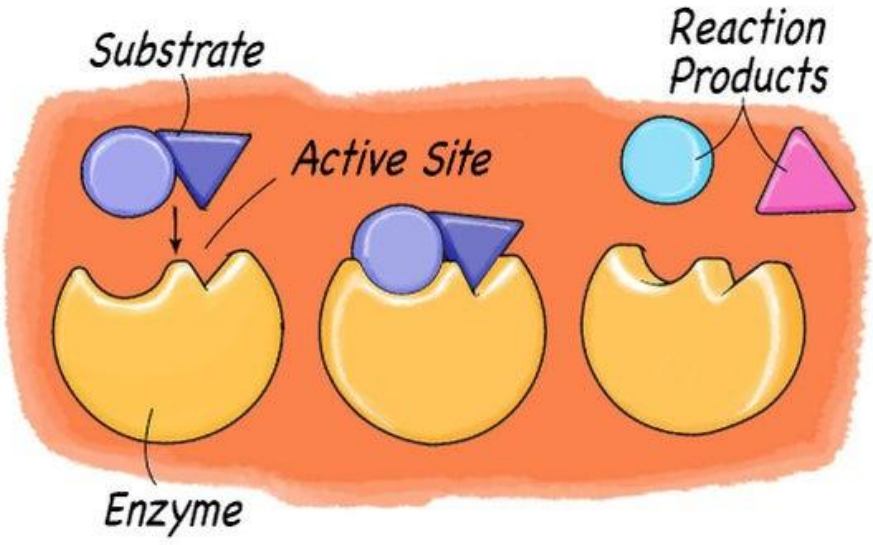
الدرس السادس:

خصائص الأنزيمات وآليات تفاعلها

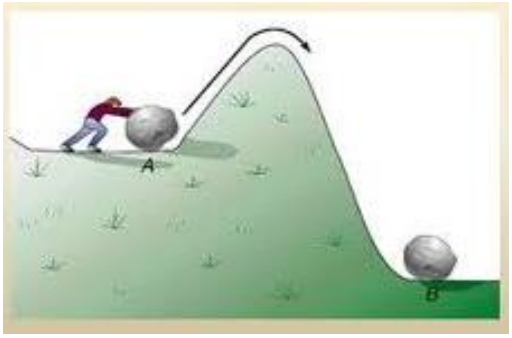


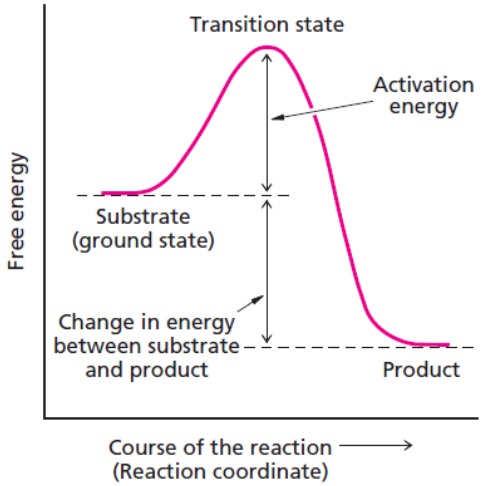
مقدمة

الأنزيمات هي محفزات حيوية نوعية وذات فعالية عالية. وبغياب الأنزيمات لا تسير التفاعلات الحيوية بالسرعة المطلوبة ضمن الظروف الحيوية في أجسام الكائنات الحية. إن الدور الأساسي للأنزيمات هو تسريع التفاعلات لجعل الحياة ممكنة. تكون التفاعلات المحفزة بالأنزيمات أسرع ب 10^3 حتى 10^{20} مرة مقارنة بنفس التفاعلات غير المحفزة.

إن المحفزات لا تغير توازن التفاعل. أي أنها لا تجعل التفاعل غير الممكن حدوثه ممكناً. ولكن المحفزات (الأنزيمات) تخفض الطاقة التي يحتاجها التفاعل ليتم بالاتجاه الصحيح. إن المحفزات

تخفض الطاقة التي يحتاجها التفاعل عن طريق استبدال التفاعل الأساسي الذي يتم بخطوة أو اثنين بعدة خطوات صغيرة تحتاج إلى طاقة صغيرة بالمقارنة مع التفاعل غير المحفز.





تتمتع الأنزيمات بنوعية عالية للركازات التي تحفزها ولكن درجة النوعية تختلف من أنزيم إلى آخر. تعمل بعض الأنزيمات على مجموعة من الركازات بينما يعمل بعضها الآخر على ركازة واحدة. وتظهر العديد من الأنزيمات صفة نوعية للماكب الفراغي (Stereospecificiaty) أي أنها تحفز تفاعل للمماكب معين دون الآخر لنفس الركازة.

تسمية الأنزيمات

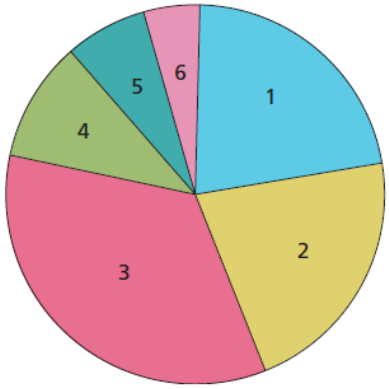
تم تسمية معظم الأنزيمات المعروفة وذلك بإضافة اللاحقة (-ase) إلى اسم الركازة التي تحفزها أو التفاعل الذي تقوم به. فعلى سبيل المثال إنزيم يوجد أنزيم يدعى (Alcoholdehydrogenase) أي الأنزيم النازع للهيدروجين من الكحول.

أما الأنزيمات التي تم اكتشافها حديثاً فتسمى بحسب المورثة التي تشفرها. مثال: مورثة (recA) تشفر الأنزيم (RecA).

تصنف المنظمة العالمية (IUBMB) الأنزيمات بحسب نوع التفاعل الذي تقوم به. في هذا التصنيف يحمل كل أنزيم رقم يدعى (E.C. Number) أي (Enzyme classification number) كما تسمى هذه المنظمة الأنزيمات بأسماء مميزة لها والذي قد يختلف عن الاسم الشائع.

يوجد ستة صفوف من الأنزيمات وهي:

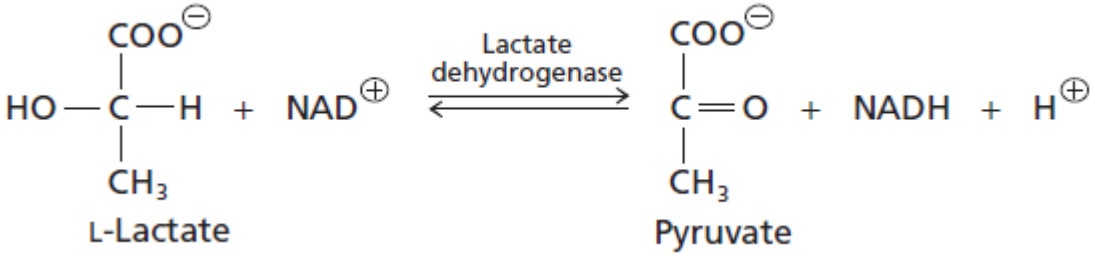
1. Oxidoreductase
2. Transferases
3. Hydrolases
4. Lyases
5. Isomerases
6. Ligases



▲ **Distribution of all known enzymes by EC classification number.** 1. oxidoreductases; 2. transferases; 3. hydrolases; 4. lyases; 5. isomerases; 6. ligases.

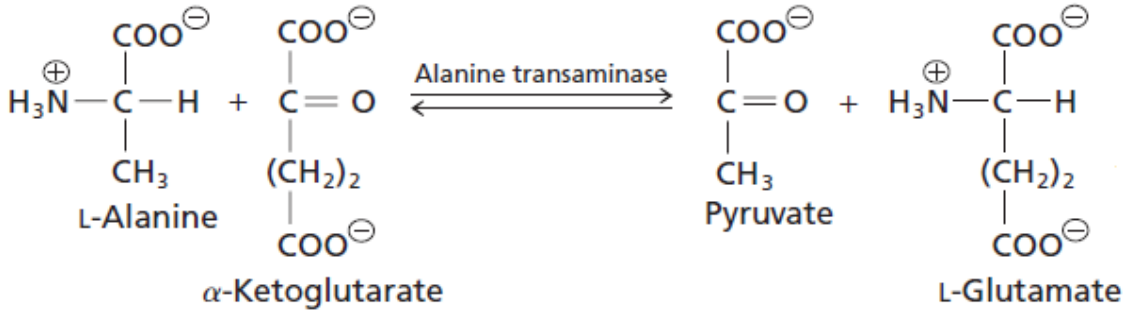
1. Oxidoreductase

تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات الأكسدة / إرجاع وتدعى معظم هذه الأنزيمات بالاسم (Dehydrogenases). مثال: إنزيم (Lactate dehydrogenase) حيث يحول هذا الإنزيم ركازة (L-lactate) إلى (Pyruvate). إن أكسدة هذه الركازة تؤدي إلى إرجاع التميم الأنزيمي NAD^+ إلى NADH.



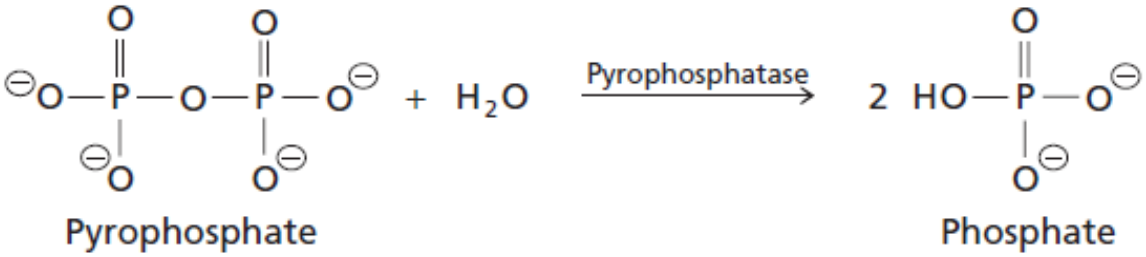
2. Transferases

تحفز هذه الأنزيمات نقل مجموعة وظيفية من ركازة إلى أخرى ومثالها الأنزيم (Alanine transaminase) الذي ينقل مجموعة أمين من الحمض الأميني (L-Alanine) إلى (α-ketoglutarate).



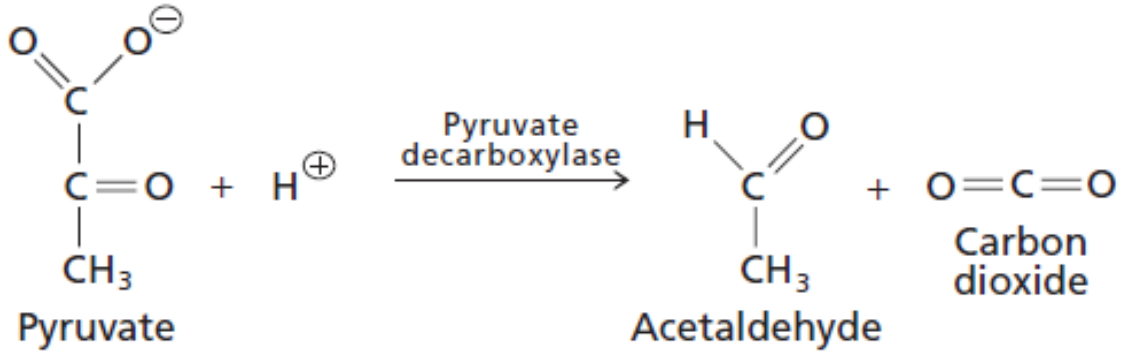
3. Hydrolases

تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات الحلمهة. وهي نوع خاص من الأنزيمات التي يعمل الماء فيها كجزء أساسي من التفاعل.



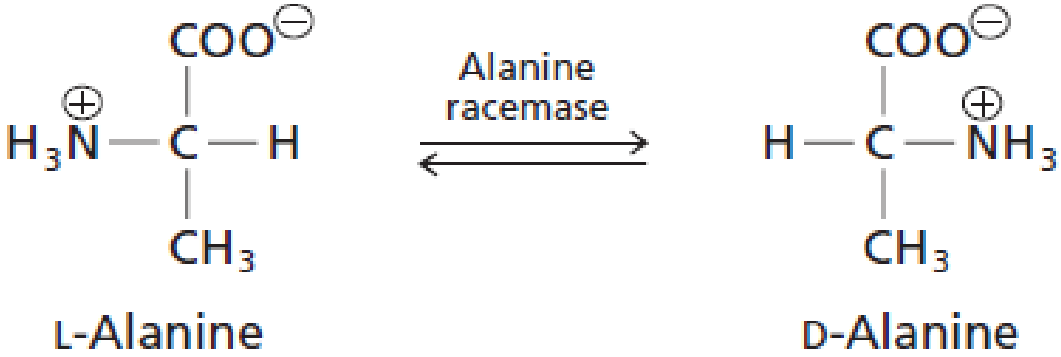
4. Lyases

تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات حل الركازة وتؤدي إلى نشوء مركبات ذات رابط مضاعف. وتقوم هذه الأنزيمات بدورها عن طريق آليات تختلف عن آليات تفاعلات الحلمهة والأكسدة والحذف. ومثالها أنزيم (Pyruvate decarboxylase).



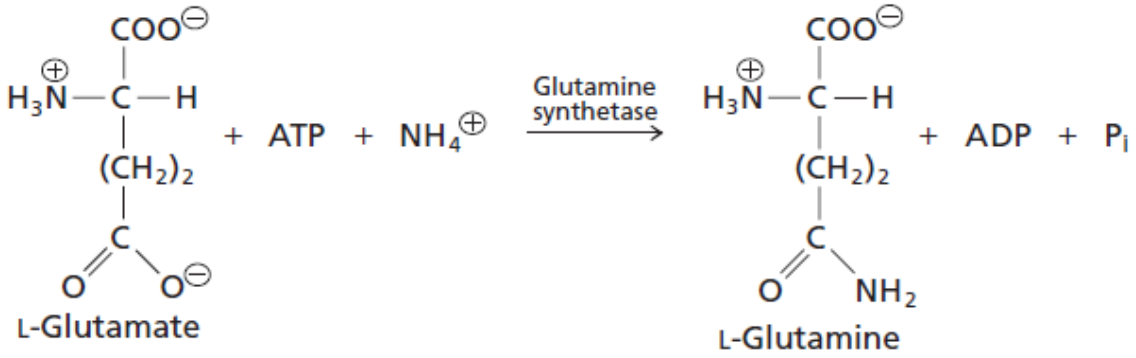
Isomerase .5

تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات تغيير المماكب الفراغي عن طريق تغيير بنية الركازة من R إلى S أو بالعكس و مثالها الأنزيم (Alanine racemase).



Ligases .6

تحفز هذه الأنزيمات تفاعلات الربط بين ركازتين. و يحتاج هذا النوع من التفاعلات عادة إلى طاقة ATP و مثالها أنزيم (Glutamate Synthetase) الذي يستخدم طاقة ATP لربط حمض الغلوتاميك مع الأمونيا لإنتاج الحمض الأميني غلوتامين.



إن التجارب على حركيات التفاعلات تكشف خصائص الأنزيمات

إن هذا النوع من التجارب الحركية يكشف العلاقة بين كمية المنتج والوقت اللازم لتشكله.

$$\Delta[P]/\Delta t$$

Δ[P] هو تركيز المنتج المتشكل

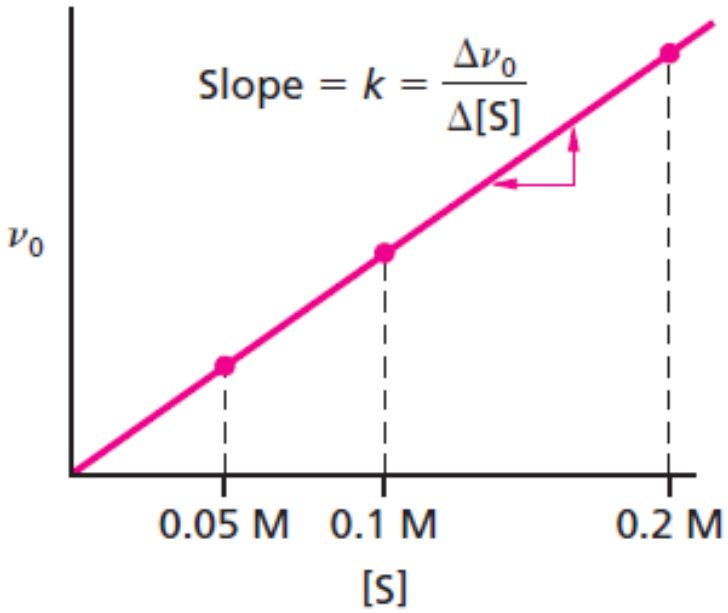
t هو الوقت اللازم لتشكل هذا المنتج

تبين هذه التجارب الحركية الشروط المثلى لإتمام التفاعل.

إن المعيار الأساسي في التفاعلات الحركية هو مراقبة سرعة التفاعل مع التغير في كمية الركازة أو المنتج. ويتم التعبير عن هذا التفاعل بمعادلة السرعة.

تعبر هذه الحركية عن السرعة بشكل عام وتعتمد بشكل أساسي على تركيز الركازة [S]. إن الرمز K يشير إلى ثابت سرعة التفاعل. كل تفاعل له ثابت خاص به. فإذاً

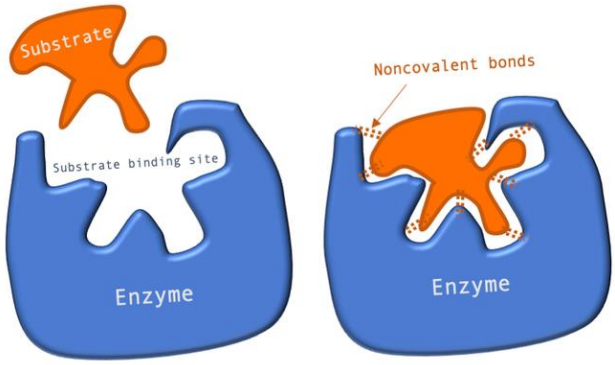
$$\Delta[P]/\Delta t = V = K[S]$$



في عام 1894 افترض العالم فيشر أن الأنزيم هو قالب صلب يشبه القفل وأن الركازة النوعية هي المفتاح. وبذلك فقط ركازة واحدة أو مجموعة صغيرة من الركازات يمكنها أن تأخذ مكانها بشكل صحيح داخل الأنزيم. تم اثبات أن الأنزيم يرتبط عادة مع الركازة بشكل غير تشاركي ليشكل معقد يدعى أنزيم ركازة (Enzyme-substrate complex ES). تتفاعل الركازة مع الأنزيم بشكل مؤقت (انتقالي) في أثناء تشكل منتج التفاعل.

يتم عند بدء التفاعل مزج الركازة مع الأنزيم ويكون عندها المنتج لم يتشكل بعد في المرحلة الأولى من التفاعل

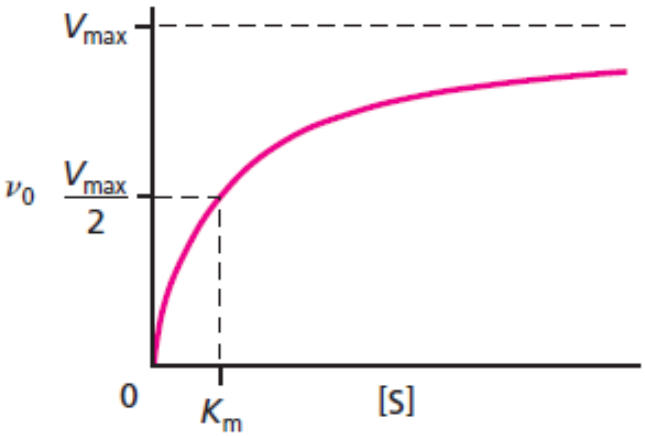
$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$



إن ثوابت التفاعل K_1 و K_{-1} تعبران عن التفاعل بين الأنزيم و الركازة و عن الانفصال بين الأنزيم و الركازة في الاتجاه المعاكس. أما ثابت سرعة التفاعل K_2 فهو يعبر عن المرحلة الثانية من التفاعل و هو تشكل المنتج. حيث يلاحظ أن هذا التفاعل يعبر عنه باتجاه واحد فقط لأنه يمكن اهمال التفاعل العكوس عند بدأ التفاعل. يعبر عن سرعة التفاعل عند بدء التفاعل بالرمز (V_0) وهي السرعة التي يمكن عندها اهمال تفاعل عودة تشكل (ES) بدءاً من المنتج.

تفاعل ميكايليس منتن

يمكن وصف تفاعل الأنزيم مع الركازة بالمخطط التالي:



إن المرحلة الأولى من التفاعل هو تشكل المعقد (ES) وعند وجود تركيز عالي من الركازة فإن سرعة التفاعل لا تتغير بشكل كبير عند إضافة مزيد من الركازة.

يعبر الرمز V_{max} عن السرعة العظمى التي يمكن أن يصل إليها التفاعل عندما يكون تركيز الإنزيم ثابتا و ذلك عند زيادة تركيز الركازة.

عند التراكيز المنخفضة من الركازة تكون السرعة الابتدائية متغيرة بتغير تركيز الركازة. عند هذه التراكيز الصغير للركازة تكون جزيئات الأنزيم غير مرتبطة بشكل كامل وعندها يكون تشكل (ES) مرتبط طرديا بزيادة تركيز الركازة.

عند زيادة تركيز الركازة تصبح جزيئات الأنزيم مشبعة ويصبح شكل المنحني (Hyperbolic) ويعبر عن السرعة الابتدائية بالمعادلة التالية:

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

إن ثابت ميكاليليس منتن (K_m) يعبر عن تركيز الركازة اللازم لبلوغ نصف السرعة العظمة. كما هو مبين في المخطط السابق في الصفحة 7.

تدعى المعادلة السابقة بمعادلة ميكاليليس منتن وتصف هذه المعادلة العلاقة بين السرعة الابتدائية (V0) وتركيز الركازة.

ومن هذه المعادلة أيضا نشأ مصطلح الحالة الثابتة (Steady state) أي ثباتية السرعة عند حد معين وهي عندما يكون تركيز [ES] ثابتاً. حيث تكون السرعة متعلقة بثابت التفاعل وتركيز [ES].

ثابت التحفيز K_{cat}

إن السرعة العظمى في تفاعل ميكاليليس منتن (V_{max}) تختلف فعلياً بحسب تركيز الأنزيم المستخدم. لذلك تم اشتقاق ثابت آخر يعطي فكرة أكثر واقعية عن حركية التفاعل بغض النظر عن تركيز الإنزيم وهو (K_{cat}) حيث يتم حسابه من المعادلة التالية:

$$V_{max} = k_{cat}[E]_{total} \qquad k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E]_{total}}$$

حيث أن (K_{cat}) تمثل عدد مولات الركازة التي تم تحويلها إلى منتج في الثانية الواحدة من خلال مول واحد من الأنزيم. إن هذه القيمة تعبر بشكل ممتاز عن فعالية الأنزيم وسرعته ووحدته هي s^{-1}.

ثابت ميكايليس منتن (K_m)

يوجد لهذا الثابت عدة تفسيرات: فهو يعبر عن ثابت التوازن الذي يؤدي إلى انفصال (ES) إلى E+S. لذلك يعبر هذا الثابت عم الفة الإنزيم للركازة وبالتالي كلما كانت هذه القيمة أصغر تكون أفضل (حتى درجة معينة). يمكن استخدام هذا الثابت لمقارنة فعالية عدة أنزيمات تقوم بتحفيز نفس الركازة.

تستخدم القيمة K_{cat}/K_m للمقارنة بين نشاطات عدة أنزيمات حيث تسمح هذه الصيغة بدراسة فعالية الإنزيمات و خاصة إذا تم مقارنتها بالثابت K_n و هو عبارة عن ثابت التفاعل لنفس التفاعل المدروس و لكن بدون تحفيز الأنزيم.

	Nonenzymatic rate constant (k_n in s^{-1})	**Enzymatic rate constant (k_{cat}/K_m in $M^{-1}s^{-1}$)**	**Catalytic proficiency**
Carbonic anhydrase	10^{-1}	7×10^6	7×10^7
Chymotrypsin	4×10^{-9}	9×10^7	2×10^{16}
Chorismate mutase	10^{-5}	2×10^6	2×10^{11}
Triose phosphate isomerase	4×10^{-6}	4×10^8	10^{14}
Cytidine deaminase	10^{-10}	3×10^6	3×10^{16}
Adenosine deaminase	2×10^{-10}	10^7	5×10^{16}
Mandelate racemase	3×10^{-13}	10^6	3×10^{18}
β-Amylase	7×10^{-14}	10^7	10^{20}
Fumarase	10^{-13}	10^9	10^{21}
Arginine decarboxylase	9×10^{-16}	10^6	10^{21}
Alkaline phosphatase	10^{-15}	3×10^7	3×10^{22}
Orotidine 5′-phosphate decarboxylase	3×10^{-16}	6×10^7	2×10^{23}
Uroporphyrinogen decarboxylase	10^{-17}	2×10^7	2×10^{24}

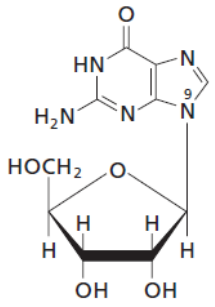
تثبيط الأنزيمات Enzymes inhibition

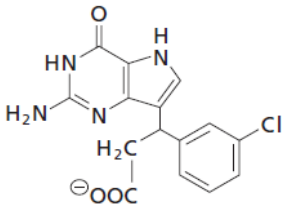
مثبط الأنزيم (I) هو مركب يرتبط بالأنزيم ويؤثر على فعاليته أو نشاطه. يمكن للمثبطات أن تمنع تشكل المعقد (ES) أو تمنع تشكل المنتج.

تحتوي الخلايا على مثبطات طبيعية تلعب دوراً مهماً في تنظيم عمليات الاستقلاب. أما المثبطات الصنعية فتستخدم بشكل تجريبي لتقصي دور الأنزيم ولمعرفة الطرق الاستقلابية. تكون بعض الأدوية والسموم عبارة عن مثبطات الأنزيمات.

مثبطات الأنزيمات العكوسة

تلعب المثبطات العكوسة دورا مهماً كأداة لاستقصاء النشاط الإنزيمي. كما تستخدم شركات الأدوية دراسات المثبطات لإنتاج الأدوية المفيدة. أصبح العلماء يعتمدون على دراسات تصميم الدواء لتصميم مثبطات صناعية. على سبيل المثال: يحفز الأنزيم (Purine nucleoside phosphorylase) تفاعل التدرك بين الفوسفات وزمرة الغوانوزين. صمم العلماء من خلال تقنيات الكومبيوتر مثبط لهذا الأنزيم حسب الشكل التالي:





يعبر عن التوازن بين الأنزيم والمثبط وتشكل المعقد (EI) بالثابت (K_i) وهو ثابت التثبيط.

$$E + I \rightleftharpoons EI \qquad K_d = K_i = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

تصنف أنواع المثبطات العكوسة إلى:

Competitive inhibitors

Uncompetitive inhibitors

Noncompetitive inhibitors

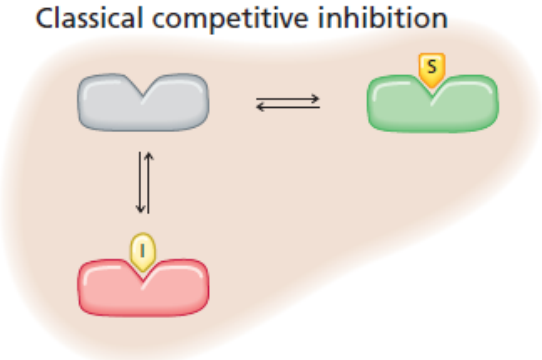
تؤثر كل من هذه المثبطات بطريقة مختلفة تظهر باختلاف التأثير على ثوابت حركية التفاعل

K_m and V_{max}

Type of inhibitor	Effect
Competitive (I binds to E only)	Raises K_m V_{max} remains unchanged
Uncompetitive (I binds to ES only)	Lowers V_{max} and K_m Ratio of V_{max}/K_m remains unchanged
Noncompetitive (I binds to E or ES)	Lowers V_{max} K_m remains unchanged

Competitive inhibition

يرتبط المثبط في هذا النوع من التثبيط فقط بالأنزيم الحر غير المرتبط بأي ركازة. عند ارتباط المثبط لا تستطيع الركازة الارتباط.

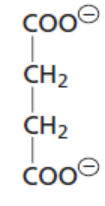


The substrate (S) and the inhibitor (I) compete for the same site on the enzyme.

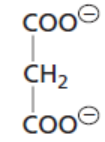
أي أن الركازة والمثبط يتنافسان على نفس الموقع الفعال في الأنزيم. إن ارتباط المثبط يمنع ارتباط الركازة بالأنزيم. إن كمية المعقد المتشكل (EI) يمكن إنقاصها من خلال زيادة كمية الركازة. لذلك فإن السرعة العظمى V_{max} تبقى دون تغيير بوجود أو عدم وجود مثبط.

إن زيادة تركيز المثبط يتطلب زيادة تركيز الركازة للوصول إلى نصف السرعة العظمى مما يعني أن قيمة K_m سوف تزداد.

يكون عدد من المثبطات التنافسية التقليدية مشابها للركازة نفسها حيث أن هذا المثبط يرتبط بالموقع الفعال ولكن بدون أن يتفاعل. ومثال هذا النوع هو المثبط مالونات الذي يشابه الركازة ساكسينات في حالة الأنزيم Succinate dehydrogenase:



Succinate



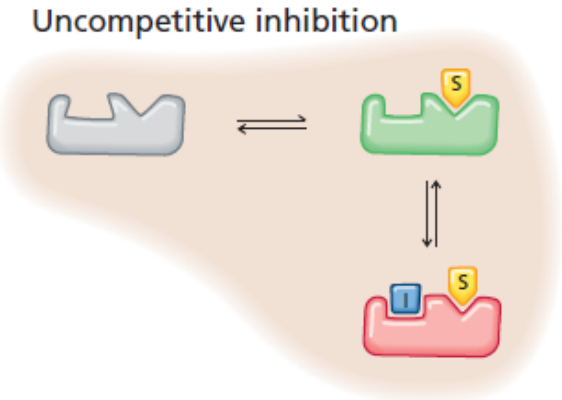
Malonate

تدعى الأنزيمات التي تنتج مركبات البروستاغلاندين ب Cyclooxygenase (COX) حيث يوجد نوعين من هذه الأنزيمات وهي (Cox1 and Cox2). كل من هذين النوعين ينتجان مركبات البروستاغلاندين التي تحفز التفاعل الالتهابي والألم والحرارة. ولكن فقط Cox1 ينتج البروستاغلانديات التي تحفز الصفائح وتحمي بطانة المعدة والأمعاء.

تثبط مضادات الالتهاب غير الستيرئيدية (NSAIDs) مثل الايبوبروفين أنزيمات (Cox) التي تحول حمض الأراشيدونيك إلى بروستاغلاندين. يشبه الإيبوبروفين مركب الأسبرين والأندوميتاسين حيث يثبط كلا من أنزيمات (Cox1 and Cox2).

Uncompetitive inhibition

هذا النوع من المثبطات يرتبط فقط عندما تكون الركازة مرتبطة بالأنزيم ومشكلة للمعقد (ES).

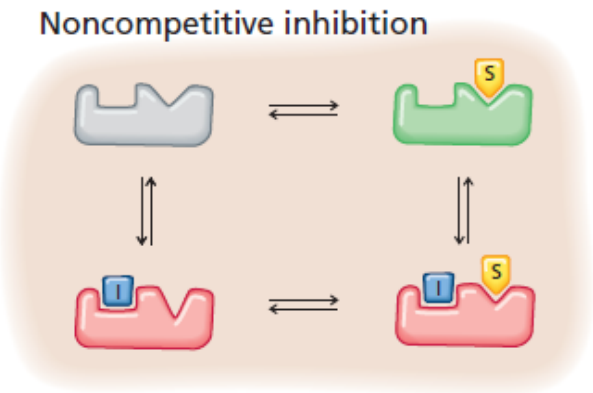


تنقص السرعة العظمى V_{max} بسبب تشكل المعقد (ESI) غير الفعال ولا يمكن إعادة رفع السرعة العظمى بإضافة مزيد من الركازة (لأن الأنزيم المشكل ل (ESI) هو غير فعال).

أما بالنسبة إلى K_m فإنها تنقص لأن التوازن ينزاح لاتجاه تشكل المعقدات (ES) و (ESI) و ذلك بسبب ارتباط (I).

Noncompetitive inhibition

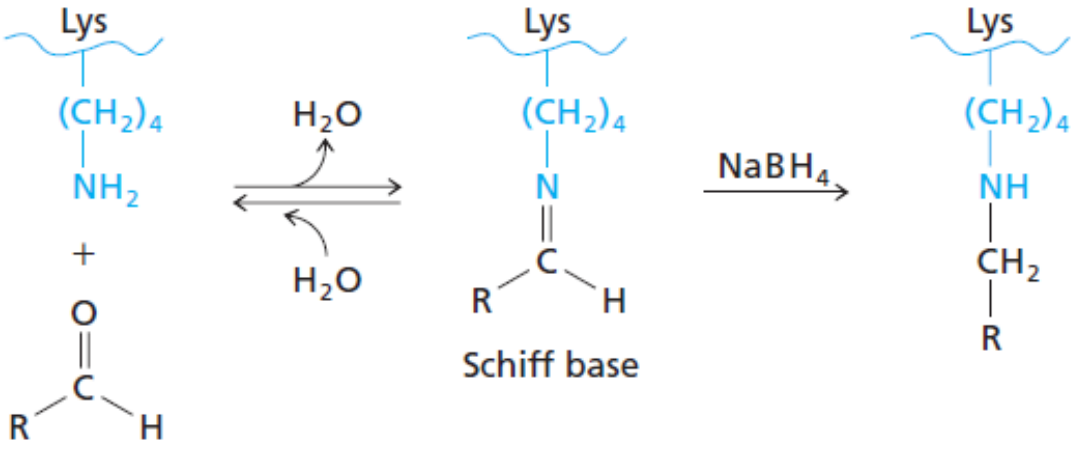
يستطيع هذا المثبط الارتباط مع الأنزيم سواء كان مرتبطا أم غير مرتبط مع الركازة وبذلك يمكن أن يشكل (EI) أو (ESI). لا ترتبط هذه المثبطات مع الأنزيم بموقع الركازة بل بموقع آخر. ومثالها هو بروتين الهيموغلوبين.



من أهم الأمثلة على هذا النوع من المثبطات هو ما يحدث في Allosteric enzymes. في هذا النوع من الأنزيمات يغير المثبط شكل الأنزيم.

مثبطات الأنزيمات غير العكوسة:

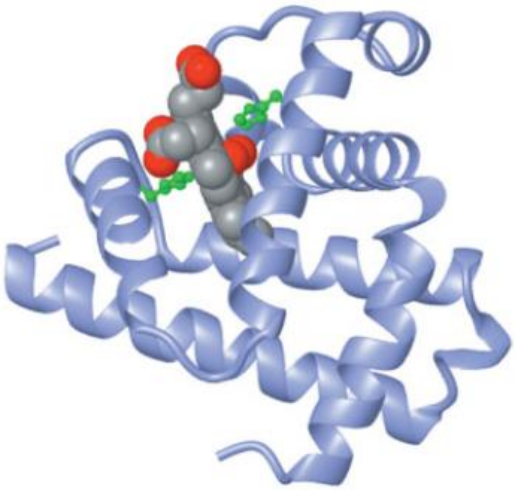
يرتبط هذا النوع من المثبطات بروابط تشاركية مع الأنزيم. يحدث هذا النوع من التثبيط من خلال تفاعل Alkylation أو Acylation للسلاسل الجانبية للحموض الأمينية الموجودة في الموقع الفعال للأنزيم. على سبيل المثال: إن مجموعة الأمين الموجودة في المجموعات الجانبية للحموض الأمينية مثل ليزين يمكن أن تتفاعل مع الألدهيدات لتشكل Schiff base الي يمكن تثبيته من خلال إرجاعه بواسطة بورهيدريد الصوديوم.



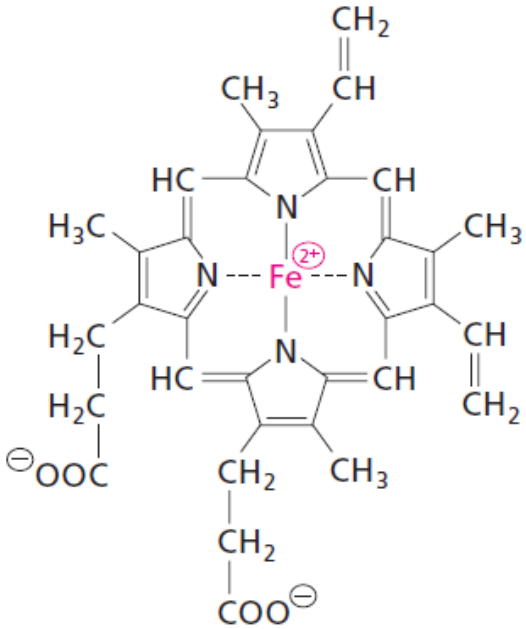
بنية الميوغلوبين والهيموغلوبين

تقوم بروتينات الميوغلوبين و الهيموغلوبين بوظيفتها من خلال الربط العكوس للأوكسجين O_2.

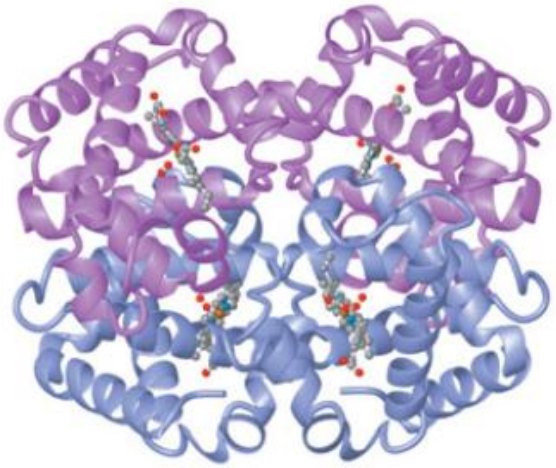
الميوغلوبين هو بروتين صغير يتكون من وحدة واحدة فقط ويسهل انتشار الأوكسجين أو تزويد الأوكسجين للنسج العضلية في الحشرات والطيور والثدييات. وهو ينتمي إلى عائلة الغلوبين.

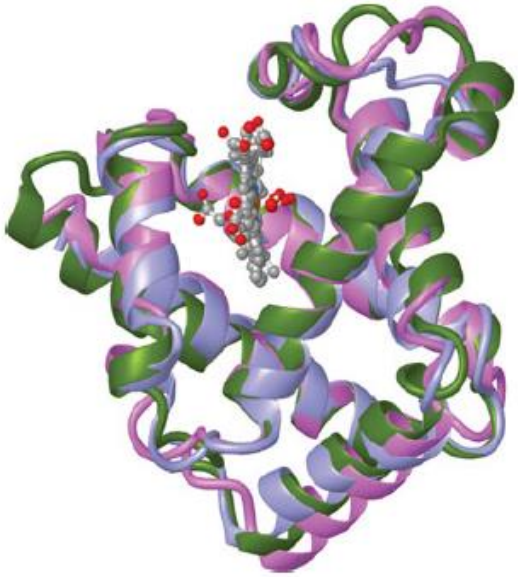


يوجد في هذا البروتين وحدتي هيستيدين تتفاعلان مع الحديد ومع جزيء الأوكسجين المرتبط. يتوضع التميم الإنزيمي غير البروتيني المحتوي على شاردة الحديد ضمن ثلم كاره للماء يتكون من ثلاث حلزونات ألفا وعروتين. ترتبط حلقة البورفيرين بالبروتين من خلال روابط ضعيفة حيث لا يوجد رابط تشاركي بين البورفيرين والحموض الأمينية في البروتين.



أما الهيموغلوبين فيرتبط ب O_2 لينقله في كريات الدم الحمراء. الهيموغلوبين أكثر تعقيدا من الميوغلوبين لأنه يتشكل من عدة وحدات بروتينية حيث يحتوي الهيموغلوبين على وحدتين من الغلوبينات وهي ألفا وبيتا. وكل جزيء هيموغلوبين يحتوي على مجموعة هيم مشابهة لما نراه في الميوغلوبين.

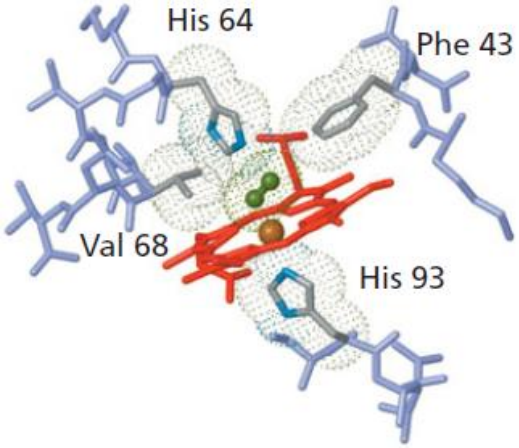




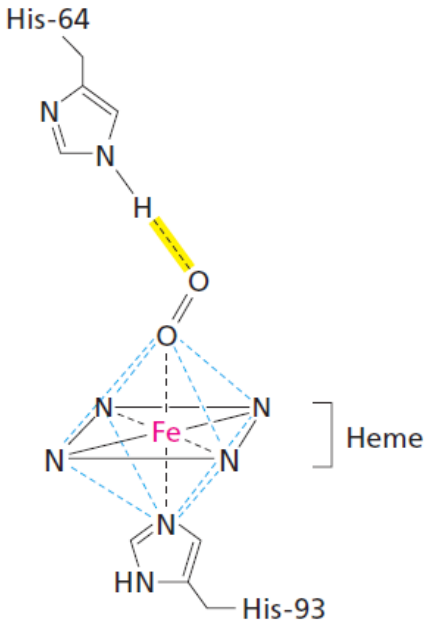
إن الأوكسجين يرتبط بشكل عكوس مع جزيئة الهيم فى الميوغلوبين

إن ارتباط الأوكسجين مع الميوغلوبين يدعى أكسجة. وعندها يدعى البروتين Oxymyoglobin. وإذا لم يكن مرتبطاً بالأوكسجين فيدعى deoxymyoglobin. تكون بعض مجموعة الهيم كارهة للماء بحيث أنها تستطيع التموضع ضمن الثلم الكاره للماء لمجموعة الميوغلوبين. إن الحمضين

الأمينين Val 68 و Phe 43 الكارهين للماء يساعدان على توضع مجموعة الهيم في موقعها الصحيح. كما يتوضع الحمضان His46 و His93 قرب مجموعة الهيم.



في الميوغلوبين المؤكسج، ترتبط شاردة الحديد بستة روابط تتشكل أربعة منها مع ذرات النيتروجين. بينما يتشكل الرابط الخامس مع حلقة الايميدازول للحمض الأميني His93. يتشكل الرابط السادس مع الأوكسجين الجزيئي (O_2) الذي يتوضع بين شاردة الحديد وحلقة الايميدازول للحمض الأميني His 64.



يلعب الثلم الكاره للماء في بروتين الغلوبين والهيموغلوبين دورا مهما في قدرة الميوغلوبين والهيموغلوبين على ربط وتحرير الأوكسجين.

إن مجموعة الهيم (غير المرتبطة بالبروتين) ترتبط بالأوكسجين بشكل غير عكوس فتتحول شاردة الحديد من Fe^{+2} بشكل دائم إلى Fe^{+3}. أي أن بنية الميوغلوبين والهيموغلوبين تمنع الانتقال الالكترون بشكل دائم وبذلك تضمن أن يكون الارتباط عكوسا.

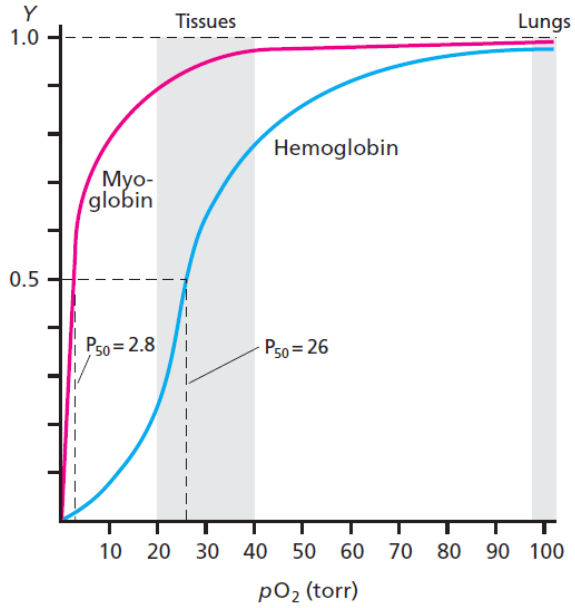
عند ارتباط الأوكسجين O_2 تتأكسد ذرة الحديد في مجموعة الهيم بشكل جزئي. لذلك وبشكل مؤقت ينتقل الإلكترون للأوكسجين الذي يكون مرتبطا بالحديد وتكون عندها ذرة الأوكسجين مرجعة بشكل جزئي. أي أن الثلم الكاره للماء في الغلوبين يمنع الارتباط الدائم بين الأوكسجين والحديد ليتم فيما بعد تحرير الأوكسجين (في النسج...).

بما أن الأوكسجين يرتبط بشكل عكوس مع الميوغلوبين والهيموغلوبين فإن توازن الارتباط يعتمد على تركيز كل من الأوكسجين والبروتين.

إن اشباع الميوغلوبين والهيموغلوبين الجزئي هو نسبة عدد الجزيئات المشبعة بالأوكسجين إلى مجموع الجزيئات المشبعة وغير المشبعة.

$$Y = \frac{[MbO_2]}{[MbO_2] + [Mb]}$$

إن منحني ارتباط الأوكسجين بالميوغلوبين هو من نوع Hyperbolic (المخطط ذو اللون الزهر).
أما منحني ارتباط الأوكسجين بالهيموغلوبين هو من نوع Sigmoidal (المخطط ذو اللون الأزرق).



إن ارتباط الأوكسجين بالميوغلوبين يعطي منحني من نوع Hyperbolic وهذا يدل على أن هناك جزيء واحد من الأوكسجين يرتبط بالبروتين (وهذا منطقي لأن الميوغلوبين يتكون من وحدة واحدة تربط فقط جزيء واحد O_2). بالمقابل فإن ارتباط الأوكسجين بالهيموغلوبين يعطي منحني من نوع

Sigmoidal و هذا يدل على أن أكثر من جزيء من الأوكسجين O_2 يرتبط بجزيء بروتيني واحد.

يستطيع بروتين الهيموغلوبين الارتباط مع أربع جزيئات أوكسجين O_2 حيث يحتوي هذا البروتين على أربع مجموعات هيم كما ذكرنا سابقا. إن شكل المنحني Sigmoidal يشير إلى أن ارتباط أول جزيء أوكسجين بمجموعة الهيم يسهل ارتباط جزيئات الأوكسجين الأخرى. أي أن ألفة الهيموغلوبين للأوكسجين تزداد بعد ارتباط أول جزيئة أوكسجين وتدعى هذه الظاهرة ب

Positive cooperativity binding.

سوف نستخدم مصطلح لدراسة الارتباط يدعى (P_{50}) وهو الضغط الجزئي اللازم للوصول إلى نصف إشباع بروتينات الغلوبين بالأوكسجين وهو يدل على الألفة بين البروتين المدروس (الهيموغلوبين أو الميوغلوبين) والأوكسجين.

عندما تكون قيمة (P50) منخفضة فهذا يدل على ألفة عالية بين البروتين والأوكسجين (كما في حالة K_m).

إن قيمة (P50) للميموغلوبين هي 2.8 torr بينما (P50) للهيموغلوبين هي 26 torr مما يدل على أن للهيموغلوبين ألفة أقل للأوكسجين من الميوغلوبين.

إن مجموعة الهيم موجودة في كل من الميوغلوبين والهيموغلوبين وهي واحدة ولكن الاختلاف في الإلفة يعود إلى الاختلاف بين بروتين الميوغلوبين والهيموغلوبين.

عند وجود ضغط عالي من الأوكسجين في الرئة فإن كل من الميوغلوبين والهيموغلوبين يكونان مشبعان بالأوكسجين (ضغط الأوكسجين في الرئة هو 100 torr).

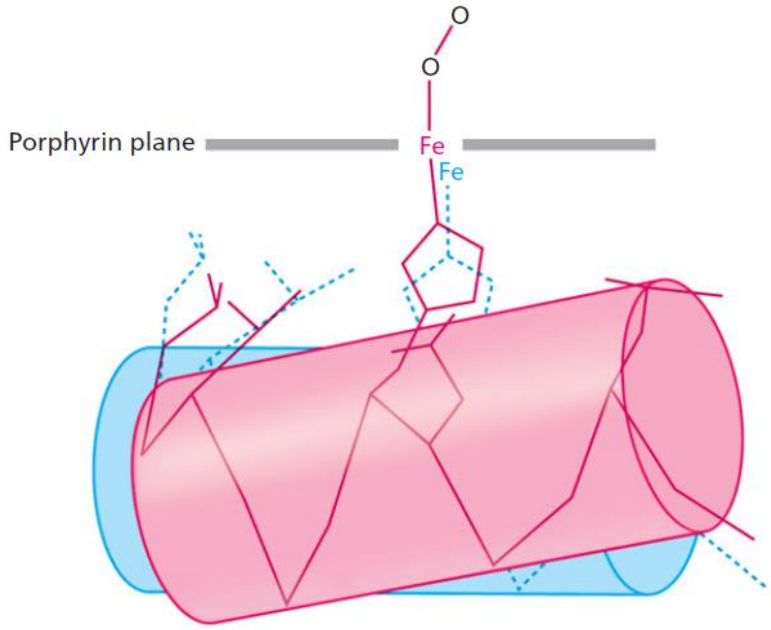
و لكن عندما تكون قيمة ضغط الأوكسجين أقل من 50 torr فإن الميوغلوبين يبقى مشبعاً بشكل كامل و لكن الهيموغلوبين يكون مشبعاً بشكل جزئي.

إن معظم الأوكسجين المرتبط مع الهيموغلوبين يتحرر في الشعيرات الدموية المغذية للنسج حيث يكون ضغط الأوكسجين منخفض (بين 20 و 40 torr). ثم يقوم بعدها الميوغلوبين بربط الأوكسجين المتحرر من الهيموغلوبين.

إن اختلاف الألفة في الارتباط بين الميوغلوبين والهيموغلوبين هو العامل الأساسي في إيصال الأوكسجين بشكل ناجح من الرئة إلى العضلات (النسج).

إن الارتباط التعاوني بين الأوكسجين والهيموغلوبين (أي أن ارتباط أول جزيء أوكسجين يسهل ارتباط الجزيئات الأخرى). يمكن أن يفسر سبب التغير في شكل البروتين عند الارتباط بأول جزيئة أوكسجين.

في الهيموغلوبين غير المؤكسج ترتبط ذرة الحديد بخمس روابط مثل الميوغلوبين. وعند ارتباط الأوكسجين فإن الرابط السادس يحصل مع ذرة الحديد. إن البنية الالكترونية للحديد تتغير وتتحرك ذرة الحديد باتجاه مستوى جزيء البورفيرين وهذا يؤدي إلى شد الحلزون الذي يحتوي على الهيستيدين.



إن هذا التغير في البنية الثلاثية الأبعاد للبروتين يؤدي إلى تغير في البنية الرابعية (تغير طفيف). هذا التغير يساعد على ارتباط الوحدات الأخرى بشكل أسهل بالأوكسجين. لذلك يتحول الهيموغلوبين إلى الشكل المؤكسج بعد ارتباط أول جزيء O_2.

إن ارتباط وتحرر الأوكسجين محكوم بقوانين Allosteric intereactions. يحدث هذا النوع من التنظيم عندما يكون هناك جزيء يدعى (Allosteric effector) أو (Allosteric modulator). يرتبط هذا الجزيء مع بروتين ويغير في نشاطه. هذا الجزيء يرتبط بشكل عكوس بموقع في البروتين غير الموقع الفعال حيث ترتبط الركازة.

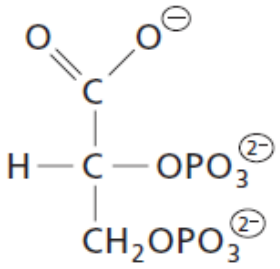
وتكون نتيجة هذا الارتباط هو تغير بسيط في شكل البروتين يؤدي إلى تغير في نشاطه.

في هذا النوع من البروتينات يوجد نوع من التوازن بين الشكل الفعال (R) والشكل غير الفعال (T). لذلك فإن الركازة ترتبط بشكل أفضل في الموقع الفعال عندما يكون البروتين في الكل (R).

إن ارتباط Allosteric inhibitor مع موقعه الفعال في البروتين يؤدي إلى تحول البروتين من الشكل الفعال (R) إلى الشكل غير الفعال (T).

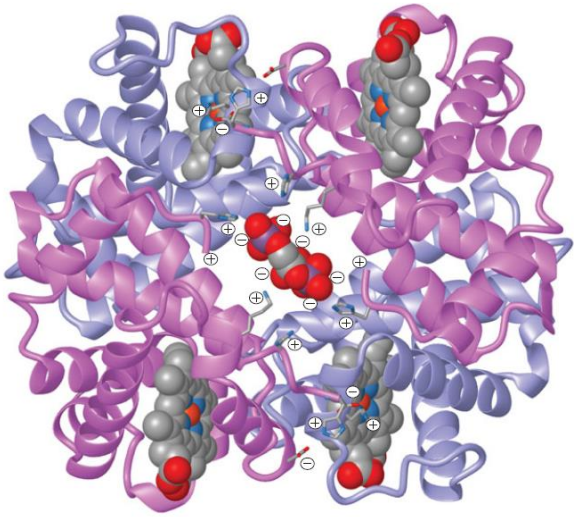
إن ارتباط الركازة بالموقع الفعال يؤدي إلى عكس الحالة السابقة أي من (T) غير الفعال إلى الشكل الفعال للبروتين (R). وعندها تدعى الركازة allosteric activator.

في حالة الهيموغلوبين: يلعب الجزيء 2,3-biphsopho-D-glycerate (2,3 BPG) دور Allosteric effector (inhibitor).



إن وجود هذا المركب في الكريات الحمراء يؤدي إلى رفع (P50) للهيموغلوبين حتى 26 torr و هي قيمة أعلى من قيمة ارتباط الهيموغلوبين الحر مع الأوكسجين (12 torr).

أي أن مركب (2,3 BPG) يخفف من ألفة الهيموغلوبين غير المؤكسج للأوكسجين. يرتبط مركب (2,3 BPG) في الثلم المركزي لجزيء الهيموغلوبين حيث يوجد في هذا الثلم (الجيب) ستة حموض أمينية ذات شحنة موجبة والنهاية الأمينية أيضا للوحدات بيتا (إن المركب 2,3 BPG مشحون سلبياً).



إن الحموض الأمينية ذات الشحنة الموجبة في الثلم المركزي للهيموغلوبين تتداخل مع الشحنات السلبية لمركب 2,3 BPG مما يؤدي إلى ارتباطه بالبروتين غير المؤكسج ويصبح الهيموغلوبين بالشكل غير الفعال (T).

بالمقابل عندما يكون الهيموغلوبين مؤكسجاً فإن وحدات بيتا المشكلة للثلم المركزي تصبح أكثر قربا والثلم يصبح أصغر بحيث لا يتسع لمركب 2,3 BPG.

وبذلك فإن وجود كل من الأوكسجين و 2,3 BPG يلعب دورا في التوازن بين الشكل الفعال (R) و الشكل غير الفعال (T).

إذاً ارتباط الأوكسجين يؤدي إلى وجود الهيموغلوبين بالشكل الفعال (R) فيما ارتباط 2,3BPG يؤدي إلى وجود الهيموغلوبين بالشكل غير الفعال (T). بما أن كل من الأوكسجين و 2,3 BPG لديهم مواقع ارتباط مختلفة، يعتبر الهيموغلوبين مثال حقيقي عن Allosteric effector.

لو افترضنا أن مركب 2,3BPG غير موجود فيمكن إشباع الهيموغلوبين بسهولة عند ضغط 20 torr تقريبا أي يرتبط الأوكسجين بفعالية عند هذا الضغط و في هذه الحالة لن يتحرر الأوكسجين من الهيموغلوبين عند وصوله للنسج حيث الضغط 20-40 torr . و لكن عن وجود مركب 2,3 BPG يكون الهيموغلوبين مشبعا بنسبة صغيرة من الأوكسجين عند الضغط 20 torr أي يتحرر الأوكسجين من الهيموغلوبين في النسج.

تنظيم النشاط الأنزيمي

من أهم ميزات عمل الأنزيمات أنه يمكن التحكم بنشاطها التحفيزي بطرق مختلفة. يمكن التحكم بكمية الأنزيم من خلال تنظيم عملية اصطناع الأنزيمات أو تدركها. ولكن هذه نوع من التحكم قد يستهلك وقتاً من الزمن لإتمام هذا التنظيم.

يمكن التحكم بالنشاط الإنزيمي من خلال عمليات تحكم سريع من دون الحاجة لإنتاج أو تدرك الأنزيمات لذلك يمكن تعريف الإنزيمات المُنَظمة بأنها الإنزيمات التي يمكن تعديل نشاطها وبالتالي التحكم بكمية المنتج أو التفاعل الذي تحفزه.

تصبح الإنزيمات أكثر نشاطاً عند وجود تركيز عالي من الركازة أو كمية قليلة من المنتج.

يمكن تنظيم الفعالية الأنزيمية من خلال:

1. الارتباط غير التشاركي مع جزيئة Allosteric effector كما وجدنا في حالة الهيموغلوبين.
2. أو تعديل النشاط الإنزيمي من خلال الارتباط التشاركي:

يتم هذا التعديل من خلال إزالة مجموعة وظيفية من السلسلة الببتيدية. يجب أن يكون هذا الارتباط التشاركي عكوسا. عادة تدخل أنزيمات أخرى في عملية التنظيم حيث تنشط أو تثبط عمل الأنزيم الذي يتم تنظيمه.

النمط الأكثر شهرة لهذا النوع من التنظيم هو فسفرة واحد أو أكثر من وحدات الحمض الأميني سيرين. حيث يوجد أنزيم يدعى Protein kinase الذي يحفز نقل مجموعة فوسفوريل من جزيء ATP إلى أحد حموض سيرين في الأنزيم الذي يتم تنظيمه. بالمقابل يوجد أنزيم آخر يدعى Protein phosphatase الذي يحلمه الفوسفوسيرين Phosphoserine وبالتالي يعود الإنزيم إلى شكله الأصلي.