Enzymes- An introduction

Enzymes :are Biologic (organic catalysts) polymers that:
- catalyze the chemical reactions
-It's function is RNA processioning : Conversion of RNA from Immature nonfunctioning RNA to mature functioning one
-carried catalytic character behave like enzyme TDNA to URNA.

all enzymes are protein in nature except one type called ribozymes or called small nuclear RNA , these are short stretch of RNA from 90 to 300 nucleotides, but they are carrying catalytic character which means that they are behaving like enzymes, they are used in RNA processioning

Enzymes are neither consumed nor permanently altered as a consequence of their participation in a reaction.

enzymes In addition to being highly efficient, are also extremely selective catalysts.

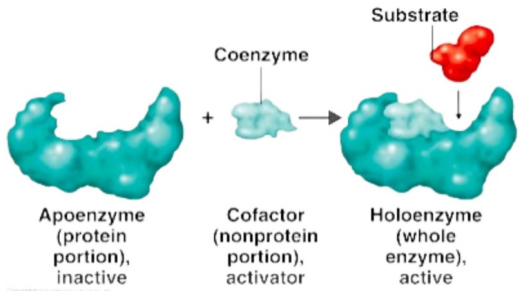
We have 2 types of catalysts :
1. Organic (Enzymes) : high turnover number (10 to power 6 to 10 to the power 12 (106 – 10^12)
2. Inorganic : like metal ions ,
less turn over number(10 to power 3 (10^3)

enzymes (organic)Thermolabile, site specific, with a high turn over number compared to the inorganic catalysts.

General information about enzumes

enzymes structure components :

- Apoenzyme: is an enzymatically inactive protein part of an enzyme, which requires a cofactor for its activity
- cofactor: is a non-protein chemical compound or metallic ion that is required for an enzyme function as catalyst
- A substrate: is a molecule that an enzyme reacts with
- Holoenzyme : it's wool enzyme active which is substrate +cofactor+enzyme +Apoenzyme

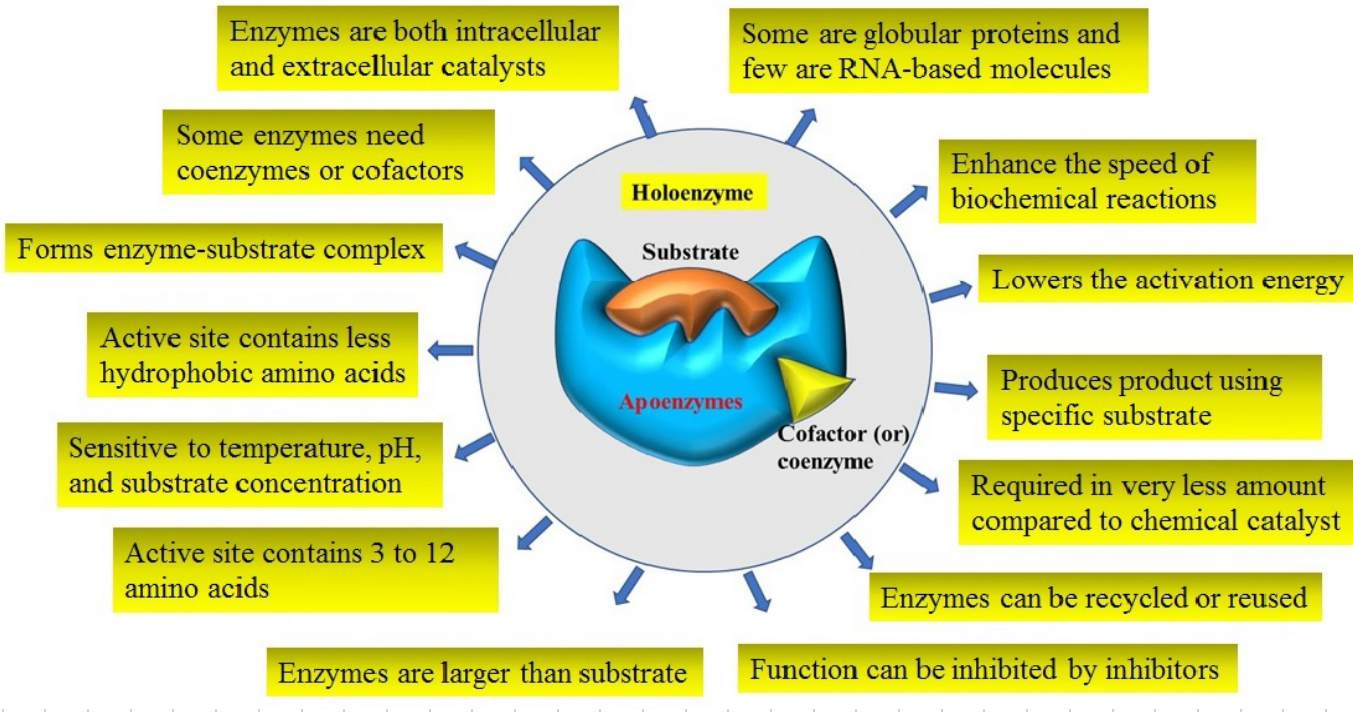


#active enzyme may contain cofactor or not
#non-active enzyme doesn't contain cofactor

#blood PH =7.35-7.45

enzyme are in three form depend upon Axel ratio which is length / with
1 – globalor protein : L\W <10 wich is soluble (hydrophilic)
2 – fibrous protein: L\W >10
3 – RNA– based molecule which is ribozymes

20 characteristics of enzymes



Nomenclature of enzymes

1-In most cases, enzyme names end in –ase
The common name for a hydrolase is derived from the substrate examples:
Urea: remove -a, replace with -ase = urease
Lactose: remove - ose, replace with - ase = lactase

3- Some names are historical - no direct relationship to substrate or reaction type
Catalase
Pepsin in stomach
Chymotrypsin and Trypsin in instine

2- Other enzymes are named for the substrate and the reaction catalyzed
Lactate (substrate)dehydrogenase (reaction) ;remove of hydrogen atom
Pyruvate (substrate)decarboxylase(reaction); remove of carboxyl group

Classification of Enzymes

- Enzyme Commission (EC) – according to International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB) - Each enzyme was given 4 digit numbers [1.2.3.4]

1st one of the 6 major classes of enzyme activity

2nd the subclass (type of substrate or bond cleaved)

3rd the sub-subclass (groupactedupon, cofactorrequired,etc...)

4th a serial number... (order in which enzyme was added to list)

1- Oxidoreductases (EC.1):catalyze redox reactions, such as (Alcohol dehydrogenase [EC 1.1.1.1])
Reactions:booth reaction in same time
- Reductases
- Oxidases

Lactate —(lactate dehydrogenases)—> pyruvate

2- Transferases (EC.2) transfer a group from one molecule to another, such as (Hexokinase [EC 2.7.1.2])
-Transaminases catalyze transfer of an amino group
- Kinases transfer a phosphate group

methyl group donor+ Norepinephrine —(PNMT (Phenylethanolamine N-Methyltransferase))—>Epinephrine

PNMT Phenylethanolamine N-Methyltransferase found in adrenal medulla

3- Hydrolases (EC.3) cleave bonds by adding water, such as (Alkaline phosphatase [EC 3.1.3.1])
- Phosphatases
- Peptidases
- Lipases

triglyceride —(Lipase)—> 1 Glycerol +3 fatty acids
their bond broken by ester bond

4- Lyases (EC.4) catalyze removal of groups to form double bonds or the reverse break double bonds, such as(Pyruvate decarboxylase [EC 4.1.1.1])
- Decarboxylases
- Synthases

fumarate —(fumarase)—>malate

5- Isomerases (EC.5) catalyze intramolecular rearrangements, such as (Alanine racemase [EC 5.1.1.1])
- Epimerases
- Mutases

3- phosphoglycerate —(phosphoglycerate mutane)—> 2-phosphoglycerate

6- **Ligases (EC.6) catalyze a reaction in which a C-C, C-S, C-O, or C-N bond is made or broken, and this is only the reaction wich needs ATP**
such as (Isoleucine-tRNA ligase [EC 6.1.1.5])

Active site

- *Takes the form of a cleft or pocket and it's small contain 3-12 amino acid*
- *Takes up a relatively small part of the total volume of an enzyme*
- *Substrates are bound to enzymes by multiple weak attractions*
- *The specificity of binding for stability depends on the precisely defined arrangement of atoms in an active site*

كل ماكان الانزيم اكثر تخصصا كان اكثر استقرارا وهذا يعتمد بالضبط على ترتيب الذرات بالجزا الفعال من الانزيم

- *The active sites of multimeric enzymes are located at the interface between subunits and recruit residues from more than one monomer*

Binding of the substrate to the active site requires :

1. *active site containing A.A with reactive functional groups like for example acidic A.A , basic A.A , hydroxyl containing A.A , imidazole containing A.A .*
2. *3D configuration : to allow the binding of the substrate .*

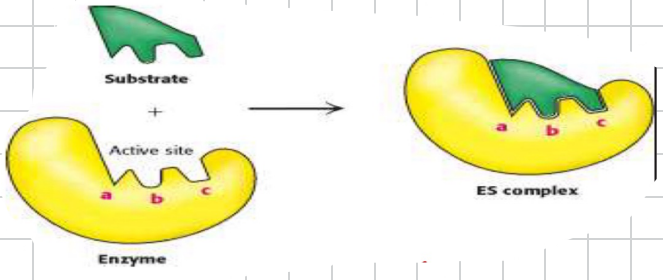
Enzyme substrate binding

-Two models have been proposed to explain how an enzyme binds its substrate: the lock-and –key model and the induced- fit model.

1-Lock-and-Key Model of Enzyme-Substrate Binding, in this model, the active site of the unbound enzyme is complementary in shape to the substrate.

-"lock and key model" accounted for the exquisite جيدهspecificity of enzyme-substrate interactions, the implied rigidity of the enzyme's active site failed to account for the dynamic changes that accompany catalysis.

هذه النظرية جيدة لتحديد خصوصية الانزيم(الانزيم مخصص لتفاعل معين و substrste معين)لكنها تفترض الصلابة لموقع النشاط في الإنزيم(اي ان شكل ال active site ثابت ومستحيل ان يتغير) لكنه في الحقيقه يتغير تبعا للتغيرات الديناميكيه (الحركيه او ناتجه من الحركة) التي تصاحب عملية التحفيز



2-Induced-Fit Model of Enzyme-Substrate Binding;

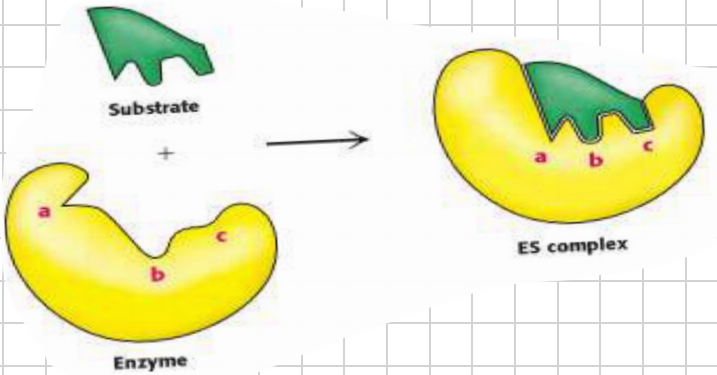
- *In this model, the enzyme changes shape according substrate binding.*
- *The active site forms a shape complementary مكملto the substrate only after the substrate has been bound.*

الجانب الفعال يكون شكل مكمل لل substrate بعد التصاقه في الانزيم اولا اي ان شكل الجانب الفعال في بادئ الامر غير مناسب تماما لكنه يتغير ليصبح مناسب

- *When a substrate approaches and binds to an enzyme they induce a conformational change,*

عند تقرب ال substrate الانزيم يبدا في التغييرات

a change analogous مماثله to placing a hand (substrate) into a glove (enzyme).



Mechanism of Action of Enzymes

- *Enzymes are catalysts and increase the speed of a chemical reaction without undergoing any permanent chemical change. They are neither used up in the reaction nor do they appear as reaction products.*
- *The basic enzymatic reaction can be represented as follows:*

$$S + E \longrightarrow P + E$$

- *Where E represents the enzyme catalyzing the reaction, S the substrate, the substance being changed, and P the product of the reaction.*

-The mechanism of action of enzymes can be explained by two perspectives: يتم شرح ميكانيكيه عمل الانزيم عن طريق وجهتي نظر

1- Thermodynamic changesنفسه Δ G والي هي طاقه كبس الي تعتمد على التغير في طاقه التنشيط

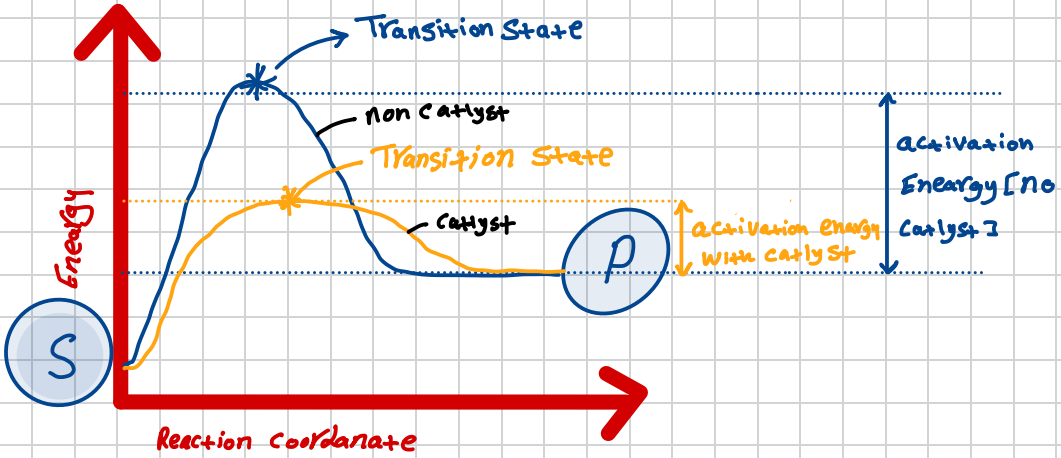
2- Processes at the active site

Thermodynamic changes

- All enzymes accelerate reaction rates by providing transition states with a lowered ΔGF for formation of the transition states.

تكون طاقه التكوين ناصيه بسبب انو الانزيم يقلل طاقه التنشيط اي ان المتفاعلات تريد طاقه اقل لتتكون

-The lower activation energy means that molecules have the required energy to reach the transition state.



وجهة النظر الأولى تشير إلى أن الإنزيم يقلل طاقة التنشيط وكلما قلت طاقة التنشيط قل الوقت اللازم للتفاعل وانت طاقة التنشيط تتناسب عكسيا مع الانزيم اي كل ما زاد الانزيم تقل وكلما قل تزيد

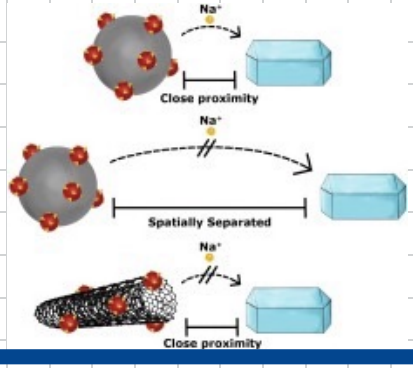
Processes at the active site

وجهة النظر الثانية توضح ميكانيكية تفاعل الانزيم بال اعتماد على التفاعلات التي تحدث في الجزء الفعال

1- Catalysis by proximity: for the molecules to react they must come within bond-forming distance of one another. When an enzyme binds substrate molecules at its active site, it creates a region of high local substrate concentration.

Enzyme-substrate interactions orient reactive groups and bring them into proximity with one another.

تفاعل التقريب هو تفاعل يحدث بين الجزيئات عند اقتراب بها من بعضها البعض وهو أحد شروط هذا التفاعل ولهذا التفاعل ثلاث شروط والأول أن تقترب الجزيئات أي إنزيمات المتفاعلات من بعضها البعض ثانيا ان يكون منطقه تحتوي على تركيز عالي من المتفاعلات والشرط الثالث ان تكون المجموعات التفاعليه



2- Acid base catalysis: the ionizable functional groups of aminoacyl side chains of prosthetic groups contribute to catalysis by acting as acids or bases.

- General acid catalysis involves partial proton transfer from a donor to lower the free energy of the transition state.
- General base catalysis involves partial proton abstraction from an acceptor to lower the free energy of the transition state.

aminoacyl side chains contain ionizable functional groups

prosthetic groups

ewis Theory	Any substance which can **accept an electron pair.**	Any substance which can **donate an electron pair.**

3- Catalysis by strain: enzymes that catalyze the lytic reactions involve breaking a covalent bond typically bind their substrates in a configuration slightly unfavorable configuration for the bond that will undergo cleavage.most of them found in stomach

عادة ما تربط الإنزيمات متفاعلاتها في تشكيل غيرمحبذ إلى حد ما للرابطة التي ستخضع للانشقاق. التي تحفز التفاعلات المحللة التي تنطوي على كسر الرابطة التساهمية

4- Covalent catalysis: accelerates reaction rates through transient مؤقتformation of enzyme-substrate covalent bond.

Three stages in covalent catalysis:

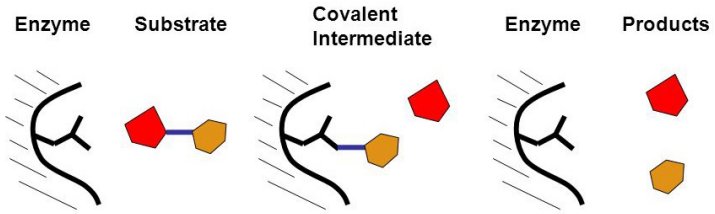
1- Nucleophilic reaction between enzyme and substrate ionisation of functional groups in active site and substrate

تكوين رابطه تساهميه في هذا الخطوه عن طريق تاين المجموعات الفعاله في الجزء الفعال وفي السبستريت ومن ثم يكون بينهم تفاعل نيوكلوفيلي ليكون الاصره التساهميه المؤقته

2- Electrophilic withdrawal of extra electrons from substrate

ومن ثم سيتم فصل الالكترونات الزايده في السبستريت عن طريق تفاعل الكتروفيلي

3- Elimination reaction (reverse of stage 1) كسر الرابطه التي تكونت في الخطوه الأولى



5- Metal Ion catalysis

Note; enzymes require the presence of metal ions for catalytic activity

الأنزيمات تحتاج وجود ايون فلزي للنشاط التحفيزي

- Two classes of metal ion dependent enzymes:

1- **Metalloenzymes** contain tightly bound transition metal ions (Fe2+, Fe3+, Cu2+, Zn2+, Mn2+)

تحتوي الإنزيمات المعدنية على أيونات معدنية انتقالية مرتبطة بإحكام

2- **Metal-activated enzymes** loosely bind metal ions (alkali or alkaline metal including Na+, K+, Mg2+ and Ca2+)

تربط الإنزيمات المنشطة بالمعادن بشكل ضعيف

- Metal ions enhance يسرع catalysis in three major ways:

1- Binding to and orienting توجيه substrates for reaction as Mg2+ binding to ATP

2- Mediating redox reaction through changes in oxidation state such as reduction of O2 to H2O through electron transfer

التوسط في تفاعل الأكسدة والاختزال من خلال التغيرات في حالة الأكسدة مثل اغترال O2 إلى H2O من خلال نقل الإلكترون

3- Electrostatic stabilization or shielding of negative charges as Mg2+ binding to ATP

التثبيت الكهروستاتيكي أو حماية الشحنات السالبة مثل Mg2+ ملزم ب ATP

6- Electrostatic catalysis تفاعل كهربائي بين الشحنات الكهربائي

- Enzymes arrange active site charge distributions to stabilize the transition states of catalyzed reactions بالبدايه الانزيم يرتب الجزء الفعال حتى تكون المرحله الانتقاليه مستقره وما تتخربط او تنطينه نواتج منريده

- Substrate binding generally excludes water from an enzyme active site generating a low dielectric constant within the active site

بصوره عامه ارتباط السبستريت يستثني ذرات الماء من الاكتف سايت من يستثني الماي يسوي عازل

- Electrostatic interactions are stronger

- pka's can vary يختلفby several pH units due to proximity of charged groups

- Alternative form of electrostatic catalysis: several enzymes as superoxide dismutase apparently use charge distributions to guide polar substrates to their active sites الشكل البديل للتفاعل الالكتروستاتيكي يستخدم الترتيب حته يوجه السبستريت القطبي لل اكتف سايت

Enzyme Specificity: شرح توضيحي

تخصص الإنزيمات (Enzyme Specificity) هو قدرة الانزيم على التعرف على المواد الكيميائية (السبستريت) بشكل دقيق واختياري. هذا يعني أن الإنزيم يمتلك قدرة محددة على التفاعل مع مادة معينة أو نوع محدد من المركبات الكيميائية. تختلف درجات التخصص بين الإنزيمات، حيث يمكن لبعض الإنزيمات أن تكون متخصصة جدًا وتتفاعل فقط مع نوع محدد من المواد، بينما يمكن لبعض الإنزيمات أن تكون أقل تخصصًا وتتفاعل مع مجموعة متنوعة من المواد بطرق مختلفة. هذا التخصص يعتبر مهمًا في عمليات الحياة الخلوية والكيميائية حيث يضمن تفاعل الإنزيمات فقط مع المواد المحددة التي تحتاج إلى تحويلها أو تفكيكها أو تركيبها.

- In general, there are four distinct types of specificity:

1- Absolute specificity: the enzyme will catalyze only one reaction.
متخصص لسبستريت واحد

2- Group specificity: the enzyme will act only on molecules that have specific functional groups, such as amino, phosphate and methyl groups يتفاعل وي الجزيئات الي تحتوي بعض المجموعات الفعال

3- Linkage specificity: the enzyme will act on a particular type of chemical bond regardless of the rest of the molecular structure
يتفاعل وي رابطه معينه ويغلس على التركيب الجزيئي

4- Stereo chemical specificity: the enzyme will act on a particular steric or optical isomer. such as recemic mixture
يعمل الانزيم على ايزومر معين

- Some enzyme require cofactors to be active.
- Cofactors are a non-protein components of the enzyme.
- Organic Molecules (Coenzymes) Temporarily attached
- Inorganic ions e.g., Ca2+ , Zn2+ (Prosthetic group) Permanently attached
- Cofactors may be:
1- The Permanently attached: cofactors, are called Prosthetic group (such as a vitamin, sugar, or lipid or inorganic such as a metal ion)
2- Temporarily attached cofactors are called coenzyme, its detach after a reaction and may participate in the reaction with other enzyme.

Cofactors

- Cofactors can be subdivided into two groups:
1-metals Inorganic ions e.g., Ca2+ , Zn2+ (Prosthetic group) Permanently attached
- Most common cofactor are metal ions.
- If tightly bound(- Tightly integrated into the enzyme structure by covalent or non-covalent forces.), the cofactors are called prosthetic groups.

Prosthetic groups e.g.;
1-Pyridoxal phosphate
2-Flavin mononucleotide (FMN)
3-Flavin adenine dinucleotide (FAD)
4-Thiamin pyrophosphate (TPP)
5-Biotin
6-Metal ions – Co, Cu, Mg, Mn, Zn
 # Metals are the most common prosthetic groups

Prosthetic Group	Enzymes/ Proteins
Zn^{++}	Carbonic anhydrase , Alcohol dehydrogenase
Fe^{+++} or Fe^{++}	Hemoglobin, Cytochromes, ferrodoxin
Cu^{++} or Cu^{+++}	Cytochrome oxidase
K^{+} and Mg^{++}	Pyruvate Phosphokinase

2-small organic molecules - ***Organic Molecules (Coenzymes) Temporarily attached***

neeexxxtt slide plzz

2-small organic molecules - *Organic Molecules (Coenzymes)*

Temporarily attached

- Cofactors that are small organic molecules are called coenzymes.

- Loosely bound Cofactors serve functions similar to those of prosthetic groups but bind in a transientمؤقت, dissociable manner either to the enzyme or to a substrate

يمكن فصله اما للانزيم او للسبستريت

- Very often vitamins

- They serve as recyclable shuttles or group transfer agents that transport many substrates from their point of generation to their point of utilization.

إنها بمثابة مكوكات قابلة لإعادة التدوير - أو نقل جماعي

للعوامل - حيث ينقل العديد من السبستريت من نقطة توليدها إلى نقطة استخدامها.

- The water-soluble B vitamins supply important components of numerous coenzymes.

توفر فيتامينات ب القابلة للذوبان في الماء مكونات مهمة للعديد من coenzymes .

- Chemical moieties جزيئه transported by coenzymes include

***hydrogen atoms or hydride ions**

*** methyl groups (folates),**

***acyl groups (coenzyme A),**

***oligosaccharides (dolichol).**

Coenzymes	Vitamins
Nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) or nicotinamide adenine dinucleotide phosphate ($NADP^+$)	vitamin B_3 (niacin)
Flavin mononucleotide (FMN^+) or flavin adenine dinucleotide(FAD^+)	vitamin B_2 (riboflavin)
Pyridoxal phosphate	vitamin B_6 (pyridoxine)
Coenzyme A	Pantothenic Acid

Diagnostic significance of enzymes

الإنزيمات يمكن استخدامها كعلامات تشخيصية في الطب للتعرف على الحالات الصحية أو الأمراض. يعتمد هذا على حقيقة أن الإنزيمات غالبًا ما تكون موجودة في الجسم بتراكيز معينة، وعندما يحدث تغير في الحالة الصحية، يمكن أن يؤدي ذلك إلى تغييرات في تركيز الإنزيمات في الدم أو الأنسجة.

على سبيل المثال، ارتفاع مستوى معين من إنزيم معين في الدم قد يكون دليلاً على وجود ضرر في الأعضاء مثل القلب أو الكبد. بعض الإنزيمات تُستخدم أيضًا لتشخيص الأمراض الوراثية، حيث يكون نقص أو زيادة في تركيز الإنزيم دليلاً على وجود مشكلة محددة.

استخدام الإنزيمات كعلامات تشخيصية يعتمد على تحليل العينات الحيوية مثل الدم أو البول لقياس مستويات الإنزيمات المختلفة وفهم كيفية تغيرها والتأكد من الأنماط المرتبطة بحالات معينة من الأمراض أو الصحة.

1-Enzymes can also act as reagents for various biochemical estimations and detections هذا مرح نحجي عنه شيء يكفي ان تحفظه هنا

2- Enzymes can act as diagnostic markers of underlying(incide body) diseases such as diagnose of cancer .هذا رح نشرحه بالتفصيل

Enzymes as diagnostic markers

هسه رح نحچي عن نوع معين من الانزيم كلكم تعرفون اكو شيء بالدم اسمه بلازما (بلازما الدم) هاي بلازما الدم بيه هواي انزيمات احنه رح نحچي عنه مبدئيا لازم تعرف انه هيبيه نوعين من الانزيمات فعال وغير فعال واكدر احدد هواي امراض عن طريق قياس نسبه هاي الانزيمات فلذلك رح نشرحه

1- Functional plasma enzymes (Plasma derived enzymes):

- Certain enzymes, **proenzymes, and their substrates** are present at all times in the circulation (دوران الدم)of normal individuals and perform a physiologic function in the blood.

Examples of these functional plasma enzymes include:
lipoprotein lipase, pseudo cholinesterase,
and the proenzymes of blood coagulation and blood clot dissolution .
The majority of them are synthesized in and secreted by ***liver***.

2- Nonfunctional plasma enzymes (Cell derived enzymes):

- Plasma also contains numerous other enzymes that perform no known physiologic function in blood.

-These apparently nonfunctional plasma enzymes arise from the routine normal destruction of erythrocytes, leukocytes, and other cells. من اسمها فهي غير فعاله لكنها تكون نتيجة روتينية بسبب موت خلايا الدم الحمراء والبيضاء وغيرها من الخلايا

-Tissue damage or necrosis resulting from injury or disease is generally accompanied by increases in the levels of several nonfunctional plasma enzymes.

كلكم تعرفون أن الدم من يخرج يكون دم فاسد أي منه فايدة والدم الفاسد هو بالأحرى دم ميت فالدم نفس ما ذكرنا سابقا انه هو من يموت تنتج عدنا البلازمة غير الفعالة فذلك في حالات الجروح يزداد نسبه هذا النزيم

Isoenzymes (Isoenzymes)

- Are homologous enzymes that catalyze the same reaction but have differences in enzymatic properties.

هي إنزيمات متجانسه لكنها ليست متماثله وهذا يعني أنها من نفس العائلةالانزيميه و مختلفة في الخواص الانزيميه

- Often different isoenzymes are found in different locations in a cell or in different organs/tissues of an organism.

-They are from different polypeptide chains that coded by different genes and so, they are affected by different activators and different inhibitors in different tissues.

e.g.: Lactate dehydrogenase (LDH)isoenzymes

- The enzyme interconverts lactate and pyruvate (LDH)

يكون عمل هذا الانزيم في تحويل من ال لاكتيتات ل البروفات والعكس وللانسان اثنين اساسيين من هذا الانزيم لكن كل واحد بمكان وكل واحد اله خصائص وحده اما باقي ال ايزومرات تكون مشتقات من هذن الاثنين

- Humans have two isoenzymic chains for lactatedehydrogenase:

LDH (M) found in muscle(skeletal) M is optimized to work under anaerobic conditions

LDH (H) found in heart H optimized to work under aerobic conditions.

-There are 5 different isoenzymes.

-The relative ratio of the isoenzymes depends on the location in the organism as well as the developmental stage.

Isoenzyme	Tissue origin
LDH1 (H4)	Cardiac and kidney
LDH2 (H3M)	Cardiac, kidney, brain and RBCs
LDH3 (H2M2)	Brain, lung and WBCs
LDH4 (HM3)	Lung, skeletal muscle
LDH5 (M4)	Skeletal muscle and liver

CK/CPK Isoenzymes

هو انزيم واحد وله اسمين لكن له العديد من النظائر

هو إنزيم موجود في العضلات والقلب والدماغ. يقوم هذا الانزيم بتحويل الكرياتين إلى فوسفوكرياتين، ويُعتبر مهمًا في توليد الطاقة للخلايا العضلية

تنقسم إنزيمات CK/CPK إلى ثلاثة أشكال رئيسية أو إيزوإنزيمات:

1. CK-MM (Muscle): توجد أساسًا في العضلات الهيكلية.
2. CK-MB (Myocardial or heart): توجد بشكل أساسي في الأنسجة القلبية.
3. CK-BB (Brain): توجد بشكل أساسي في الدماغ وبعض الأنسجة العصبية.

تختلف نسب هذه الإيزوإنزيمات في الدم تبعًا للأنسجة المتضررة أو المصابة. فعند وجود إصابة في العضلات أو القلب أو الدماغ، يتم إطلاق هذه الإنزيمات إلى الدورة الدموية، وبالتالي يمكن لتحديد الأضرار الناتجة عن هذه الأنسجة CK/CPK قياس نسبة مختلفة من إيزوإنزيمات المصابة.

- There are three Isoenzymes.
- Measuring them is of value in the presence of elevated levels of CK or CPK to determine the source of the elevation. قياس هذه الانزيمات مهم لانه يحدد السبب في ارتفاعها فعند تضرر القلب سيزاداد احدها وهو دليل على تضرر العقل
- Each isoenzyme is a dimer composed of two protomers البروتين 'M'(for muscles) and 'B'(for Brain).

-These isoenzymes can be separated by, electrophoresis or by ion exchange chromatography.

Isoenzyme	Electrophoretic mobility	Tissue of origin	Mean % in blood
MM(CK3)	Least	Skeletal muscle Heart muscle	97-100%
MB(CK2)	Intermediate	Heart muscle	0-3%
BB(CK1)	Maximum	Brain	0%