الوحدة التعليمية 3: النشاط الإنزيمي للبروتين

يتمثل النشاط الخلوي في العديد من التفاعلات الكيميائية الأيضية. تلعب الإنزيمات دورا أساسيا في تحفيز هذه التفاعلات الحيوية

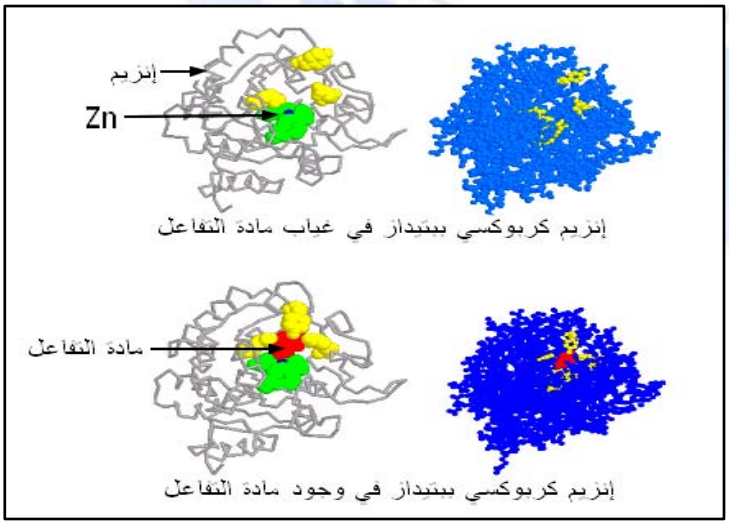
- هل للطبيعة البروتينية للإنزيم دور في تخصصها الوظيفي ؟
- ما هي خصائص التحفيز الإنزيمي ؟
- وما هي العوامل القابلة لتغيير هذه الخصائص؟

للإجابة على هذه التساؤلات نقترح النشاطات التالية

تصميم الدرس

1. مفهوم الأنزيم.
2. النشاط الإنزيمي و علاقته ببنية الإنزيم.
3. دراسة تاثير pH الوسط على نشاط الأنزيم.
4. دراسة تاثير درجة الحرارة على نشاط الإنزيم.

- المفاهيم المبنية.
- التقويم.



1. مفهوم الأنزيم و أهميته

❶ ـ أوظف مكتسباتي :

يتناول الإنسان أغذية معقدة عادة، لكنها تمتص في صورة بسيطة على مستوى الأمعاء بعد تبسيطها بفضل الإنزيمات الهاضمة التي تفرز على مستوى الأنبوب الهضمي ابتداء من الفم إلى غاية الأمعاء الدقيقة.

يلخص جدول الوثيقة (1) نتائج تجريبية للنشاط الإنزيمي في شروط تجريبية مختلفة من pH ومادة التفاعل(الركيزة).

الرقم	الشروط التجريبية	النتائج
01	الإماهة الحمضية للنشاء في وجود حمض كلور الماء في درجة حرارة 100 ^{0}م .	تحلل جزيئة النشاء إلى وحدات من سكر بسيط هو سكر العنب (غلوكوز) بعد 40 دقيقة .
02	إماهة النشاء في وجود إنزيم الأميلاز اللعابي في درجة حرارة 37 ^{0} م في وسط معتدل (pH = 7) .	تحلل جزيئة النشاء إلى سكر ثنائي هو سكر الشعير (المالتوز) بعد 7 دقائق .
03	إعادة نفس التجربة (02) باستعمال لعاب مغلي .	لا يتحلل النشاء .
04	إعادة نفس التجربة (02) في درجة حرارة 0 ^{0} م .	- لا يتحلل النشاء. - بعد العودة إلى درجة الحرارة 37° م، يتحلل النشاء إلى سكر العنب.
05	إعادة نفس التجربة (02) مع استبدال النشاء بزلال البيض (بروتين).	لا يتحلل هذا البروتين .
06	إعادة التجربة (2 0) في وسط حامضي أو في وسط قاعدي .	لا يتحلل النشاء.

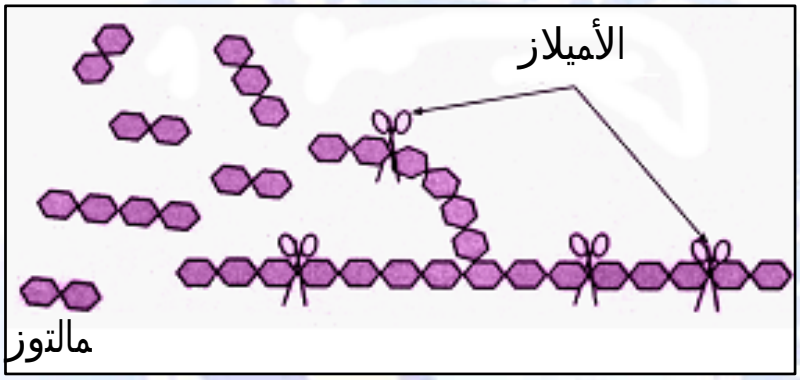
الوثيقة 1

ـ باستغلالك لهذه النتائج التجريبية و مستعينا بمكتسباتك القبلية:

1 ـ قارن في جدول بين عمـل الـ HCl (محفز كيميائي) والأميلاز.

2 ـ قدم تعريفا لمفهوم "المحفز الحيوي" الذي يطلق على إنزيم الأميلاز.

3 ـ يمثل الرسم التخطيطي الموالي عمل إنزيم الأميلاز على جزيئة النشاء.



ـ بالاعتماد على الرسم، لخص كيفية عمل هذا الإنزيم.

4 ـ استخرج شروط عمل الإنزيم.

❷ ـ عواقب غياب أو نقص إنزيم على النشاطات الأيضية

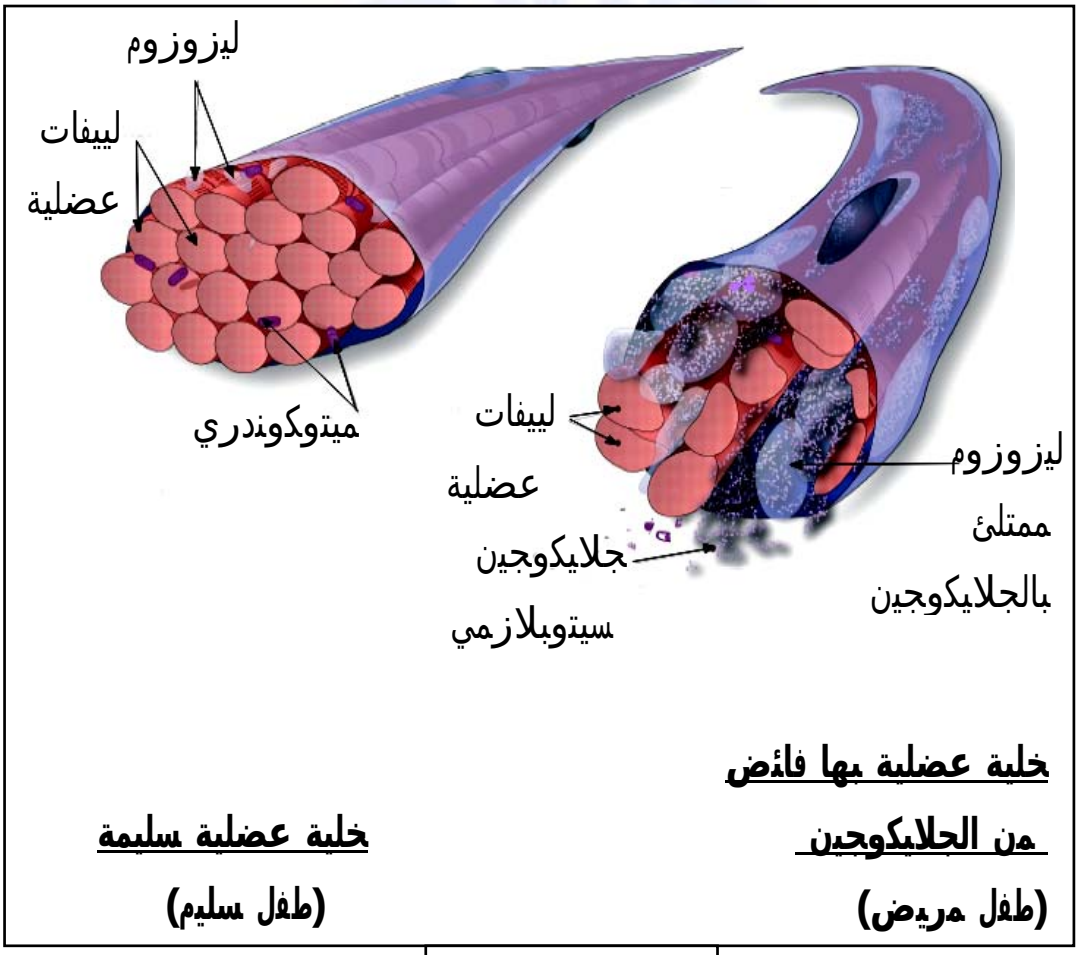
*ـ تتمثل أعراض مرض "الارتخاء العضلي" (**maladie de Pompe**) عند المولودين حديثا المصابين في ارتخاء الأطراف، كما يظهرون صعوبة في التنفس والبلع في الأسابيع الأولى نتيجة خلل في تقلص الخلايا العضلية.

للبحث عن مصدر هذا الخلل الوظيفي، تم فحص قطعة من النسيج العضلي لطفل مريض و آخر سليم، الملاحظة المجهرية ممثلة

بالوثيقة (2).

تحتوي هيولى الخلايا العضلية على الغليكوجين، مركب ادخاري للغلوكوز.

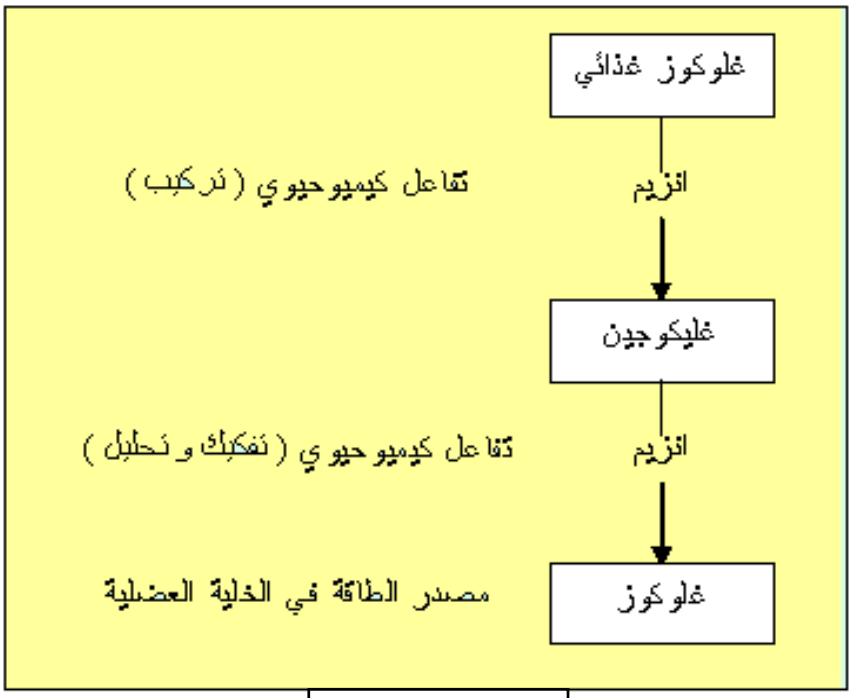
كما تحتوي على بنيات قابلة للتقلص تميز التخصص الوظيفي للخلية العضلية تتمثل في الليفات العضلية.



الوثيقة 2

* ـ كما بينت التحاليل الكيميائية أن الجلايكوجين جزيئه أساسية في الأيض الخلوي للخلية العضلية فالطاقة اللازمة للتقلص العضلي مصدرها

تفكيك الغلوكوز المخزن في شكل جلايكوجين و يعاد تجديد هذا الأخير من الغلوكوز الغذائي(الوثيقة 3).



الوثيقة 3

1 ـ قارن بين بنية الليفين العضليين(الخليتين العضليتين) للطفل السليم والطفل المريض في الوثيقة (2).

2 ـ بين كيف أن نتائج هذه التحاليل البيوكيميائية (الوثيقة 3) تفسر الخلل الوظيفي المذكور سابقا (الوثيقة 2) وعواقبه على النشاط الأيضى.

3 ـ ماذا تستخلص ؟

◄ أقيم اجابتي

❶ ـ توظيف المكتسبات:

1 ـ المقارنة بين عمل HCl وعمل الأميلاز ملخصة في الجدول التالي:

أوجه المقارنة / المحفزات	المحفز الكيميائي حمض الكلور	المحفز البيولوجي الأميلاز اللعابي
سرعة التفاعل	بطيء نسبيا	سريع
درجة الحرارة	درجة عالية (100 ^{0} م)	حرارة الجسم (37 ^{0}م)
النتائج المحصل عليها	دكسترينات ثم مالتوز ثم غلوكوز(اماهة كلية)	دكسترينات ثم مالتوز(اماهة جزئية)
نوع التفاعل الكيمائي	إماهة كيميائية بحتة في وجود حمض وحرارة عالية	إماهة إنزيمية في شروط العضوية

2 ـ تعريف المحفز الحيوي : هو محفز تنتجه العضوية ويعمل في شروط ملائمة للحياة و يؤثر بتراكيز جد ضعيفة في مادة التفاعل.

3 ـ كيفية عمل إنزيم الأميلاز:

يعمل الإنزيم علي التفكيك التدريجي لجزيئة النشاء معطيا جزيئات أقل تعقيدا (ديكسترينات) إلى غاية سكر ثنائي (سكر الشعير).

4 ـ شروط عمل الإنزيم:

الإنزيم وسيط حيوي يتميز بتأثيره النوعي اتجاه مادة التفاعل (الركيزة) في درجة حرارة و pH ملائمين للحياة.

❷ ـ عواقب غياب أو نقص إنزيم على النشاطات الأيضية

1 ـ المقارنة :

ـ عند الطفل السليم : الليفات العضلية واضحة وكثيرة العدد مع وجود الغليكوجين في الخلية العضلية و الليزوزومات بصورة عادية.

ـ عند الطفل المصاب: تراكم الغليكوجين في الليف العضلي داخل الليزوزومات وفي السيتوبلازما مع قلة عدد الليفات العضلية نتيجة ضمورها.

2 ـ التفسير : يبين الفحص المجهري تراكم الغليكوجين في الخلايا العضلية عند الطفل المصاب دلالة على عدم استهلاكه .

كما بينت التحاليل الكيميائية أن تفكيك الغليكوجين مصدر الطاقة اللازمة للتقلص العضلي يتطلب إنزيمات نوعية .

وعليه يمكن تفسير هذا الخلل الوظيفي بغياب (أو عدم فعالية) الإنزيمات اللازمة لتفكيك الغليكوجين إلى سكر العنب ،مصدر الطاقة اللازمة للتقلص العضلي مما ينجم عنه غياب أو قلة نشاط البنيات المتقلصة (مصدر الحركة) .

3 ـ الإستخلاص : الإنزيم ضروري للنشاط الأيضي للعضوية .(الإنزيم المقصود في هذه الحالة هو alpha-1,4-glucosidase وهو إنزيم ليزوزومي يعمل على إماهة الجلايكوجين إلى غلوكوز).

تخضع الإنزيمات كالبروتينات الأخرى إلى التعبيـر المـورثي ، فهـي محفزات للنشاطات البيوكيميائية المختلفة الضرورية لحياة الخلية .

الإشكالية المطروحة : ما هي العلاقة بين التخصص الـوظيفي للإنـزيم وبنيته و كيف يمكن قياس نشاطه ؟

2. النشاط الإنزيمي وعلاقته ببنية الإنزيم

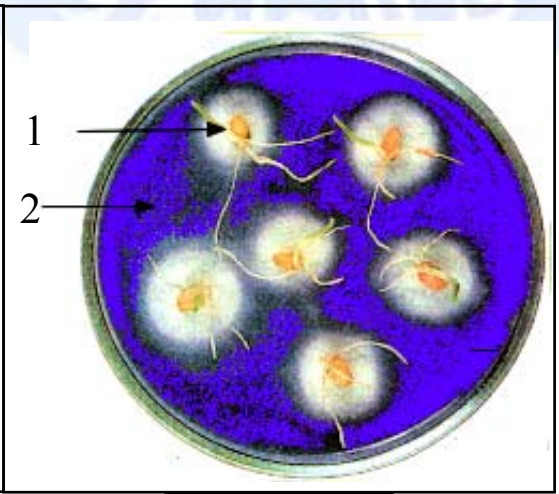
❶ ـ إظهار النشاط الإنزيمي بالتجارب الاعتيادية

♦ إظهار النشاط الإنزيمي في بذور القمح:

تجرى التجربة على مراحل:

المرحلة 1 :

تملأ علبة بتري بمادة الجيلوز الممزوجة بالنشاء. بعد القطع الطولي لبذور القمح في طور الإنتاش إلى جزأين توضع على الجيلوز بحيث يكون الجزء المقطوع إلى الأسفل. بعد أيام يتم سكب محلول اليود في طبقة الجيلوز. النتائج موضحة في الوثيقة التالية:



1: بذور قمح منتشة

2: جيلوز

الوثيقة 4

المرحلة 2 :

عند نزع الجيلوز الملامس والقريب من نصف البذرة ووضعه في أنبوبة اختبار وبإضافة محلول فهلنغ مع التسخين يتشكل راسب أحمر أجوري.

المرحلة 3:

بعد سحق بذور قمح في طور الإنتاش في ماء مقطر وترك الخليط لمدة نصف ساعة، نقوم بترشيحه. نضيف حجما معينا من الرشاحة إلى محلول نشاء وبعد عدة دقائق نضيف محلول اليود فلا يلاحظ وجود اللون الأزرق البنفسجي.

1 ـ ماذا تستنتج من نتائج المرحلة 1 والمرحلة 2 ؟

2 ـ ماذا تستخلص من نتائج المرحلة 3.

◄ أقيم اجابتي

1 ـ الاستنتاج :

المرحلة 1 : لم تتلون المناطق القريبة من أنصاف البذور بالأزرق البنفسجي مما يدل على اختفاء النشاء . عمل الرشيم على إماهة النشاء.

المرحلة 2 : تشكل الراسب الأحمر الأجوري دلالة على وجود سكر مرجع لمحلول فهلنغ ، نتج عن إماهة النشاء من طرف النبيتة.

2- الاستخلاص:

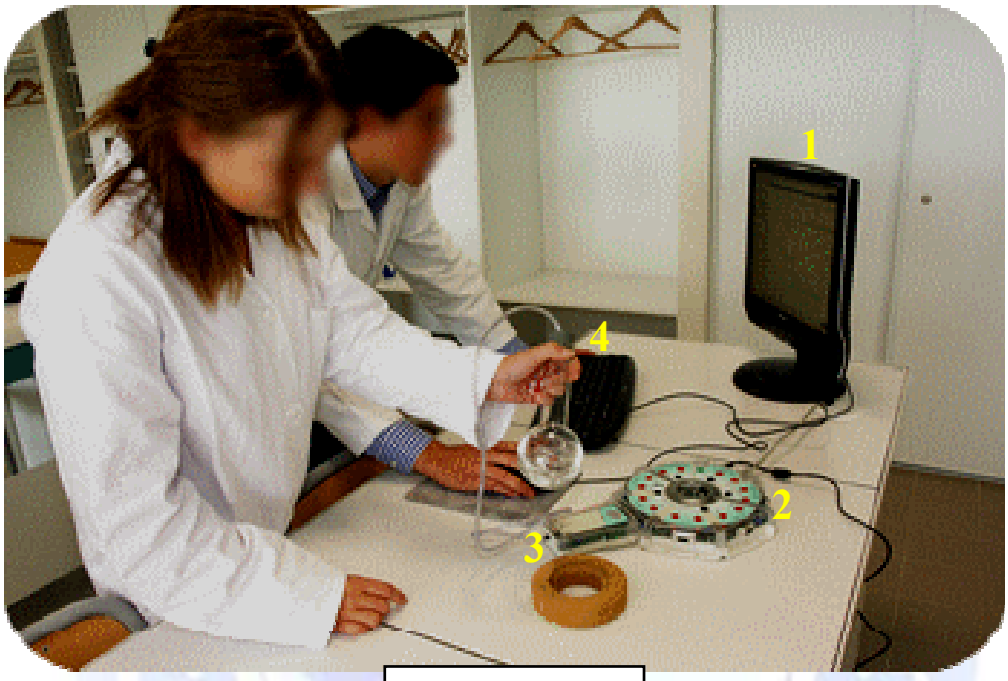
يفرز الرشيم إنزيما(الاميلاز) يعمل كوسيط حيوي على تبسيط النشاء .

كيف يمكن قياس النشاط التحفيزي للإنزيم ؟

❷ ـ قياس النشاط الإنزيمي بالتجارب المدعمة بالحاسوب.

أ ـ وصف التركيب التجريبي(ExAO):

يضم التركيب التجريبي عادة المكونات المبينة بالوثيقة (5) .



الوثيقة 5

ـ مكونات التركيب التجريبي:

1 ـ شاشة كومبيوتر متصلة بوحدة مركزية مزودة ببرنامج خاص يسمح بعرض وحساب النتائج على شاشة الكومبيوتر في شكل منحنيات، أرقام وجداول...

2 ـ وسائط (interfaces) لربط اللاقط بالكومبيوتر.

3 ـ لاقط (récepteur)

4 – مسبار (sonde) للكشف عن مادة ما وقياس تركيزها مثلا.

ـ تصاغ البرمجة تلقائيا في شكل قياس وحركية مما يسمح بتسجيل منحنيات تستغل كوسيلة ضرورية لتحديد السرعات الابتدائية و حساب الحركية الإنزيمية.

ـ نعزل في كل مرة العامل المراد دراسة تأثيره على سرعة التفاعل الإنزيمي ثم نغيره مع إبعاد العوامل الأخرى المحتمل تأثيرها أيضا.

♦ ـ يتميز التفاعل الكيميائي بحركيته (كمية المادة أو الناتج المتشكل خلال وحدة زمن).

♦ ـ تسرع المحفزات الكيميائية والبيولوجية من التفاعلات الكيميائية و هي تؤثر بتراكيز ضعيفة.

♦ ـ يسمح تتبع تغيرات حركية التفاعل الكيميائي المحفز بيولوجيا والخاضعة لتأثير ثابت حيوي وغير حيوي باستخراج الخصائص الأساسية للمحفزات البيولوجية.

♦ ـ تستلزم تقنية الـ ExAO اختيار التفاعل الذي تكون فيه النواتج قابلة للكشف وللقياس بواسطة مسبار خاص(مسبار O_2 ، CO_2 ،pH...)

ـ اعتمادا على المعلومات المقدمة، ماذا يميز التجارب المدعمة بالحاسوب عن التجارب العادية ؟

أقيم اجابتي

- مزايا التجارب المدعمة بالحاسوب:
  - القياس السريع والدقيق للمتفاعلات والنواتج.
  - متابعة سير التفاعل على الشاشة آنيا دون انتظار انتهاء التجربة للحصول على النتائج.
  - مشاهدة تأثير إضافة مركبات أو تغيرات في شروط التفاعل بصورة مباشرة.
  - تخزين التجربة ونتائجها في القرص الصلب ... والرجوع إليها عند الحاجة.

ب ـ دراسة حركية التفاعلات الإنزيمية عن طريق ExAO

دراسة مثال: أكسدة الغلوكوز بواسطة إنزيم الغلوكوزأكسيداز(GO).

نلخص التفاعل الذي يحدث مخبريا بالمعادلة التالية :

$$\text{غلوكوز} + O_2 \xrightarrow{\text{غلوكوزأكسيداز}} \text{غلوكونولاكتون} + H_2O_2$$

$$\underset{\text{غلوكوز}}{C_6H_{12}O_6} + O_2 \xrightarrow{\text{غلوكوزأكسيداز}} \underset{\text{غلوكونولاكتون}}{C_6H_{10}O_6} + \underset{\text{ماء مؤكسج}}{H_2O_2}$$

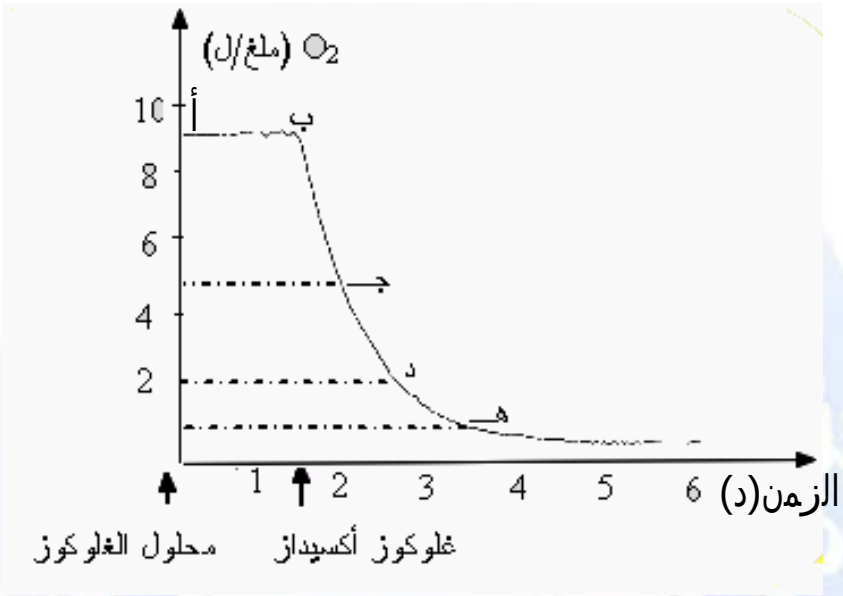
تمت سلسلة من التجارب باستعمال إنزيم الغلوكوزأكسيداز(GO).

التجربة 1 :

- ندخل 10 مل من محلول الغلوكوز (pH =7) في المفاعل الحيوي.

- درجة حرارة الوسط = 37 ^{0}م
- نضع المسبار الخاص بـ O_2

نسجل تطورات نسبة الـ O_2 في المفاعل الحيوي في غياب الإنزيم ثم بعد حقن0.1 ميلي لتر من محلول إنزيم الغلوكوز - أكسيداز بتركيز 30 وحدة اعتبارية. النتائج المحصل عليها ممثلة في الوثيقة (6).



الوثيقة 6

1 ـ حلل منحنى الوثيقة (6).

2 ـ ا ـ باستعمال معارفك، قدم تفسيرا لهذه النتائج التجريبية.

ب ـ استخرج من الوثيقة العلاقة الموجودة بين كمية المادة المتوفرة في الوسط و سرعة التفاعل.

3 ـ مما سبق وباستعمال معارفك في مادة الكيمياء حول التفاعلات الكيميائية :

ـ قدم تعريفا لمفهوم " السرعة الابتدائية ".

ـ أحسب السرعة الابتدائية للتفاعل المدروس (الوثيقة 6).

◄ أقيم اجابتي

1 ـ التحليل:

تعبر تغيرات نسبة الـ O_2 في المفاعل بدلالة الزمن عن تطور سرعة (الحركية) التفاعل الإنزيمي.

ـ المجال (أ ـ ب): قبل حقن إنزيم الغلوكوز– أكسيداز، يكون تركيز الأكسجين في الوسط ثابتا حوالي 9.5 ملغ/ل وهي الكمية المتواجدة في الوسط.

ـ بعد حقن الإنزيم:

المجال (ب ـ جـ) : نسجل تناقصا سريعا في تركيز الأكسجين (ميل كبير) ليصل إلى قيمة تقارب 5 ملغ/ل في الدقيقة 2.

المجال (جـ ـ د): نسجل تناقصا في تركيز الأكسجين بسرعة اقل حدة حيث يصل إلى قيمة 2 ملغ/ل ما بين الدقيقة 2 و 3.

المجال (د ـ هـ) : يتواصل تناقص الأكسجين ببطء ثم يتوقف بعد (هـ) عند تركيز 1 ملغ / ل.

2 ـ أ ـ التفسير:

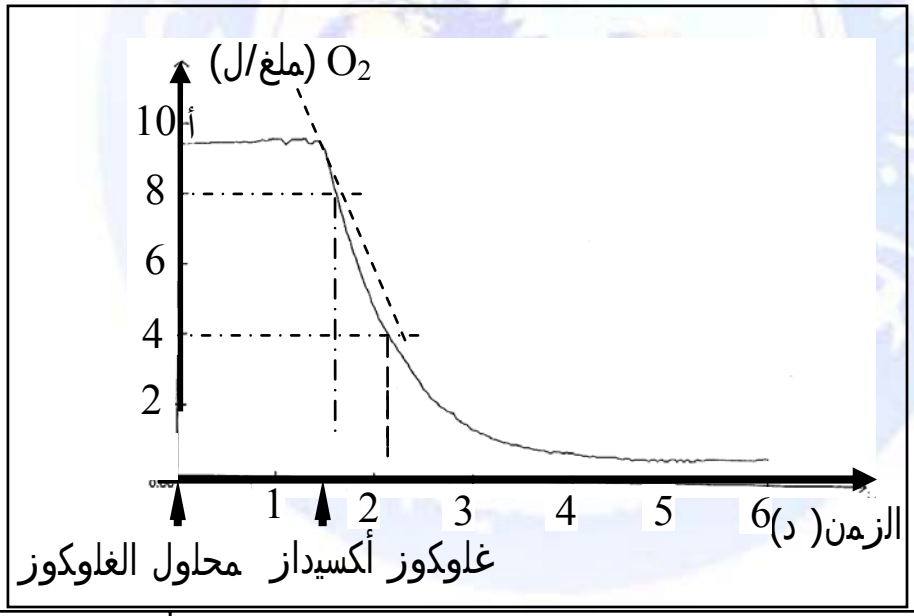
ثبات تركيز الأكسيجين قبل حقن الإنزيم يدل على أنه لم يتم تفكيك جزيئات الغلوكوز.

يفسر تناقص تركيز الأكسيجين بتفكيك جزيئات الغلوكوز في وجود أنزيم غلوكوز ـ أكسيداز.

ب ـ العلاقة بين كمية المادة وسرعة التفاعل : ترجع الكمية المستهلكة لجزيئات الـ O_2 إلى سرعة التفاعل بين الإنزيم ومادة التفاعل والتي تكون قصوى في بداية التفاعل ثم تتناقص فيما بعد تدريجيا. ومنه يمكن نستنتج أن سرعة التفاعل مرتبطة بكمية المادة المتوفرة في الوسط و تكون هذه السرعة قصوى في بداية التفاعل

3 ـ تعريف " السرعة الابتدائية " : هي السرعة (الحركية الإنزيمية) القصوى المسجلة في بداية التفاعل عندما تكون كمية المادة المتفاعلة مرتفعة.

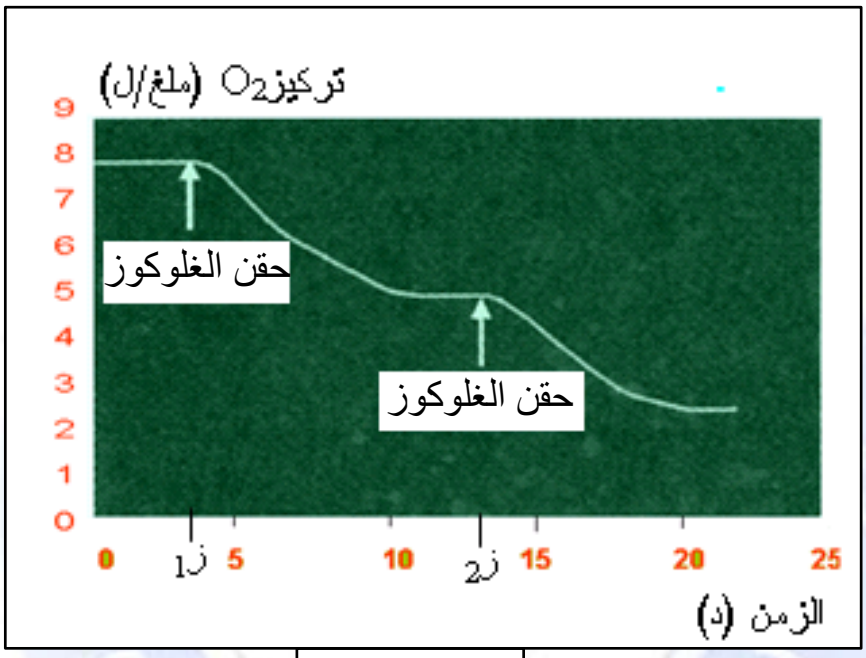
ـ حساب السرعة الابتدائية :



السرعة الإبتدائية = Vi	$Vi = Tg\ \alpha = \frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{4}{0,38} = 10,5\ mg\ O_2\ .L^{-1}.mn^{-1}$

التجربة 2 :

دراسة تغيرات تركيز الأكسجين بدلالة الزمن بعد حقن كمية قليلة من مادة التفاعل(الغلوكوز) باستعمال تركيز محدد من الإنزيم و في درجة حرارة ثابتة (37 م^0) وعند درجة pH ثابتة = 7 ، ثم حقن كمية متساوية من الغلوكوز عند الزمنين ز$_1$ و ز$_2$.النتائج ممثلة بالوثيقة (7).



الوثيقة 7

1 ـ حلل المنحنى المحصل عليه.

2 ـ ما هي المعلومة التي يمكن استنتاجها حول عمل الإنزيم؟

◄ أقيم اجابتي

1- تحليل المنحنى:

- قبل الحقن الأول : تركيز الأكسجين ثابت .

- بعد الحقن الأول: نسجل تناقصا منتظما في كمية الأكسجين ويصبح ثابتا عند القيمة 5 ملغ / ل.

بعد الحقن الثاني للغلوكوز استمر انخفاض تركيز الأكسجين بنفس الوتيرة وبنفس السرعة بالنسبة لما بعد الحقن الأول.

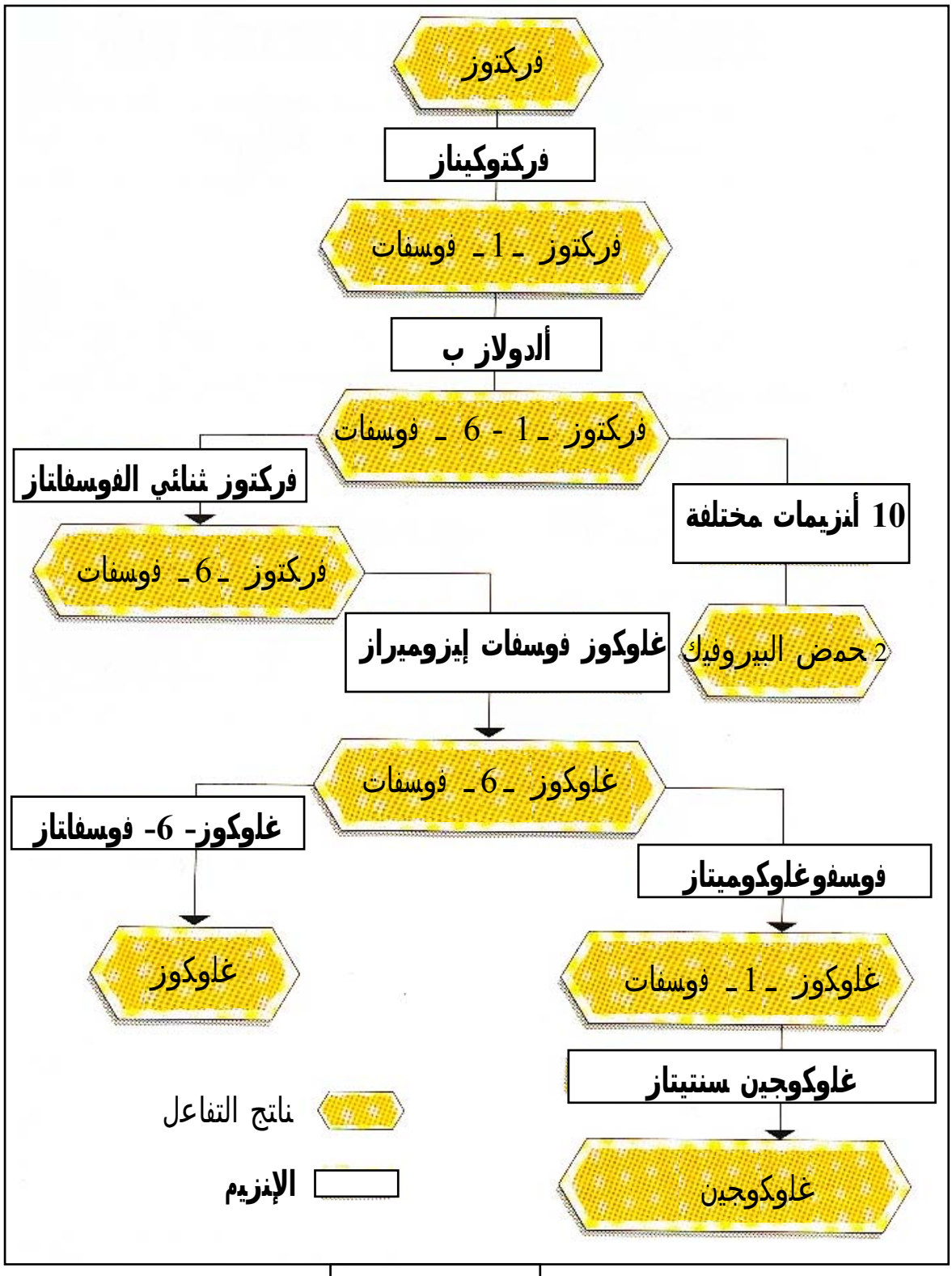
2 ـ تم استهلاك الأكسجين بمعنى أكسدة الغلوكوز بنفس الإنزيم عند الحقن الأول و الحقن الثاني.

- المعلومة: لا يستهلك الإنزيم أثناء التفاعل.

التخصص المزدوج للإنزيم

يتدخل الإنزيم في التفاعلات الأيضية المتعددة داخل الخلية.

❶ ـ تلخص الوثيقة (8) الطرق الأيضية الممكنة للفركتوز في الوسط ضمن خلوي منها الخلية الكبدية.



الوثيقة 8

1 ـ حدد نوع التفاعل الذي يحفزه كل من الإنزيم فوسفوغلوكوميتاز و الإنزيم غلوكوز- 6- فوسفاتاز.

2 ـ علل إذن أن للإنزيم تأثير نوعي.

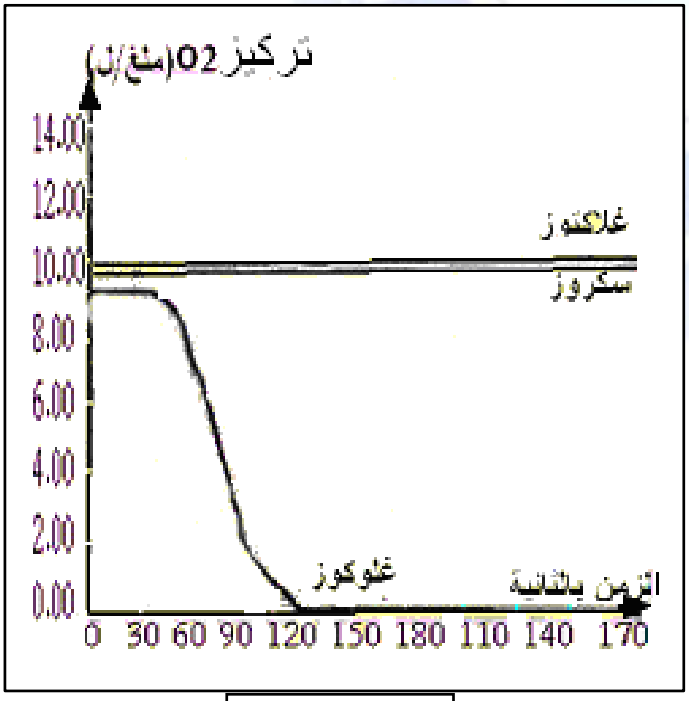
❷ ـ تمت التجربة باستعمال محلول من الغلوكوز مع استبدال هذا الأخير بمحلول الغلاكتوز ثم بمحلول السكروز، المحاليل الثلاثة ذات تراكيز متساوية : 10^{-2} مول / ل. نضيف للوسط في الزمن 30 ثانية إنزيم غلوكوز أكسيداز (15000 وحدة /ل).

في درجة حرارة 37 م^0 ، pH=7.

ـ الغلوكوز و الغلاكتوز هما سكران بسيطان متماكبان على مستوى الكربون رقم 4 و لهما صيغة عامة : $C_6H_{12}O_6$.

ـ السكروز سكر ثنائي يتكون من إرتباط سكرين بسيطين هما الغلوكوز والفركتوز وله صيغة عامة : $C_{12}H_{22}O_{11}$

التسجيلات المحصل عليها مع المحاليل الثلاثة ممثلة بالوثيقة (9)



الوثيقة 9

1 ـ قدم تحليلا مقارنا للتسجيلات الثلاثة.

2 ـ ماذا تستنتج من هذه النتائج ؟

3 ـ من (❶) و (❷) ، علل أن للإنزيم تأثير نوعي **مزدوج** ؟

◄ أقيم اجابتي

❶ ـ 1 ـ تحديد نوع التفاعل :

- يحفز الإنزيم فوسفوغلوكوميتاز التفاعل التالي:

غلوكوز ـ 6 ـ فوسفات ← غلوكوز ـ 1 ـ فوسفات

- يحفز الإنزيم غلوكوز ـ 6 ـ فوسفاتاز التفاعل التالي:

غلوكوز ـ 6 ـ فوسفات ← غلوكوز

2 ـ تعليل التأثير النوعي :

الإنزيم فوسفوغلوكوميتاز هو إنزيم تماكب (isomérase) عمل على تحويل مجموعة الفوسفات من مكان في الجزيئة (ذرة الكربون رقم 6) إلى مكان آخرفي نفس الجزيئة(ذرة الكربون رقم 1) .

الإنزيم غلوكوز ـ 6 ـ فوسفاتاز هو إنزيم الإماهة (Hydrolase) عمل على نزع مجموعة الفوسفات في وجود الماء.

إذن يؤثر الإنزيمان على نفس مادة التفاعل (غلوكوز ـ 6 ـ فوسفات) إلا أن المنتوج مختلف و هو ما يبين أن لكل إنزيم تأثير نوعي : لا يحفز إلا تفاعل واحد.

❷ ـ 1 ـ التحليل المقارن : تبين التسجيلات المحصل عليها أن حركية استهلاك الأكسجين تكون كبيرة مع محلول الغلوكوز و منعدمة تقريبا مع كل من الغلاكتوز و السكروز.

2 ـ الاستنتاج: يتمثل التأثير النوعي لإنزيم الغلوكوز أكسيداز في ارتباطه النوعي: بمعنى أنه يؤثر إلا على مادة تفاعل واحدة نوعية.

3 ـ التعليل:

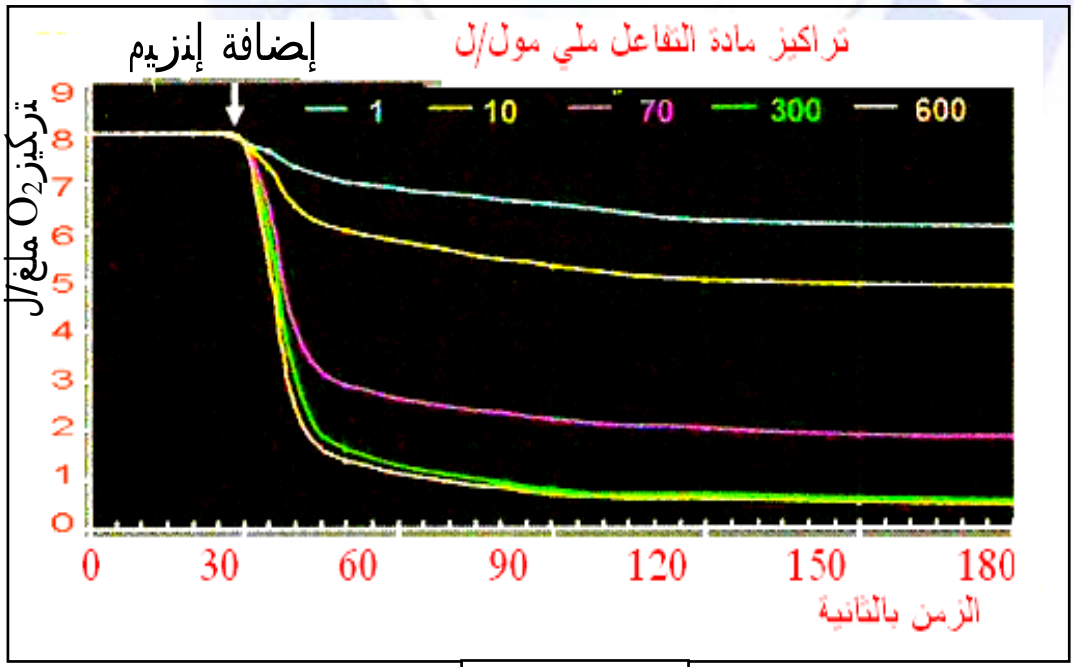
تمتلك الإنزيمات تخصص نوعي بالنسبة لمادة التفاعل (الوثيقتين 8 و9) و تخصص نوعي بالنسبة للتفاعل الكيميائي(الوثيقة 8)، مما يبين أن للإنزيمات "**تخصص مزدوج**".

كيف تتأثر حركية التفاعل الإنزيمي بتركيز مادة التفاعل ؟

التجربة 3: دراسة تغيرات السرعة الابتدائية للتفاعل الإنزيمي بدلالة تركيز مادة التفاعل (الغلوكوز).

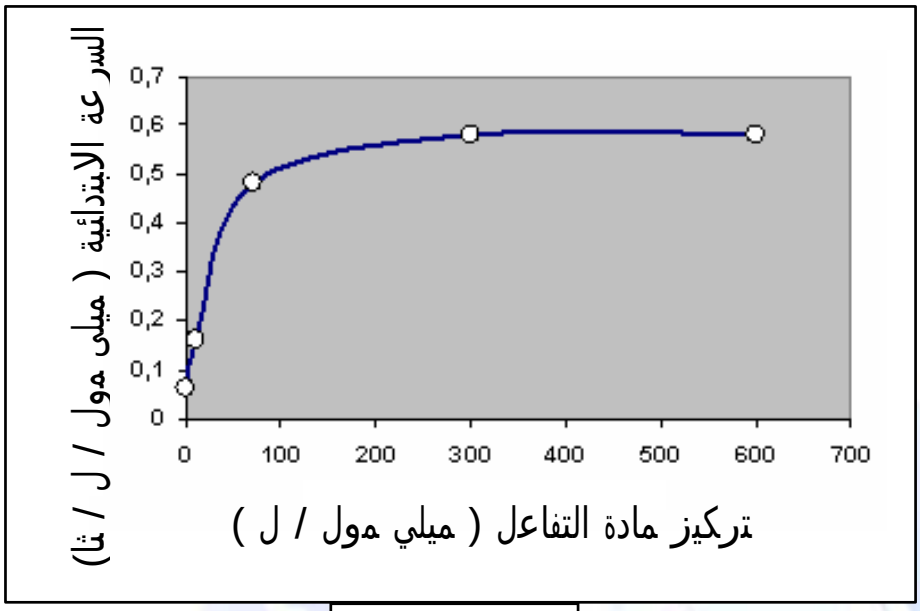
تم في هذه الحالة إجراء سلسلة من 5 تجارب، استعمل في كل تجربة نفس التركيز من الإنزيم و تراكيز متغيرة من مادة التفاعل (الغلوكوز)

❖ ـ تمثل تسجيلات الوثيقة (10) تغيرات الحركية الإنزيمية بتغير تركيز مادة التفاعل.



الوثيقة 10

❖ ـ تمثل الوثيقة (11) تغيرات السرعة الابتدائية بدلالة تركيز مادة التفاعل في 37 م^0 و pH ثابت.



الوثيقة 11

1 ـ حلل بصورة عامة النتائج المحصل عليها في الوثيقة 10 و ماذا تستنتج ؟

2 ـ اقترح تفسيرا لتغيرات سرعة التفاعل الإنزيمي بزيادة التراكيز المرتفعة لمادة التفاعل (الوثيقة 10).

3 ـ بين أن النتائج المحصل عليها من خلال الوثيقة (11) تؤكد إجابتك في السؤال السابق (السؤال 2) .

4 ـ ماذا تستخلص من هذه النتائج ؟

◄ أقيم الجانبي

1 ـ التحليل مع الاستنتاج:

زيادة تركيز مادة التفاعل يصاحبه زيادة في استهلاك الأكسجين إلى قيمة قصوى.

كلما ازداد تركيز مادة التفاعل زادت سرعة التفاعل (في حدود مجال معين).

2 ـ التفسير المقترح:

عندما يبلغ تركيز مادة التفاعل حدا معينا تثبت سرعة التفاعل.

فالإنزيم لم يعد قادرا على تحويل كميات أكبر من مادة التفاعل أي أن نشاط الإنزيم بلغ قيمته القصوى.

« **تشبع كل جزيئات الإنزيم بجزيئات مادة التفاعل**»

3 ـ تكون السرعة الابتدائية قصوى في بداية التفاعل (من0 إلى التركيز 100 ملي مول / ل) حيث تبلغ قيمة تساوي 0.5 ملي مول/ل/ ثا.

تزداد السرعة بعد ذلك ببطء (في مجال التركيز ما بين 100 إلى 300 ميلي مول /ل) لتبلغ القيمة القصوى عند التركيز الأمثل لمادة التفاعل حيث تصبح ثابتة.

تؤكد إذا الوثيقة (11) أن السرعة الابتدائية للتفاعل الإنزيمي مرتبطة بتركيز مادة التفاعل بمعنى تزداد السرعة بزيادة تركيز مادة التفاعل وتأخذ قيمة قصوى في مجال معين .

4 ـ الاستخلاص : توجد علاقة بين السرعة الابتدائية للتفاعل المحفز البيولوجي و تركيز مادة التفاعل في مجال محدد.

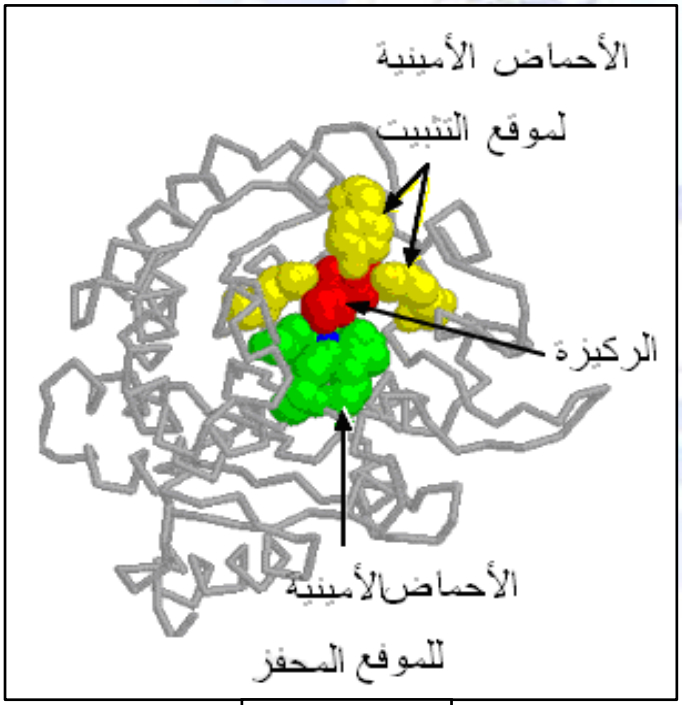
أثناء حدوث التفاعل المحفز يشكل الإنزيم مع مادة التفاعل "معقدا" أي بمعنى إرتباط بين جزيئتين [الإنزيم و مادة التفاعل] .

الإشكالية المطروحة : كيف يتم هذا الإرتباط ؟

ما هي الخصائص الجزيئية التي تسمح بتفسير تشكل المعقد " إنزيم ـ مادة التفاعل" ؟

❸ ـ النماذج الجزيئية للإنزيم ومادة التفاعل:

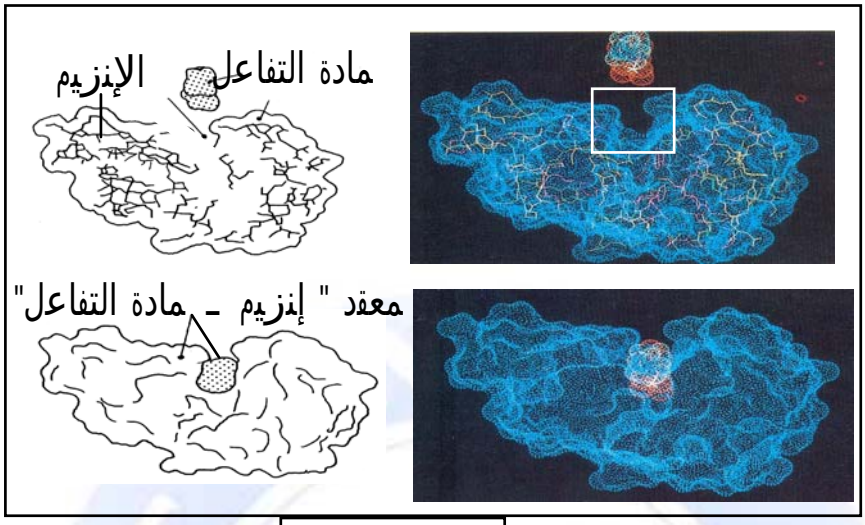
أ ـ تمثل الوثيقة (12) نموذج فراغي محصل عليه بالحاسوب عن طريق برنامج راستوب لارتباط إنزيم بمادة التفاعل وهو ما يسمى بمعقد "إنزيم ـ مادة التفاعل".



الوثيقة 12

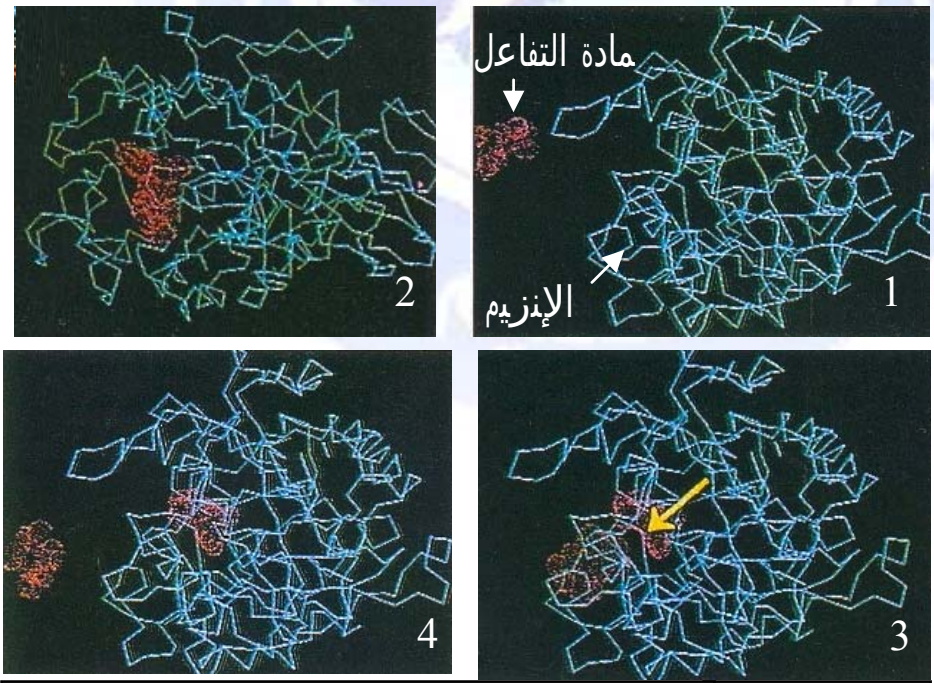
ـ بالاعتماد على الوثيقة (12)، قدم تفسيرا لنتائج الوثيقة (11) مدعما إجابتك برسم تخطيطي تفسيري يحمل البيانات الضرورية.

ب ـ ❖ تمثل الوثيقة (13) نموذج محصل عليه بالحاسوب يبين كيفية تشكيل المعقد " إنزيم ـ مادة التفاعل " .



الوثيقة 13

❖ ـ تمثل الوثيقة (14) نمذجة جزيئية للتحفيز الإنزيمي للأميلاز البنكرياسي



الوثيقة 14	1، 2 ، 3 ،4 : التسلسل الزمني للتحفيز الإنزيمي

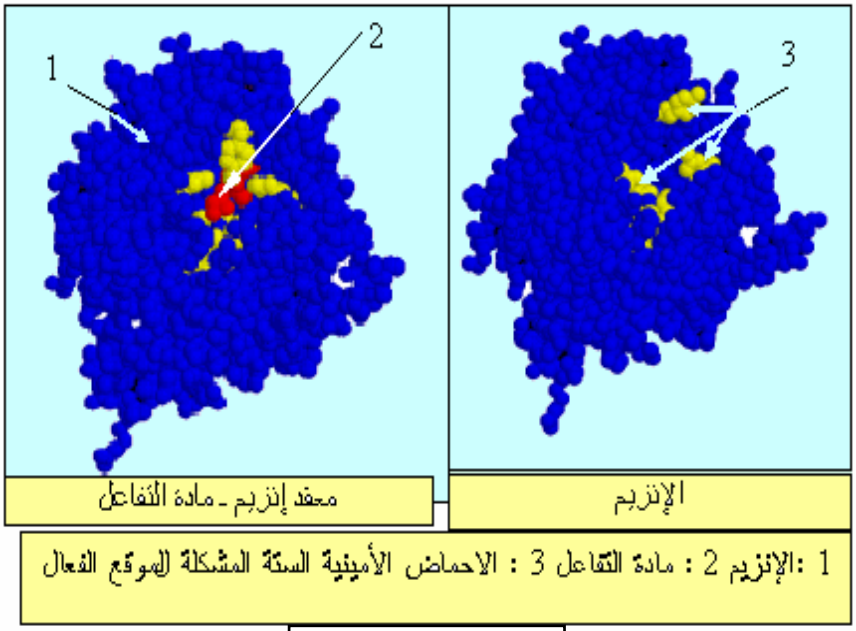
1 ـ ما هي المعلومة التي تقدمها الوثيقة (13) فيما يخص كيفية تشكيل المعقد "إنزيم ـ مادة التفاعل" ؟

2 ـ إذا علمت أن الجزء المؤطر من الوثيقة (13) يطلق عليه اسم "**الموقع الفعال**"، قدم تعريف لمفهوم الموقع الفعال.

3 ـ α ـ حلل الوثيقة (14).

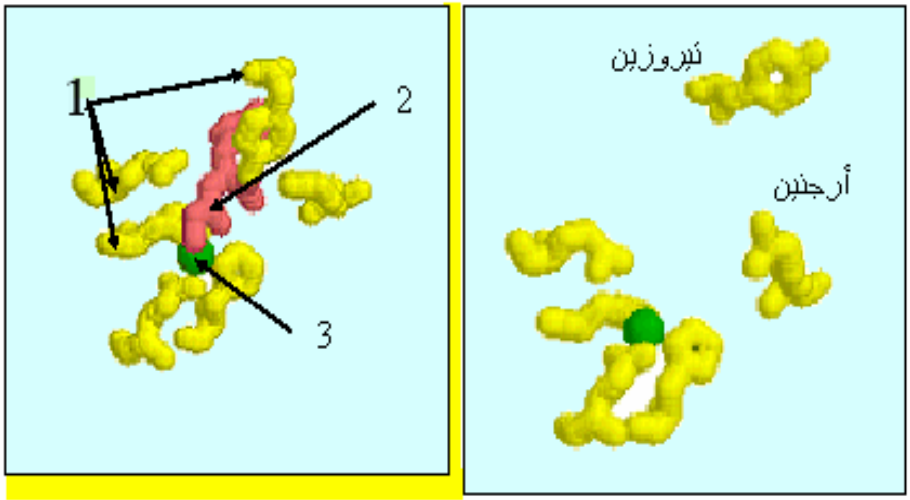
β ـ ما هي المعلومة الإضافية التي تقدمها هذه الوثيقة فيما يخص التحفيز الإنزيمي ؟

ج ـ تمثل الوثيقة (15-أ) البنية الفراغية لإحدى إنزيمات الهضم : كربوكسي بيبتيداز (E) (تمثيل كروي) باستعمال برنامج راستوب في غياب مادة التفاعل وفي وجودها (SE).



الوثيقة 15 -أ

ـ تلخص الوثيقة (15-ب) تفاصيل الموقع الفعال (تمثيل بالأعمدة).



1 ــ أحمض أمينية 2 ــ مادة التفاعل 3 ــ ذرة الزنك التي تمثل موقع التحفيز

الوثيقة 15-ب

1 ـ باستعمال معلوماتك ، قدم تعريفا للبنية ثلاثية الأبعاد للبروتين.

2 ـ باستغلال الوثيقتين (15 أ و ب)، ماذا يمكنك استخلاصه فيما يخص :

α ـ العلاقة بين البنية ثلاثية الأبعاد للإنزيم و تخصصه الوظيفي.

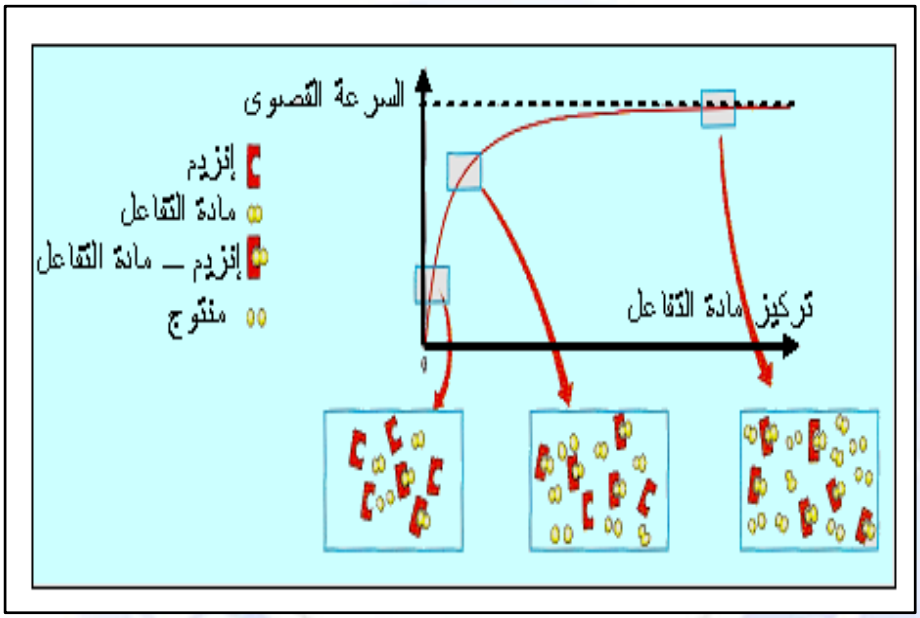
β ـ نشاط الموقع الفعال.

3 ـ قدم إذن تعريفا دقيقا **للموقع الفعال**.

د ـ أبحث في فضاءات الأنترنيت عن التمثيل ثلاثي الأبعاد للإنزيمات (برامج محاكاة [rasmol]) و إظهار المواقع الفعالة (برامج محاكاة التحفيز الإنزيمي [enzymo]).

◄ أقيم اجابتي

أ ـ التفسير المدعم بالرسم: يتم التفاعل بتشكيل معقد "إنزيم ـ مادة التفاعل" و إن وصول سرعة التفاعل إلى القيمة القصوى يحدث عند تشبع جميع الإنزيمات الموجودة في الوسط بمادة التفاعل كما هو مبين في الرسم التالي:



ب ـ 1 ـ المعلومة :

تشكيل المعقد "إنزيم – مادة التفاعل" يتم نتيجة تكامل بنيوي بين موقع خاص للإنزيم (تجويف) وجزء محدد من مادة التفاعل.

2 ـ تعريف الموقع الفعال:

عبارة عن جزء محدد من بنية الإنزيم يجعل هذه البنية ثلاثية الأبعاد مكملة لبنية جزء محدد من مادة التفاعل.

3) α ـ تحليل الوثيقة 14:

- يبين الشكل 1 من الوثيقة بنية محددة لكل من الإنزيم و مادة التفاعل، مادة التفاعل قريبة من الموقع الفعال للإنزيم.

- يبين الشكل 2 تشكيل معقد "أنزيم ـ مادة التفاعل " :

تثبيت هذه الأخيرة يحفز الأنزيم **ليغير** شكله الفراغي و يصبح مكملا لشكل مادة التفاعل : إنه التكامل المحفز.

- يبين الشكلين 3 و 4 تفكيك مادة التفاعل.

β ـ المعلومة الإضافية :

يتطلب حدوث التفاعل تغيير في البنية الفراغية للإنزيم أي بمعنى أن التموضع الهندسي لمادة التفاعل ضروري لحدوث هذا التفاعل .

ج ـ 1) تعريف البنية ثلاثية الأبعاد للبروتين:

تعود البنية ثلاثية الأبعاد للبروتين و بالتالي نشاطه إلى الروابط التي تنشأ بين أحماض أمينية محددة و متموضعة في السلسلة الببتيدية حسب الرسالة الوراثية.

2) α ـ العلاقة بين البنية ثلاثية الأبعاد للإنزيم و تخصصه الوظيفي:

تتوقف البنية ثلاثية الأبعاد للإنزيم على تموضع فراغي محدد لأحماض أمينية معينة. تسمح هذه البنية بتجمع أحماض أمينية موجودة في أماكن مختلفة من السلسلة لتشكيل موقع له خصائص هندسية تكمل بنية الجزء الموافق من مادة التفاعل.

β ـ نشاط الموقع الفعال :تبين الوثيقة (15 ـ ب) حركة موضعية للسلاسل الجانبية للحمضين الأمينيين تيروزين و أرجنين عند تثبيت مادة

التفاعل مما يؤدي إلى غلق الموقع (الوثيقة 15 ـ أ) و هو ما يبين أن تثبيت مادة التفاعل يصحب **بحركة** الأحماض الأمينية للموقع الفعال مشكلة عندئذ معقد "إنزيم ـ مادة التفاعل" و هو ما يسمح بالتأثير التحفيزي للإنزيم.

3) تعريف الموقع الفعال :

جزء من الإنزيم له القدرة على التعرف النوعي لمادة التفاعل و تحويلها.

الإنزيمات من طبيعة بروتينية ، فكيف تؤثر كل من الحرارة و pH على السرعة الابتدائية للتفاعلات المحفزة إنزيميا ؟

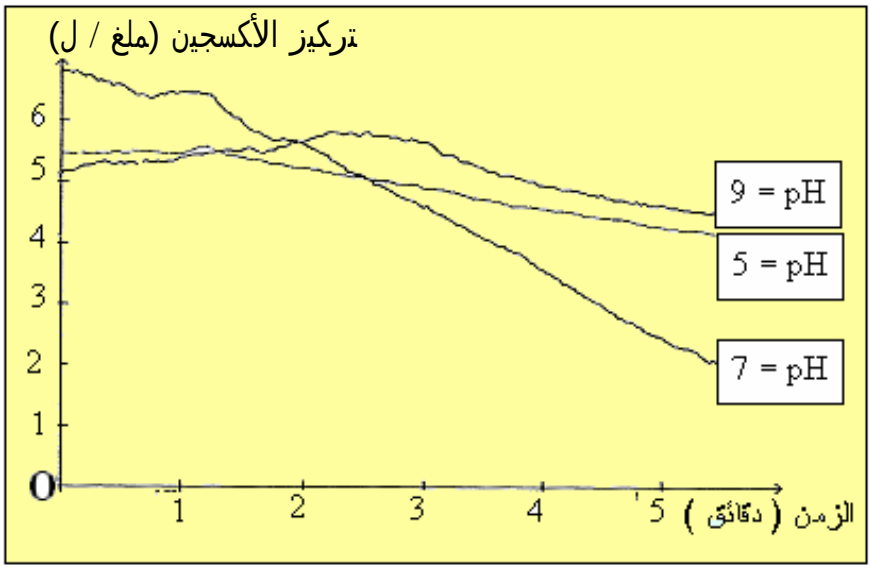
كيف يؤثر PH الوسط على السرعة الابتدائية للتفاعل المحفز إنزيميا ؟

3. دراسة تأثير تغيرات درجة pH الوسط على نشاط الإنزيم

* تأثير تغيرات درجة pH

تم إجراء سلسلة من 5 تجارب مع استعمال نفس التركيز من الأنزيم و ونفس التركيز من مادة التفاعل لكن بتغييرpH في كل تجربة (pH = 7، pH = 5 ، pH= 9) مع ثبات درجة الحرارة 37 م^0 .

تبين الوثيقة (16) نتائج تغيرات حركية استهلاك الـ O_2 خلال هذه التفاعلات المتمثلة في أكسدة الغلوكوز المحفزة بإنزيم الغلوكوز – أكسيداز .



الوثيقة 16

1 ـ قارن النتائج المحصل عليها في شروط درجة الحموضة المدروسة.

2 ـ ماذا تستنتج ؟

3 ـ بالاعتماد على المعارف المبنية من خلال دراسة "العلاقة بين بنية البروتين و وظيفته " ، قدم تفسيرا لهذه النتائج .

◄ أقيم اجابتي

1 ـ المقارنة :

تكون حركية التفاعل المحفز بإنزيم غلوكوز ـ أكسيداز عالية في pH = 7 (وسط معتدل) مقارنة بحركيته في الوسطين : pH = 5 (وسط حامضي) أو pH = 9 (وسط قاعدي) حيث تكون جد ضعيفة أو شبه منعدمة، بمعنى تتناقص هذه الحركية عندما يبتعد pH الوسط التفاعلي عن pH المعتدل.

2 ـ الاستنتاج:

لكل إنزيم درجة حموضة مثلى يكون نشاطه عندها أعظميا في شروط pH محددة ، ملائمة للحياة.

3 ـ التفسير :

تؤثر درجة حموضة الوسط على الحالة الكهربائية للوظائف الجانبية الحرة للأحماض الأمينية في السلاسل البيبتيدية وبالأخص تلك الموجودة على مستوى الموقع الفعال كما يلي :

في الوسط الحمضي الوظائف الأمينية تثبت H^+ و تصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية موجبة.

في الوسط القاعدي تفقد الوظائف الكربوكسيلية H^+ وتصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية سالبة.

يؤدي تغير الحالة الأيونية للموقع الفعال(بابتعاد pH الوسط التفاعلي عن الـpH الأمثل) إلى فقد الشكل المميز له مما يعيق تثبيت مادة التفاعل وبالتالي يمنع حدوث التفاعل.

كيف تؤثر درجة الحرارة على السرعة الابتدائية للتفاعـل المحفـز إنزيميا ؟

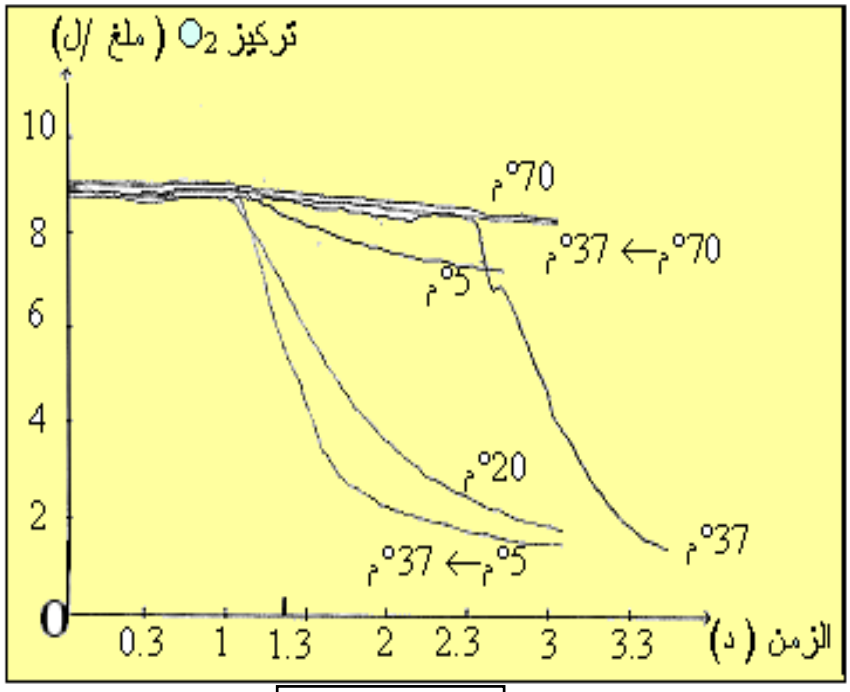
4. دراسة تأثير تغيرات درجة حرارة الوسط على نشاط الإنزيم

* نعيد نفس التجربة السابقة مع تغيير درجة حرارة الوسط مع ثبات درجة حموضة الوسط (pH = 7)

- في حرارة 37 ° م - في حرارة 5 ^{0} م
- في حرارة 20 ^{0} م - في حرارة 70 ^{0} م

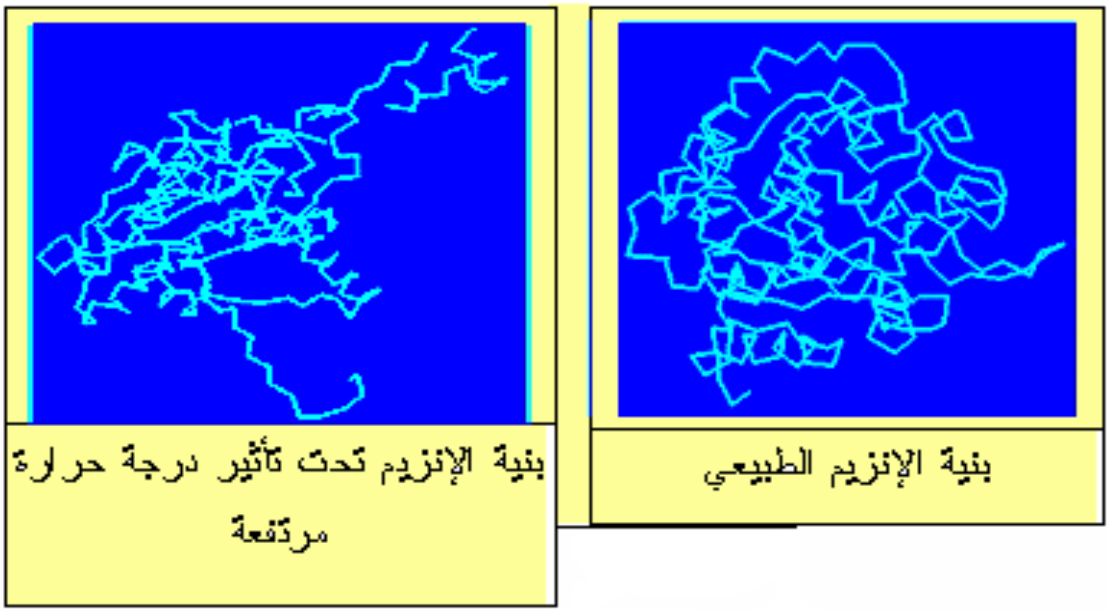
قبل التسجيل يوضع كل من المحلول الإنزيمي ومحلول الغلوكوز لعدة دقائق في الحرارة المدروسة.

ـ تمثل تسجيلات الوثيقة (17) تغيرات حركية استهلاك الـ O_2 خلال تفاعلات أكسدة الغلوكوز المحفزة بواسطة إنزيم غلوكوز – أكسيداز في أوساط تفاعلية حيث الحرارة متغيرة.



الوثيقة 17

* تمثل الوثيقة (18) تأثير درجة الحرارة المرتفعة على بنية الإنزيم .



الوثيقة 18

1 ـ قارن النتائج المحصل عليها في شروط درجة حرارة الوسط المدروسة.

2 ـ ماذا تستنتج ؟

3 ـ استخرج درجة الحرارة المثلى لعمل الإنزيم .

4 ـ بالاعتماد على الوثيقتين (17 و 18)، فسر تأثير درجة الحرارة المرتفعة على النشاط الإنزيمي مدعما إجابتك برسم تخطيطي تفسيري.

◄ أقيم اجابتي

1 ـ المقارنة :

ـ حركية التفاعل المحفز بإنزيم غلوكوز- أكسيداز تكون أعظمية في درجة حرارة وسط التفاعل تساوي 37 ^{0} م.

ـ تقل هذه الحركية كلما انخفضت درجات حرارة الوسط.

ـ عند رفع الحرارة من 5 ^{0} م إلى 37 ^{0} م تعود الحركية الإنزيمية إلى قيمتها القصوى .

ـ في درجة حرارة مرتفعة (70 ° م) تكون هذه الحركية شبه منعدمة.

ـ عند الانتقال من 70 °م إلى 37 ° م تبقى الحركية شبه منعدمة.

2 ـ الاستنتاج : يتم النشاط الإنزيمي ضمن مجال محدد من درجة الحرارة

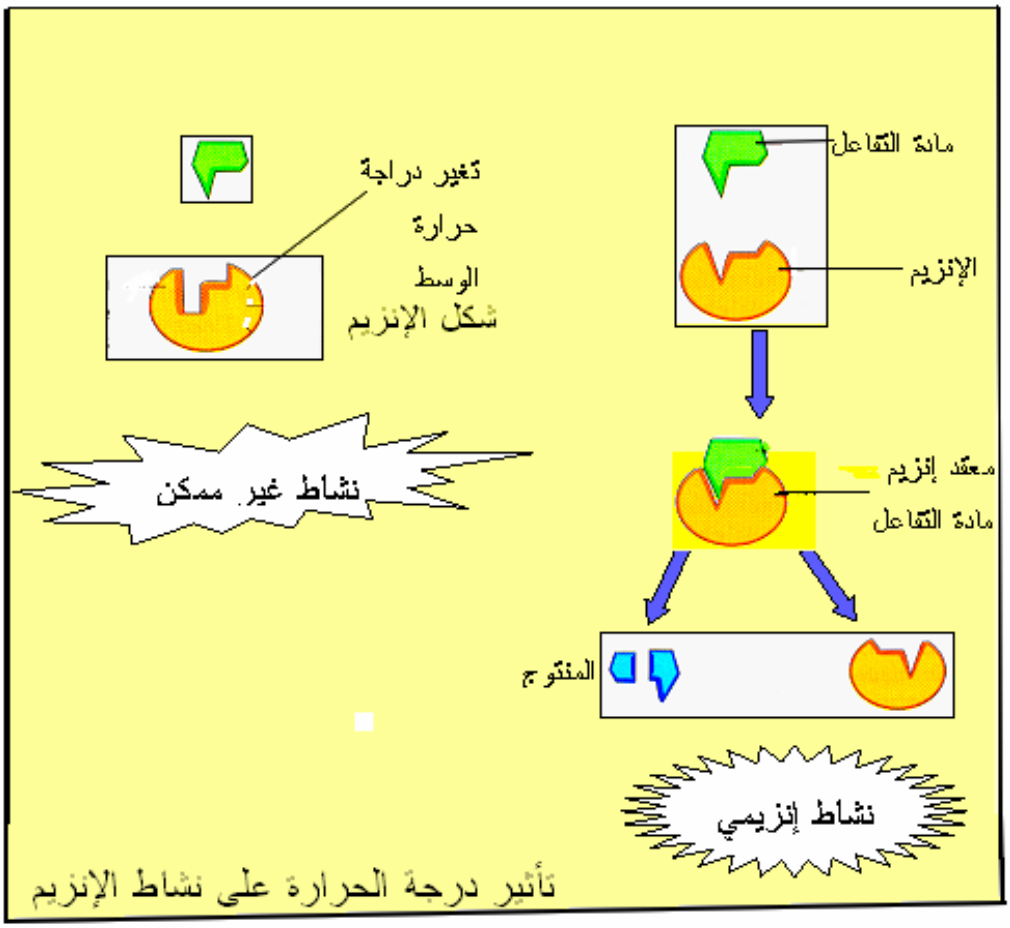
يبلغ التفاعل الإنزيمي سرعة أعظمية عند درجة حرارة 37 ^{0} م .

يصبح الإنزيم غير نشط وتتناقص حركيته عند الحرارة المنخفضة ويفقد حركيته تماما بتخريبه عند الحرارة المرتفعة.

3 ـ درجة الحرارة المثلى لعمل الإنزيم = 37 ° م . لا يكون تأثير الإنزيم إلا في الشروط الملائمة للحياة (37 ° م عند الإنسان) .

4 ـ التفسير : يؤدي ارتفاع درجة الحرارة إلى تخريب الإنزيم الذي يفقد نهائيا بنيته الفراعية و بالتالي وظيفته.

الرسم التخطيطي التفسيري :



النشاط الإنزيمي للبروتينات

تعريف الإنزيم :

- الأنزيمات وسائط حيوية، تتميز بتأثيرها النوعي اتجاه مادة التفاعل (ركيزة) معينة في شروط درجة حرارة ملائمة للحياة.

العلاقة بين البنية و وظيفة الإنزيم :

1- التخصص المزدوج للإنزيم:

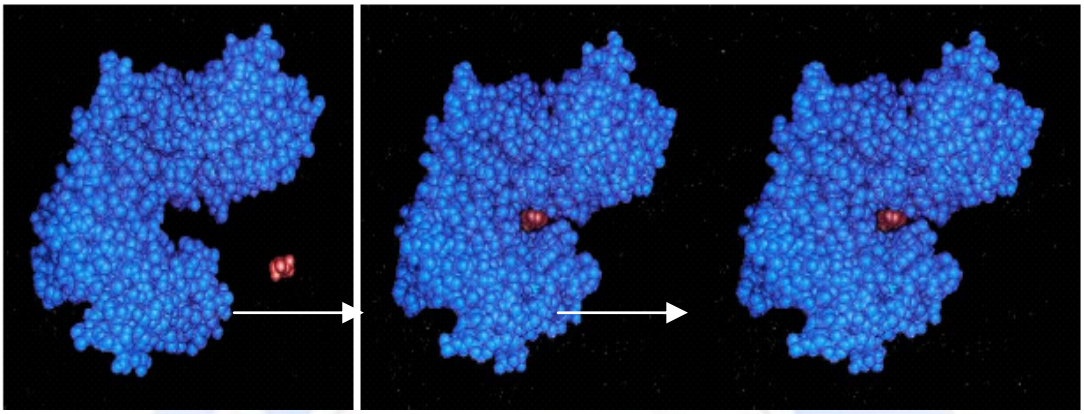
يمتلك الإنزيم تخصص وظيفي مزدوج : (تخصص نوعي بالنسبة للتفاعل الكيميائي و تخصص نوعي بالنسبة لمادة التفاعل).

2 ـ تشكل معقد " إنزيم ـ مادة تفاعل" :

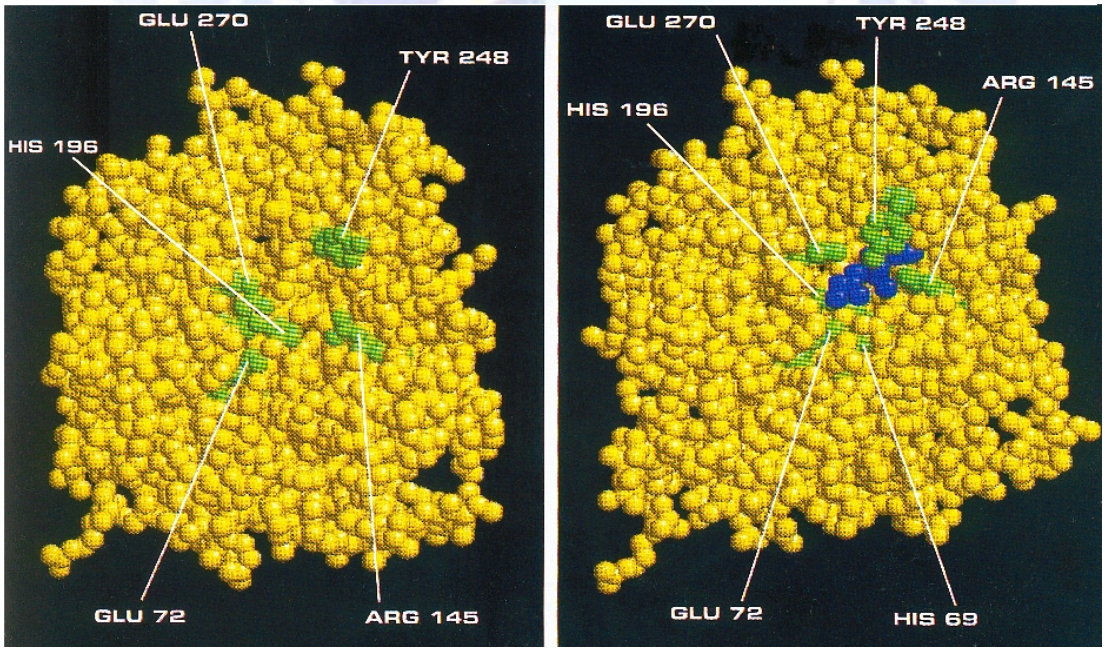
ـ يرتكز التخصص الوظيفي للإنزيم على تشكل معقد أنزيم ـ مادة التفاعل، ينشأ أثناء حدوثه رابطة انتقالية بين جزء من مادة التفاعل ومنطقة خاصة من الأنزيم تدعى الموقع الفعال.

ـ الموقع الفعال : جزء من الإنزيم له القدرة على التعرف النوعي لمادة التفاعل و تحويلها.

ـ يحدث التكامل بين الموقع الفعال للأنزيم ومادة التفاعل عند تثبيت هذه الأخيرة التي تحفز الأنزيم لتغيير شكله الفراغي فيصبح مكملا لشكل مادة التفاعل : إنه التكامل المحفز.



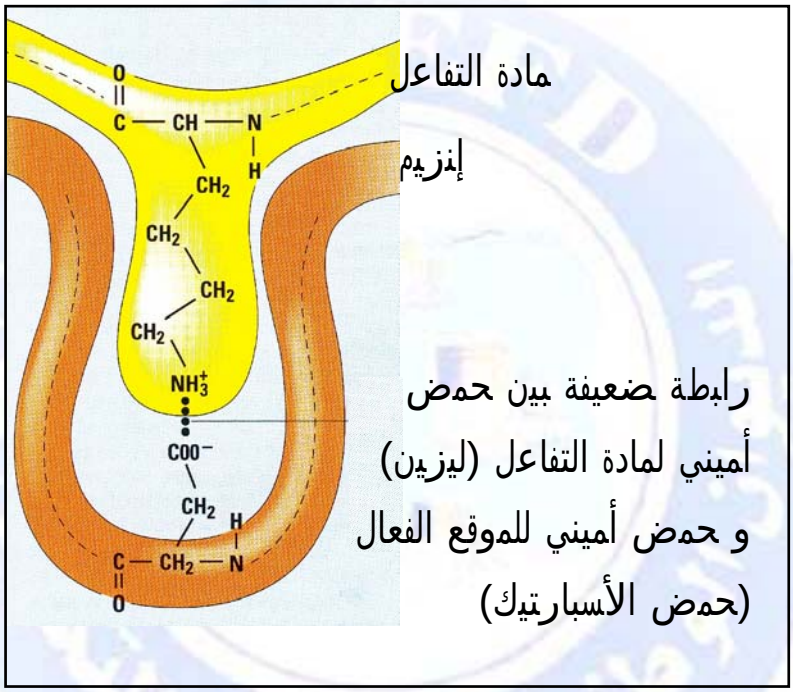
إن تغير شكل الأنزيم يسمح بحدوث التفاعل لأن المجموعات الكيميائية الضرورية لحدوثه تصبح في الموقع المناسب للتأثير على مادة التفاعل.



العوامل المؤثرة على النشاط الإنزيمي :

1 ـ تأثير الـ pH :

- تؤثر درجة حموضة الوسط على الحالة الكهربائية للوظائف الجانبية الحرة للأحماض الأمينية في السلاسل البيبتيدية وبالخصوص تلك الموجودة على مستوى الموقع الفعال



بحيث:

- في الوسط الحمضي تصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية موجبة.
- في الوسط القاعدي تصبح الشحنة الكهربائية الإجمالية سالبة.

- يفقد الموقع الفعال شكله المميز، بتغير حالته الأيونية وهذا يعيق تثبيت مادة التفاعل وبالتالي يمنع حدوث التفاعل.
- لكل أنزيم درجة حموضة مثلى، يكون نشاطه عندها أعظميا.

2 ـ تأثير درجة الحرارة :

ـ يتم النشاط الأنزيمي ضمن مجال محدد من درجة الحرارة بحيث :

▪ تقل حركة الجزيئات بشكل كبير في درجات الحرارة المنخفضة، ويصبح الأنزيم غير نشط.

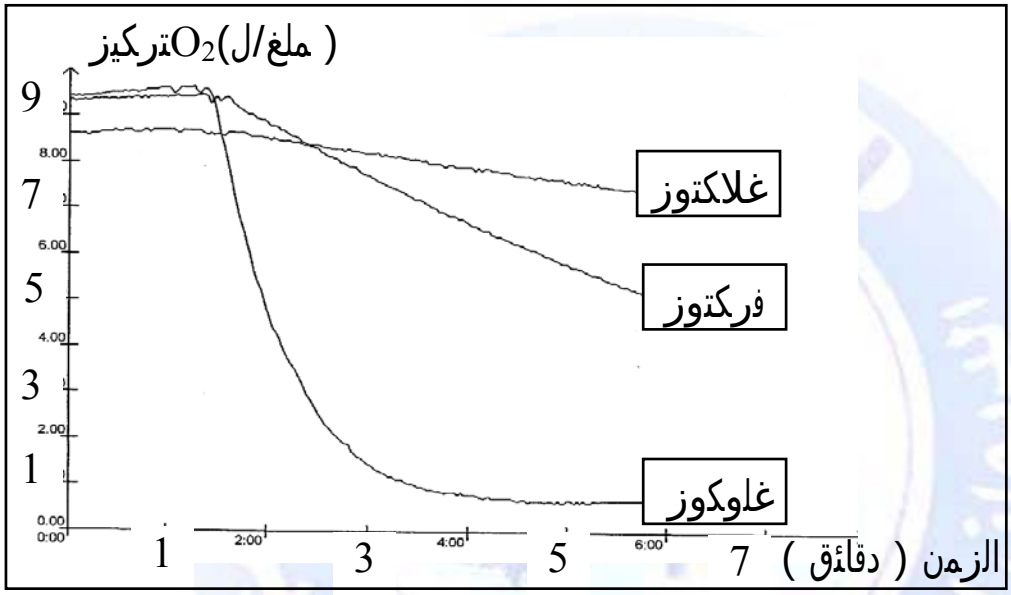
▪ تتخرب البروتينات في درجات الحرارة المرتفعة(أكبر من 40 °م)، و تفقد نهائيا بنيتها الفراغية المميزة وبالتالي تفقد وظيفة التحفيز.

- يبلغ التفاعل الأنزيمي سرعة أعظمية عند درجة حرارة مثلى، هي درجة حرارة الوسط الخلوي (37°م عند الإنسان).

التقويم

التمرين الأول :

تمثل تسجيلات الوثيقة التالية حركية استهلاك الـ O_2 عند إدخال إنزيم الغلوكوز أكسيداز في محاليل لسكريات بسيطة هي الغلوكوز، غلاكتوز وفركتوز.



ـ كيف تفسر هذه النتائج ؟

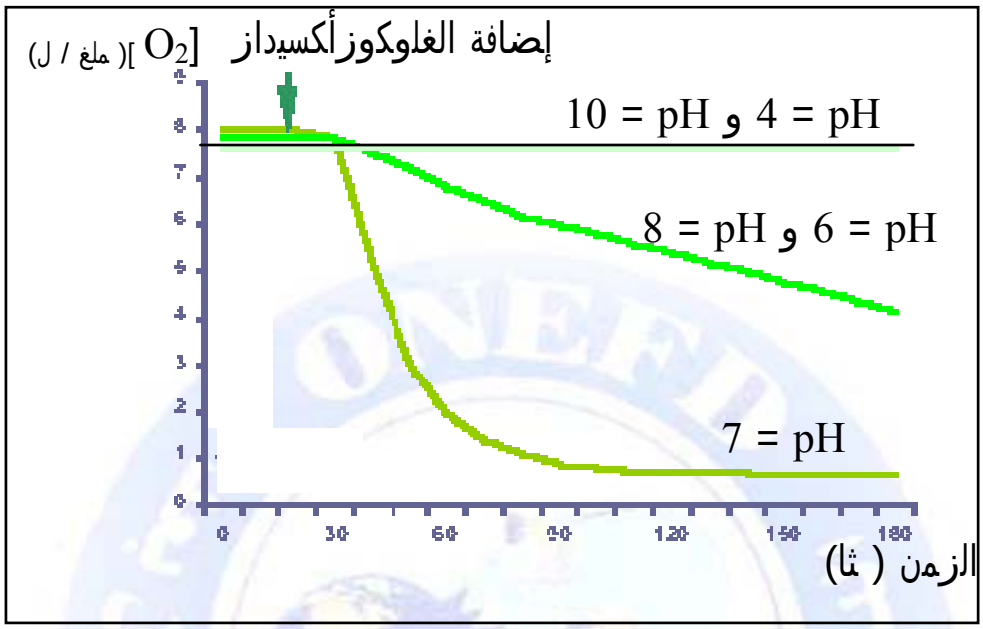
التمرين الثاني :

لدراسة تأثير درجة حموضة الوسط (pH) على التحفيز الإنزيمي أنجزت تجربة على إنزيم الغلوكوز أكسيداز المحفز للتفاعل التالي

غلوكوز أكسيداز + H_2O_2 + غلوكونولاكتون ← غلوكوز أكسيداز + O_2 + غلوكوز

في درجة حرارة ثابتة و تساوي 37°م حيث نغير درجة حموضة الوسط على الترتيب pH =4 ، pH= 6، pH= 7 ، pH =8 و pH =10.

التسجيلات المحصل عيها بالتجريب المدعم بالحاسوب (ExAO) ممثلة بالوثيقة التالية :



1 ـ قارن بين التسجيلات المحصل عليها في أوساط من pH مختلفة.

2 ـ استخرج درجة pH المثلى لعمل الإنزيم. علل إجابتك

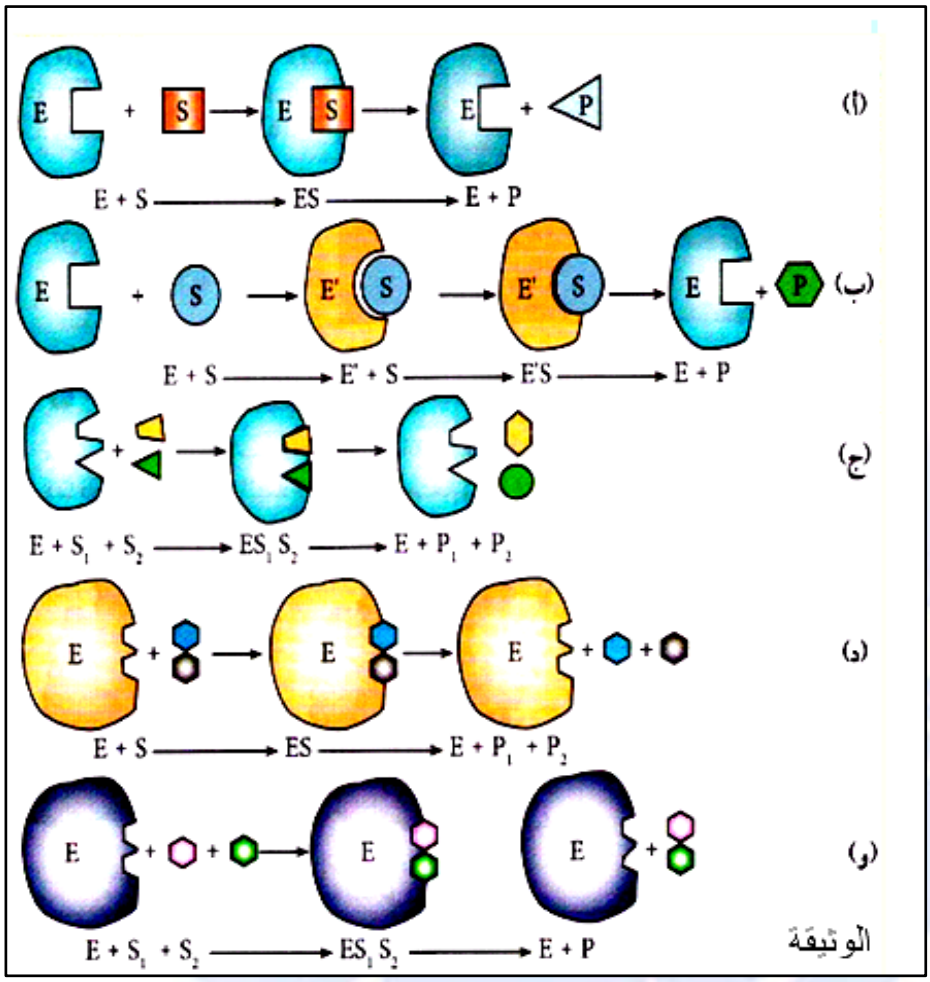
3 ـ فسر النتائج المحصل عليها.

4 ـ ماذا تستنتج ؟

5 ـ أوجد العلاقة بين تأثير درجة حموضة الوسط على التحفيز الإنزيمي وطريقة تأثير على مادة التفاعل (كيف تؤثر درجة حموضة الوسط على النشاط الإنزيمي).

التمرين الثالث :

لتوضيح العلاقة بين الإنزيم ومادة التفاعل في الحالات المختلفة ، نقترح الأشكال الموضحة بالوثيقة الموالية:



1 ـ قارن شكل الإنزيم و مادة التفاعل في الشكلين (أ) و (ب) قبل وبعد الارتباط.

ـ ماذا تستنتج ؟

2 ـ بالاعتماد على نواتج التفاعلات لكل إنزيم، حدد نوع التفاعل الذي يقوم به الإنزيم في الحالات : ج ، د ، و. ما نوع التفاعل الذي ينتمي إليه GO,Catalase ـ علل ذلك.

التمرين الرابع :

يحفز الإنزيم ماليك تفاعل نزع الكربون من حمض الماليك ليتأكسد إلـى حمض البيروفيك حسب المعادلة التالية :

$$^{-}OOC\text{-}CHOH\text{-}CH_2\text{-}COO^{-} + H^{+} \rightarrow CO_2 + {}^{-}OOC\text{-}CHOH\text{-}CH_3$$

يتم هذا التفاعل في خلايا أوراق بعض النباتات أثنـاء عمليـة التركيـب الضوئي. نقدر السرعة الابتدائية للتفاعل المحفز من طرف هذا الإنـزيم في وسط ذو pH = 6 و في وسط ذو pH = 8.5 بدلالة تركيـز مـادة التفاعل . النتائج المحصل عليها ممثلة في جدول الوثيقة التالية :

تركيز مادة التفاعـل (ميلي مول /ل)	السرعة الابتدائية في pH= 6 (وحدة اعتبارية)	السرعة الابتدائية في pH = 8.5 (وحدة اعتبارية)
0.3	0.50	0.00
0.5	0.63	0.01
1	0.77	0.03
3	0.91	0.23
10	0.97	0.77
15	0.98	0.88
20	0.99	0.93
25	0.99	0.95

1 ـ ترجم القيم العددية في الجدول إلى منحنى بياني يمثل السرعة الابتدائية بدلالة قيم pH في الوسطين.

2 ـ قارن السرعات الابتدائية في الوسطين.

3 ـ فسر الاختلاف المسجل بأخـذ بعـين الاعتبـار البنيـة الفراغيـة للبروتينات.