تفريغ كيمياء حيوية

اسم الموضوع: Enzymes part 1

إعداد الصيدلاني /ة: Jeneen Alhasan

Soul Academy

لجان الدُّفعات

Enzymes

Enzymes

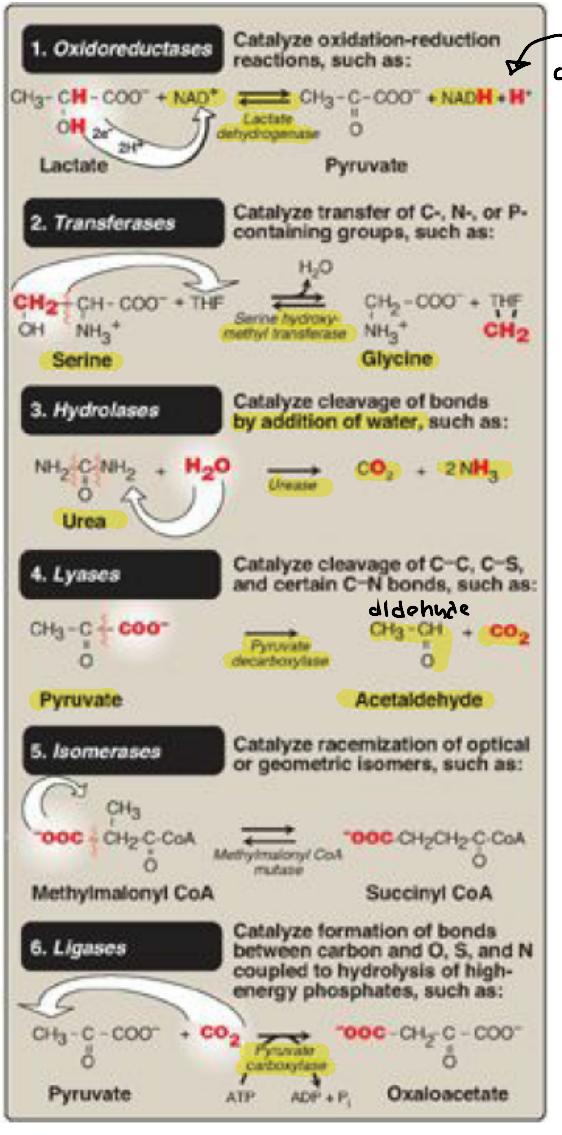
- Enzymes are protein catalysts that increase the rate of reactions without being changed in the overall process.

- Nomenclature
- ① Recommended name

Most commonly used enzyme names
substrate + -ase e.g. sucrase, urease, glucosidase)
Action performed e.g. lactate dehydrogenase and adenylyl cyclase

- ② Systematic name

IUBMB divided the enzymes into six major classes:
Oxidoreductase, Transferase, Hydrolases, Lyases, Isomerases, Ligases
Example: lactate:NAD+ oxidoreductase



الانزيمات يعتبروا من اي نوع من البروتينات؟ في انزيمات ممكن يكونوا embedded into the membrane يعني بكونوا داخلين بالmembrane وبتصنعوا مع الخلية وبتكسروا مع الخلية بس معظم الانزيمات بكونوا globular

الenzymes همة protein catalysts والcatalysts منستخدمهم عشان نسرع rxn معين والprotein catalyst مش بس بسرعوا الrxn .. همة اصلا مصنوعين بالبروتينات وفي الهم characteristics معينة

Enzymes increase rate of rxn without being consumed or changed in the rxn
يعني هو مش reactant ومش اشي داخل بالتفاعل يعني زي ما فات زي ما بطلع

في نوعين لتسمية الانزيمات
1. Recommended name
2. Systematic name

الrecommended name هو عبارة عن الsubstrate ومنضيفلها ase بالاخر يعني مثلا lactose(substrate) .. اسم الانزيم تبعه lactase او الsucrose اسم الانزيم تبعه sucrase فالانزيم شو بعمل للsucrose؟ بكسره ل fructose and glucose و مثلا الurea بصير اسم الانزيم تبعه urease .. وفي تسمية حسب الaction مثل انزيم lactate dehydrogenase بعمل oxidation لل lactate ... انزيم adenylyl cyclase (الادنين هو جزء من الatp او هو عبارة عن neucleotide) فهاد الانزيم بعمل للادنين cyclization يعني هو بياخد الatp وبحولها لcyclic amp

الsystematic name هو بختلف عن الcommon name وتسمية الsystematic للانزيمات تم تقسيمها حسب الrxn اللي بصير ل 6 groups
1- oxidoreductase
حكينا قبل عن الlactate dehydrogenase enzyme لو بدنا نسميه عالsystematic name رح يتغير اسمه ويصير حسب الrxn اللي بصير فيه وهو ينتمي للoxidation-reduction rxns واللي بصير انه الlactate عليه oh وبصيرله oxidation بما انه dehydrogenase وبتحول ل pyruv3-ate والoh بتتحول ل دبل بوند o والnad+ بتتحول ل nadh فالعملية oxidation-reduction .. فشو بصير اسم الانزيم؟ بياخدوا الtwo substrates تبع الrxn اللي همة الlactate والnad+ فبصير اسمه lactate nad+ oxidoreductase (هاد الsystematic name) .. هسا بتفاعلات الoxidation-reduction في نوعين من الانزيمات .. اول واحد هو الdehydrogenase وغالبا بهاد النوع بكون في nad+ و nadh و nadp+ و nadph بدخلوا بالrxn و النوع التاني من الانزيمات اللي همة اللي فيهم oxidase مثل glucose oxidase وهاد النوع بنتج hydrogen peroxide وهو نوع من الradicals
2- transferase
مثل serine hydroxy methyl transferase بنقل الoh group الموجودة على الserine ل thf (tetra hydro folate) و وبتحول ل glycine .. الserine والglycine بقدر اصنعهم من بعض
3- hydrolases
4- lyase
ال ٢ عبارة عن كسر ولكن الhydrolase فيه water بدخل بالrxn والlyase ما فيه... مثال عتفاعل الhydrolase هو اللي بصير بالurea فالwater بدخل والoxygen بالمركب بصير co2 والnh2 بصيروا 2nh3 والcommon name لهاد الانزيم اسمه urease ... بالنسبة للlyase ومثال عليه الpyruvate decarboxylase enzyme عشان احول الpyruvate عن طريق انه اشيل carboxylic group منه ل acetylaldehyde فهي عملية كسر بس ما فيها دخول للwater
5- isomerase
هاد الانزيم بغير مكان functional group معين وبنقللي اياه من مكان لمكان تاني فبطلعلي isomer جديد مثال عليه هو الmethyl malonyl coa enzyme بنقل الcarboxylic group اللي كان موجود على الكربونة لتانية فبصير عالكربونة التالتة فاللي تغير عنا بس موقع الcarboxylic group بدل ما تكون branched صارت عالطرف ... امثلة عتفاعلات الisomerase enzyme : عملية تحويل الglucose ل fructose و عملية تحويل الglucose ل galactose
6- ligase
الpyruvate بتحول لoxaloacetate

باختصار طريقة تسمية الsystematic بحط الsubstrates تاعت التفاعل + نوع الانزيم حسب المجموعات الستة اللي حكينا عنهم

Enzyme properties

1. Active sites: enzyme contain special pocket or cleft that binds the substrate

2. Catalytic efficiency: highly efficient (103-108) faster than uncatalyzed reaction

3. Specificity: highly specific, catalyzes only one type of chemical reactions.

4. Cofactors, Apoenzyme and holoenzyme: some enzymes need nonprotein **cofactors** like metal or organic molecule. The enzyme with cofactor is called **holoenzyme**, the protein portion is **apoenzyme**. The enzyme without cofactor doesn't show biological activity

5. Regulation: can be activated or inhibited by different substances.

6. Location within the cell: each enzyme is localized in specific organelle within the cell which isolates the reaction substrate or product from other competing reactions.

خصائص الانزيمات

١- الانزيمات بحتووا على active sites وهمة عبارة عن cleft او pocket (جيبة) وبرتبط فيها الsubstrate يعني انا في عندي rxn معين لازم يصير فالsubstrate لازم يفوت بهاد التجويف (الactive site) ويصير الrxn فيه ... فالانزيم بجيب كل الsubstrate على الactive site وبفاعلها بسرعة خلال microseconds

٢- catalytic efficiency: الانزيمات highly efficient يعني الrxn اللي بتعمله overnight وبياخد مثلا عشر ساعات... مع الانزيمات بتوخد seconds او اقل وبسرعة عالية جدا

٣- specificity وهاي تعتبر وحدة من الexcellent advantages للانزيمات انهم highly specific يعني بميزلي الغلوكوز من الفركتوز من الغالاكتوز الخ... ففي مركبات متشابهة جوا الجسم والspecifity خلتنا نستفيد منهم بالتحاليل الطبية اللي منعملها زي مثلا تحليل للكوليسترول او تحليل للغلوكوز بالدم والدم فيه مواد تانية كتير غير الغلوكوز فكيف بدي اميز الغلوكوز ؟ فبدي اشي very specific زي الانزيمات

٤- cofactors or coenzymes اذا كان cofactor بكون metal واذا كان coenzyme بكون اشي organic .. مثلا انزيم الatpase بحتاج مغنيسيوم فبسميه cofactor ... انزيم الpyruvate carboxylase بحتاج biotin organic substance فبسميه coenzyme يعني مساعد للانزيم ... اذا كان في انزيم بدون الcofactor تبعه منسميه apoenzyme يعني بكون بروتين لحاله ... اذا كان الانزيم مع الcofactor تبعه منسميه holoenzyme

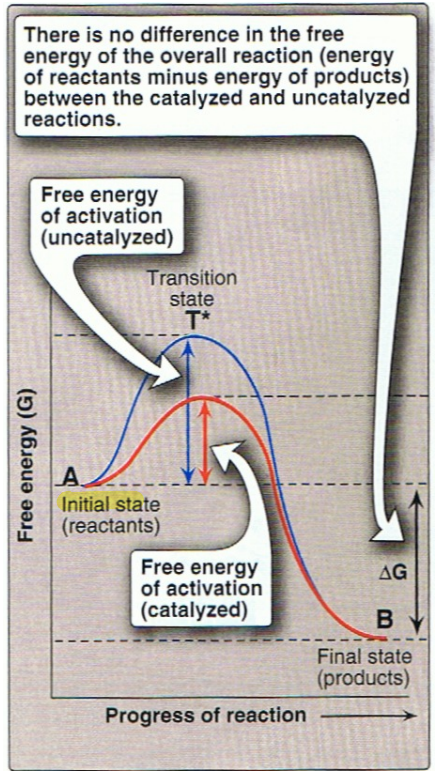
**معلومة مهمة لازم نعرفها
مش كل الانزيمات بدهم cofactor بس الانزيم اللي بده cofactor ما بشتغل بدونه يعني مثلا الatpase بدون المغنيسيوم مستحيل يشتغل

٥- regulation في factors داخل الجسم يا اما بتعمل inhibition او activation للانزيم فالعملية regulated تماما يعني ما في انزيم ومضاده بشتغلوا بنفس الوقت لازم واحد شغال والتاني لا

٦- location within the cell or in organs ... في انزيمات موجودة بالliver اكتر من الorgans التانية مثل alanine aminotransferase ... في انزيمات موجودة بالسايتوسول وفي انزيمات موجودة بالميتوكندريا مثلا الfatty acid synthesis بصير بالسايتوسول والfatty acid degradation بصير بالميتوكندريا فلازم يكون عندي regulation انه اللي صنعته بالسايتوسول ما يدخل عالميتوكندريا

How enzymes work

- In each chemical reaction there is an energy barrier (energy of activation)
- For the molecules to react, they must overcome the energy barrier
- Enzymes reduce the energy of activation without affecting the free energy of the reactants and products and fasten the reaction rate



بالتفاعل العادي بالعادة بكون في activation energy (تبعوا عرسمة السلايد) وفي initial state لل reactants فيهم طاقة معينة وبعد هيك في عنا الtransition state اللي بحاجة لactivation energy ... اللي بعمله الانزيم هو انه بقلل الactivation energy فبخلي التفاعل اسرع

It will overcome the energy barrier

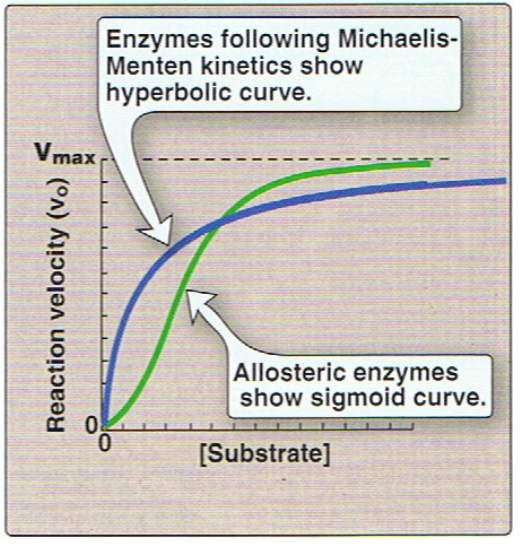
انا كان في عندي مشكلة انه لازم يكون في عندي kinetic energy زيادة و بصير activation للrxn وبعدين بتكون الproduct فالانزيم بقلل الactivation energy of the rxn without affecting the energy of the reactants or products يعني بأثرش على طاقة الreactants او طاقة الproducts يعني تأثيره بس عالactivation energy

Factors affect Reaction velocity
Substrate concentration

- Maximal velocity: The rate of an enzyme-catalyzed reaction increases with substrate concentration until a maximal velocity (Vmax) is reached (saturation with substrate of all available binding sites on the enzyme)

- ① Hyperbolic shape of the enzyme kinetics curve: Most enzymes show Michaelis-Menten kinetics show hyperbolic curve while, allosteric enzymes frequently show a sigmoidal curve

② ← هون رسمت الرسمة
مع رسمة الاكسجين بالكبر الهيموغلوبين



في عدة factors ممكن يأثروا على الrxn velocity

الvelocity عبارة عن الrate of rxn ولما احكي rate بكون قصدي سرعة التغير بالreactants او products فالvelocity هو قديش سرعة الdecrease in reactants او increase in products .. كل ما زاد عندي تركيز الsubstrate بزيد الvelocity of rxn لحد ما يوصل لمرحلة معينة بكون صار في saturation لكل الانزيمات بالsubstrates فما حيزيد الvelocity اكتر من هيك ... الvelocity بالبداية بتكون Vo وبس توصل لمرحلة الاشباع بتصير Vmax

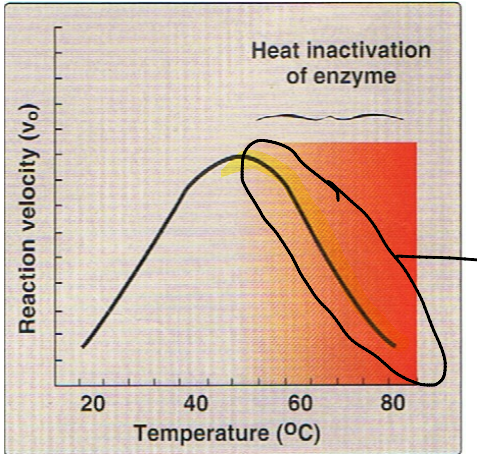
في two shapes للrxn <=
hyperbolic-1
sigmoidal-2

الmechalis menten بالعادة بكون hyperbolic

Reaction velocity
Temperature

- Increase of velocity with temperature: The reaction velocity increases with temperature until a peak velocity is reached as a result of increased number of molecules having sufficient energy to pass over the energy barrier and form the products of the reaction.

- Decrease of velocity with higher temperature: as a result of temperature-induced denaturation of the enzyme



denaturation of enzymes ⇒ uncatalyzed rxn

كل ما رفعت الtemperature كل ما كان في طاقة اعلى والkinetic energy of reactants بتصير احسن و اعلى وفرصة انهم يدخلوا الpocket تبع الانزيم اعلى فبضل الrxn يزيد لحد ما يوصل 60o درجة مئوية ببلش الdenaturation لل protein وبخرب الانزيم وكلما رفعت الحرارة كلما كانت كمية الانزيمات اللي بصيرلها denaturation اكبر enzymes

فالtemperature بداية ارتفاعها بتزيد الactivity للانزيم والreactant وبعد هيك الvelocity بتبلش تقل بسبب الdenaturation فصار التفاعل uncatalyzed of enzymes

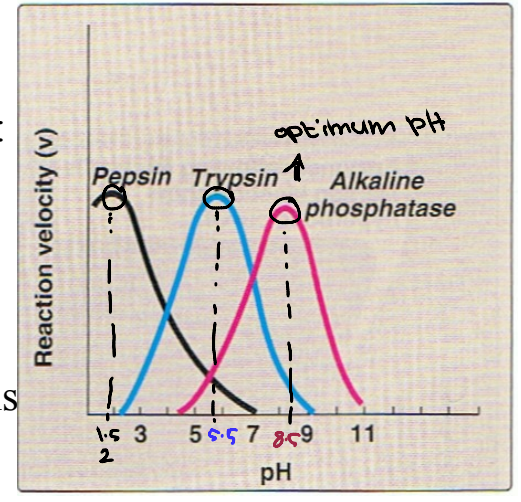
Reaction velocity
pH

- Effect of pH on the ionization of the active site: First, the catalytic process usually requires that the enzyme and substrate have specific chemical groups in either an ionized or unionized state in order to interact

- Effect of extremes of pH on enzyme denaturation: because the structure of the catalytically active protein molecule depends on the ionic character of the amino acid side chains.

- The pH optimum varies for different enzymes: often reflects the [H] at which the enzyme functions in the body

* extremes of pH cause denaturation of enzymes (True / false)
→ FALSE



- اذا قِلت ال pH بتبع الانزيم
ال pH بتبع الدم بزيد ال denaturation

pH ↓ H+ ↑ COOH group of aa protonation ↑

الphحسب وين الانزيم بشتغل مثلا كان الانزيم بالstomach فالoptimum ph تبع الانزيم رح يكون بحدود الph تبع الstomach

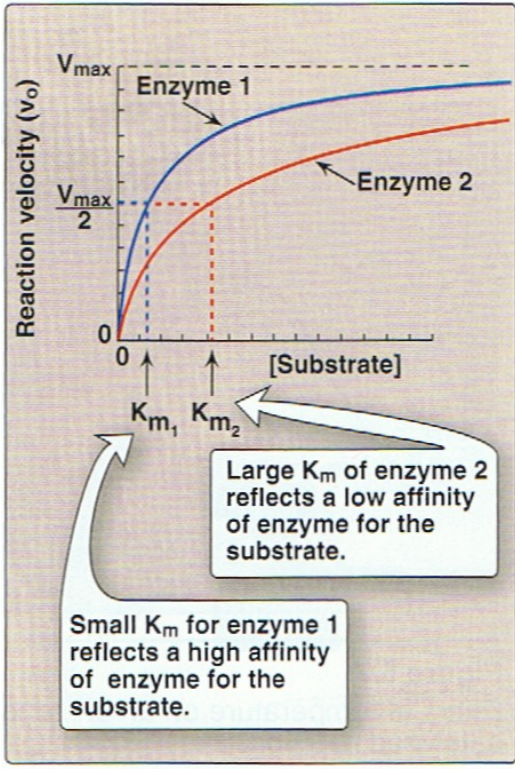
الرسمة:
الpepsin موجودة بالstomach
الtrypsin موجود بالintestines

فكل انزيم اله optimum ph و optimum temperature

Michaelis-Menten equation

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

- Where
  - vo = initial reaction velocity
  - Vmax = maximal velocity. ← هي ثابت
  - Km = Michaelis constant = (k-1 +k2)/k1
  - [S] = substrate concentration
- Velocity of the reaction is directly proportional to the enzyme concentration ← وقت ال Km ثابتة



- assumptions made in deriving the Michaelis-Menten rate:
  1. The conc. of substrate [S] is much greater than the conc. of enzyme [E]
  2. [ES] does not change with time (the steady-state assumption ← لما نا في عندي steady state معناته هاي المعادلة نا راح تنطبق

هاي الequation عبارة عن العلاقة بين الsubstrate concentration والvelocity of the rxn ومن هاي العلاقة طلعوا الmaximal velocity وkm اللي هو مقدار ثابت مرتبط بالenzyme +substrate يعني تغير الsubstrate تغير الkm والVmax بالاضافة للregulation والمواد اللي ضفتها اذا زادت او نقصت رح تتأثر الkm والVmax

الVo عبارة عن initial rxn velocity

الmaximal velocity هي اعلى velocity ممكن يوصلها هاد الانزيم ولازم يتحدد قديش الconcentration للانزيم لانه بأثر عالmaximal velociy

الkm هو ال mechalis constant هو عبارة عن ثابت وهي عبارة عن concentration و بتتأثر بالsubstrate concentration

assumptions

لازم يكون hyperbolic مش sigmoidal

Michaelis-Menten constant

- Km-the Michaelis constant- is characteristic of an enzyme and its particular substrate, and reflects the affinity of the enzyme for that substrate
- Km is numerically equal to the substrate concentration at which the reaction velocity is equal to 1/2 Vmax km = substrate conc. = $\frac{1}{2}$ Vmax
- Km does not vary with the concentration of enzyme
- Small Km reflects a high affinity of the enzyme for substrate, because a low concentration of substrate is needed to half-saturate the enzyme
- Large Km reflects a low affinity of enzyme for substrate because a high concentration of substrate is needed

⊛ علاقة ربط صعوبة بين سحبة الاكسجين من الـ Hb وسحبة الانزيم لموضوع affinity الـ

Q) enzyme concentration affects km (TRUE/FALSE)

FALSE

- enzyme conc. affects velocity · Vmax

- مش كل الانزيمات بتشتغل بنفس الوقت

Q) enzyme conc. does not affect affinity

TRUE

الkm الها علاقة عكسية مع الaffinity

الkm كقيمة هي عبارة عن substrate concentration ووحدتها وحدة concentration

تركيز الانزيم ما بأثر عالkm بس بأثر عالvelocity والVmax و الaffinity ما بتتغير

Michaelis-Menten constant

- The rate of the reaction is directly proportional to the enzyme concentration at all substrate concentrations

- For example, if the enzyme concentration is halved, the initial rate of the reaction (vo), as well as that of Vmax, are reduced to one half that of the original.

- When [S] is much less than Km, the velocity of the reaction is approximately proportional to the substrate concentration (first order)

- When [S] is much greater than Km, the velocity is constant and equal to Vmax. The rate of reaction is then independent of substrate concentration (zero order)

لما يكون الsubstrate اقل من الkm فكلما زاد الsubstrate concentration بزيد الvelocity للrxn وبسميه first order يعني الvelocity طردي مع الsubstrate concentration

بالzero order قد ما نرفع الsubstrate concentration بضل الvelocity ثابت

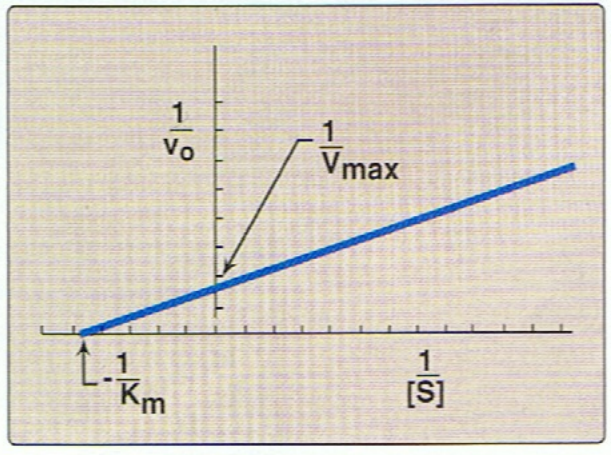
Linearization of Michaelis-Menten equation (Lineweaver-Burke plot)

- It is not always possible to determine the Vmax from plotting vo against [S]

- اذا ال substrate بالتجربة كانوا محدودين يكون ال Vmax في حين ال Km غايبة

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

EX: $\frac{1}{V_{max}} = \frac{1}{2} \Rightarrow V_{max} = 2$



$\frac{km}{Vomax}$ = slope

- The intercept on the x axis = -1/Km
- The intercept on the y axis = 1/Vmax

Inhibition of enzyme activity

- Inhibitor: any substance that can diminish the velocity of an enzyme-catalyzed reaction

- **Reversible inhibitors**: bind to enzymes through noncovalent bonds. Dilution of the enzyme-inhibitor complex results in dissociation of the reversibly bound inhibitor, and recovery of enzyme activity

- **Irreversible inhibition**: occurs when an inhibited enzyme does not regain activity on dilution of the enzyme-inhibitor complex.

- The above types can be **competitive** or **noncompetitive**.

الinhibitor هو اشي بعمل inhibition للانزيم وبوقف الrxn

في تصنيفين للinhibitors
١- reversible and irreversible
٢- competitive and noncompetitive

-reversible بالعادة برتبط عليه الانزيم

اذا رجع الactivity للانزيم بكون reversible واذا ما رجع بكون irreversible

في نوع غير الcompetitive والnoncompetitive اسمه uncompetitive
-competitive برتبط على نفس الpocket تاع الsubstrate وكل ما كان التركيز اعلى كل ما كان ارتباطه اقوى .. لو زدت الsubstrate concentration فالsubstrate راح يحل مكان الinhibitor فالعملية بتصير reversible و competitive ... اذا خليت الsubstrate اعلى بكتير من الinhibitor ممكن اوصل الVmax ولا لا؟ اه ممكن

-noncompetitive بيجي برتبط بالانزيم وبغير الconformation ل اله وبسكر الpocket يعني لا برتبط بالactive site ولا بخلي الsubstrate يرتبط فيها فبخلي الenzyme inactive

-noncompetitive بختلف عن الuncompetitive فهو بقلل الvmax وبزيد الkm