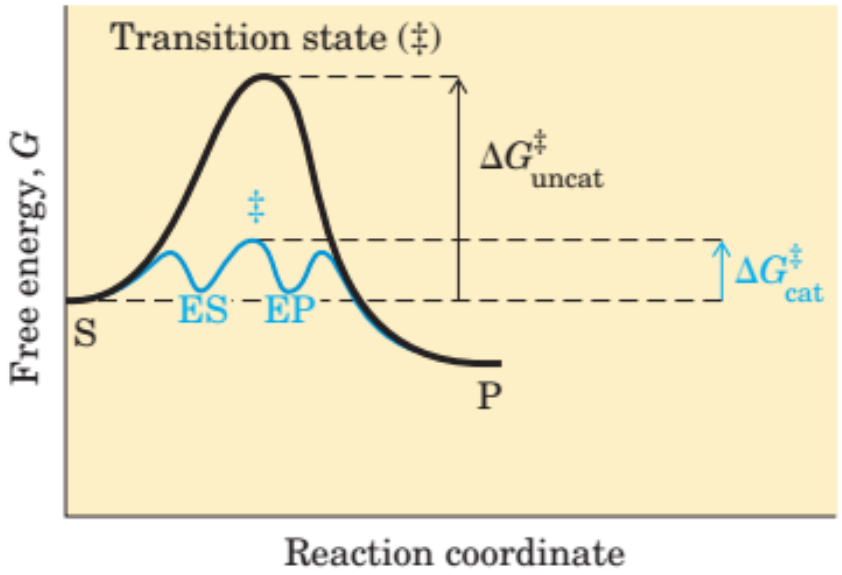
بیوشیمی عمومی

- آنزیم ها

آنزیم ها واکنش های زیستی را سرعت می بخشند





$$S \rightleftharpoons P$$

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

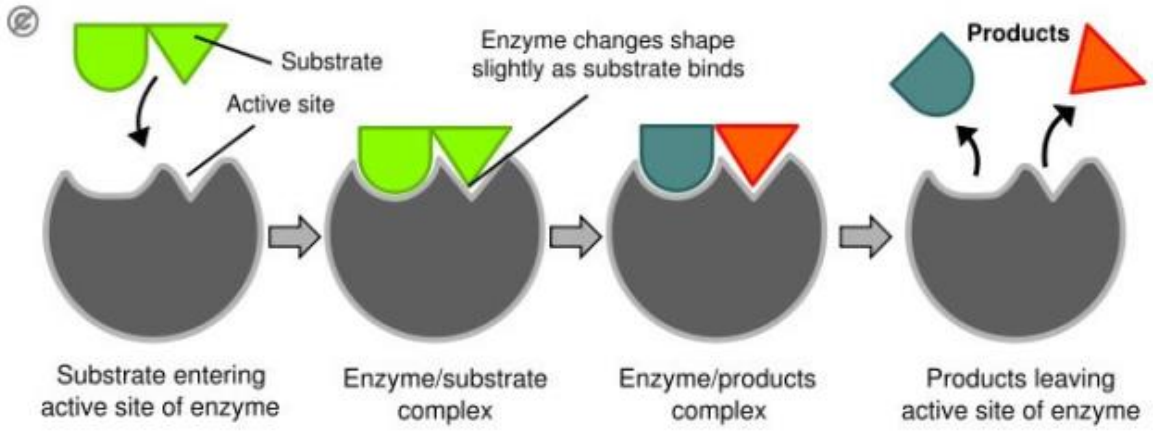
آنزیم ها کاتالیزورهای زیستی

- چگونه آنزیم ها انرژی فعال سازی را کاهش می دهند؟

- ۱- نوآرایی پیوندهای کوالان طی واکنش آنزیمی

- ۲- واکنش های متقابل غیر کوالان بین آنزیم و سوبسترا

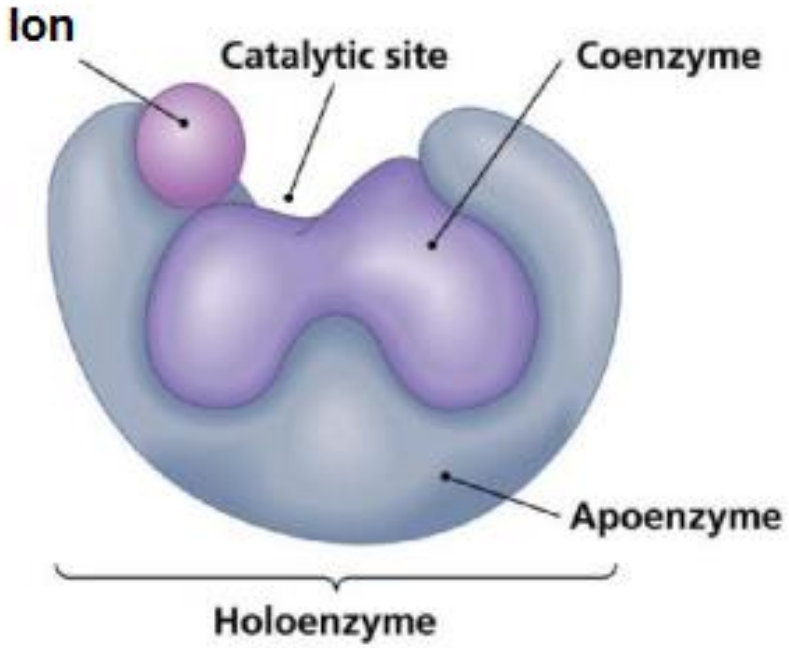
جایگاه فعال آنزیم ها (active site)



- جایگاه فعال
- جایگاه اتصال سوبسترا
- جایگاه کاتالیز
- مدل قفل و کلید فیشر
- مدل قالب القایی کوشلاند

ساختار آنزیم ها

- ریبوزیم ها (rRNA کاتالیتیک)
- اکثرا پروتئین کروی
  - ساده
  - مرکب (پروتئین + کوفاکتور)
    - ترکیبات معدنی
    - ترکیبات آلی (کوآنزیم ها)



Holo-enzyme= apo-enzyme + cofactor

کوفاکتورهای فلزی

TABLE 6–1 Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

کوآنزیم ها

- حامل موقت گروه های شیمیایی
- اکثرا مشتقات ویتامین ها
  - B1 (تیامین) ← تیامین پیروفسفات (TPP)
  - B2 (ریبوفلاوین) ← FADH2 وFMN
  - (نیاسین) ← NAD+ وNADP+
  - B5 (پانتوتنیک اسید) ← کوآنزیم A
  - B6 (پیرودوکسین) ← پیرودوکسال فسفات
  - B7 (بیوتین) ← بیوتین
  - B9 (اسید فولیک) ← تتراهیدروفولات
  - B12 (کابالامین) ← متیل کابالامین

نام گذاری آنزیم ها

- روش مرسوم (بر اساس نام سوبسترا یا واکنش آنزیمی)
- روش سیستماتیک بین المللی (عدد کومیسیون)

- **E.C. 2.7.1.1 ATP:glucose phosphotransferase**

گروه های اصلی آنزیمی

- اکسیدو ردوکتازها
- ترانسفرازها
- هیدرولازها
- لیازها
- ایزومرازها
- لیگازها

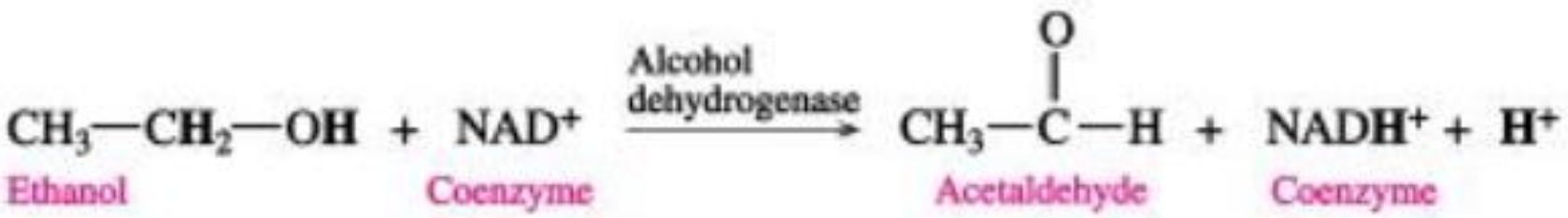
اکسیدو ردوکتازها

- انتقال H ، O یا الکترون در واکنشهای اکسیداسیون و احیا

- اکسیدازها
- دهیدروژنازها
- هیدروپراکسیدازها
- اکسیژنازها

$$AH + B \rightarrow A + BH \text{ (reduced)}$$

$$A + O \rightarrow AO \text{ (oxidized)}$$



ترانسفرازها

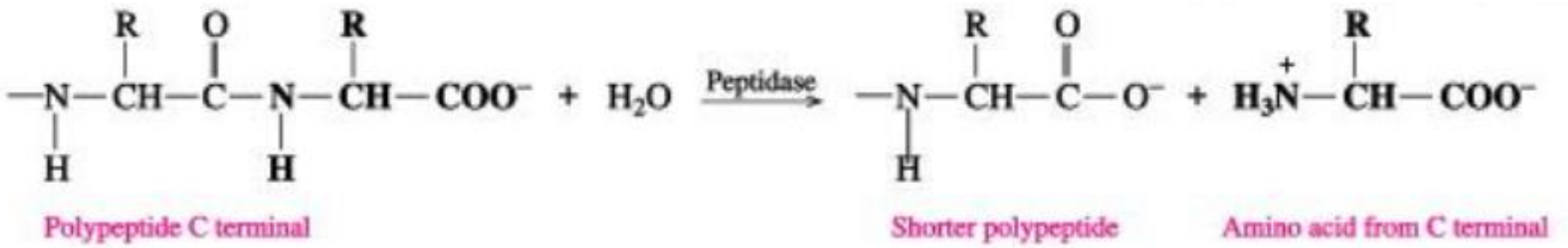
- انتقال گروه های شیمیایی از یک سوبسترا به سوبسترای دیگر
  - ترانس آمینازها
  - کینازها

$$AB + C \rightarrow A + BC$$

هیدرولازها

- تجزیه ماکرومولکول ها با استفاده از آب
  - پپتیداز
  - آمیلاز
  - لیپاز

$$AB + H_2O \rightarrow AOH + BH$$



لیازها

- برداشتن یا اضافه نمودن گروه ها و ایجاد یا حذف پیوندهای دوگانه

- دکربوکسیلاز
- ترانس آلدولاز
- ترانس کتولاز

$$[x\text{-}A\text{-}B\text{-}Y] \longrightarrow [A{=}B + X\text{-}Y]$$

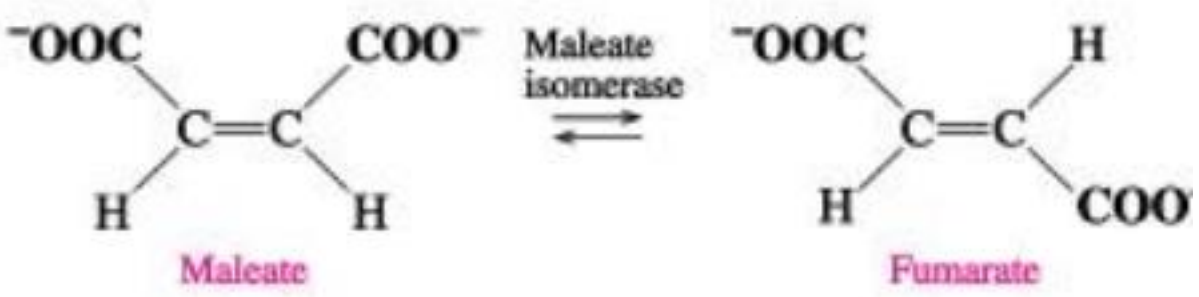
ایزومرازها

- بازآرایی درون مولکولی

- ایزومرازها (سیس و ترانس)
- اپیمرازها (تبدیل ایزومرهای L و D)
- موتازها

$$AB \rightarrow BA$$

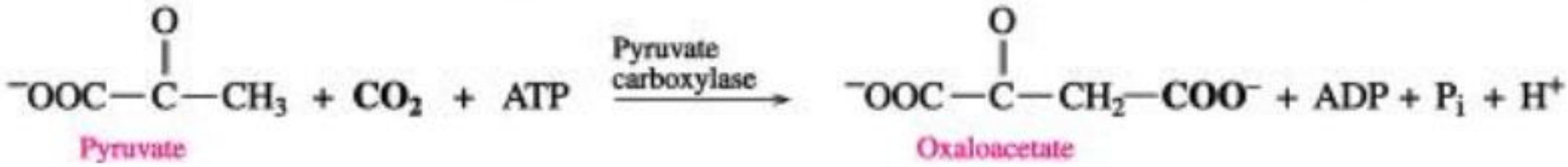
AB → BA



لیگازها

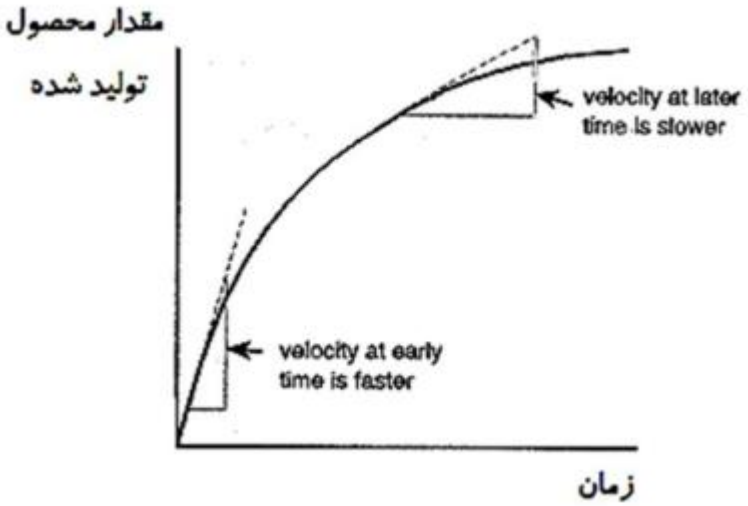
- اتصال مولکول ها با مصرف ATP
  - سنتتازها
  - پلیمرازها
  - کربوکسیلازها

$$X + Y + ATP \rightarrow XY + ADP + Pi$$



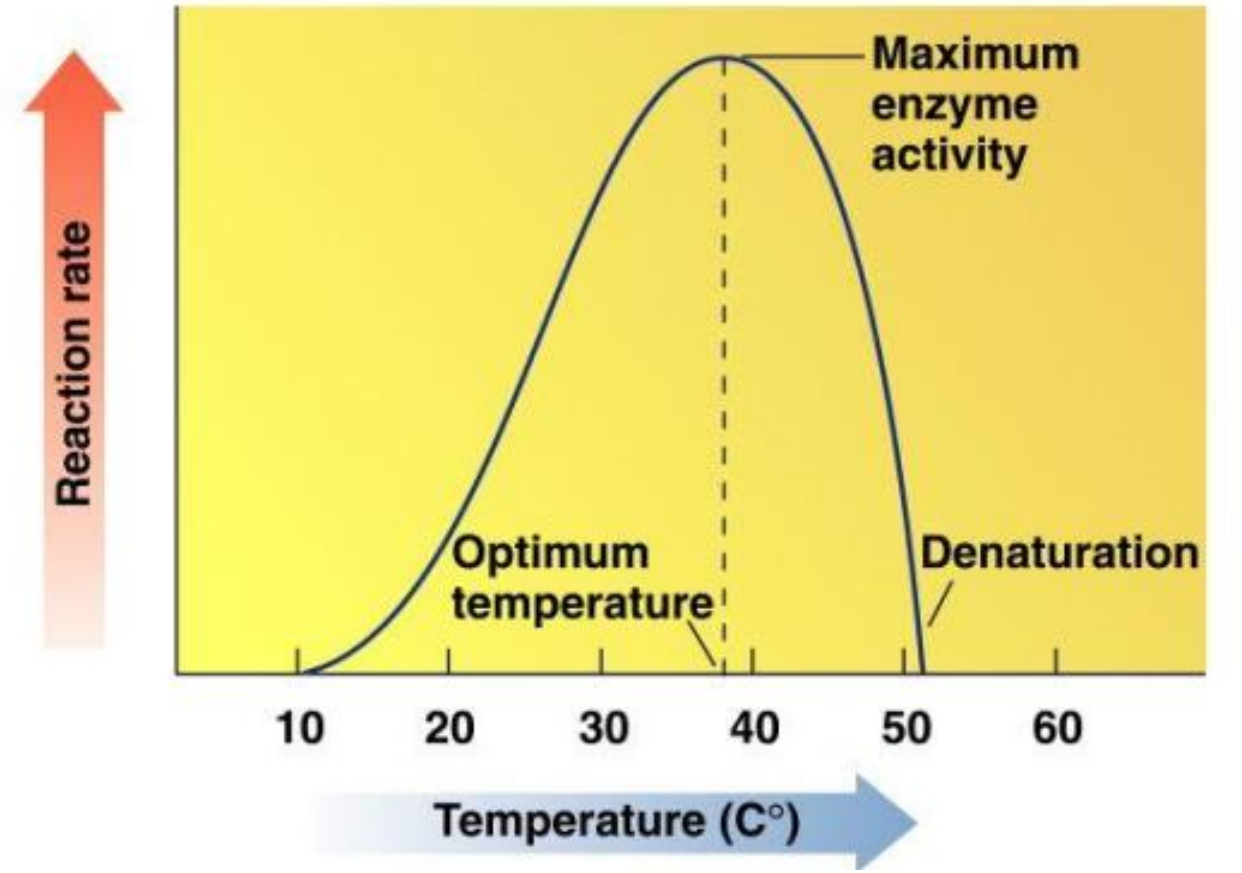
کینتیک آنزیمی

- **بررسی سرعت واکنش و عوامل موثر بر آن**
- **سرعت واکنش: میزان مصرف سوبسترا یا تولید محصول در واحد زمان**



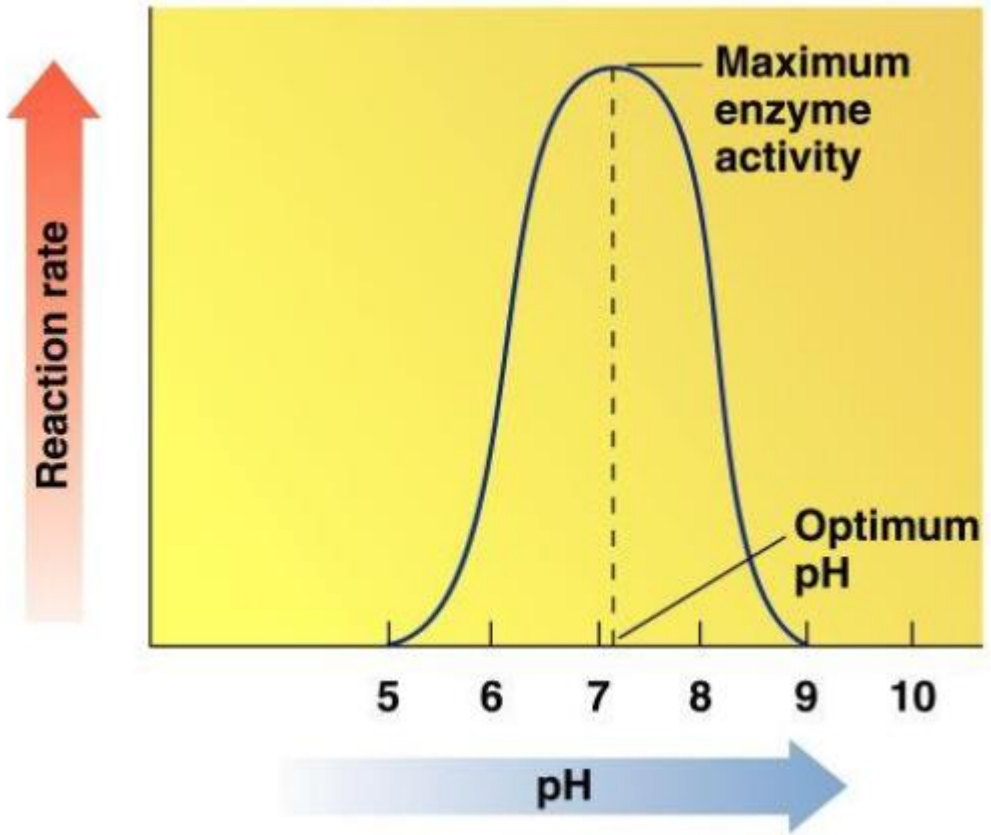
عوامل موثر بر سرعت واکنش

- حرارت



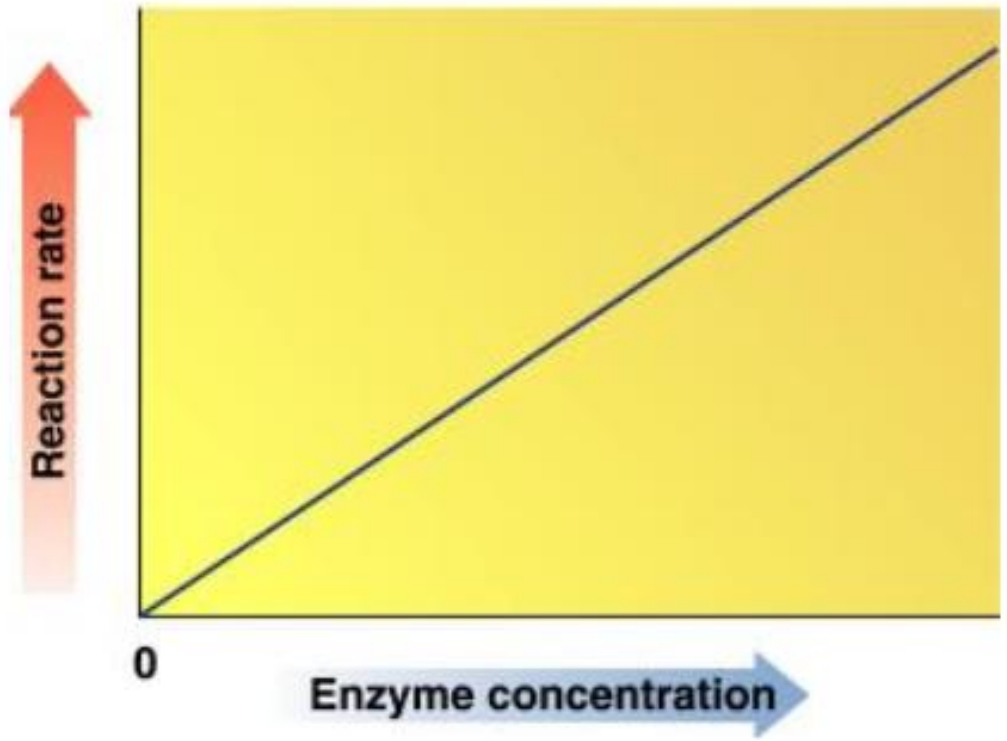
عوامل موثر بر سرعت واکنش

- pH

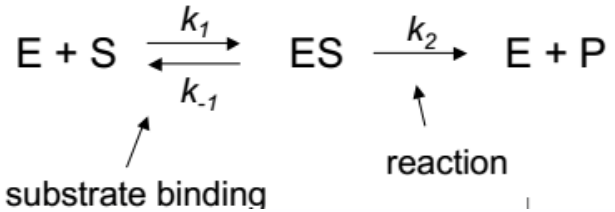


عوامل موثر بر سرعت واکنش

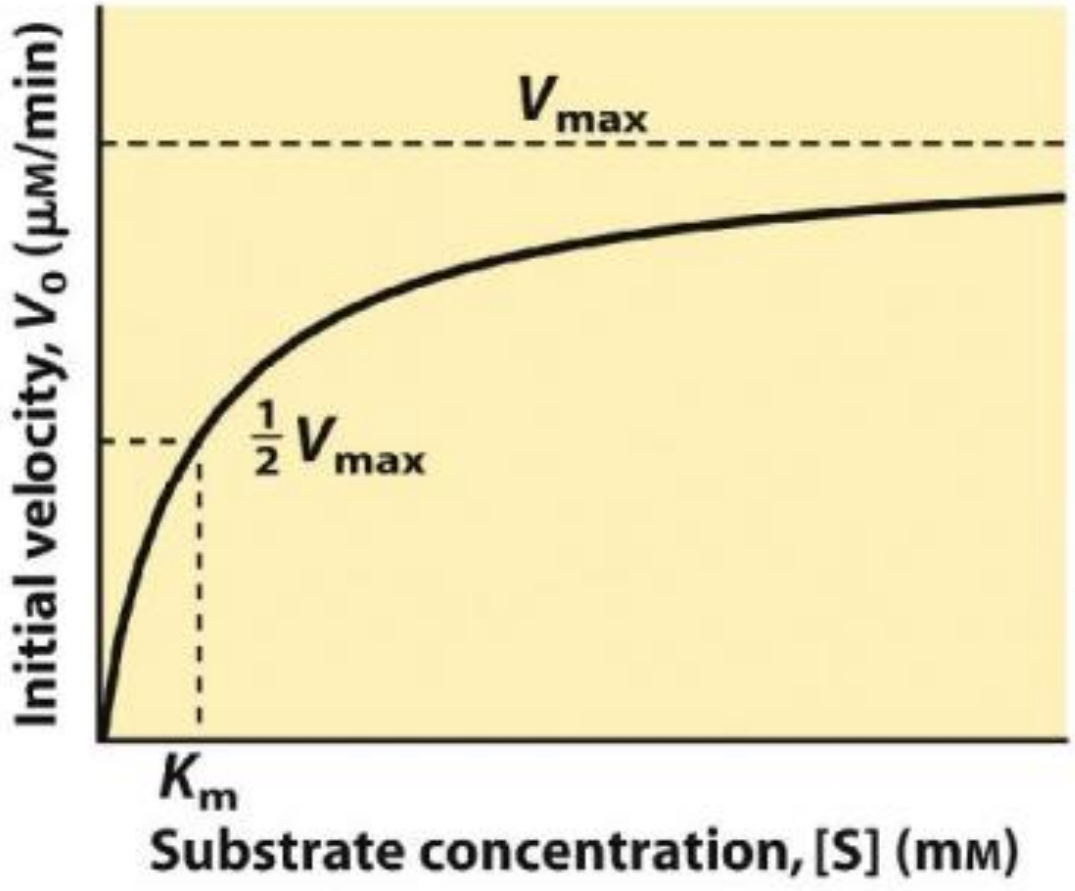
- واحد آنزیمی (U)
- فعالیت ویژه آنزیم



عوامل موثر بر سرعت واکنش



- غلظت سوبسترا



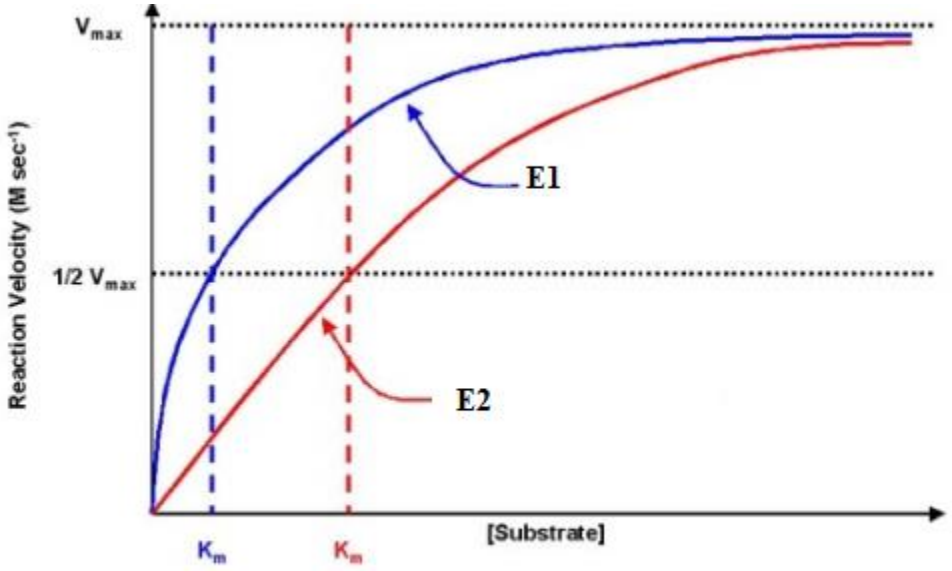
Leonor Michaelis
1875–1949

Maud Menten
1879–1960

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

Km و Vmax

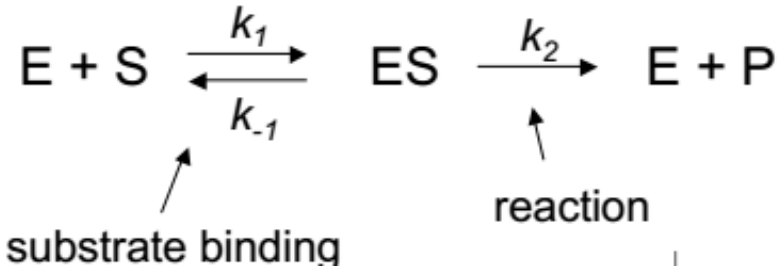
- Km و Vmax برای هر آنزیم اعداد ثابتی هستند.



Enzyme	*Substrate*	K_m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Kcat ثابت کاتالیتیک

- **مشخص کننده مرحله ی کلیدی واکنش در حالتی که آنزیم اشباع شده باشد.**
- **Kcat یا turnover number (عدد نوسازی)**



$$k_{cat} = V_{max}/[E_t]$$

TABLE 6–7 Turnover Numbers, k_{cat}, of Some Enzymes

Enzyme	*Substrate*	k_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	14,000
β-Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.4

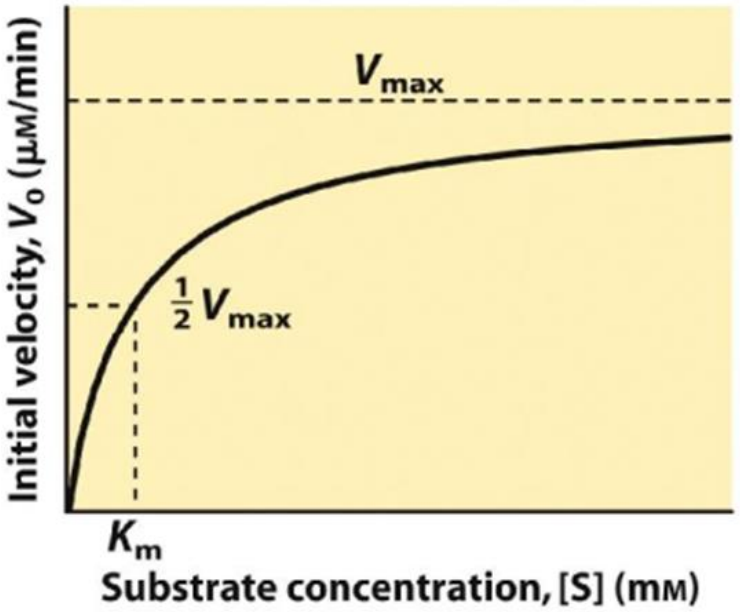
ثابت اختصاصیت یا ویژگی (specificity constant)

k_{cat}/K_m

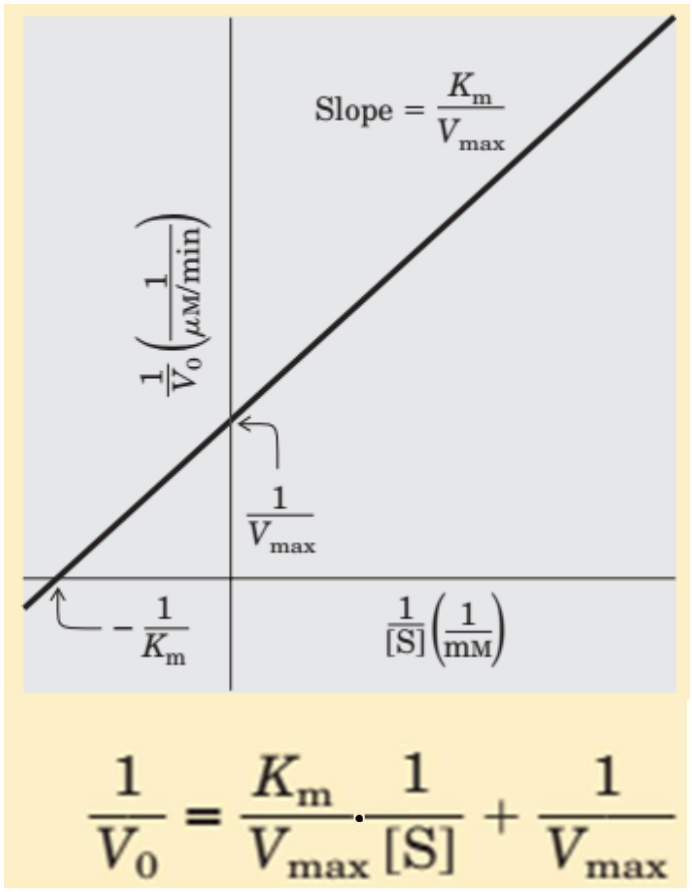
Enzyme	*Substrate*	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Carbonic anhydrase	CO_2	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO_3^-	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1.1×10^0	4×10^7
Crotonase	Crotonyl-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malate	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β-Lactamase	Benzylpenicillin	2.0×10^3	2×10^{-5}	1×10^8

تبدیل معادله مکائیلیس-منتون

- معادله لینویور-برگ (Lineweaver-burk)



$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$



$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}}\cdot\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

عوامل موثر بر سرعت واکنش

- **مهار کننده ها (Inhibitors)**
  - **برگشت ناپذیر (Irreversible)**
  - **برگشت پذیر (Reversible)**
    - **رقابتی**
    - **غیر رقابتی**
    - **نارقابتی**

مهار کننده های برگشت ناپذیر

I. **اتصالات کوالانسی**

II. **عدم تبعیت از معادله مکائیلیس-منتون**

I. **ترکیبات آرسنتیکی، سرب و جیوه**

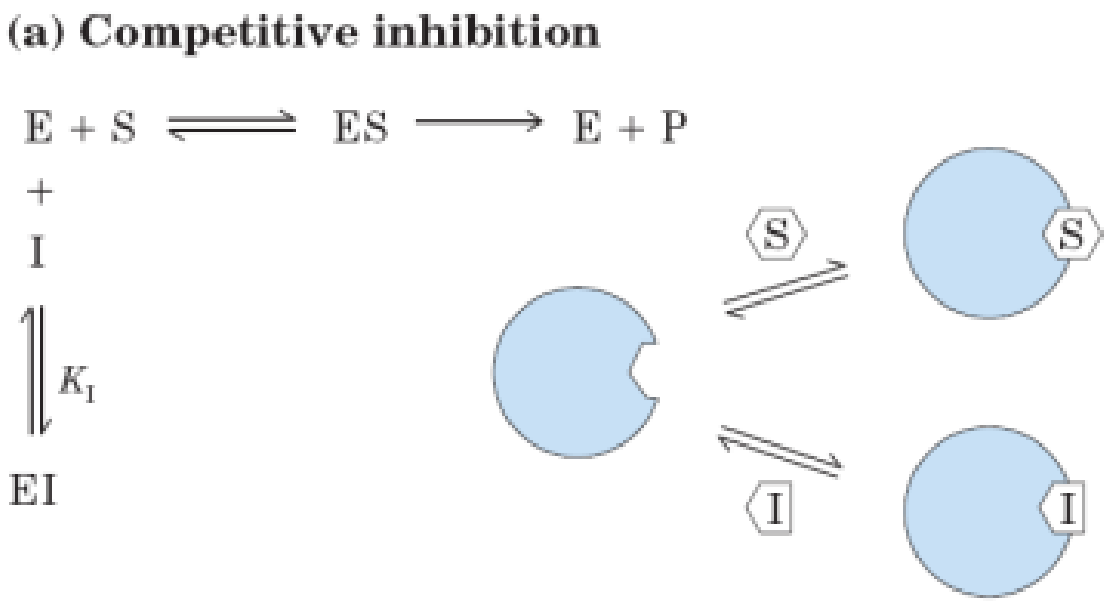
II. **گازهای عصبی، حشره کش های دارای فسفر ارگانیک**

III. **سیانید**

IV. **آسپیرین**

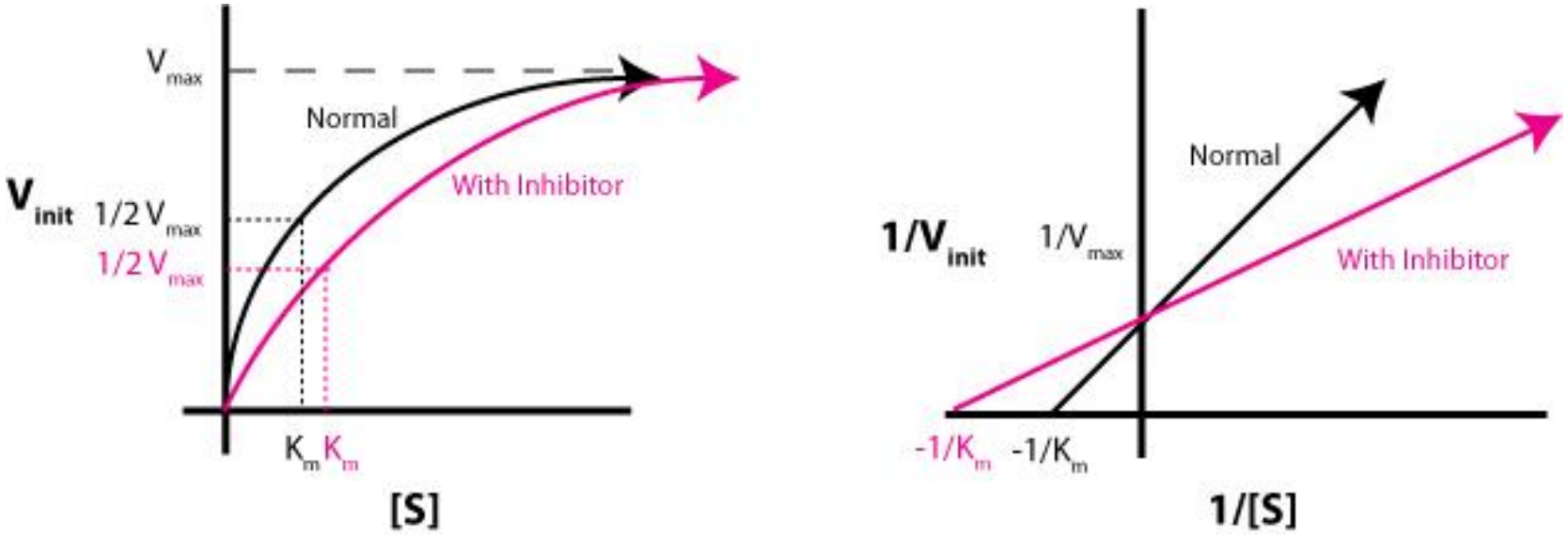
مهار کننده های برگشت پذیر

I. **مهارکننده های رقابتی (مشابه ساختاری سوبسترا)**



مهار کننده های برگشت پذیر

I. مهارکننده های رقابتی



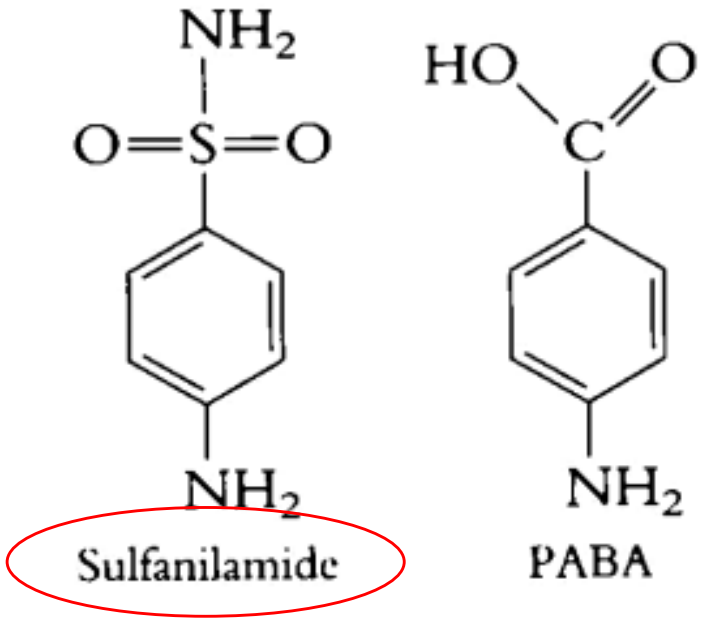
Vmax remains the same however the inhibitor increases the apparent Km

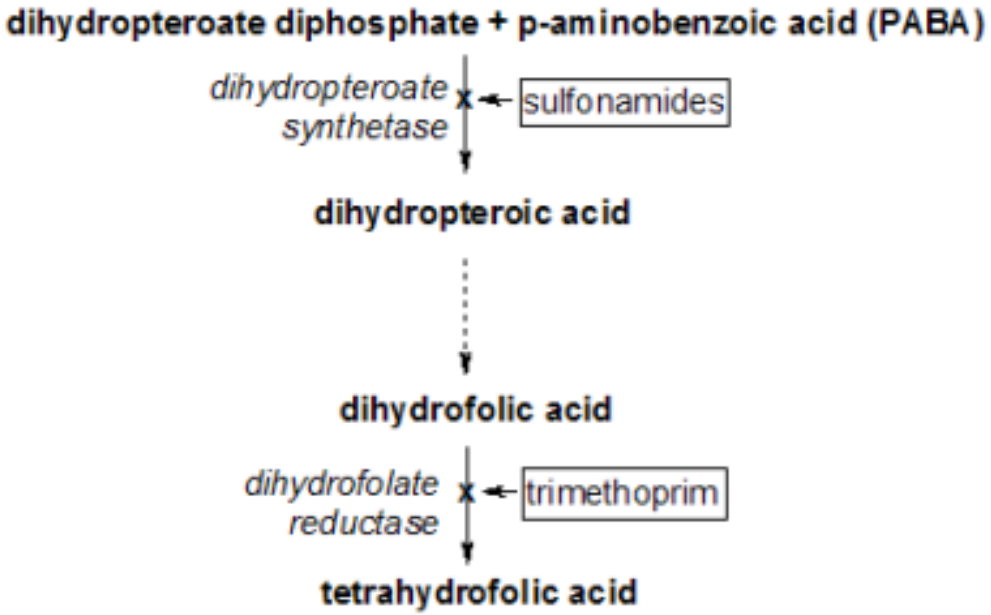
$Km' = a\ km$

$a > 0$

مهار کننده های برگشت پذیر

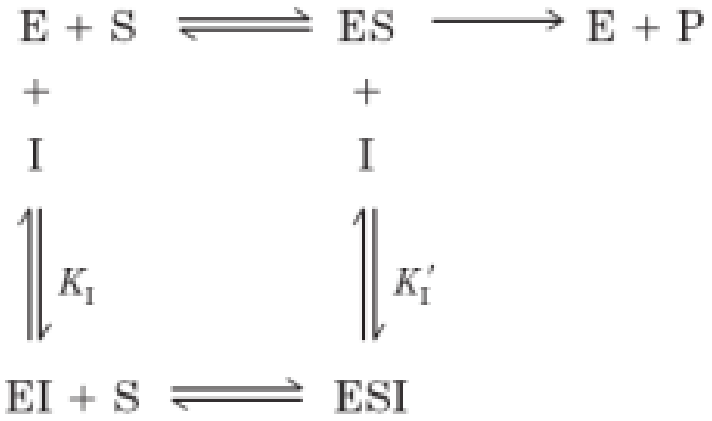
I. مهارکننده های رقابتی

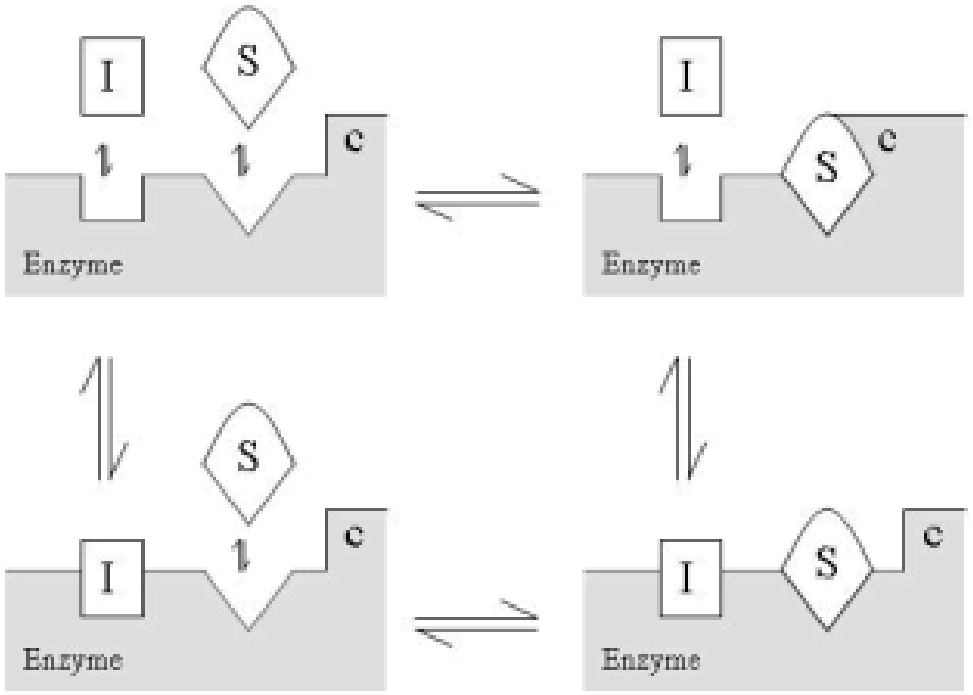




مهار کننده های برگشت پذیر

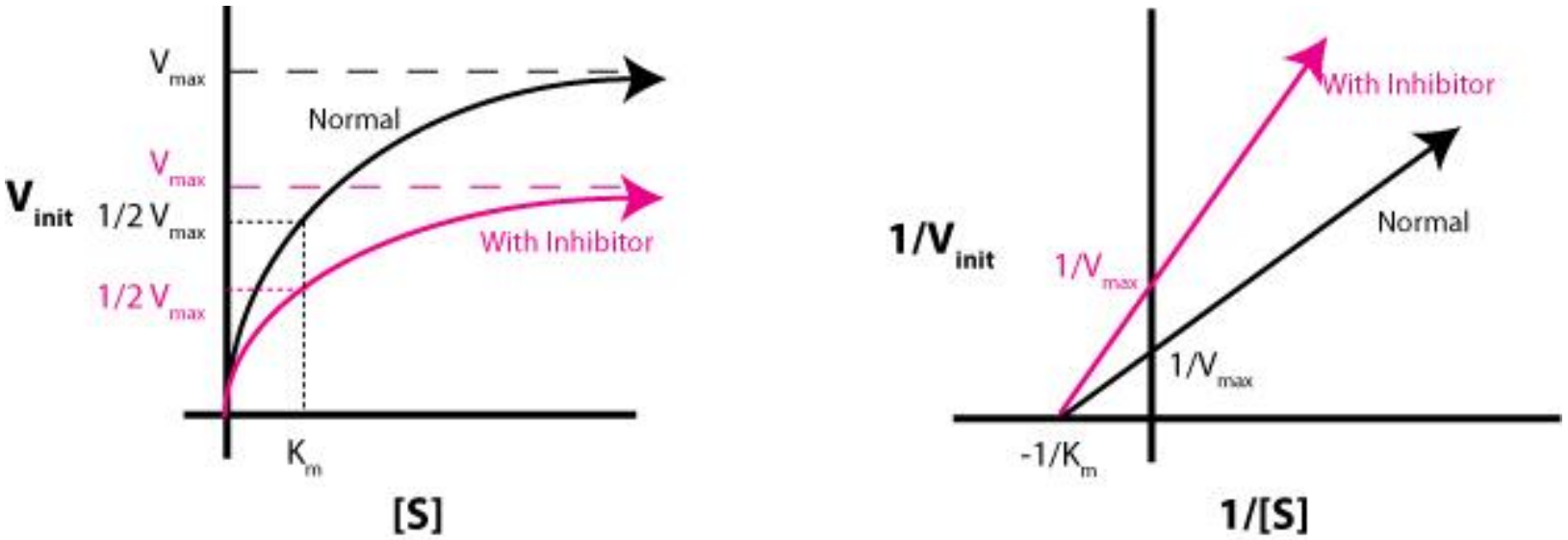
I. **مهارکننده های غیر رقابتی (Mixed)**





مهار کننده های برگشت پذیر

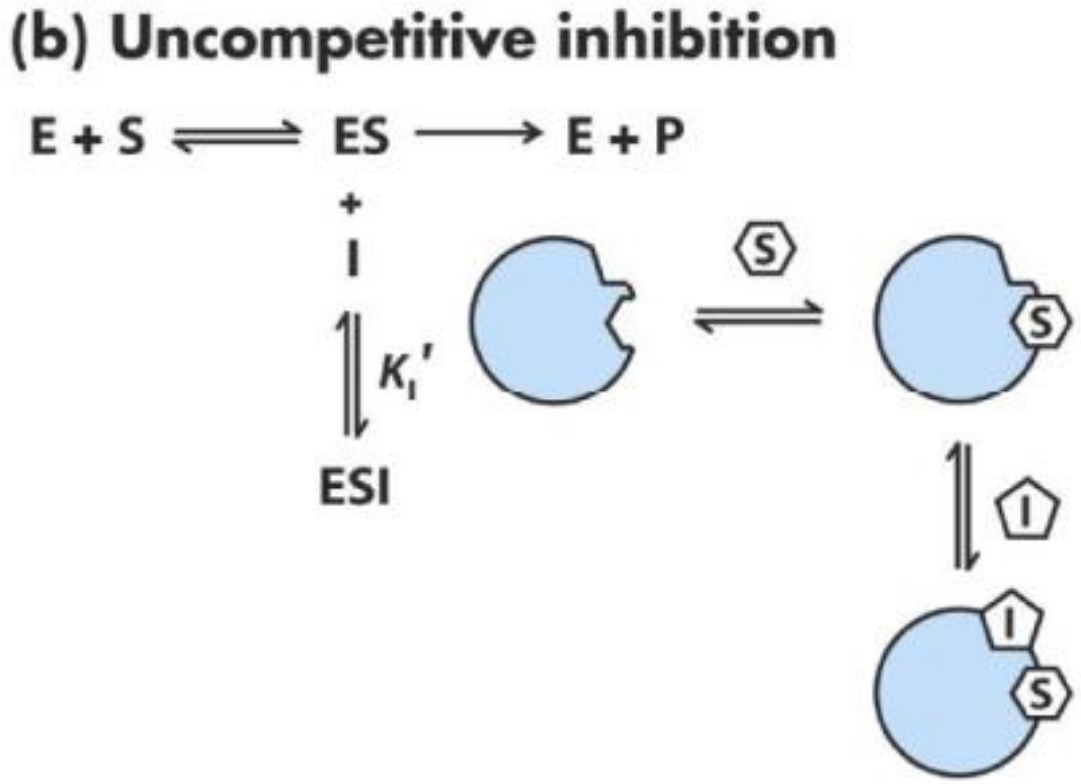
I. مهارکننده های غیر رقابتی (Mixed)



Vmax‘= a Vmax

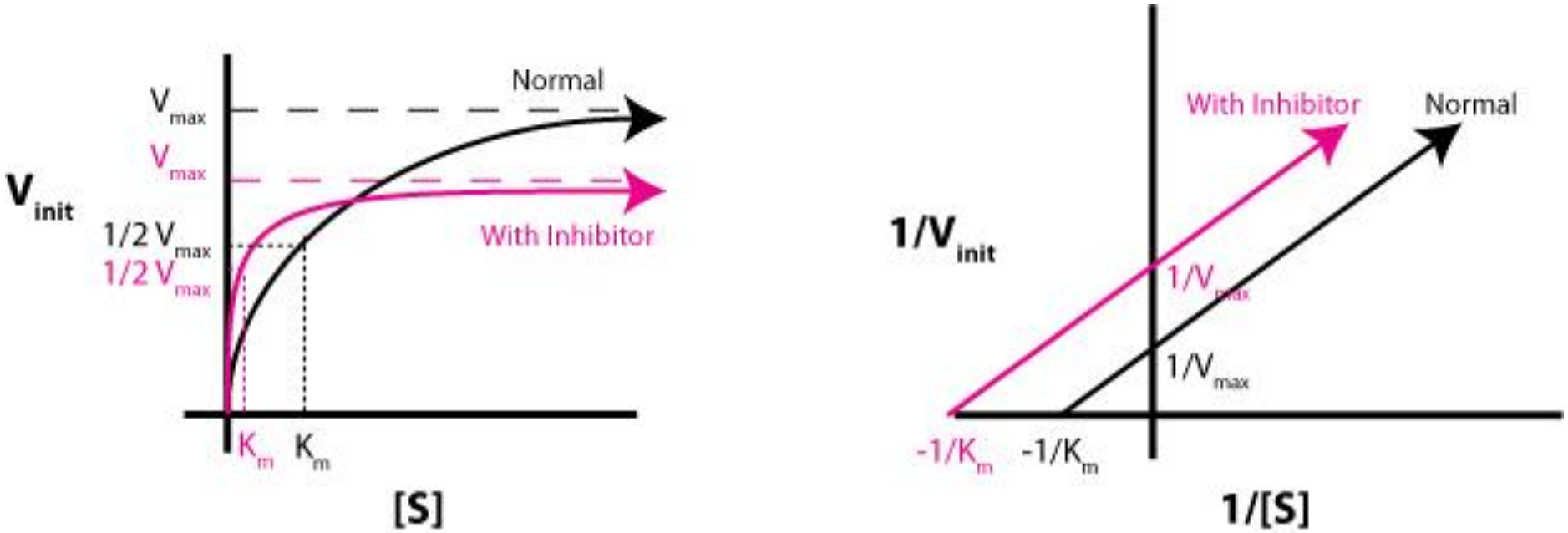
مهار کننده های برگشت پذیر

I. **مهارکننده های نا رقابتی**



مهار کننده های برگشت پذیر

I. مهارکننده های نارقابتی



Both the effective Vmax and effective Km are reduced with an inhibitor

مقایسه Km و Vmax ظاهری مهارکننده ها

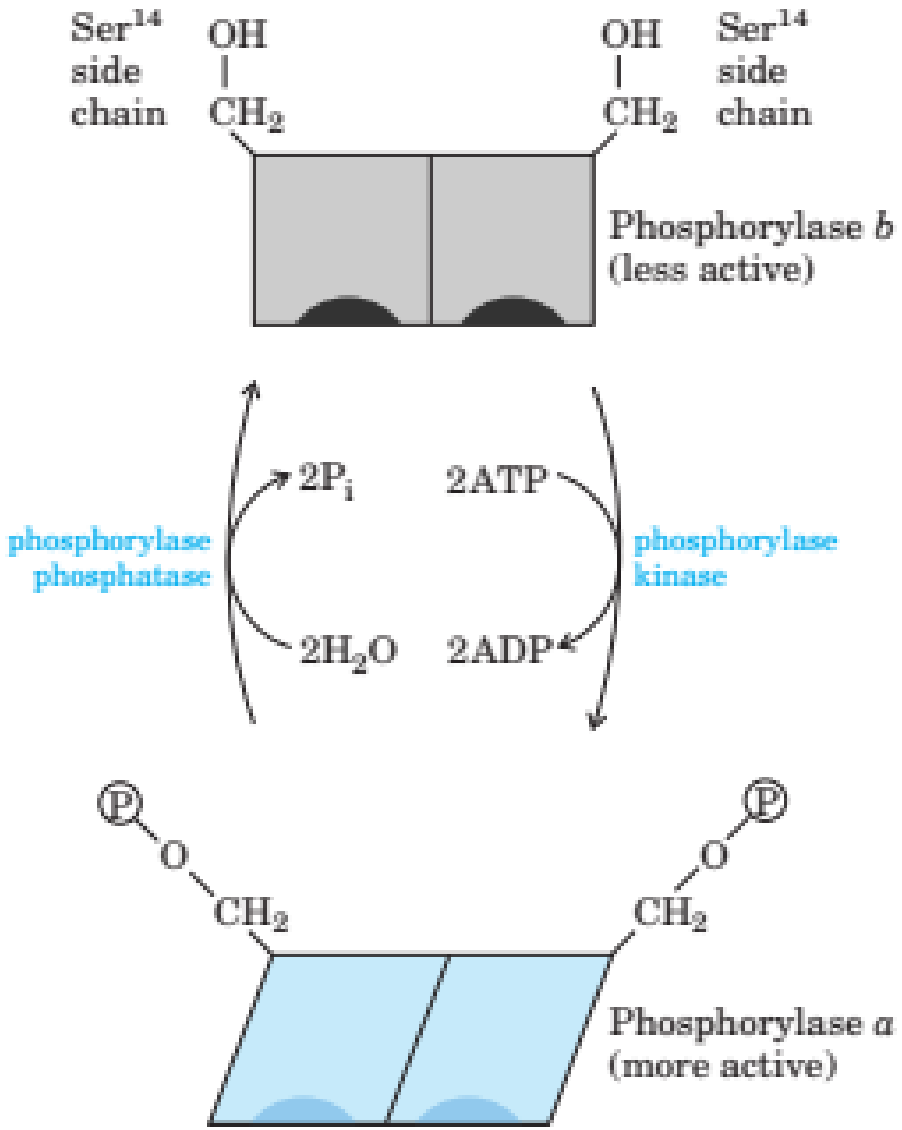
Inhibitor type	*Apparent* V_{max}	*Apparent* K_m
None	V_{max}	K_m
Competitive	V_{max}	αK_m
Uncompetitive	V_{max}/α'	K_m/α'
Mixed	V_{max}/α'	$\alpha K_m/\alpha'$

$\alpha'=\alpha$

کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها

- واکنش های داخل سلولی با سرعت ثابت عمل نمی کنند
- مسیرهای متابولیکی اغلب مراحل متوالی با دخالت آنزیم های متعدد هستند.
- آنزیم های تنظیمی کنترل کل مسیر متابولیکی را برعهده دارند.
- آنزیم های تنظیمی در ابتدای مسیر متابولیکی فعالیت دارند.

روش های کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها



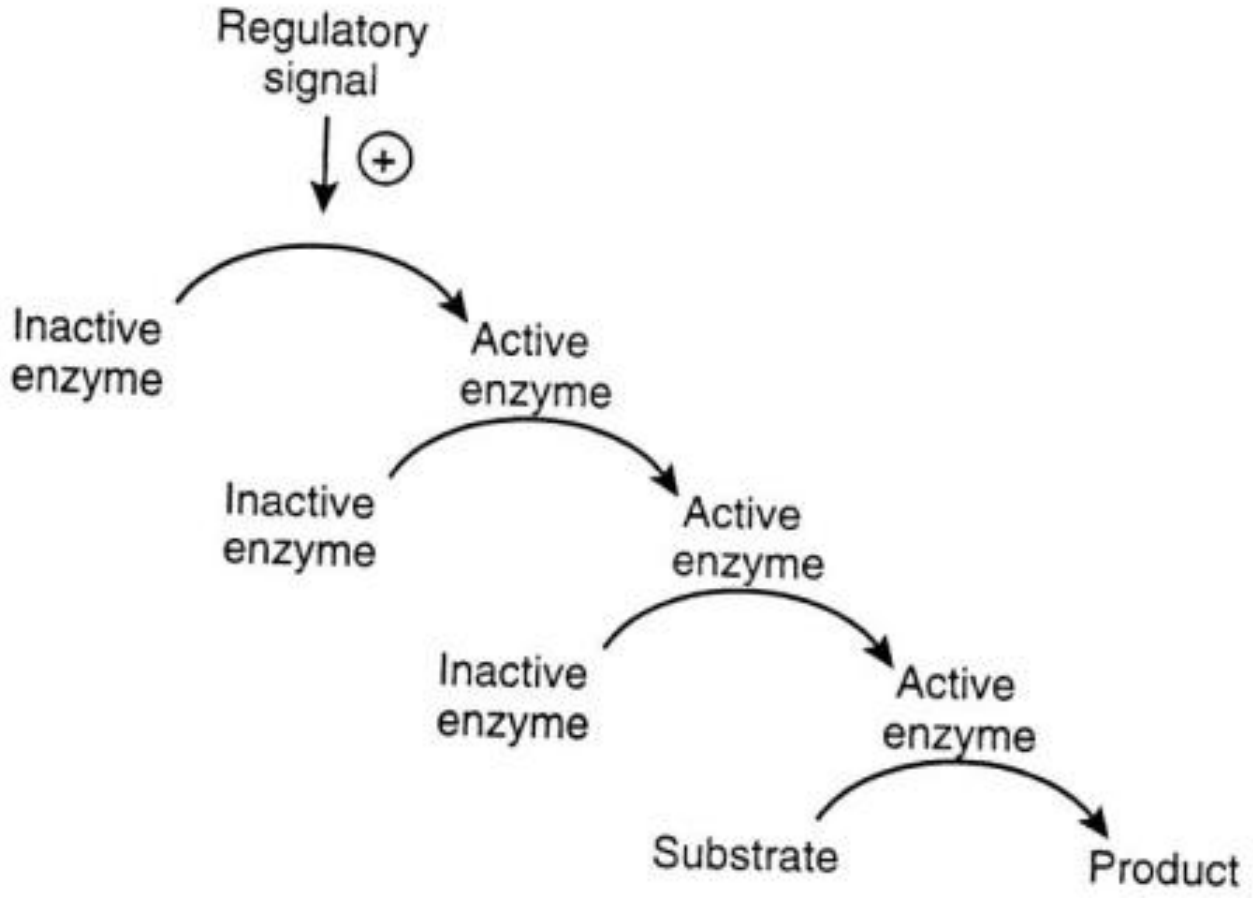
۱- تنظیم و کنترل در سطح بیان ژن

۲- تنظیم و کنترل با شرکت پیوندهای کوالانی برگشت پذیر (تعدیل کووالان)

- اتصال کووالانی یک گروه (مانند فسفات) به آنزیم موجب فعالیت آن می شد.
- فسفاتازها و کینازها

روش های کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها

- اثر تصاعدی یا آبشاری تنظیم فعالیت آنزیم توسط فسفاتازها و کینازها

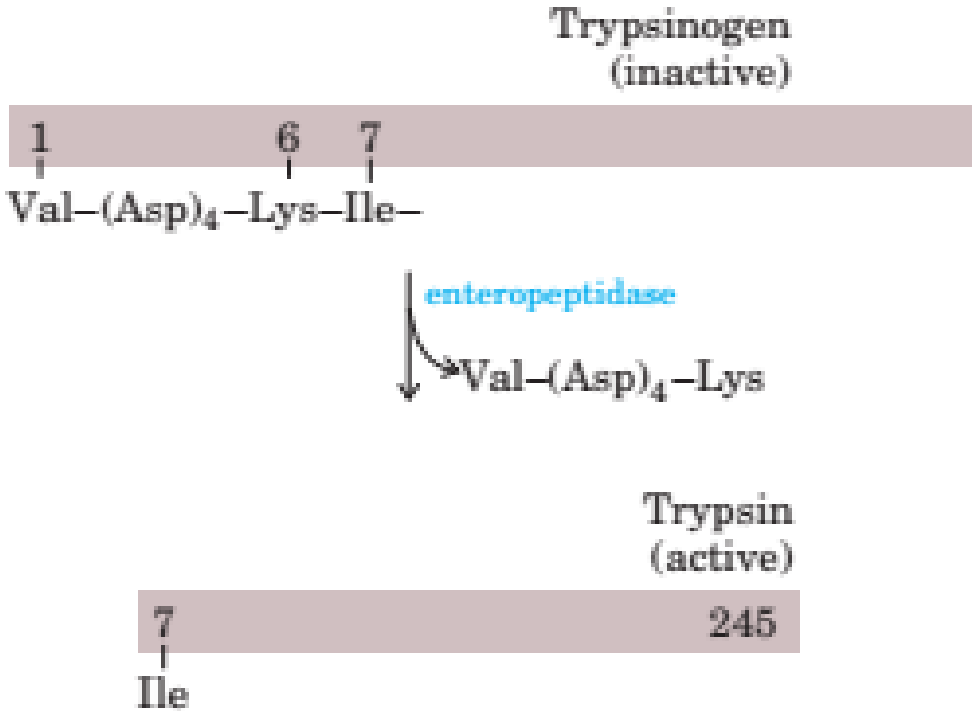


روش های کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها

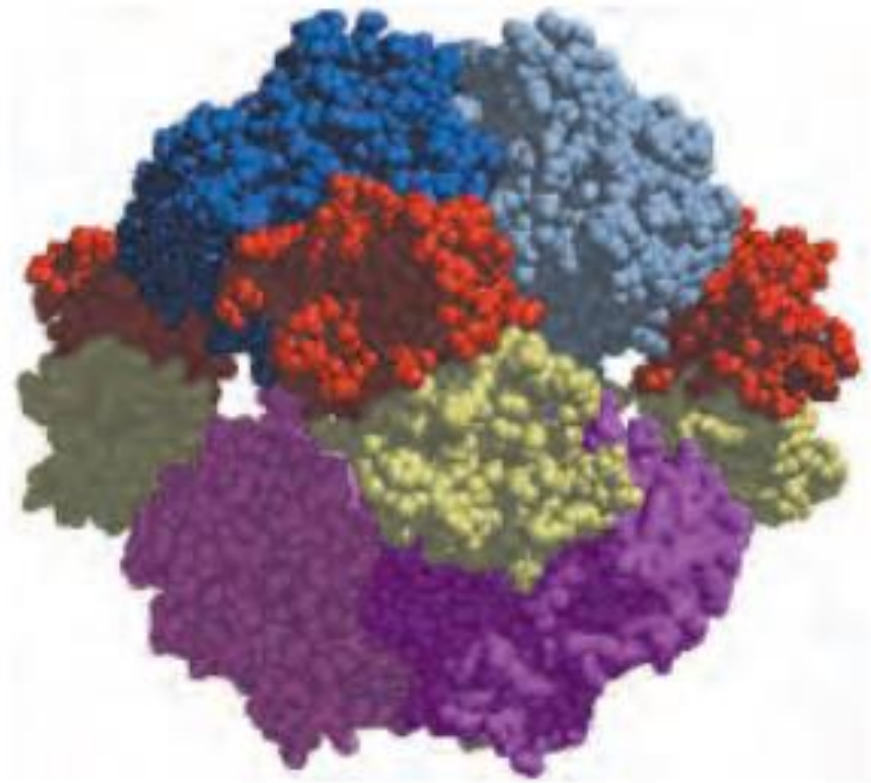
۳- تنظیم پروتئولیتیک در زیموژن ها (پروآنزیم ها)

آنزیم پس از برش پروتئولیتیک فعال می شود.

این تنظیم برگشت ناپذیر است



روش های کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها



۴- تنظیم آلوستریک (Allosteric)

- دارای حداقل یک جایگاه افکتور (Effector)
- اتصال افکتور موجب تغییر شکل آنزیم می شود.

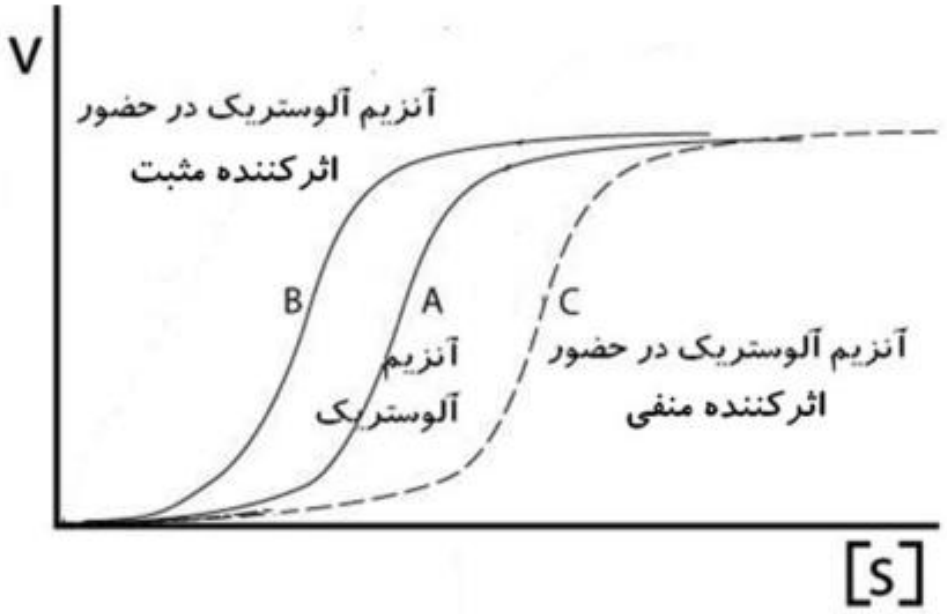
- افکتور منفی
- افکتور مثبت:
  - سوبسترا ← اثر هموتروپیک
  - غیر سوبسترا ← اثر هتروتروپیک

روش های کنترل و تنظیم فعالیت آنزیم ها

آنزیم های آلوستریک به دو فرم فعال (Relax=R) و غیر فعال (Taut=T) حضور دارند.

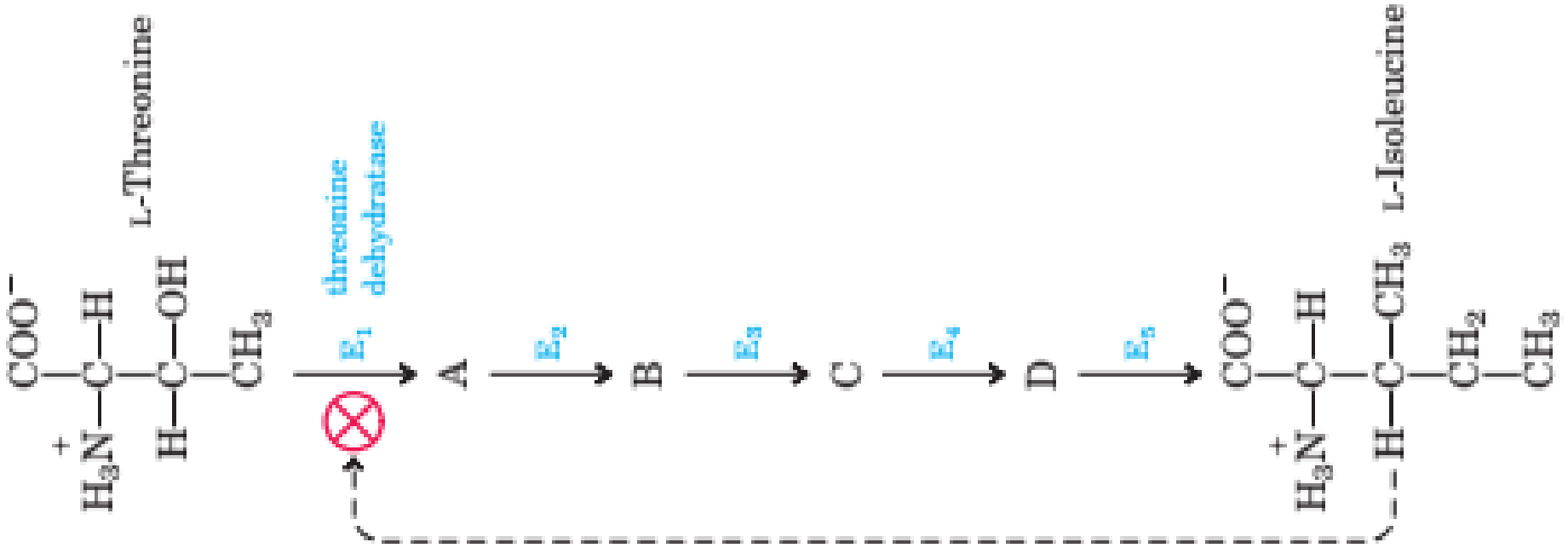
زیر واحد های آنزیم دارای اثر تعاونی یا مشارکتی هستند.

منحنی سرعت در برابر غلظت آنزیم های آلوستریک سیگموئیدی است.



مهار کنندگی پس نورد (feedback inhibition)

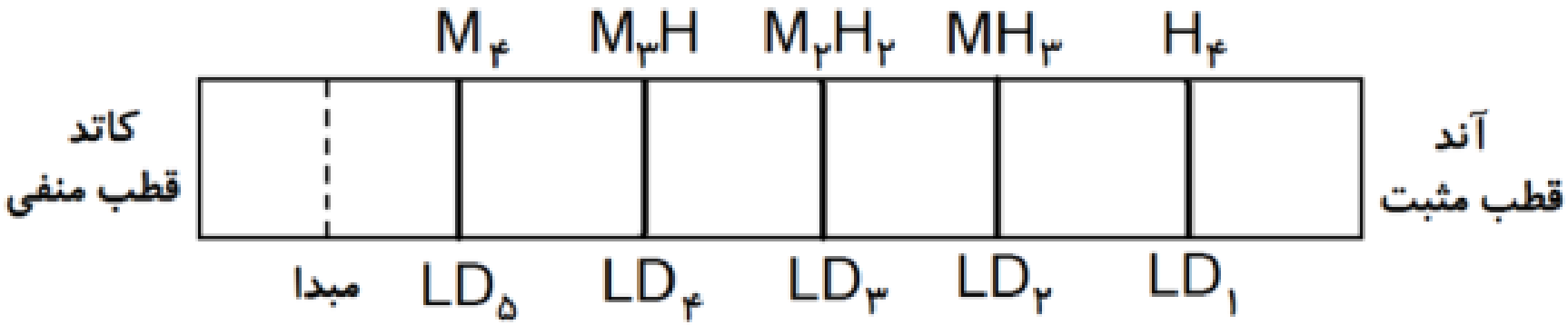
محصول نهایی واکنش به عنوان افکتور منفی برای آنزیم تنظیمی عمل می کند.



ایزوآنزیم ها (ایزوزیم ها)

اشکال مختلف آنزیم با توالی مختلف که یک واکنش را کاتالیز می کنند.

ایزوزیم ها Km و Vmax مختلف دارند.



ایزوزیم های لاکتات دهیدروژناز (LD)