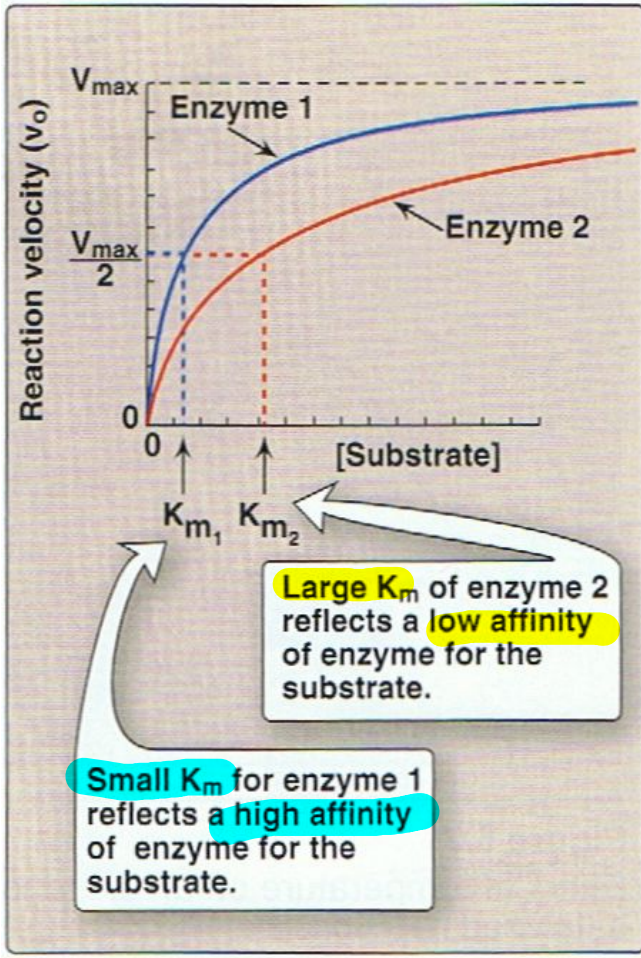
Enzymes Part two

نكمّل البارت التاني من الإنزيمات 🏃‍♀️

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



- 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

بعد ما عرفنا شو العوامل إلّي بتأثر على الإنزيمات، رح نحكي هسا عن equation اسمها Michaelis-Menten equation نسبة لأسماء العالمين إلّي اخترعوها

- هاي المعادلة بتوصف كيف سرعة التفاعل بتتفاوت بالنسبة لل concentration of substrate، أو عن مدى ارتباط ال substrate بالإنزيم .
وجمعت 3 أشياء هم : initial reaction velocity, maximal velocity, substrate concentration مع ثابت المعادلة
ارجعوا للسلايد فوق وشوفوا كل وحدة رمزها بال equation

- العلاقة طردية بين ال velocity of the reaction مع ال enzyme concentration.

- بناءً على هاي المعادلة ح يكون في عندي نتائج ::
١) تركيز ال substrate بكون أكبر من تركيز الإنزيم ف بالتالي بستنتج إنه بأي وقت ممكن يكون فيه ال substrate المربطة بالإنزيم قليلة

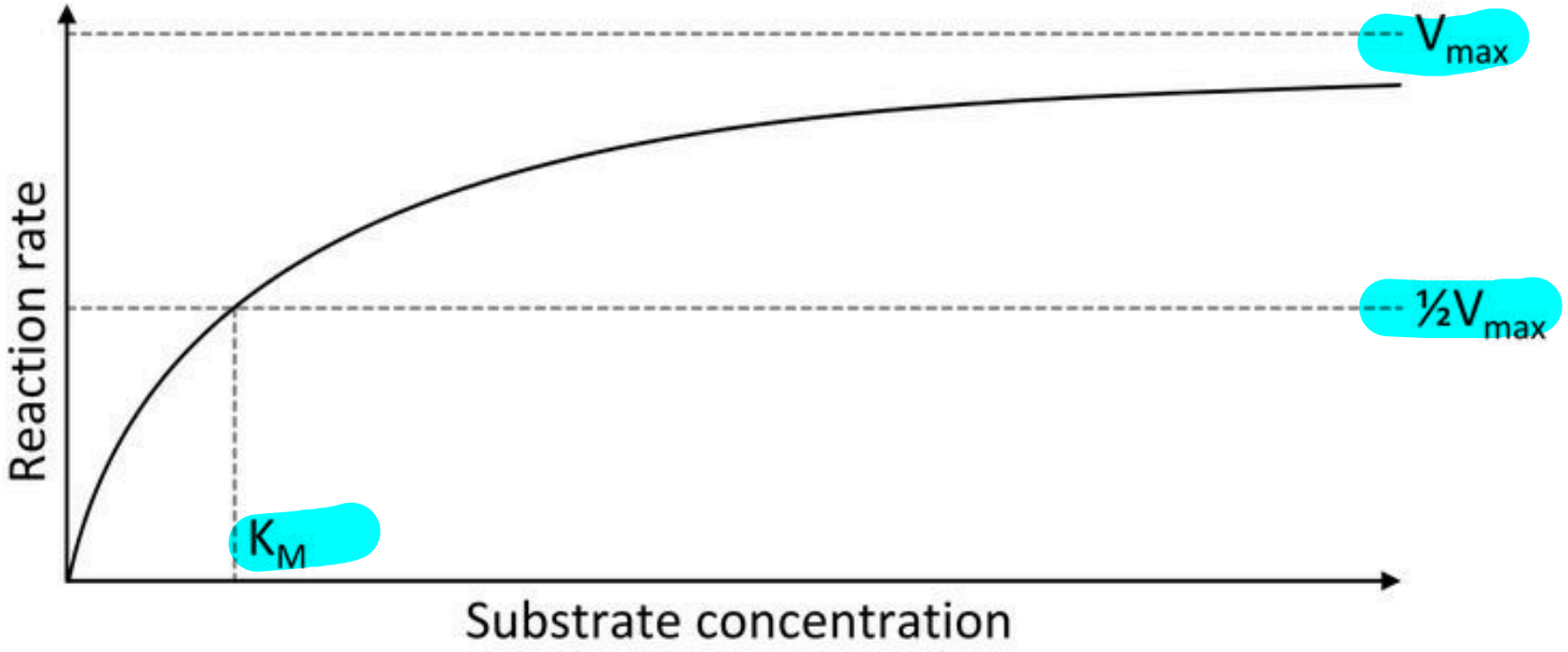
٢) ارتباط ال substrate مع الإنزيم بعطينا إشي اسمه Enzyme Substrate Complex(ES) ، هاد ال Complex ما ح يتغير مع مرور الوقت ح يضل steady-state assumption ، بستنتج من هالجملة إنه ال reaction بضل شغال طول الوقت

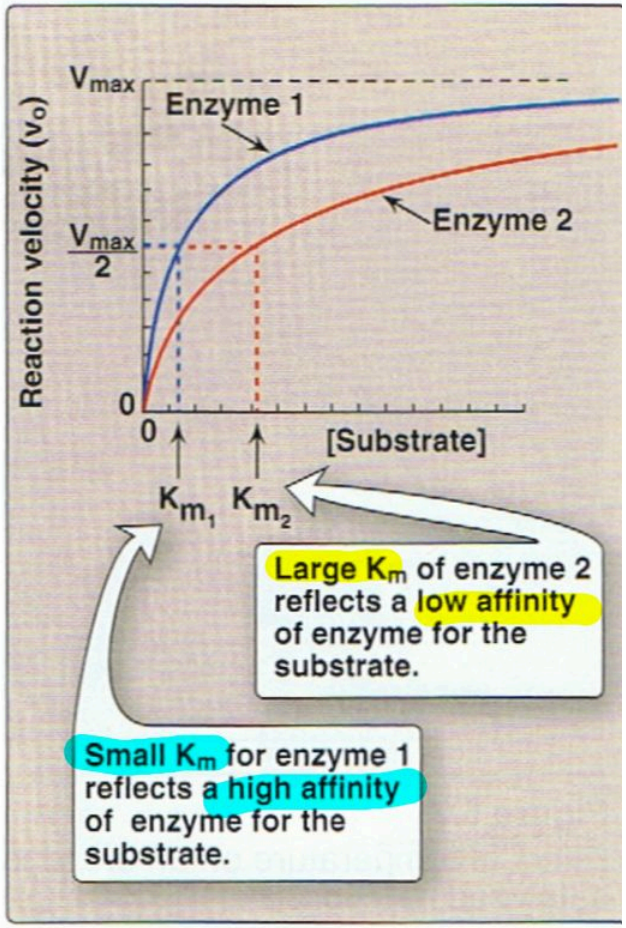
Michaelis-Menten constant

- 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_m does not vary with the concentration of enzyme
- 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
- Large K_m reflects a low affinity of enzyme for substrate because a high concentration of substrate is needed

- حكينا إنه في عندي Km وهو ثابت المعادلة ، من خلاله (طبعاً يُعتبر خاصية مميزة للإنزيم) بعرف مدى ارتباط ال substrate بالإنزيم

- كمان هاد ال Km شو بستفيد منها ؟ هي رقم بتساوي تركيز ال substrate إلّي بتكون عنده سرعة التفاعل بتساوي نصف السرعة القصوى ، ممكن أمثّلها بمعادلة V°= ½Vmax شوفوا الصورة :





بالتالي بستنتج :

١) إذا كانت قيمة Km عالية ، ف رح تكون ال affinity أقل ، يعني كمية الإنزيمات إلّي بدها تركيز substrate عاااالي عشان توصل لنصف السرعة

Km⬆️/ affinity ⬇️/ substrate concentration is needed ⬆️

٢) إذا كانت قيمة Km منخفضة ، رح تكون ال affinity عالية، يعني كمية الإنزيمات إلّي بدها تركيز substrate منخفضضضض لحتى توصل لنصف السرعة

Km⬇️/ affinity ⬆️/ substrate concentration is needed ⬇️.

يعني فعليًا Km ما إلها علاقة بال enzyme and substrate concentration ، هي عبارة عن ثابت "رقم" وبتعبّرلي عن ال affinity للإنزيم مع ال Substrate.

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 (v_o), as well as that of V_{max}, are reduced to one half that of the original.

- When [S] is much less than K_m, 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 V_{max}. The rate of reaction is then independent of substrate concentration (zero order)

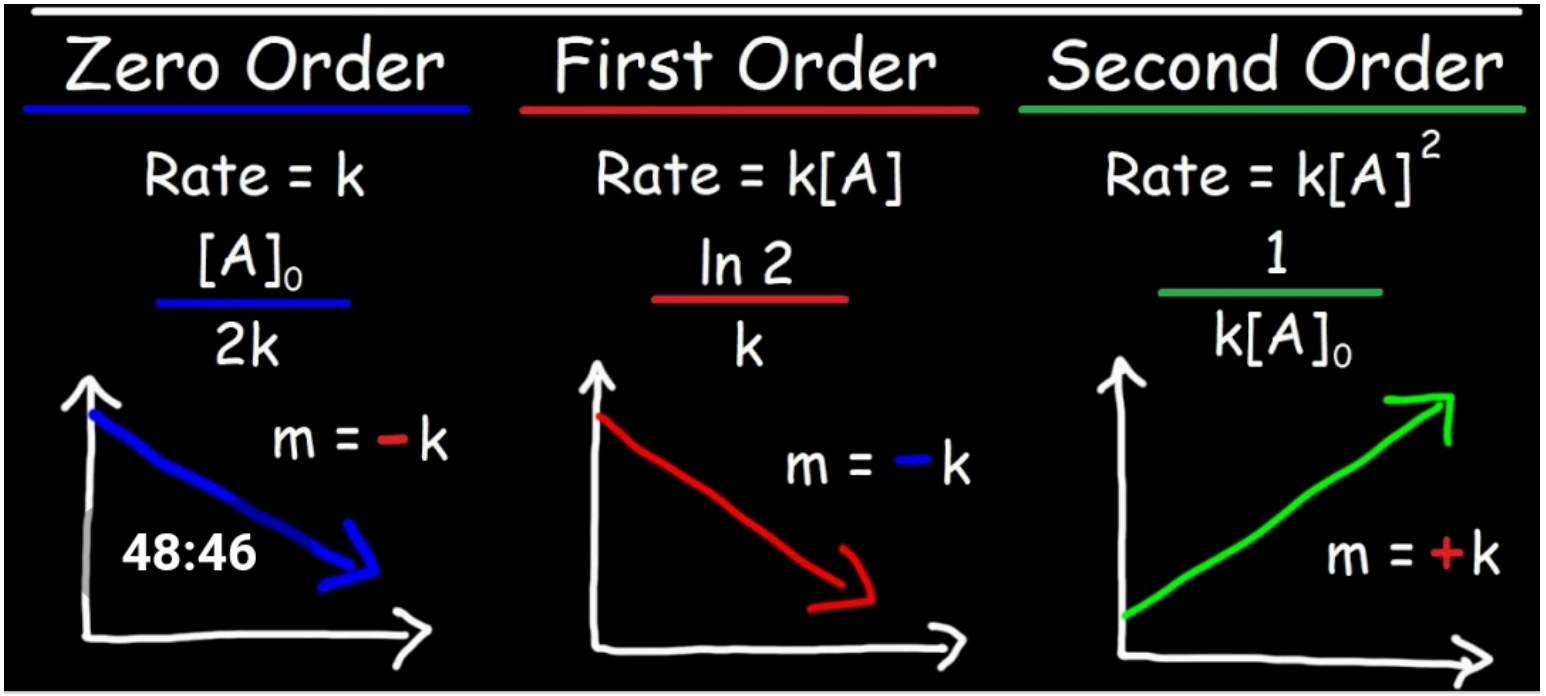
نحكي عن ال rate of reaction في منه تلات أنواع :

النوع الأول zero order ما إله دخل بال substrate concentration ، بضل ال rate ثابت

النوع التاني first order بكون ال rate فيه عبارة عن ثابت مضروب بال substrate concentration

النوع التالت second order بكون ال rate فيه عبارة عن ثابت مضروب بتركيز ال substrate لكن مرفوع لقوة تربيع

شوفوا الصورة والفرق بين التلات أنواع :



- قبل ال km نوع ال rate عبارة عن first order لأنه ال substrate concentration أقل من ال km فبالتالي ح يكون ال velocity of the reaction بتتناسب طرديًّا مع ال Substrate concentration

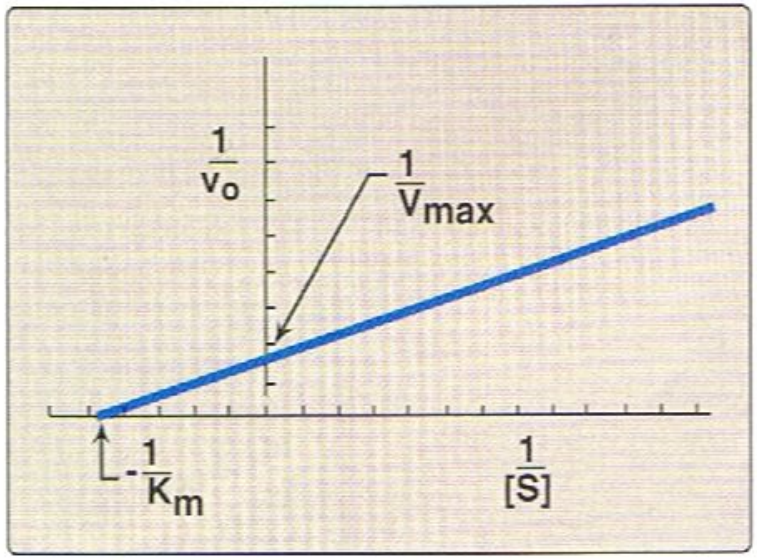
وبعد ال km بكون ال substrate concentrationأكبر من ال km ف بالتالي ال velocity ح تكون ثابتة وبتساوي تقريبًا Vmax ف هون ال rate عبارة عن zero order
هون بال zero ما بكون إله علاقة بال substrate concentration.

- إذا قللت concentration of enzyme للنصف، ما رح تتأثر km ،بينما V° بتقل للنصف وكذلك V max بتقل لنصف قيمتها .

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

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

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



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

من ناحية الرسم عرفنا كيف حسب ال Michael -menten equation

طيب في حال بدي أعرف قيمة كل وحدة ، يعني فعليًا لو ترجعوا للمنحنى وتجربوا تاخدوا قيمة Vmax ما رح تطلع بالزبط ، ف الحل هون هو Lineweaver equation '

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**.

معظم الأدوية بتشتغل ك inhibitor
شو يعني inhibitor؟ مادة بتعمل diminish"تقليل" لل velocity of reaction

في منه قسمين :
الأول : Reversible طبعًا أغلب الأدوية عنا هي reversible بميّزها من ارتباط الإنزيم بأي رابطة تانية غير ال Covalent bond ، ومن شي تاني هو ال dilution ،
إذا عملت dilution لتفاعل الإنزيم شو ح يصير لل inhibitor؟ رح تقل للنصف، فبالتالي رح تزيد سرعة التفاعل
بينما النوع التاني irreversible بميزها من ارتباط الإنزيم بال Covalent bond، ولو عملناله dilution ما رح يتأثر ال inhibitor.
يعني باختصار إذا رجع ال activaty للإنزيم بسمّيه reversible
وإذا ما رجعت ال activaty of enzyme بسمّيه irreversible.

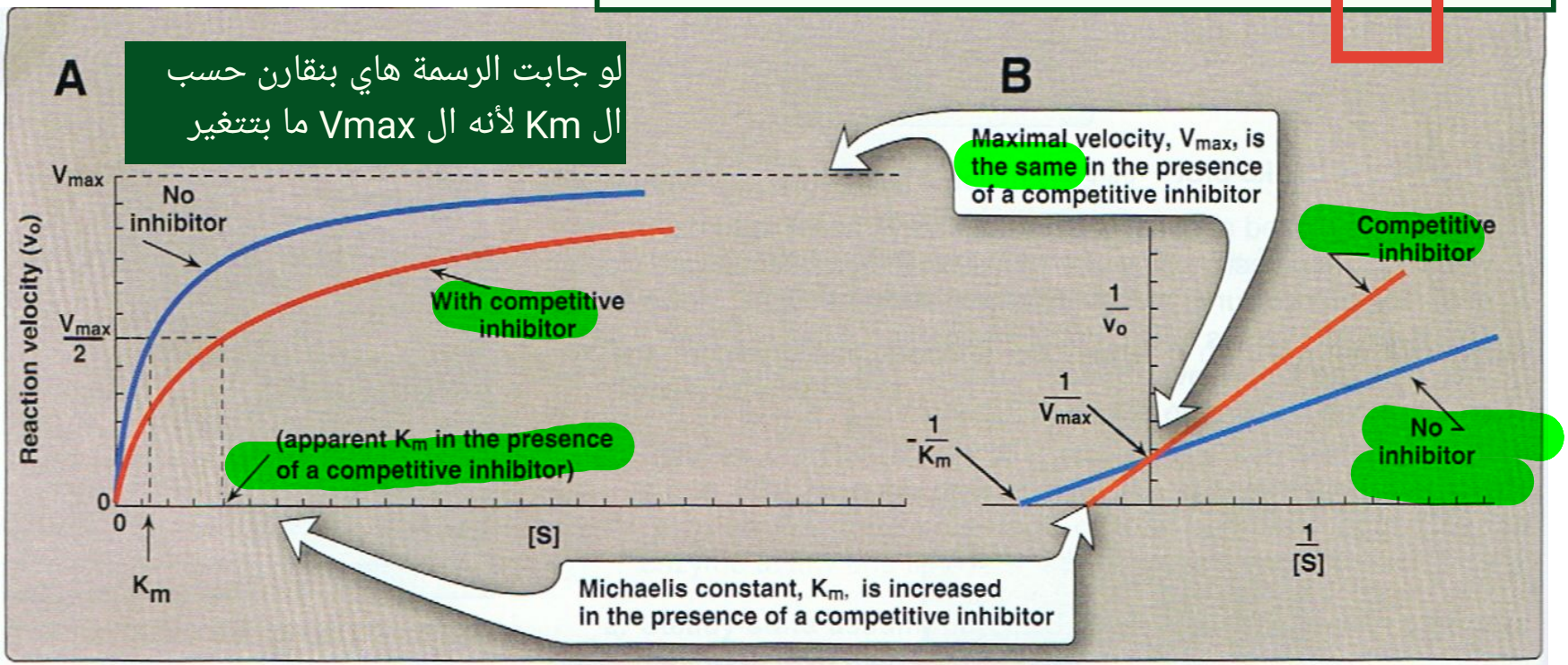
أكبر مثال على أدوية irreversible هو الأسبرين ، بنلاحظ إنه لازم الشخص يوقفه قبل بأسبوع من العملية الجراحية ، لأنه برتبط مع ال cox ف بنحتاج لتكوين إنزيم جديد وهكذا

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

قبل ما تبلشوا الشرح في فيديو انيميشن دقيقتين كتير حلو ورح يسهّل عليكم الفهم
اكبسوا عالمربع بس تفتحوا الملف من كروم عشان يفتح اللينك



التقسيم التاني هو competitive and noncompetitive

نبلش بال competitive هون بكون في مواقع موجودة عالإنزيم برتبط فيها ال inhibitor ، وبنافس ال substrate على نفس المكان
ف إذا كان موجود ال inhibitor ، رح تكون قيمة ال Km عالية ف بالتالي رح تقل ال affinity حسب العلاقة إلّي حكينا عنها.

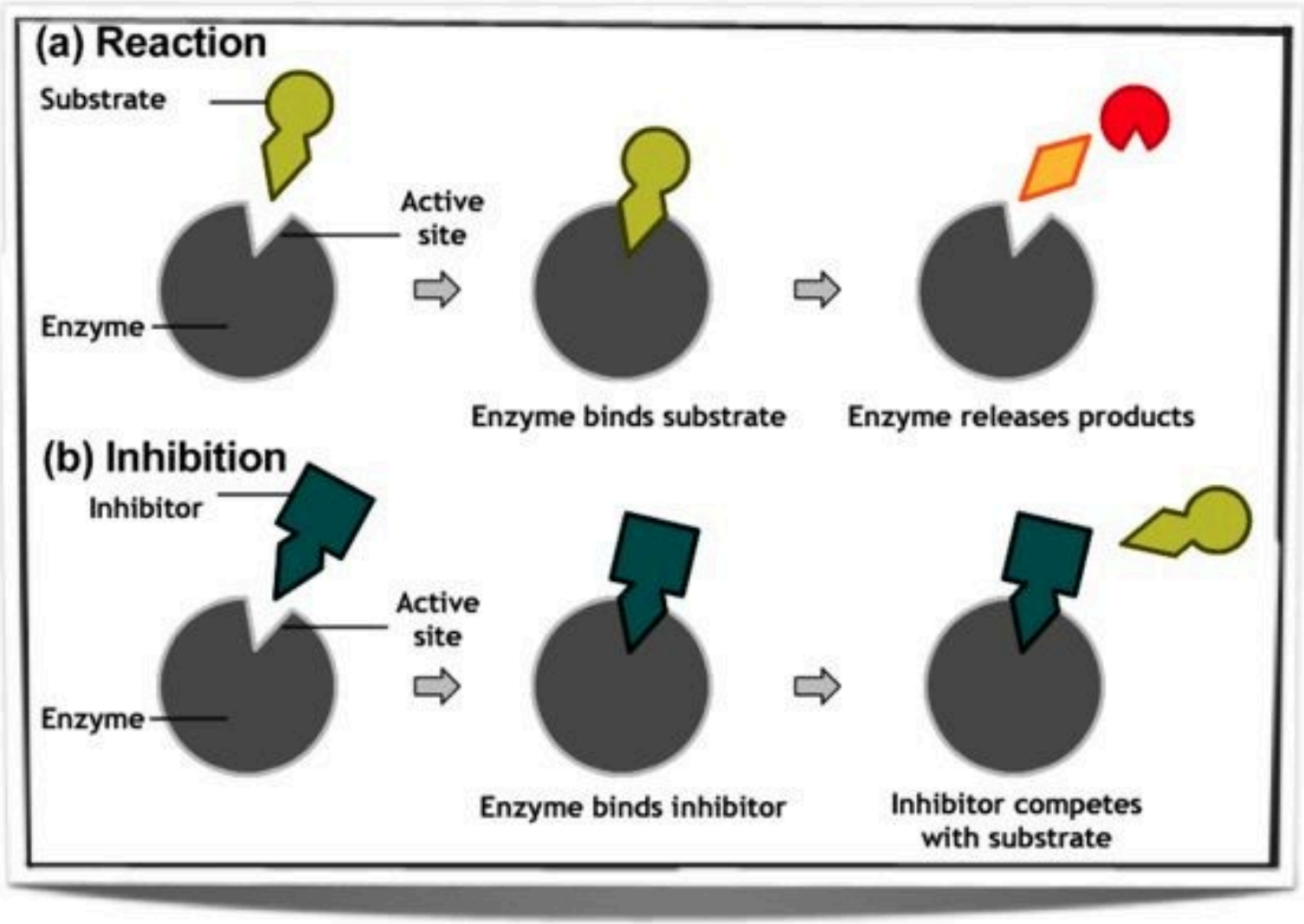
إذا كان عدد ال substrate كتير أكبر من ال inhibitor هي بترتبط بالمكان
ف بالتالي بستنتج بوجود ال inhibitor :
Km⬆️// Affinity ⬇️

أما ال Vmax ما ح تتأثر
طيب ليش قلت ال affinity ؟ لأنه عم يصير هون Competition على نفس المكان !
مثال على ال inhibitor competitive هو أدوية ال statin إلّي بتعمل inhibition for cholesterol synthesis عن طريق تثبيط إنزيم HMG-COA reductase فبالتالي بقلل نسبة الكوليسترول بالدم

عند ارتفاع الكوليسترول: متل ما حكينا بالباثو إنه في عندي مصدرين لتكوين الكوليسترول وهم الأكل وعملية التصنيع نفسها ، ف بنطلب من الشخص يخفف الأكل إلّي بحتوي على الكوليسترول ، وعن طريق تثبيط الإنزيم ف بقل من مكان التصنيع طيب بنعرف الكوليسترول بنستخدمه بتصنيع هرمونات وهكذا ، ف حال عملية التثبيط إلّي صارت ، كيف رح تتصنع الهرمونات هاي ؟ من الدم (لأنه بكون متراكم فيه كوليسترول ف هيك بجبر الدم إنه يستعمل الكوليسترول إلّي فيه بالتصنيع ف بقلل من نسبة الكوليسترول.

طيب شو تأثير هاي ال inhibitor competitive على ال Vmax , Km
لو زدت من تركيز ال substrate رح ينافس ال inhibitor وياخد مكانه ف بالتالي بوصل لنسبة Vmax طبيعية
معناها لو بزيد من تركيز ال substrate عشان أحصل على نفس السرعة، كان ممكن أوصلها بتركيز أقل او ما في inhibitor ف بالتالي Km بتزيد

صورة توضيحية لل Competitive inhibitor

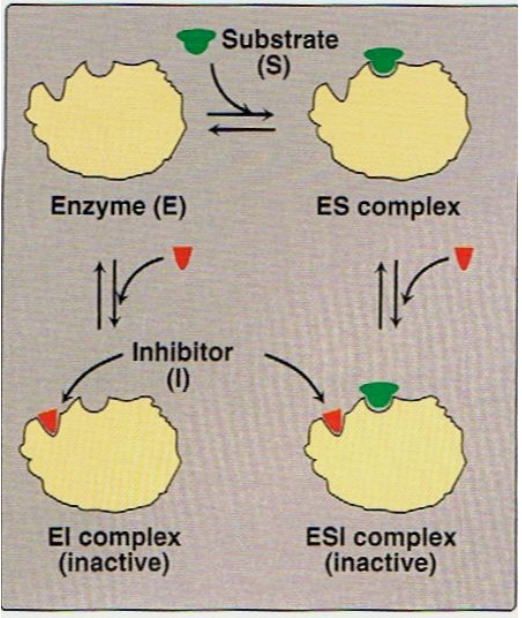


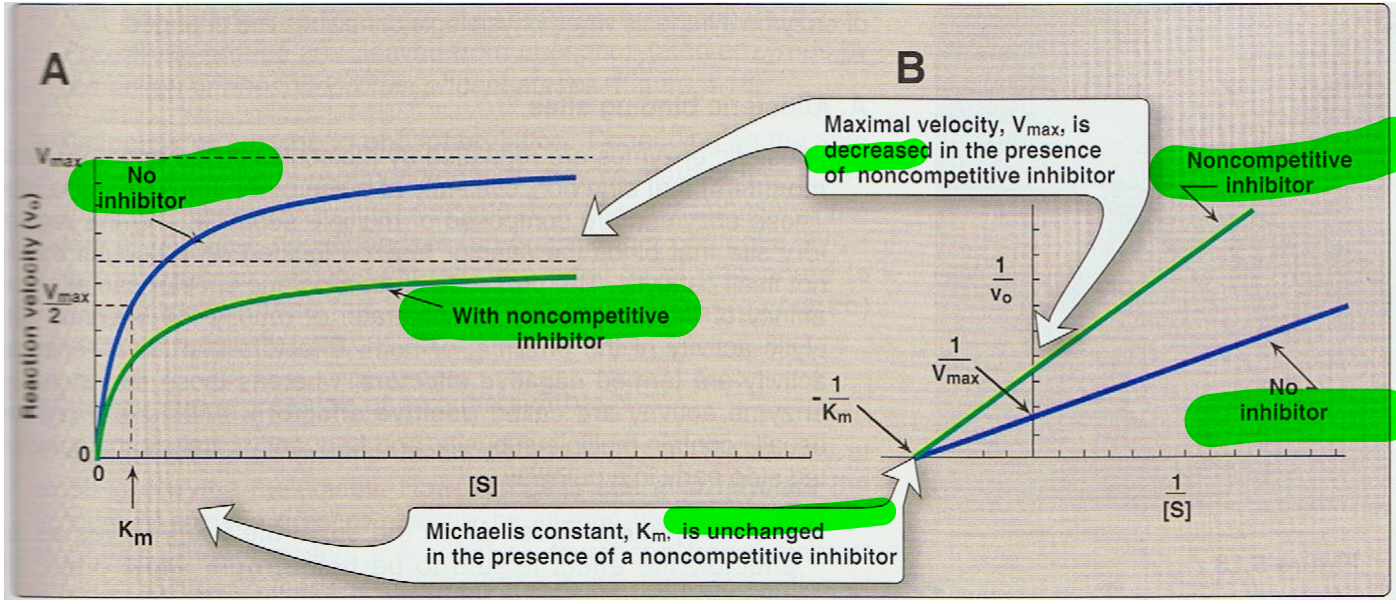
Inhibition of enzyme activity

Noncompetitive inhibitors

- Occurs when the inhibitor and substrate bind at different sites on the enzyme.
- It can bind either free enzyme or the ES complex, thereby preventing the reaction from occurring
- K_m is unchanged
- V_{max} is decreased

شوفوا الرسمات





Examples on enzyme inhibitors

- non- competitive inhibitor: lead forms covalent bonds with the sulfhydryl side chains of cysteine in proteins
- Ferrochelatase, an enzyme that catalyzes the insertion of Fe^{+2} into protoporphyrin (a precursor of heme) is sensitive to inhibition by lead.
- 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

من الأمثلة بالأدوية :

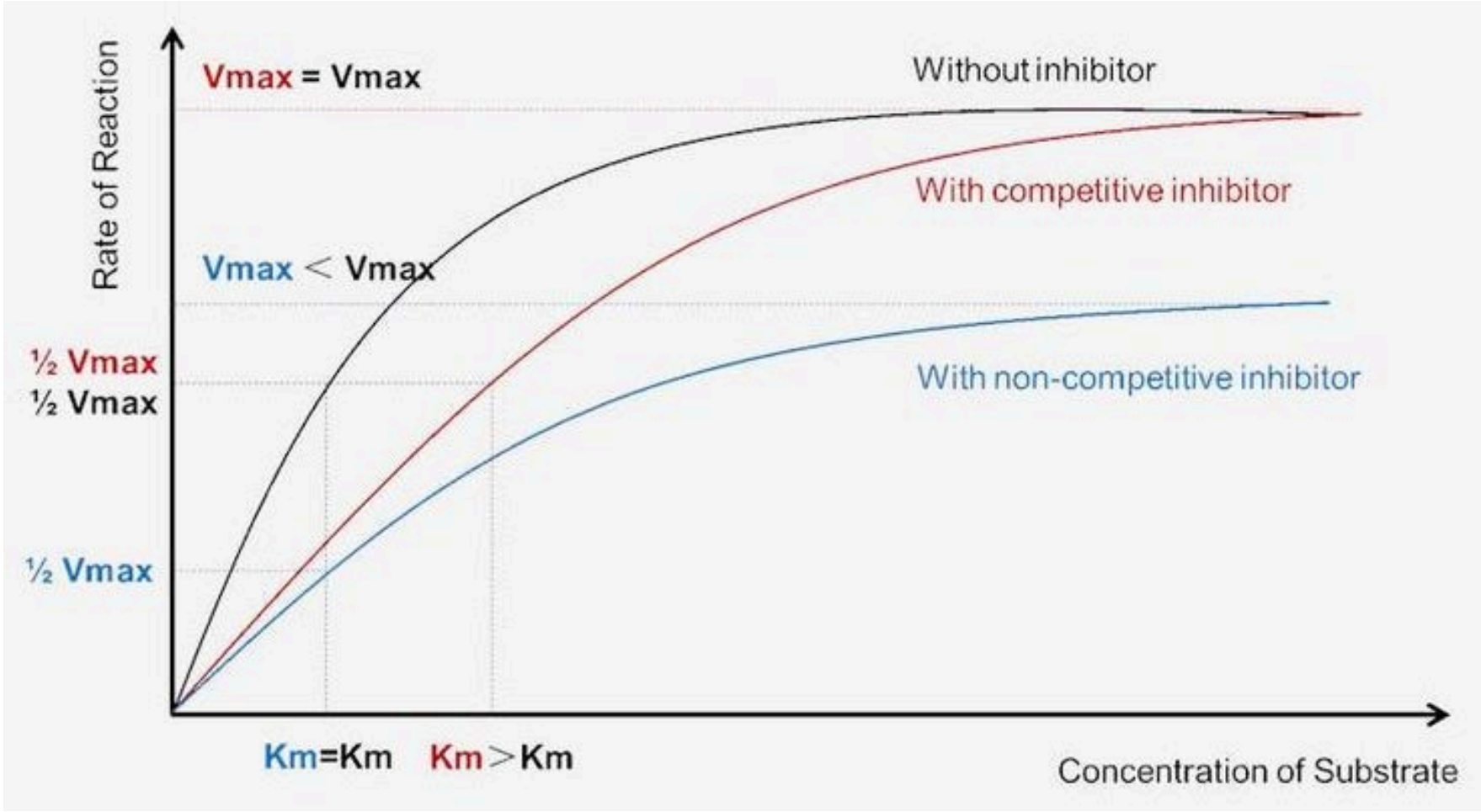
١) أول شي Beta-lactam antibiotics (penicillin and amoxicillin) وظيفتهم يعملوا تثبيط للإنزيمات الموجودة في ال cell wall of bacteria ف بتموت وبتحسّن المريض, وما رح نتأثر إحنا لأنه ما عنا cell wall

٢) تاني شي angiotensin - converting enzyme وهاد معروف عند الكل ف بصراحة ما رح أزوّد عليكم أكتر من الموجود بالسلايد ، بس نعرف أسماء الأدوية : cotopril, enalapril, Lisinopril.

نيجي للقسم التاني هو Noncompetitive
بهاي الحالة Vmax رح تقل لأنه عدد ال activation enzyme برضو قلت
بينما ال Km ما بتتغير لأنه التغيير هون بتركيز ال substrate ما بفيد ، ف بالتالي ما بتتغير ال affinity ف بالتالي Km ثابتة

طيب شو بختلف ال Noncompetitive? إنه هون ما في منافسة ع نفس المكان، وإنما ال substrate وال inhibitor برتبطوا بمواقع مختلفة على الإنزيم .
ممكن يرتبط بإنزيم لحاله أو بكون ع شكل ES Complex وبالجهتين هاد ال inhibitor رح يثبّط عملهم
طالما ما في تنافس بين ال substrate وال inhibitor ف هون حتى لو زدنا بتركيز ال substrate ما رح يفيد إشي .
من الأمثلة على Noncompetitive هي ال Lead
هاد ال Lead عبارة عن رصاص heavy metal بعمل كمثبط بحيث برتبط ب Covalent bond مع ال sulfhydryl group الموجودة في ال Cystein
بكون عنا إنزيم مهم اسمه Ferrochelatase وظيفة هاد الإنزيم يدخل ال Fe+3 على ال protoporphyrin ف بتصنّع الهيم و إلّي هو مصدر لل RBCs
ف هاد الإنزيم لو ارتبط بال lead رح يصيرله inhibition ورح يصيب الشخص فقر دم وممكن توصل للوفاة إذا زاد عن الحد .
ف بالمُختصر lead inhibit the Ferrochelatase.

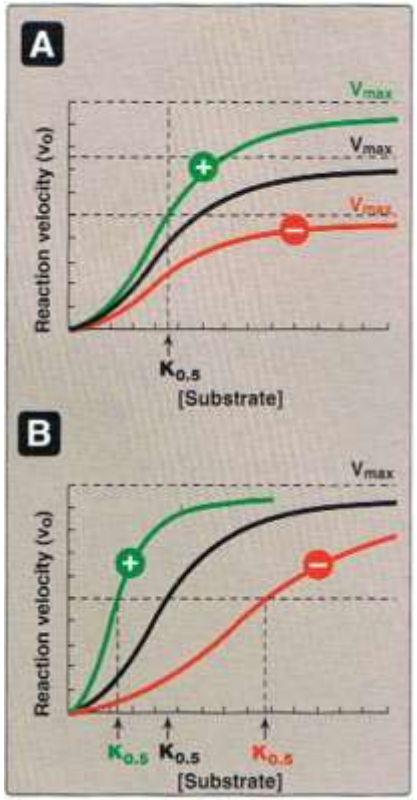
حسيت الصورة لخّصت السلايدات والعلاقات

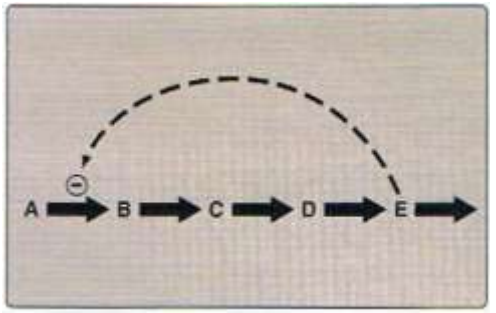


Regulation of enzyme activity (Allosteric regulation)

- Allosteric enzymes are regulated by compounds called effectors (or modifiers)
- Can have positive or a negative effect
- May affect the V_{max}, K_m or both.
- Can be
  - homotropic (the substrate itself) sigmoidal shape curve
  - heterotropic (the product or other subsance) feed back inhibition

اكبسوا المربع وشوفوا الڤيديو دقيقتين





أول شي لما أحكي Regulation of enzyme activity يعني بدي أتحكم بنشاط الإنزيم إما activation or inhibition ، وهالحكي ح يصير بتلات طرق :

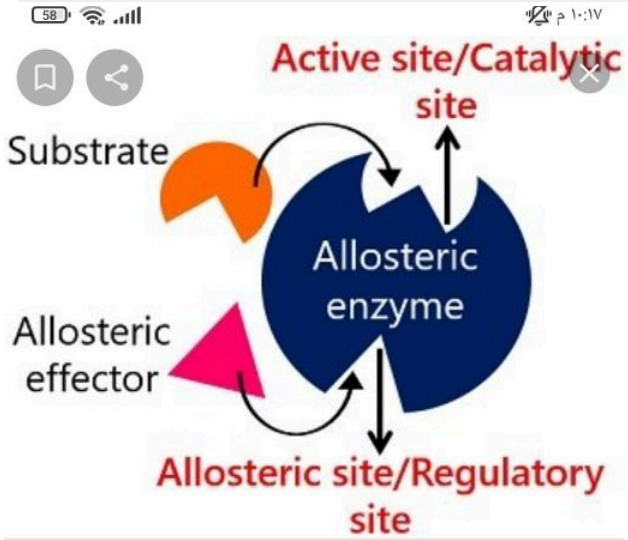
الأولى : عن طريق ال allosteric enzyme حطيتلكم صورة عنه ، هي عبارة عن إنزيمات بتتأثر شكلها مجرد ارتباطها ب effectors . ف بالتالي بحكي allosteric enzyme regulated by effectors.

بتأثر على قيمة Km or Vmax أو التنتين سوا .

في حال ارتبط الإنزيم بال effectors وزاد نشاط الإنزيم ف بسمّيه بهاي الحالة positive effects، يعني عمل activation for enzyme.

وفي حال ارتبط الإنزيم بال effectors وقل نشاط الإنزيم بسمّيه negative factors, يعني عمل inhibition for enzyme.

ملاحظة إني أنا مستحيل الاقي two pathway عم يشتغلوا عكس بعض بنفس الوقت يعني مثلاً ألاقي انزيم عم يكسّر fatty acids وبنفس الوقت انزيم تاني ببني fatty acids مستحيييييل هالشي .



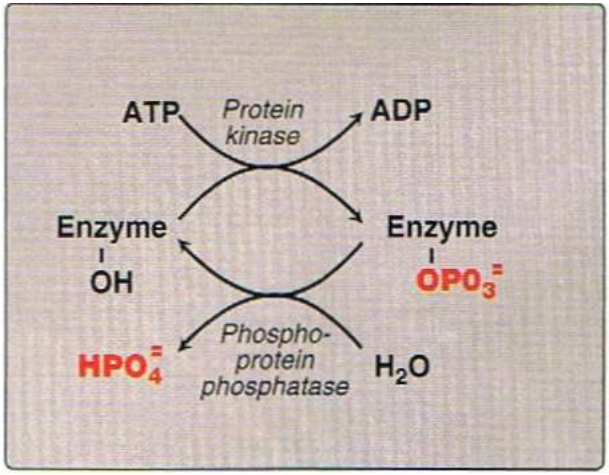
هاي ال effectors ممكن تكون homotropic ، هون بتكون المادة نفسها عم تشتغل ك effectors, هون لما ترتبط ال substrate بإحدى مواقع ال active site الموجودة عالإنزيم رح تحفز ارتباط باقي ال substrate بالأماكن التانية ف بزيد من ال affinity ، وبكون هون المنحنى sigmoidal shape.

أما النوع التاني Heterotropic, وقت يكون ال effectors مادة تانية غير ال substrate ومثال عليه Feedback inhibition

الخلية بتستخدم هاي الطريقة لما تتحكم بالمواد إلّي بتصنّعها ، ف لو النواتج صار أكتر من المُستخدم بتروح بتثبّط عملية التصنيع وبصير في اتزان.

Regulation of enzyme activity (Covalent modification)

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



- The phosphorylated form of the enzyme can be more or less active
  - Glycogen phosphorylase (glycogen degradation) increase activity upon phosphorylation
  - Glycogen synthase activity decreases

induction and repression of enzyme synthesis due to the above factors

٢) بعملية ال phosphorylation بستخدم فيها ال ATP as phosphate donor ، وبعملية ال dephosphorylation بتصير بواسطة Phosphoprotein phosphatase.
هاي العملية ممكن تقلّل من activation للإنزيم أو تزيدها، ناخد مثال عشان يوضح الموضوع أكتر :
عنا glucagon and insulin أشهر مثال ع إنهم يزيدوا من ال activity أو ينقصوها .
مثال عليها عملية بناء أو هدم ال glycogen، في عندي إشي اسمه glycogen phosphorylase بزيد من ال activation
وعندي glycogen synthase بتعمل العكس بحيث اتقلل من ال activation.
هسا هدول التنين وقت يرتفع عندي الإنسولين أو ال glucagon بصيرلهم phosphorylation or dephosphorylation

لما بكون صايمة يعني ما في سكر يكسر الglycogen ف بالتالي بتصير عملية الفسفرة ح تقل ال activity لل glycogen synthase وبتزيد ال activity لل glycine phosphorylase
تالت إشي عنا ال induction (increase) and repression(decrease)
هلأ سابقًا كنا نحكي تنظيم لعمل الإنزيم ، أما هون تنظيم لتصنيعه من الأساس

مثلاً وقت يرتفع نسبة الجلوكوز بالدم ، هون الخلية بتوصل هرمون الإنسولين إلّي ح تكون وظيفته تحفيز الخلايا لتصنيع الإنزيمات إلّي ح تزيد من تصنيع الجلوكوز في الكبد ع شكل glycogen

بينما في حال انخفاض الجلوكوز بالدم ح يصير العكس بحيث إنه بيجي هرمون ال glucagon بحفز الخلايا لتصنيع الإنزيمات إلّي ح تاخد ال glycogen من الكبد وتكسرُه وينتج جلوكوز وهاد مثال وقت نكون صايمين ، بنلاحظ بهاي الطريقة إنه كانت عملية ال regulation بواسطة هرمونات وبوقت أطوَل من الباقي .

غدًا ترضيكَ
أيّام القطافِ
فلا تنطفئ .
@1LLNA