Enzymes

Enzymes

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

> الإنزيمات عبارة عن محفزات بروتينية تزيد من معدل التفاعلات دون أن تتغير في العملية الكلية.

- Nomenclature
  - Recommended name

Most commonly used enzyme names

substrate + -ase e.g. sucrase, urease, glucosidase)

Action performed e.g. lactate dehydrogenase and adenylyl cyclase

الركيزة + ase- (مثل السكراز، اليورياز، الجلوكوزيداز) الوظيفة المؤداة (مثل نازعة هيدروجين اللاكتات وسيكلاز الأدينيل

  - Systematic name

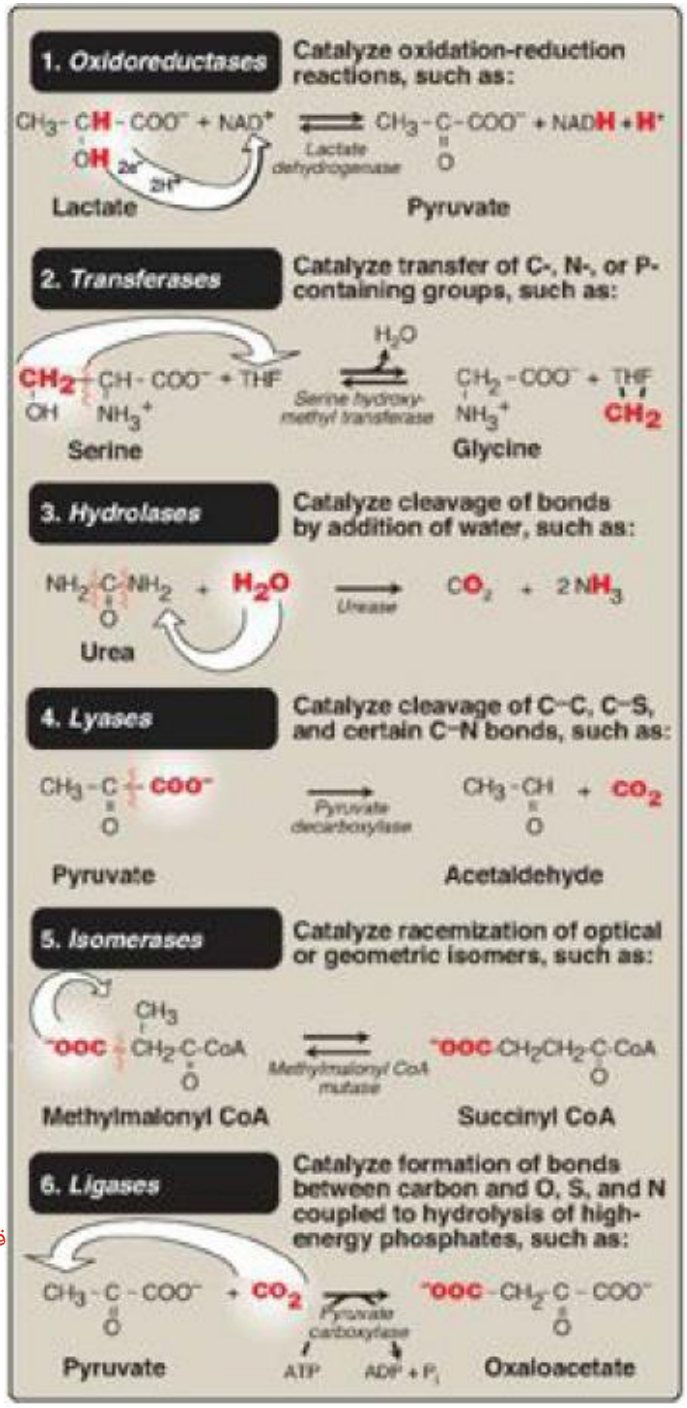
IUBMB divided the enzymes into six major classes:

Oxidoreductase, Transferase, Hydrolases, Lyases, Isomerases, Ligases

Example: lactate:NAD+ oxidoreductase

مثال: أوكسيدوريدوكتاز اللاكتات:NAD+

قسم الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية والبيولوجيا الجزيئية (IUBMB) الإنزيمات إلى ست فئات رئيسية: أوكسيدوريدوكتاز، ترانسفيراز، هيدرولاز، لياز، إيزوميراز، ليغاز



Enzyme properties

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

1 المواقع النشطة: يحتوي الإنزيم على جيب أو شق خاص يرتبط بالركيزة

2. Catalytic efficiency: highly efficient (10^3-10^8) faster than uncatalyzed reaction

2 الكفاءة التحفيزية: كفاءة عالية (10^8-10^2) أسرع من التفاعل غير المحفز

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

3 التخصص: متخصص للغاية، يحفز نوعًا واحدًا فقط من التفاعلات الكيميائية.

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

العوامل المساعدة، والإنزيم غير البروتيني، والإنزيم الكامل: تحتاج بعض الإنزيمات إلى عوامل مساعدة غير بروتينية مثل المعدن أو الجزيء العضوي. يُطلق على الإنزيم الذي يحتوي على عامل مساعد اسم الإنزيم الكامل، بينما يُطلق على الجزء البروتيني اسم الإنزيم غير البروتيني. لا يُظهر الإنزيم بدون عامل مساعد نشاطًا بيولوجيًا. إنشاء رابط رابط إلى صفحات أخرى رابط إلى صفحة ويب حذف التنظيم: يمكن تنشيطها أو تثبيطها بواسطة مواد مختلفة.

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

5. التنظيم: يمكن تنشيطه أو تثبيطه بواسطة مواد مختلفة.

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.

الموقع داخل الخلية: يتمركز كل إنزيم في عُضية مُحددة داخل الخلية، مما يعزل ركيزة التفاعل أو ناتجه عن التفاعلات المُنافسة الأخرى.

How enzymes work

لا يوجد فرق في الطاقة الحرة للتفاعل الكلي (طاقة المتفاعلات ناقص طاقة النواتج) بين التفاعلات المحفزة وغير المحفزة.

- In each chemical reaction there is an energy barrier (energy of activation)

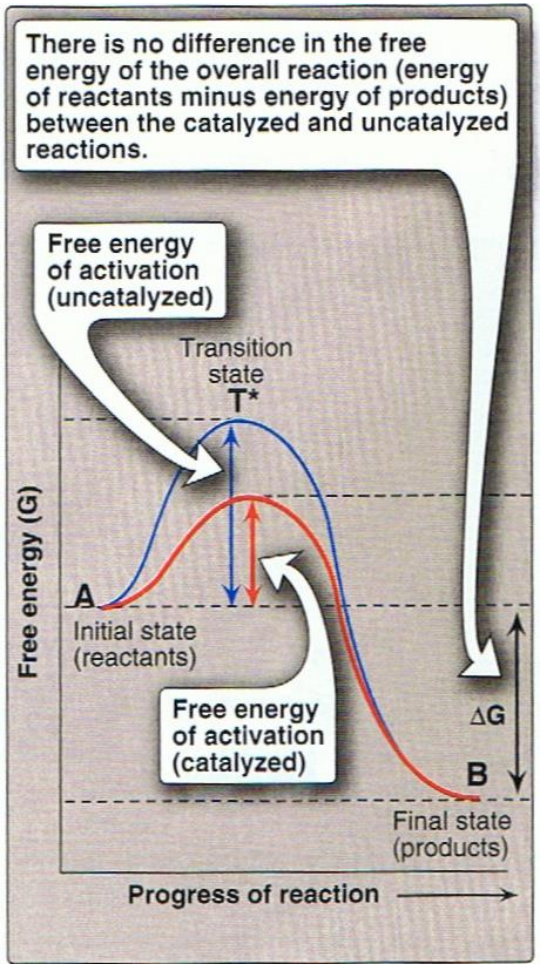
> في كل تفاعل كيميائي، يوجد حاجز طاقة (طاقة التنشيط)

- For the molecules to react, they must overcome the energy barrier

> لكي تتفاعل الجزيئات، يجب عليها التغلب على حاجز الطاقة

- Enzymes reduce the energy of activation without affecting the free energy of the reactants and products and fasten the reaction rate

تقلل الإنزيمات من طاقة التنشيط دون التأثير على الطاقة الحرة للمتفاعلات والنواتج، وتسرع معدل التفاعل



$\Delta G \rightarrow$ no change

Factors affect Reaction velocity

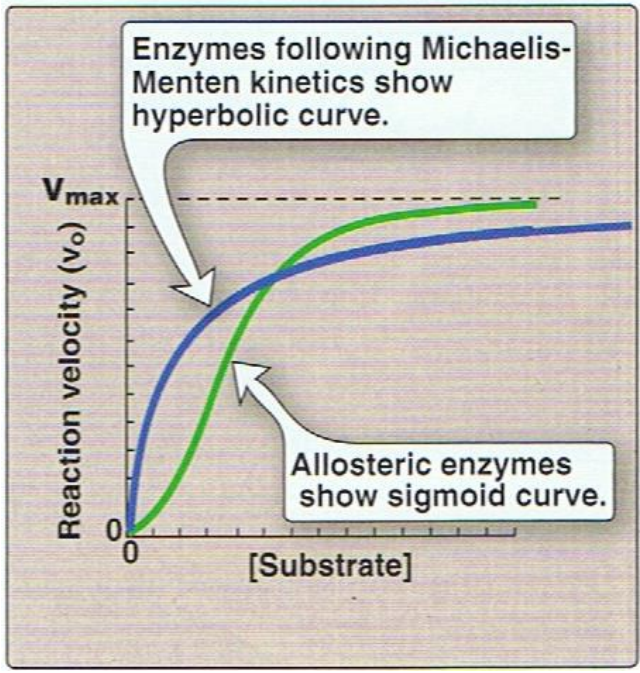
① Substrate concentration

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

السرعة القصوى: يزداد معدل التفاعل المحفز بالإنزيم مع زيادة تركيز الركيزة حتى الوصول إلى السرعة القصوى (Vmax)
(تشبع جميع مواقع الارتباط المتاحة على الإنزيم بالركيزة)

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

الشكل الزائدي لمنحنى حركية الإنزيم: تُظهر معظم الإنزيمات حركية ميكاليليس-مينتين، بينما تُظهر الإنزيمات الألوستيرية غالبًا منحنى سيني



Reaction velocity

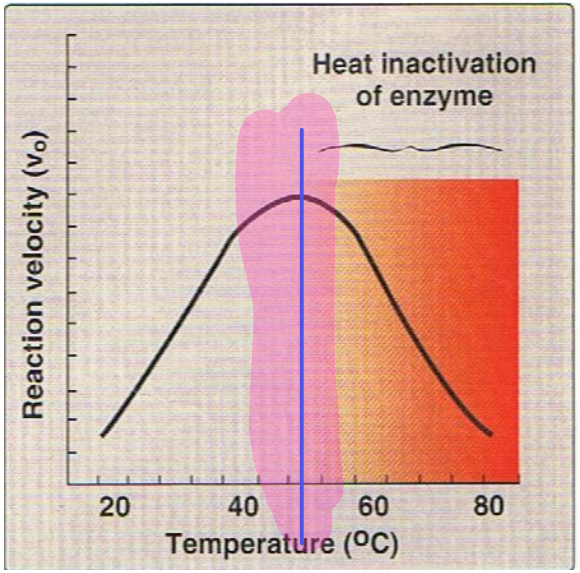
2) Temperature

- 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.

زيادة السرعة مع درجة الحرارة:
تزداد سرعة التفاعل مع درجة الحرارة حتى الوصول إلى ذروة السرعة نتيجة لزيادة عدد الجزيئات التي تمتلك طاقة كافية لتجاوز حاجز الطاقة وتكوين نواتج التفاعل.

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

انخفاض السرعة مع ارتفاع درجة الحرارة:
نتيجة لتغير طبيعة الإنزيم بفعل درجة الحرارة



Reaction velocity

3 pH

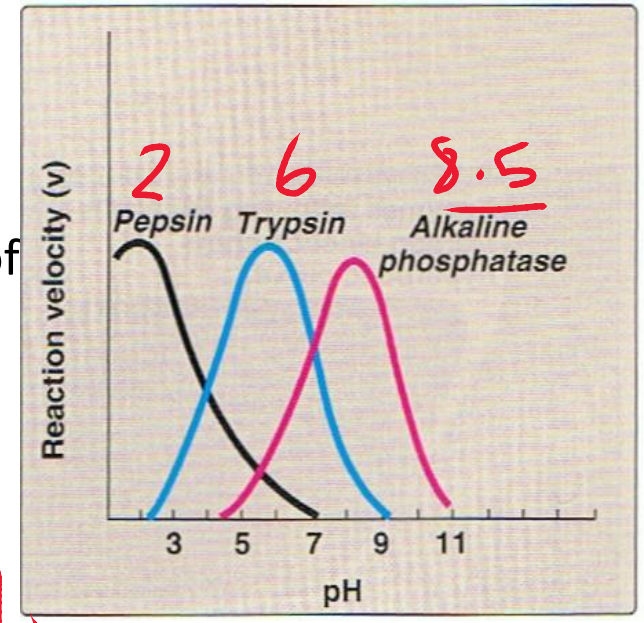
- Effect of pH on the ionization of the active site: First, the catalytic process usually requires that the enzyme and substrate have specific chemical groups in either an ionized or unionized state in order to interact

تأثير درجة الحموضة على تأين الموقع النشط: أولاً، تتطلب العملية التحفيزية عادةً أن يحتوي الإنزيم والركيزة على مجموعات كيميائية محددة إما في حالة متأينة أو غير متأينة من أجل التفاعل

- 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

تختلف درجة الحموضة المثلى للإنزيمات المختلفة: غالبًا ما تعكس (H) التي يعمل عندها الإنزيم في الجسم



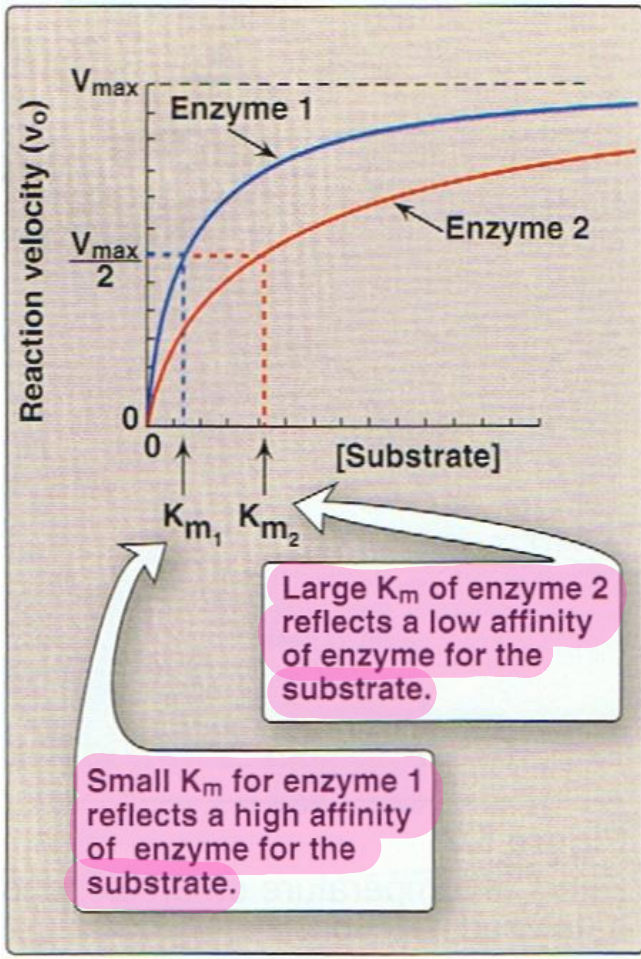
تأثير درجات الحموضة القصوى على تمسخ الإنزيم: لأن بنية جزيء البروتين النشط تحفيزيًا تعتمد على الطابع الأيوني للسلاسل الجانبية للأحماض الأمينية.

Michaelis-Menten equation

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

- Where
  - v_o = initial reaction velocity
  - V_{max} = maximal velocity
  - K_m = Michaelis constant = (k-1 +k2)/k1
  - [S] = substrate concentration
- Velocity of the reaction is directly proportional to the enzyme concentration

سرعة التفاعل تتناسب طرديًا مع تركيز الإنزيم



الافتراضات المستخدمة في اشتقاق معدل ميكايليس-مينتين:

- assumptions made in deriving the Michaelis-Menten rate:

1. The conc. of substrate [S] is much greater than the conc. of enzyme [E]

1. تركيز الركيزة (S) أكبر بكثير من تركيز الإنزيم (E)

2. [ES] does not change with time (the steady-state assumption

2. (ES) لا يتغير مع مرور الوقت (افتراض الحالة المستقرة

Michaelis-Menten constant

ثابت مايكليس - هو خاصية مميزة للإنزيم وركيزته المحددة، ويعكس ألفة الإنزيم لتلك الركيزة - Km

- K_m-the Michaelis constant- is characteristic of an enzyme and its particular substrate, and reflects the affinity of the enzyme for that substrate

- K_m is numerically equal to the substrate concentration at which the reaction velocity is equal to 1/2 V_{max} > K، يساوي عدديًا تركيز الركيزة الذي تكون عنده سرعة التفاعل مساوية لنصف V,max

- K_m does not vary with the concentration of enzyme > K، لا يتغير مع تركيز الإنزيم

- Small K_m reflects a high affinity of the enzyme for substrate, because a low concentration of substrate is needed to half-saturate the enzyme

قيمة K الصغيرة تعكس تقاربًا عاليًا للإنزيم مع الركيزة، لأنه يلزم تركيز منخفض من الركيزة لتشبع الإنزيم إلى النصف

- Large K_m reflects a low affinity of enzyme for substrate because a high concentration of substrate is needed

قيمة Km الكبيرة تعكس تقاربًا منخفضًا للإنزيم مع الركيزة لأنه يلزم تركيز عالٍ من الركيزة

Michaelis-Menten constant

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

يتناسب معدل التفاعل طرديًا مع تركيز الإنزيم عند جميع تراكيز الركيزة

- For example, if the enzyme concentration is halved, the initial rate of the reaction (v_o), as well as that of V_{max}, are reduced to one half that of the original.

على سبيل المثال، إذا تم تخفيض تركيز الإنزيم إلى النصف، فإن المعدل الأولي للتفاعل (v)، وكذلك Vma، ينخفض إلى نصف قيمته الأصلية.

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

عندما يكون (S) أقل بكثير من Km، فإن سرعة التفاعل تتناسب تقريبًا مع تركيز الركيزة (الرتبة الأولى)

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

عندما تكون قيمة)S أكبر بكثير من Km، تكون السرعة ثابتة وتساوي Vmay- يكون معدل التفاعل حينها مستقلاً عن تركيز المادة المتفاعلة (رتبة صفرية).

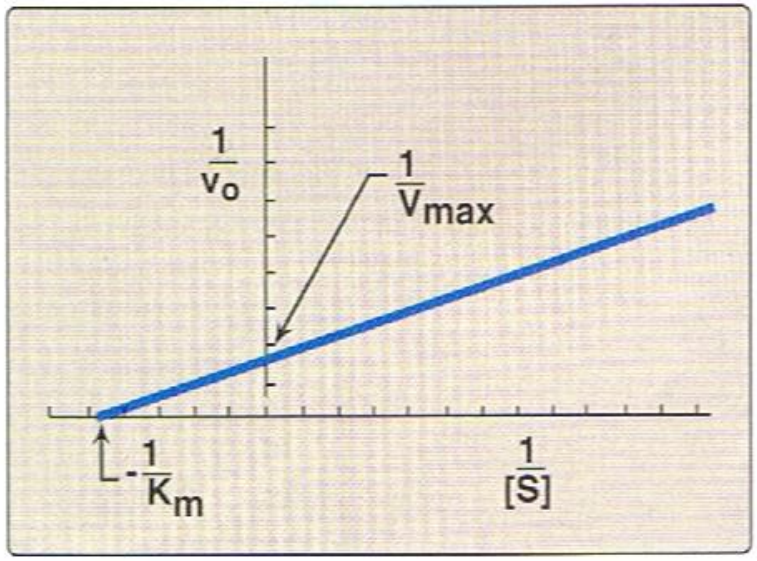
Linearization of Michaelis-Menten equation (Lineweaver-Burke plot)

- It is not always possible to determine the V_{max} from plotting v_o against [S]

> ليس من الممكن دائمًا تحديد V, max من خلال رسم V, مقابل (S)

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

بدك تحفظ كل يلي بالرسمة ضروري



- The intercept on the x axis = $-1/K_m$
- The intercept on the y axis = $1/V_{max}$

Inhibition of enzyme activity

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

المثبط: أي مادة يمكنها تقليل سرعة التفاعل المحفز بالإنزيم

  - **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

المثبطات العكوسة: ترتبط بالإنزيمات من خلال روابط غير تساهمية. يؤدي تخفيف معقد الإنزيم-المثبط إلى تفكك المثبط المرتبط بشكل عكوس، واستعادة نشاط الإنزيم

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

covalent bond

> التثبيط غير القابل للعكس: يحدث عندما لا يستعيد الإنزيم المثبط نشاطه عند تخفيف معقد الإنزيم-المثبط.

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

> يمكن أن تكون الأنواع المذكورة أعلاه تنافسية أو غير تنافسية.

Inhibition of enzyme activity
Competitive inhibitors

- occurs when the inhibitor competes with the substrate for the same site.
- Vmax is unchanged
- Apparant Km is increased
- statin drugs are example

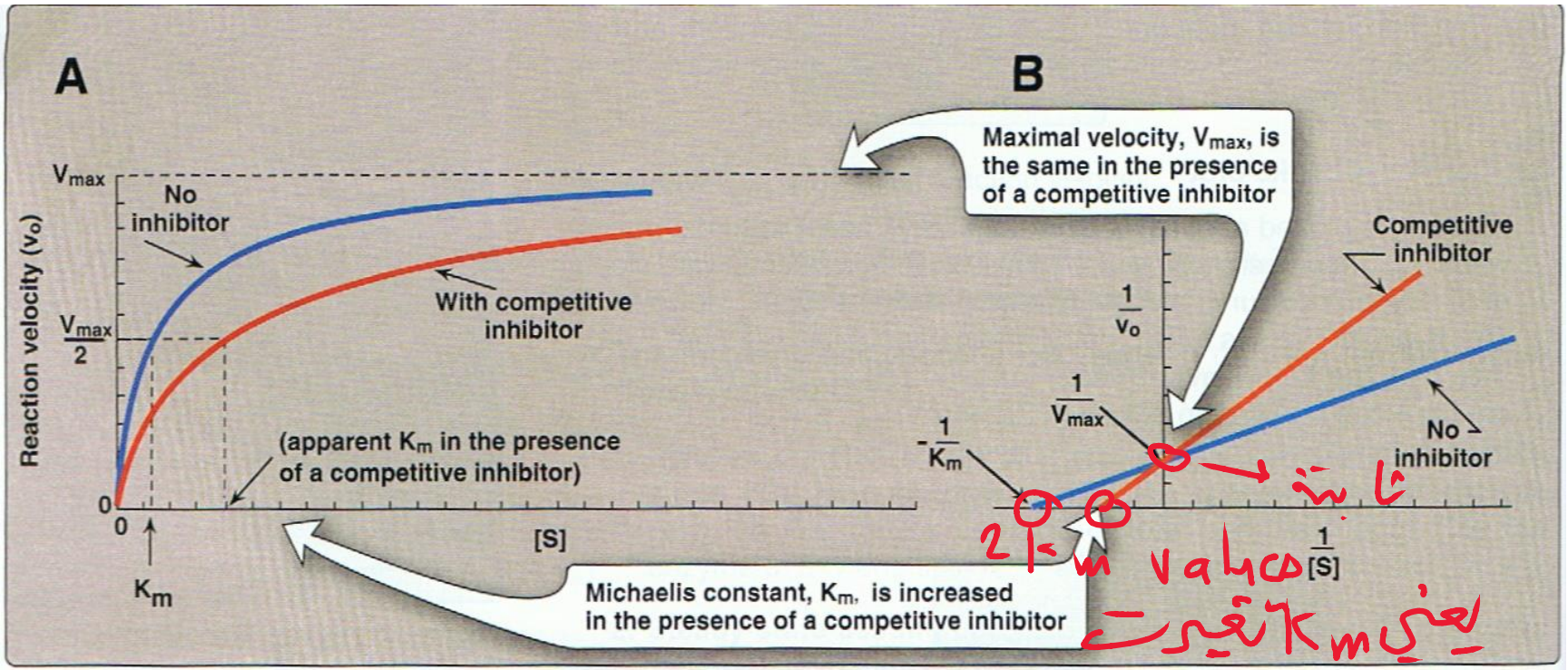
بدي كمية substrate اعلى عشان تنافس وعشان هيك ال km بترتفع

يحدث عندما يتنافس المثبط مع الركيزة على نفس الموقع.

Vmax لا تتغير

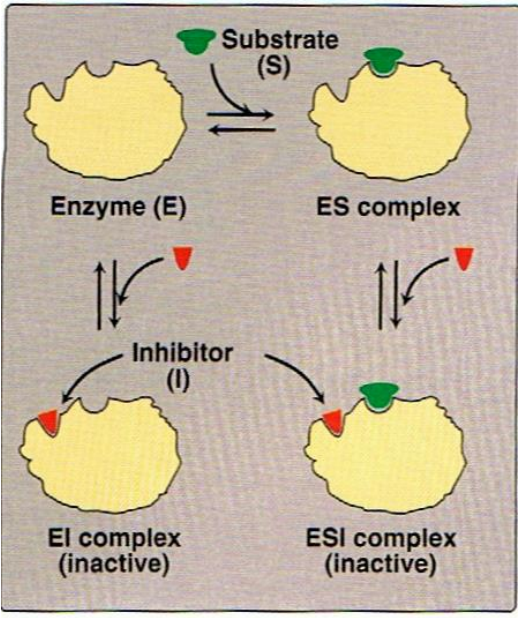
تزداد قيمة Km الظاهرية،

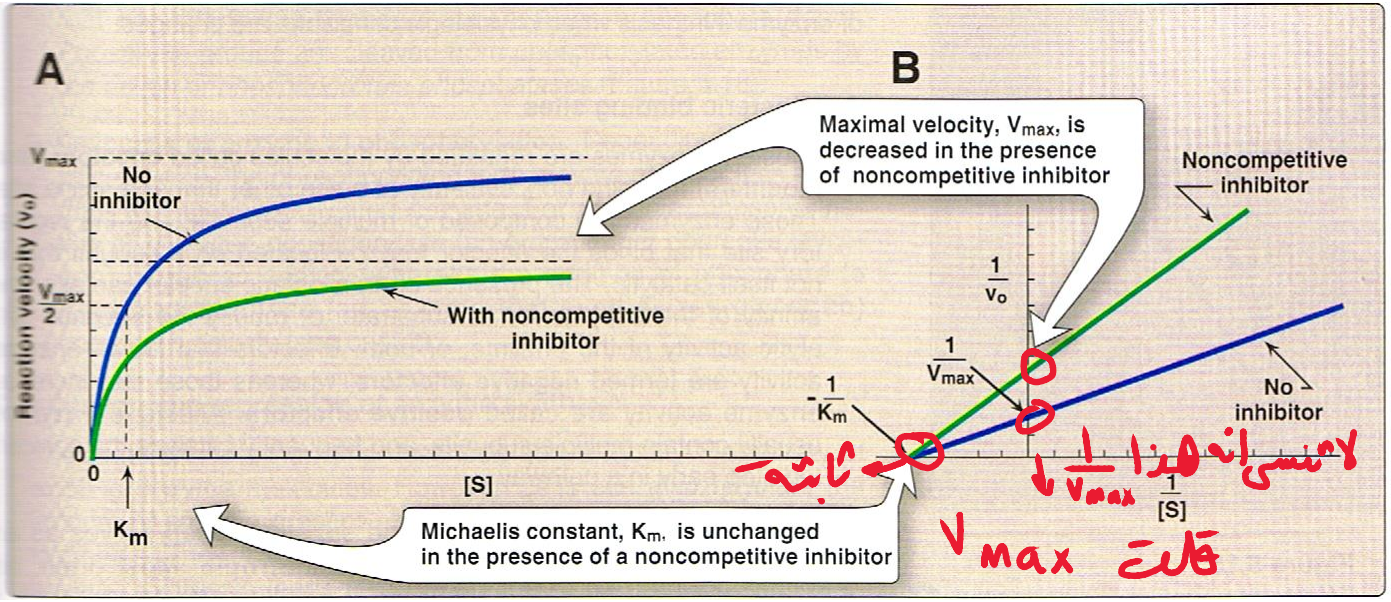
وتُعد أدوية الستاتين مثالًا على ذلك



Inhibition of enzyme activity
Noncompetitive inhibitors

- Occurs when the inhibitor and substrate bind at different sites on the enzyme. يحدث عندما يرتبط المثبط والركيزة في مواقع مختلفة على الإنزيم.
- It can bind either free enzyme or the ES complex, thereby preventing the reaction from occurring يمكن أن يرتبط إما بالإنزيم الحر أو بمركب ES، مما يمنع حدوث التفاعل
- K_m is unchanged لا يتغير Km >
- V_{max} is decreased ، ينخفض Vmax





Examples on enzyme inhibitors

irreversible

مثبط غير تنافسي: يشكل الرصاص روابط تساهمية مع السلاسل الجانبية للكبريتيدريل للسيستين في البروتينات

- non- competitive inhibitor: lead forms covalent bonds with the sulfhydryl side chains of cysteine in proteins

إنزيم فيروكيلاز، الذي يحفز إدخال Fet2 في بروتوبورفيرين (مادة أولية للهيم)، حساس للتثبيط بواسطة الرصاص.

- Ferrochelatase, an enzyme that catalyzes the insertion of Fe^{+2} into protoporphyrin (a precursor of heme) is sensitive to inhibition by lead.

> تعمل المضادات الحيوية من نوع بيتا لاكتام، مثل البنسلين والأموكسيسيلين، والموصوفة على نطاق واسع، عن طريق تثبيط الإنزيمات المشاركة في تخليق جدار الخلية البكتيرية

- as drugs
  - The widely prescribed β-lactam antibiotics, such as penicillin and amoxicillin, act by inhibiting enzymes involved in bacterial cell wall synthesis
  - Angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors (captopril, enalapril, and lisinopril). They lower blood pressure by blocking the enzyme that cleaves angiotensin I to form the potent vasoconstrictor, angiotensin II

مثبطات الإنزيم المحول للأنجيوتنسين (ACE) (كابتوبريل، وإينالابريل، وليسينوبريل). تعمل هذه الأدوية على خفض ضغط الدم عن طريق تثبيط الإنزيم الذي يحلل الأنجيوتنسين الأول لتكوين الأنجيوتنسين الثاني، وهو مادة قابضة للأوعية الدموية قوية

Regulation of enzyme activity (Allosteric regulation)

- Allosteric enzymes are regulated by compounds called effectors (or modifiers)

  يتم تنظيم الإنزيمات التغايرية بواسطة مركبات تسمى المؤثرات (أو المعدلات)

- Can have positive or a negative effect

  يمكن أن يكون لها تأثير إيجابي أو سلبي

- May affect the V_{max}, K_m or both.

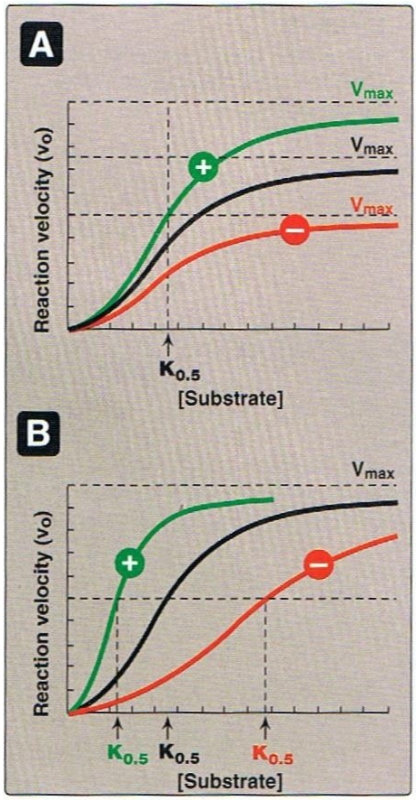
  قد تؤثر على Vmaw Km أو كليهما.

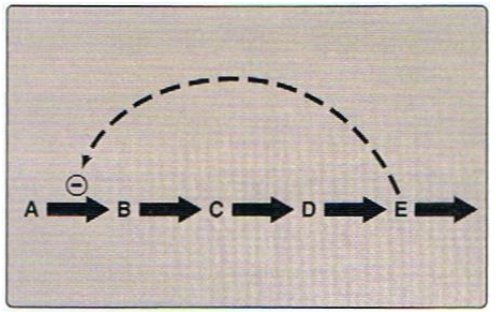
- Can be

  > متجانس (الركيزة نفسها) شكل سيجمويدي

  - homotropic (the substrate itself) sigmoidal shape curve
  - heterotropic (the product or other subsance) feed back inhibition

    > غير متجانس (المنتج أو مادة أخرى) تثبيط التغذية الراجعة

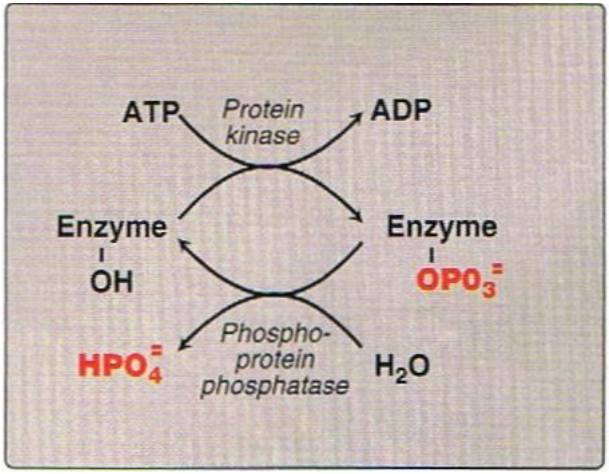




Regulation of enzyme activity (Covalent modification)

- Phosphorylation (uses ATP as phosphate donor) or dephosphorylation by phosphoprotein phosphatases

الفسفرة (تستخدم ATP كمانح للفوسفات) أو إزالة الفسفرة بواسطة فوسفاتازات البروتين الفسفوري



- The phosphorylated form of the enzyme can be more or less active

يمكن أن يكون الشكل المفسفر للإنزيم أكثر أو أقل نشاطًا

  - Glycogen phosphorylase (glycogen degradation) increase activity upon phosphorylation
  - Glycogen synthase activity decreases

> فوسفوريلاز الجليكوجين (تحلل الجليكوجين) يزيد النشاط عند الفسفرة

> سينثاز الجليكوجين ينخفض النشاط

induction and repression of enzyme synthesis due to the above factors

تحفيز وتثبيط تخليق الإنزيم بسبب العوامل المذكورة أعلاه

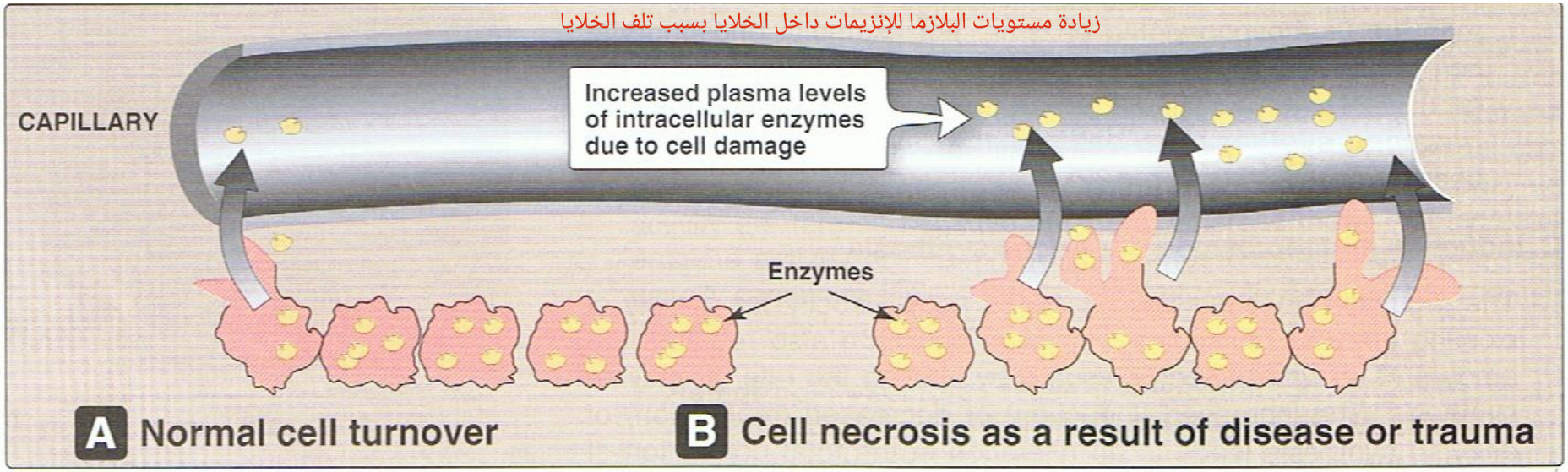
Enzymes in clinical diagnosis

- Low conc. of enzymes is present in blood due to cell turnover

يوجد تركيز منخفض من الإنزيمات في الدم بسبب تجدد الخلايا

- Destruction of cells due to any damage may lead to release of some enzymes

قد يؤدي تدمير الخلايا بسبب أي ضرر إلى إطلاق بعض الإنزيمات



تغير مستويات إنزيمات البلازما في الحالات المرضية

Alteration of plasma enzyme levels in disease states

- The activities of many enzymes are routinely determined for diagnostic purposes in diseases of the heart, liver, skeletal muscle, and other tissues.

> يتم تحديد نشاط العديد من الإنزيمات بشكل روتيني لأغراض التشخيص في أمراض القلب والكبد والعضلات الهيكلية والأنسجة الأخرى.

- The level of specific enzyme activity in the plasma frequently correlates with the extent of tissue damage.

يرتبط مستوى نشاط إنزيم معين في البلازما غالبًا بمدى تلف الأنسجة.

- Determining the degree of elevation of a particular enzyme activity in the plasma is often useful in evaluating the prognosis for the patient.

> غالبًا ما يكون تحديد درجة ارتفاع نشاط إنزيم معين في البلازما مفيدًا في تقييم تشخيص المريض.

إنزيمات البلازما كأدوات تشخيصية

Plasma enzymes as diagnostic tools

- Some enzymes show relatively high activity in only one or a few tissues.

تُظهر بعض الإنزيمات نشاطًا عاليًا نسبيًا في نسيج واحد أو عدد قليل من الأنسجة.

- The presence of increased levels of these enzymes in plasma thus reflects damage to the corresponding tissue.

وبالتالي، فإن وجود مستويات مرتفعة من هذه
الإنزيمات في البلازما يعكس تلفًا في النسيج المقابل.

- For example, the enzyme alanine aminotransferase (**ALT**) is abundant in the liver. The appearance of elevated levels of ALT in plasma signals possible damage to **hepatic tissue**.

> على سبيل المثال، إنزيم ناقلة أمين الألانين (ALT) وفير في الكبد. يشير ظهور
مستويات مرتفعة من ALT في البلازما إلى احتمال تلف أنسجة الكبد.

- This lack of tissue specificity limits the diagnostic value of many plasma enzymes.

هذا النقص في خصوصية الأنسجة يحد من القيمة التشخيصية للعديد من إنزيمات البلازما.

الإنزيمات المتماثلة وأمراض القلب

Isoenzymes and diseases of the heart

الإنزيمات المتماثلة (أو الأيزوزيمات) هي إنزيمات تحفز نفس التفاعل. ومع ذلك، ليس بالضرورة أن يكون لها نفس الخصائص الفيزيائية بسبب الاختلافات المحددة وراثيًا في تسلسل الأحماض الأمينية

- Isoenzymes (or isozymes) are enzymes that catalyze the same reaction. However, they do not necessarily have the same physical properties because of genetically determined differences in amino acid sequence

- isoenzymes may be separated from each other by electrophoresis

يمكن فصل الإنزيمات المتماثلة عن بعضها البعض عن طريق الرحلان الكهربائي

- Different organs frequently contain characteristic proportions of different isoenzymes. The pattern of isoenzymes found in the plasma may, therefore, serve as a means of identifying the site of tissue damage.

غالبًا ما تحتوي الأعضاء المختلفة على نسب مميزة من الإنزيمات المتماثلة المختلفة. لذلك، قد يكون نمط الإنزيمات المتماثلة الموجودة في البلازما وسيلة لتحديد موقع تلف الأنسجة.

- The plasma levels of creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH) are commonly determined in the diagnosis of myocardial infarction.

يتم عادةً تحديد مستويات الكرياتين كيناز (CK) ولاكتات ديهيدروجينيز (LDH) في البلازما في تشخيص احتشاء عضلة القلب.

- They are particularly useful when the electrocardiogram is difficult to interpret, such as when there have been previous episodes of heart disease.

وهي مفيدة بشكل خاص عندما يكون من الصعب تفسير تخطيط كهربية القلب، كما هو الحال عند وجود نوبات سابقة من أمراض القلب.

Quaternary structure of isoenzymes

يوجد إنزيم الكرياتين كيناز على شكل ثلاثة إنزيمات متماثلة. كل إنزيم متماثل عبارة عن ثنائي يتكون من عديدَي ببتيد (يُطلق عليهما الوحدتان الفرعيتان B وM) مرتبطين في إحدى ثلاث تركيبات (CK1 = BB، CK2 = MB، وCK3 = MM). يُظهر كل إنزيم متماثل من إنزيم الكرياتين كيناز حركة كهربائية مميزة

- Creatine kinase occurs as three isoenzymes. Each isoenzyme is a dimer composed of two polypeptides (called B and M subunits) associated in one of three combinations (CK1 = BB, CK2 = MB, and CK3 = MM). Each CK isoenzyme shows a characteristic electrophoretic mobility

- Myocardial muscle is the only tissue that contains more than five percent of the total CK activity as the CK2 (MB) isoenzyme.

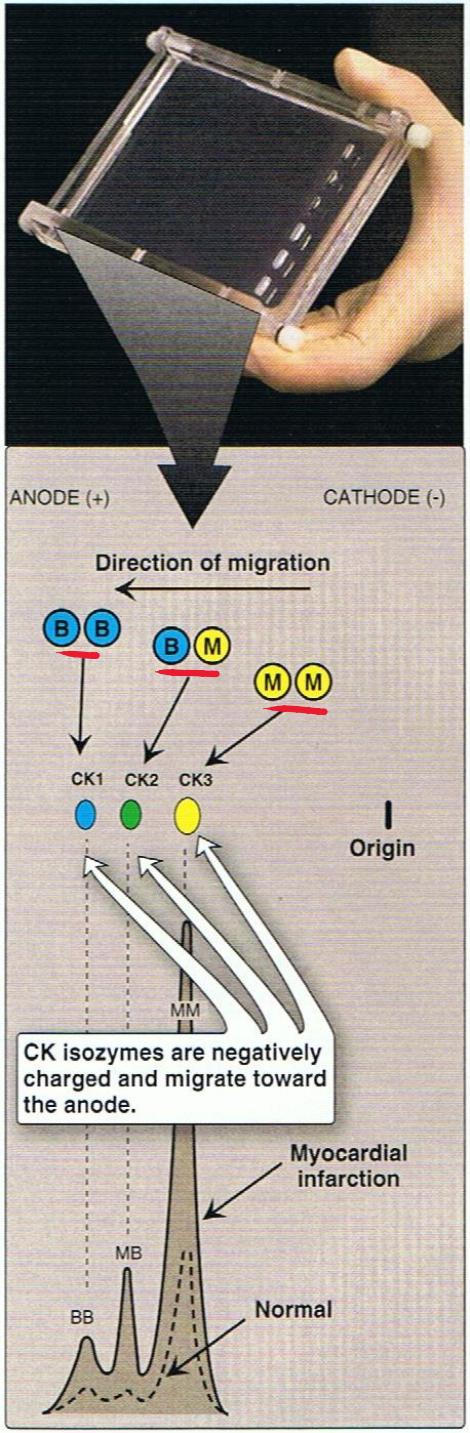
عضلة القلب هي النسيج الوحيد الذي يحتوي على أكثر من خمسة بالمائة من إجمالي نشاط إنزيم الكرياتين كيناز (CK) على شكل الإنزيم المتماثل CK2 (MB).

- Appearance of this hybrid isoenzyme in plasma (four to eight hours following onset of chest pain which reaches peak after 24 hr) is virtually specific for infarction of the myocardium.

- Lactate dehydrogenase activity is also elevated in plasma following an infarction, peaking 36 to 40 hours after the onset of symptoms. LDH activity is, thus, of diagnostic value in patients admitted more than 48 hours after the infarction

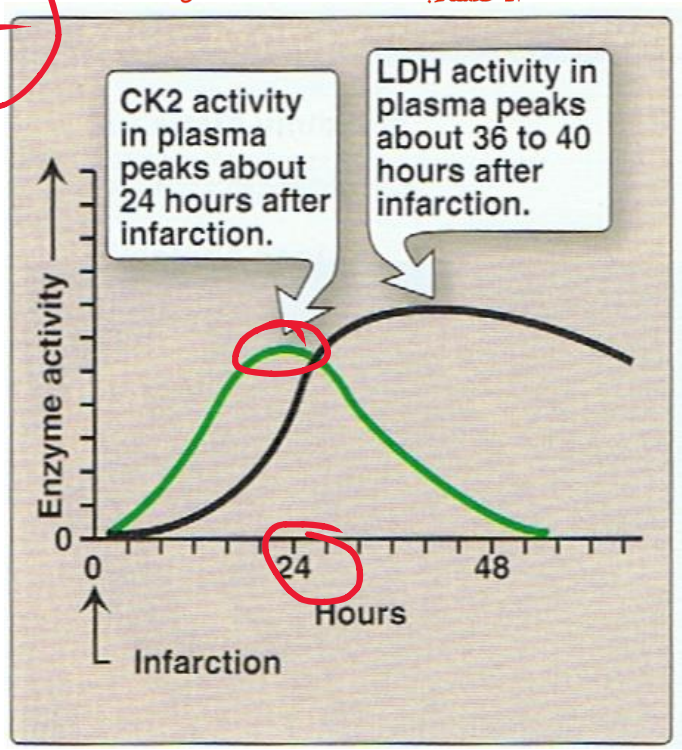
كما يرتفع نشاط نازعة هيدروجين اللاكتات في البلازما بعد الاحتشاء، ويبلغ ذروته بعد 36 إلى 40 ساعة من بدء الأعراض. وبالتالي، فإن نشاط نازعة هيدروجين اللاكتات ذو قيمة تشخيصية للمرضى الذين يتم إدخالهم إلى المستشفى بعد أكثر من 48 ساعة من الاحتشاء

> يُعد ظهور هذا الإنزيم الهجين في البلازما (بعد أربع إلى ثماني ساعات من بدء ألم الصدر، والذي يبلغ ذروته بعد 24 ساعة) مؤشرًا دقيقًا لاحتشاء عضلة القلب.



يبلغ نشاط CK2 في البلازما ذروته بعد حوالي 24 ساعة من الاحتشاء.

يبلغ نشاط LDH في البلازما ذروته بعد حوالي 36 إلى 40 ساعة من الاحتشاء.



مؤشرات أحدث لاحتشاء عضلة القلب

Newer markers for myocardial infarction

- Troponin T and troponin I are regulatory proteins involved in myocardial contractility.

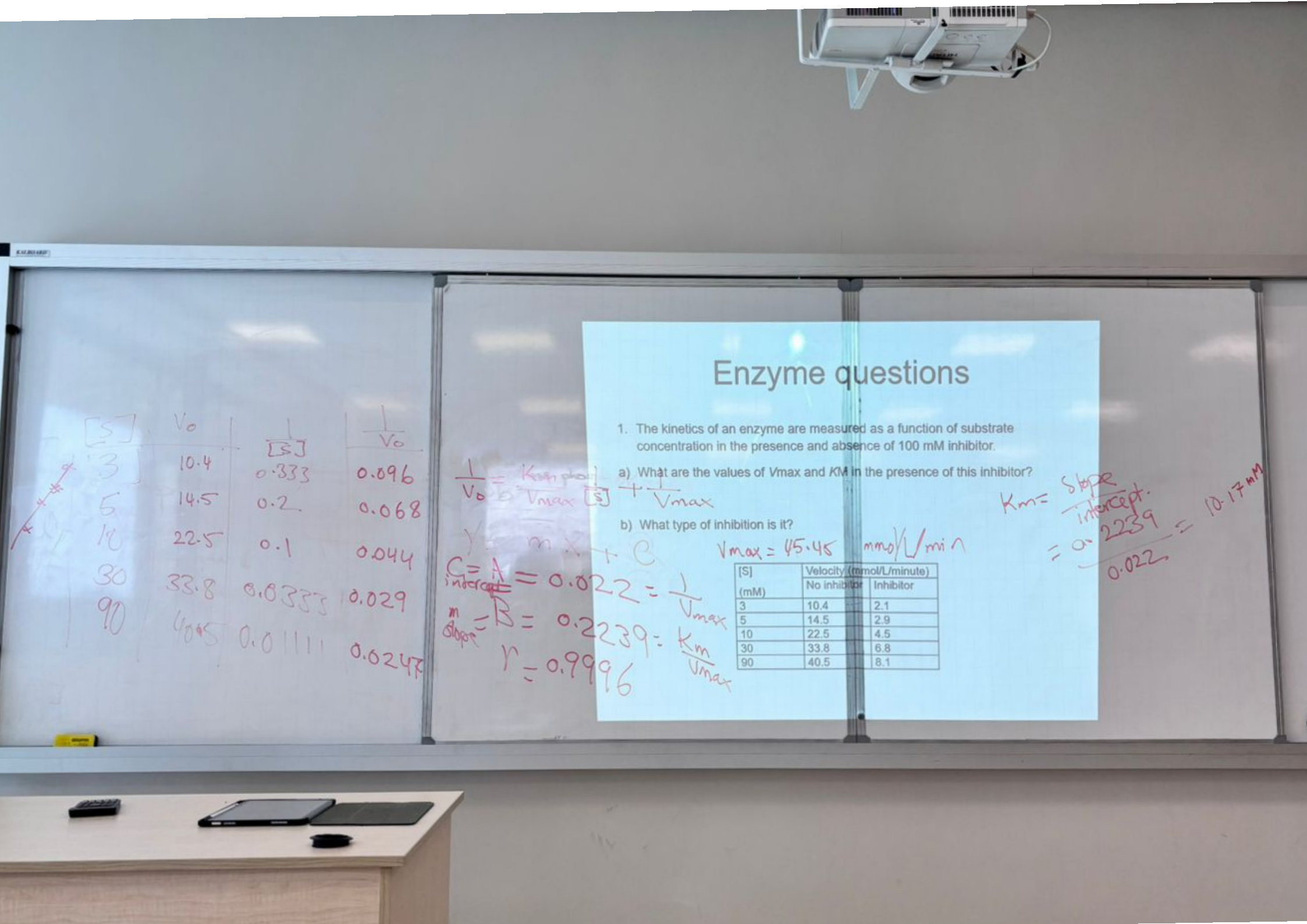
التروبونين T والتروبونين I بروتينات تنظيمية تشارك في انقباض عضلة القلب.

- They are released into the plasma in response to cardiac damage.

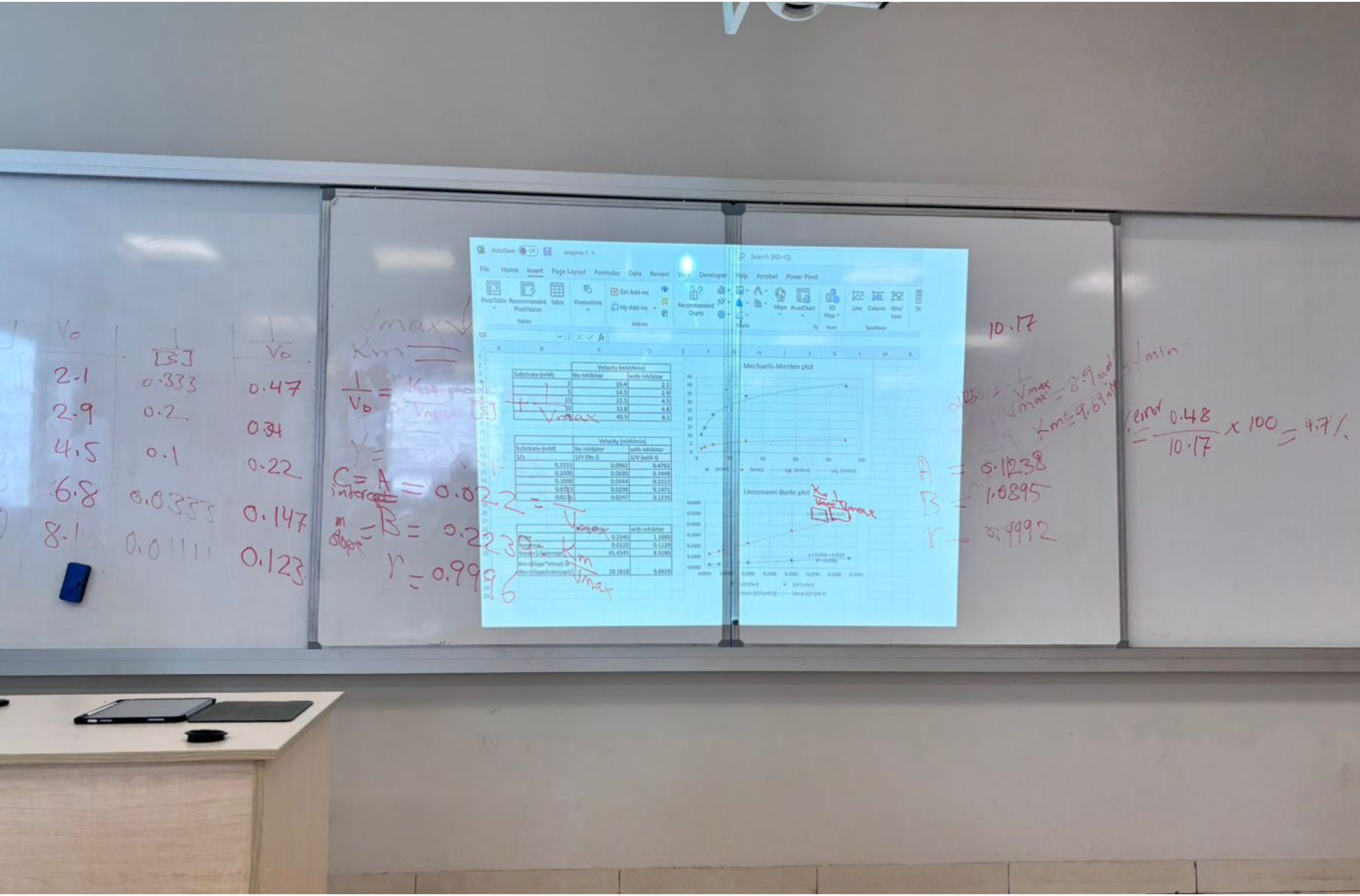
يتم إطلاقها في البلازما استجابةً لتلف القلب.

- Elevated serum troponins are more predictive of adverse outcomes in unstable angina or myocardial infarction than the conventional assay of CK2

> ارتفاع مستويات التروبونين في الدم أكثر تنبؤًا بالنتائج السلبية في الذبحة الصدرية غير المستقرة أو احتشاء عضلة القلب من الفحص التقليدي لـ CK2



Enzyme questions
1. The kinetics of an enzyme are measured as a function of substrate concentration in the presence and absence of 100 mM inhibitor.
a) What are the values of Vmax and KM in the presence of this inhibitor?
b) What type of inhibition is it?
[S] (mM)
Velocity (mmol/L/minute)
No inhibitor
Inhibitor
3 10.4 2.1
5 14.5 2.9
10 22.5 4.5
30 33.8 6.8
90 40.5 8.1
[S] Vo 1/[S] 1/Vo
3 10.4 0.333 0.096
5 14.5 0.2 0.068
10 22.5 0.1 0.044
30 33.8 0.0333 0.029
90 40.5 0.01111 0.0247
1/Vo = Km/Vmax · 1/[S] + 1/Vmax
y = m x + c
C = A intercept = 0.022 = 1/Vmax
m slope = B = 0.2239 = Km/Vmax
r = 0.9996
Vmax = 45.45 mmol/L/min
Km = slope/intercept = 0.2239/0.022 = 10.17 mM



Vo
1/[S]
1/Vo
2.1
2.9
4.5
6.8
8.1
0.333
0.2
0.1
0.0333
0.01111
0.47
0.34
0.22
0.147
0.123
Vmax
Km
C = A intercept = 0.022 = 1/Vmax
m slope = B = 0.223
r = 0.9996
Michaelis-Menten plot
Lineweaver-Burke plot
10.17
/min
A = 0.11238
B = 1.0895
r = 0.9992
% error = 0.48/10.17 x 100 = 4.7%