دانشگاه تبریز

دانشکده دامپزشکی

گروه علوم پایه

پایان نامه

برای دریافت درجه دکتری حرفه ای دامپزشکی

موضوع

بررسی خصوصیات سینتیکی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان

استاد راهنما:

دکتر حسین طایفی نصر آبادی

پژوهشگر

رضا رحمانی

شهریور ۱۳۹۰

نام خانوادگی دانشجو: رحمانی نام: رضا

عنوان پایان نامه: بررسی خصوصیات سینتیکی و برخی پارامترهای بیوشیمیایی رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان.

استاد راهنما: حسین طایفی نصرآبادی

مقطع تحصیلی: دکتری حرفه ای رشته: دامپزشکی دانشگاه تبریز

دانشکده: دامپزشکی تاریخ فارغ التحصیلی: ۸ شهریور ۱۳۹۰ تعداد صفحه:

کلید واژه: رودنیز، سینتیک، ترمودینامیک، پایداری دمایی، پایداری به pH، قزل آلای رنگین کمان

چکیده:

بیش از ۲۰۰۰ گونه ی گیاهی شناخته شده اند که حاوی گلیکوزیدهای سیانوژنیک می باشند که با هضم در دستگاه گوارش از خود سیانید آزاد می کنن د . مقدار کمی از سیانید به طور فیزیولوژیکی به تیوسیانات که سمیت کمتری دارد تبدیل می شود . مسیر اصلی سم زدایی سیانید تبدیل آن به یون تیوسیانات می باشد که توسط دو آنزیم رودنیز (تیوسولفات : سیانید سولفور ترانسفراز ، EC 2.8.1.1) و ۳-مرکاپتو پیرووات سولفور ترانسفراز کاتالیز می شود . آنزیم رودنیز پروتئین ی با عملکرد چندگانه است که از طریق سولفوراسیون با مکانیسم پینگ پنگ در سم زدایی یون سیانید نقش دار د. یکی از منابع این آنزیم کبد جانوران مختلف می باشد. در این مطالعه خواص سینتیکی و بیوشیمیایی آنزیم رودنیز حاصل از کبد ماهی قزل آلای

رنگین کمان (*Oncorhynchus mykiss*) مورد مطالعه قرار گرفته است. ماهی قزل آلای رنگین کمان یکی از گونه های ی است که در سرتاسر جهان پ ـرورش داده می شود. از مزایای پرورش این ماهی رشد سریع و ارزش غذایی بالای آن می باشد .

نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بهترین pH برای فعالیت آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان pH=۱۰/۵ می باشد. بررسی پایداری آنزیم به pH های مختلف نشان داد که آنزیم رودنیز کبد قزل آلای رنگین کمان در pH های ۸/۵–۹/۵ کمترین پایداری را از خود نشان می دهد. همچنین دمای بهینه فعالیت آنزیم ۳۰ درجه سانتیگراد می باشد. همچنین این آنزیم به حرارت حساس بوده، به گونه ای که با افزایش دما از ۳۰ درجـه سانتیگـراد به بالاتر فعالیت آن به صورت دو فازی کاهش می یابد. فاز اول کاهش فعالیت که با شیب تند صورت می گیرد پس از ۵ دقیقه انکوباسیون در دماهای بالای ۳۰ درجه بوقوع می پیوندد و فاز دوم کاهش فعالیت که با شیب ملایم و تدریجی انجام می شـود از دقیقـه ۵ تا ٦۰ انـکوباسیـون حاصـل می شود. همچنین مقادیر پارامترهای سینتیکی آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان محاسبه شد که نتایج نشان داد در حضور غلظت های متغییر از سوبسترای KCN و غلظتی ثابت از سوبسترای تیوسولفات، k_m و V_{max} آنزیم رودنیز به ترتیب ۳٦/۸۱ mM و ۰/۹۲٤ U/mg و مقادیر k_m و V_{max} آنزیم در حضور غلظت های متغییر سدیم تیوسیانات و غلظتی ثابت از سوبسترای KCN به ترتیب ۱۹/۸٤ mM و ۰/٤۲۳ U/mg می باشند.

فهرست مطالب

عنوان

صفحه

چکیده : .....i.....

فصل اول – مقدمه و کلیات .....۱.....

۱-۱ مقدمه .....۲.....

۱-۲ مقدمه ای بر آنزیم ها .....۵.....

۱-۲-۱ پیشینه آنزیم و آنزیم شناسی .....۵.....

۱-۲-۲ خصوصیات کلی آنزیم ها .....۷.....

سرعت واکنش های آنزیمی بیشتر است .....۷.....

شرایط واکنش های آنزیمی ملایم تر است .....۷.....

آنزیم ها نسبت به واکنش هایی که کاتالیز می کنند ویژگی بیشتری دارند .....۸.....

آنزیم ها قابلیت تنظیم دارند .....۸.....

۱-۲-۳ ساختمان آنزیم ها .....۸.....

۱-۲-٤ ساختار پروتئینی آنزیم ها .....۹.....

ساختار اول .....۱۰.....

ساختار دوم .....۱۰.....

ساختار سوم .....۱۱.....

ساختار چهارم .....۱۱.....

۱-۲-۵ نحوه عمل آنزیم ها ۱۲

۱-۲-٦ نامگذاری و طبقه بندی آنزیم ها ۱۳

کلاس ترانسفراز ها ۱٤

۱-۳ سینتیک آنزیمی ۱۷

۱-۳-۱ عوامل مؤثر بر سرعت واکنش ۱۷

درجه حرارت ۱۷

غلظت آنزیم ۱۸

غلظت سوبسترا ۱۸

pH ۱۹

۱-۳-۲ تقسیم بندی سرعت واکنش های آنزیمی بر اساس تعداد سوبستراها ۱۹

واکنش های آنزیمی تک سوبسترایی ۱۹

واکنش های آنزیمی چند سوبسترایی ۲۰

انواع واکنش های آنزیمی چند سوبسترایی ۲۰

مکانیسم های اتصال سوبسترا به آنزیم در واکنش های آنزیمی bi bi ۲۰

واکنش های با نظم تصادفی ۲۰

واکنش های با نظم اجباری ۲۱

واکنش های جابجایی دو مرحله ای یا پینگ پنگی ۲۱

۱-٤ معرفی ماهی قزل آلای رنگین کمان ۲۲

۱-٤-۱ خانواده آزاد ماهیان ۲۲

۱-٤-۲ جنس اونکورینکوس ۲۵
۱-٤-۳ ماهی قزل آلای رنگین کمان ۲٦
شکل ظاهری ۲٦
زیست شناسی ۲۷
بافت شناسی کبد ماهی قزل آلا ۲۸
۱-٤-٤ اهمیت پرورش ماهی قزل آلا ۲۹
۱-۵ سیانور و اهمیت آن در علم بیوشیمی ۳۱
۱-٦ معرفی آنزیم رودنیز ۳٤
۱-٦-۱ پیشینه آنزیم ۳٤
۱-٦-۲ ساختمان آنزیم ۳٤
ترکیب آمینواسیدی آنزیم ۳۵
جایگاه فعال آنزیم ۳۵
۱-٦-۳ سوبسترا های آنزیم ۳٦
مهم ترین سوبسترا های دهنده گوگرد ۳۷
مهم ترین سوبسترا های گیرنده گوگرد ۳۷
۱-٦-٤ مکانیسم عمل آنزیم ۳۸
۱-٦-۵ عملکرد های آنزیم ۳۹
سم زدایی سیانور ۳۹
سایر عملکرد ها ٤۱

۱-٦-٦ منابع بیولوژیکی آنزیم ٤٣
منابع باکتریایی ٤٣
منابع جانوری آنزیم ٤٤
پستانداران ٤٤
پرندگان ٤٧
خزندگان، دوزیستان و ماهی ها ٥٠
اطلاعاتی دیگر پیرامون آنزیم رودنیز ٥٢
۱-۷ هدف ٥٣
فصل ۲: مواد و روش ها ٥٤
۲-۱ مواد ٥٥
۲-۲ روش ها ٥٥
۲-۲-۱ تهیه نمونه ٥٥
۲-۲-۲ روش اندازه گیری فعالیت آنزیم رودنیز ٥٧
۲-۲-۳ اثر pH های مختلف بر میزان فعالیت آنزیم (pH پروفایل) ٥٨
۲-۲-٤ تعیین میزان پایداری فعالیت آنزیم رودنیز در pH های مختلف ٥٨
۲-۲-٥ محاسبه پارامتر های سینتیکی (K_m و V_{max}) و بازده کاتالیتیکی ٥٩
۲-۲-٦ بررسی پایداری آنزیم رودنیز در دماهای مختلف ٦٠
فصل ۳: نتایج ٦١
۳-۱ مراحل تخلیص جزئی آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان ٦٢

۳-۲ اثر pH های مختلف بر میزان فعالیت آنزیم ٦٣

۳-۳ میزان پایداری آنزیم رودنیز در pH های مختلف ٦٤

٤-۳ مقادیر ثابت های سینتیکی (K_m و V_{max} و بازده کاتالیتیکی) ٦٥

۳-۵ بررسی پایداری آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلا در دماهای مختلف ٦٨

فصل ٤: بحث ۷۰

فصل پنجم: نتیجه گیری و پیشنهادات ۸۰

۵-۱ نتیجه گیری ۸۱

٤-۲ پیشنهادات ۸۲

منابع ۸۳

چکیده انگلیسی ۹۱

فهرست جداول

عنوان

صفحه

جدول شماره ۱-۱: طبقه بندی بین المللی آنزیم ها ۱٤

جدول شماره ۱-۲: شماره نوع گروه منتقل شونده توسط ترانسفراز ها ۱۵

جدول شماره ۱-۳: مهمترین گونه های جنس اونکورینکوس ۲۵

جدول شماره ۱-٤: توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف شتر، گاو و گوسفند ٤٤

جدول شماره ۱-۵: توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف بز (*Capra hircus*) ٤٦

جدول شماره ۱-٦: توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف خوک (*Sus scrofa*) ٤۷

جدول شماره ۱-۷ : نحوه توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف بلدرچین ژاپنی، کبک و کبوتر ٤۹

جدول شماره ۱-۸: توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف چهار گونه ماهی کپور ۵۱

جدول شماره ۱-۹: مقایسه نحوه توزیع آنزیم رودنیز در بافت های مختلف انسان و حیوانات اهلی ۵۱

جدول شماره ۳-۱: مراحل تخلیص جزئی آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان ٦۲

جدول شماره ٤-۱: مقادیر K_m، V_{max} و بازده کاتالیتیکی آنزیم رودنیز در حضور سوبسترای سیانید پتاسیم و سدیم تیوسولفات ۷٤

جدول شماره ٤-۲: مقادیر K_m ویژه آنزیم رودنیز نسبت به هریک از سوبستراهای **KCN** و $Na_2S_2O_3$ در گونه های مختلف ۷۵

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل شماره ۱-۱: نمودار درختی اشتقاق آزاد ماهیان .....۲٤.....

شکل شماره ۱-۲: تصویری از ماهی قزل آلای رنگین کمان .....۲۷.....

شکل شماره ۱-۳: وضعیت آناتومیکی ماهی قزل آلای رنگین کمان .....۲۸.....

شکل شماره ۱-٤: جایگاه فعال آنزیم رودنیز .....۳٦.....

شکل شماره ۱-٥: مکانیسم عمل آنزیم رودنیز .....۳۸.....

شکل شماره ۳-۱: نمودار پروفایل pH آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان در حضور سوبستراهای KCN و سدیم تیوسولفات .....٦۳.....

شکل شماره ۳-۲: اثر pH بر روی پایداری آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان .....٦٤.....

شکل شماره ۳-۳: نمودار لاین ویور-برک آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان در حضور غلظت متغیر از سوبسترای KCN و غلظت ثابت از سوبسترای سدیم تیوسولفات .....٦٦.....

شکل شماره ۳-٤: نمودار لاین ویور-برک آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان در حضور غلظت متغیر از سوبسترای سدیم تیوسولفات و غلظت ثابت از سوبسترای KCN .....٦۷.....

شکل شماره ۳-٥: اثر دماهای مختلف بر پایداری آنزیم رودنیز کبد ماهی قزل آلای رنگین کمان در زمان انکوباسیون ٦۰-۰ دقیقه .....٦۹.....

شکل شماره ٤-۱: نمودار اثر دماهای مختلف بر میزان فعالیت آنزیم رودنیز کبد خفاش میوه. دماهای ۳۰، ٤۰، ٥۰ و ٦۰ درجه سانتیگراد .....۷۸.....

فصل اول

مقدمه و کلیات

۱-۱ مقدمه

آنزیم رودنیز [۱] (تیوسولفات : سیانید سولفور ترانسفراز EC 2.8.1.1) پروتئین ی با عملکرد چندگانه است که از طریق سولفوراسیون با مکانیسم پینگ پنگ [۲] در سم زدایی یون سیانید نقش دار د. این آنزیم دارای یک زنجیره پلی پپتیدی است که در گیاهان، جانوران و میکروارگانیسمهای مختلف یافت شده است [۹]. بسیاری از گیاهان و محصولات گیاهی که به عنوان غذا توسط دام، طی ـور و آبـ زیان مصرف می شوند دارای ترکیباتی همچون لیناماریـن [۳]، لوتاسترالین [٤] و آمیگدالین [٥] می باشند ، به این ترکیبات گلیکوزیدهای سیانوژنیک [٦] گفته می شود زیرا از هیدرولیز آنها در بدن یون سیانید ایجاد می گردد [۹]. سیانید یک سم سیتوتوکسیک قوی است که از طریق مهار آنزیم سیتوکروم اکسیداز [۷] زنجیره تنفسی میتوکندری، باعث خفگی داخل سلولی می شود. تولید یون سیانید در بدن باعث فعال شدن مکانیسم های سم زدا در بدن شده که توسط آن یون سیانید سمی به ماده تیوسیانات (SCN-) [۸] که سمیت بسیار پایین تری دارد تبدیل می شود [۹]. مهمترین عامل در سم زدایی یون سیانید در بدن آنزیم رودنیز می باشد. این آنزیم هم در میتوکندری و هم در سیتوزول

---

[1] - Rhodanese
[2] - Ping pong mechanism
[3] - Linamarin
[4] - Lotaustralin
[5] - Amygdaline
[6] - Cyanogenic glycosides
[7] - Cytochrome oxidase
[8] - Thiocyanate

سلولها یافت می شود. تاکنون این آنزیم از چندین گونه جانوری، گیاهی و میکروبی از جمله گاو، انسان، اشریشیا کلای ، قورباغه و ... جدا گردیده و برخی از خصوصیات ساختمانی و آنزیمی آن مشخص گردیده است [۹] و [۱۰].

آنزیم رودنیز یکی از پروتئین های سم زدای طبیعی است که می تواند همراه با پروتئین های دیگر نقش مهمی را در سیستم دفاعی غیراختصاصی بدن پستاندارن و جانوران دیگر ایفا نماید. این آنزیم یک پروتئین با یک زنجیره پلی پپتیدی با وزن مولکولی در محدوده ۴۰-۳۰ کیلودالتون می باشد. آنزیم رودنیز از طریق انتقال یک گروه سولفور به یون سیانید آنرا به یون تیوسیانات که یک ماده با سمیت کمتری است تبدیل می نماید. علاوه بر خاصیت سم زدایی مشخص شده است که این آنزیم می تواند نقش های دیگری از جمله در تولید سیستئین، انتقال گروه سولفور در سنتز پروتئین، به عنوان جزئی از مرکز آهن-سولفور زنجیره تنفسی نیز نقش ایفا نماید [۱۱] و [۱۰]. با توجه به عملکرد وسیع این آنزیم و از همه مهمتر نقش در حذف یون سیانید، امروزه از این آنزیم در تهیه بیوسنسور جهت تشخیص مقادیر کم سیانید در محلولها، مواد غذایی و آب و حذف آلاینده های بیولوژیکی استفاده می شود. با توجه به اهمیت آنزیم رودنیز در سم زدایی و تشخیص یون سیانید، امروزه می توان از این آنزیم در تهیه بیوسنسور [1] های حساس جهت کشف مقادیر کم یون سیانید در محلول ها، غذاها و آب های آلوده استفاده کرد. با توجه به اینکه این آنزیم در موجودات مختلف دارای خصوصیات ساختاری و سینتیکی متفاوتی می باشد لذا

[1] - Biosensor

ضروری است تا تحقیقات گسترده ای صورت گیرد تا منبع مناسب این آنزیم که دارای بازده کاتالیتیکی [1] بالاتر، پایداری دمایی بالاتر و مقاوم به تغییرات pH بالاتری باشد مشخص گردد.

ماهی قزل آلای رنگین کمان [2] گونه ای از خانواده آزاد ماهیان با نام علمی *Onchorhynchus mykiss* می باشد . در میان آزاد ماهیان این گونه بهترین گونه ای است که برای پرورش بسیار مناسب تشخیص داده شده است، چرا که در برابر تغییرات محیطی نظیر تغییر مقدار O_2 و CO_2 محلول در آب، آلودگی های کم و درجه حرارت مقاوم و از سرعت رشد مناسبی برخوردار است.

[1] - Catalytic efficiency
[2] - Rainbow trout

۱-۲ مقدمه ای بر آنزیم ها

۱-۲-۱ پیشینه آنزیم و آنزیم شناسی

آنزیمولوژی دانش مطالعه آنزیم هاست و بیشتر تاریخ بیوشیمی، تاریخ تحقیق آنزیمی است. کاتالیز بیولوژیکی برای اولین بار در اواخر قرن هجدهم، طی مطالعات انجام شده بر روی هضم گوشت توسط ترشحات معده، شناسایی و شرح داده شد و این تحقیقات در قرن نوزدهم با آزمایشات تبدیل نشاسته به قند توسط بزاق و عصاره های گیاهی مختلف، ادامه یافت. در دهه ۱۸۵۰، لوئی پاستور [۱] نتیجه گرفت که تخمیر قند به الکل توسط مخمر، بوسیله «خمیر مایه» کاتالیز می گردد. وی معتقد بود این خمیر های مایه غیر قابل جداسازی از ساختمان سلول های مخمری زنده می باشند، تصوری که ویتالیسم نامیده شد و برای سال های زیادی رواج داشت. سپس در سال ۱۸۹۷، ادوارد بوخنر [۲] کشف نمود که عصاره مخمر می تواند قند را به الکل تبدیل نموده و بدین ترتیب ثابت نمود تخمیر توسط ملکول هایی تسریع می گردد که بعد از جدا شدن از سلول ها، همچنان فعالیت خود را ادامه می دهند. فردریک کوهن [۳] این ملکول ها را آنزیم نامید[۱]. در واقع ریشه کلمه ی آنزیم از لغات یونانی en به معنای «در» و zyme به معنای «مخمر» می باشد که در سال ۱۸۷۸ و به منظور تأکید

[1] - Louis Pasteur
[2] - Eduard Buchner
[3] - Frederick Cohen

بر وجود عاملی در مخمر، غیر از خود مخمر، که فرایند تخمیر را انجام می داد اقتباس گردید [۲].

جداسازی و کریستالیزه نمودن اوره آز در سال ۱۹۲۶ توسط جیمز سامنر [۱] منجر به رفع موانع در مطالعات اولیه آنزیم شناسی گردید. سامنر دریافت که کریستال های اوره آز تماماً از پروتئین تشکیل شده و ساختمان تمامی آنزیم ها را پروتئینی در نظر گرفت. در دهه ۱۹۳۰ بعد از کریستالیزه نمودن پپسین، تریپسین و سایر آنزیم های گوارشی و مشخص شدن جنس پروتئینی آن ها توسط جان نورتروپ [۲] و موز س کونیتز [۳] بود که استنباط سامنر به طور وسیعی پذیرفته شد. در طی این فاص ـله، هالدان[٤] یک مقاله بنام «آنزیم ها» نوشت. هالدان مطرح نمود که واکنش های متقابل ضعیف بین آنزیم و سوبسترای آن در تغییر سوبسترا و کاتالیز یک واکنش نقش داشته باشد. لازم به ذکر است سوبسترا به ماده ای گفته می شود که عمل کاتالیزی آنزیم بر روی آن انجام می گیرد [۱].

[1] - James Sumner
[2] - John Northrop
[3] - Mozes Kunitz
[4] - Haldane

۱-۲-۲ خصوصیات کلی آنزیم ها

بطور کلی آنزیم ها تابع همان قوانین حاکم بر رفتار سایر مواد هستند، بعلاوه آن‌ـزیم ها در مق ـایسه با کات‌ـالی‌ـزور های شیمیای ـی دارای وی‌ـژگی هایی اختصاصی می باشند که موارد زیر از مهمترین آن ها می باشند [۲]:

سرعت واکنش های آنزیمی بیشتر است

سرعت واکنش هایی که توسط آنزیم ها کاتالیز می شوند عموماً $۱۰^{۶}$ تا $۱۰^{۱۲}$ مرتبه بیشتر از واکنش های معادل فاقد کاتالیزور است و حداقل چندین برابر بیش از واکنش های مشابهی است که توسط کاتالیزور های شیمیایی کاتالیز می شوند.

شرایط واکنش های آنزیمی ملایم تر است

واکنش های آنزیمی معمولا در شرایط نسبتاً ملایم مانند دمای نه چندان بالا، فشار اتمسفری و pH نزدیک به خنثی انجام می شوند، در حالیکه کاتالیزور های قوی شیمیایی برخلاف آنزیم ها اغلب به دما وفشار بالا و pH اسیدی یا بازی قوی نیاز دارند.

آنزیم ها نسبت به واکنش هایی که کاتالیز می کنند ویژگی بیشتری دارند

آنزیم ها در مقایسه با کاتالیزورهای شیمیایی، ویژگی فوق العاده بالاتری نسبت به ماه یت سوبسترا و فرآورده های واکنش نشان می دهند. این بدان معناست که واکنش های آنزیمی به ندرت دارای فراورده های جانبی ناخواسته هستند.

آنزیم ها قابلیت تنظیم دارند

فعالیت کاتالیکی بسیاری از آنزیم ها نسبت به تغییر غلظت موادی بجز سوبسترا، حساس است. مکانیسم های این نوع فرایند تنظیمی شامل کنترل آلـ وستریکی، تغییرات کـــ والان در ساختار آن ـزیم ها و تغییر در میزان سنتز آن ها می باشد.

۱-۲-۳ ساختمان آنزیم ها

به استثناء گروه کوچکی از ملوکول های RNA کاتالیتیک، تمامی آنزیم ها ساختمانی پروتئینی دارند. فعالیت کاتالیتیکی این آنزیم ها بستگی به یکپارچگی

ترکیب پروتئینی طبیعی آن ها دارد. در صورتی که یک آنزیم دناتوره [1] شده و یا به زیر واحد های خود تجزیه گردد، فعالیت کاتالیک معمولا از دست می رود. وقتی یک آنزیم به اسید آمینه های خود تجزیه گردد، بطور قطع فعالیت آن از بین می رود. بنابراین، ساختمان ه ای اول، دوم، سوم و چهارم آنزیم های پروتئینی برای فعالیت آن ها ضروری می باشد [۱].

آنزیم ها همانند پروتئین های دیگر، دارای وزن های ملکولی بین ۱۲۰۰۰ تا بیش از یک میلیون دالتون می باشند. بعضی از آنزیم ها برای فعالیت، علاوه بر ریشه های اسید آمینه خود نیاز به گروه های شیمیایی دیگری دارند که کوفاکتور [2] نامیده می شود. کوفاکتور ها ممکن است یک یا چند یون معدنی نظیر Fe^{2+}، Mg^{2+}، Mn^{2+}و Zn^{2+} باشند. و یا برخی دیگر از آنزیم ها ممکن است حاوی یک ملکول آلی یا فلزی-آلی بنام کوآنزیم [3] باشد. لازم به ذکر است بعضی از آنزیم ها برای فعالیت هم به کوآنزیم نیاز دارند و هم به یک یا چند یون فلزی [۱].

۱-۲-٤ ساختار پروتئینی آنزیم ها

همانند تمامی پروتئین ها، آنزیم ها نیز از بیست اسید آمینه طبیعی تشکیل یافته اند. ساختار فضایی سه بعدی آنزیم ها که باعث تسهیل عملیات کاتالیز می شود ناشی از نحوه استقرار اسید های آمینه در ساختمان آن ها است و بسته به نوع واکنش

[1] - Denature
[2] - Cofactor
[3] - Coenzyme