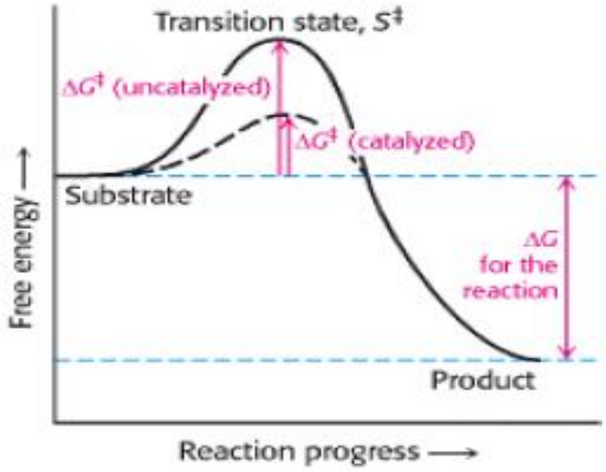
الانـــزيمـــات

Enzymes

تحدث التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الخلايا الحية بسرعة فائقة وبنظام وخصوصية محكمة ، ولاجل ان تتم هذه العمليات بتلك الدقة المتناهية فانها تنظم بفعل بعض المركبات البروتينية التي تملك فعالية بايلوجية خاصة ويطلق عليها الانزيمات Enzyme .

الطبيعة العامة للأنزيمات

الأنزيمات هي عوامل مساعدة (محفزة catalysis) خاصة بالكائنات الحية ، ويمكن ان تعرف على انها المادة التي تساعد على تسريع التفاعلات الكيميائية الحيوية دون ان تستهلك خلال التفاعل . فالأنزيمات تسرع التفاعلات التي تحفزها بمعدلات لاتقل عن مليون مرة اسرع من حصول التفاعل بدون استخدام الانزيم ، وان اغلب التفاعلات الحيوية تجري بشكل غير مقبول في حالة غياب الانزيمات الخاصة بها .



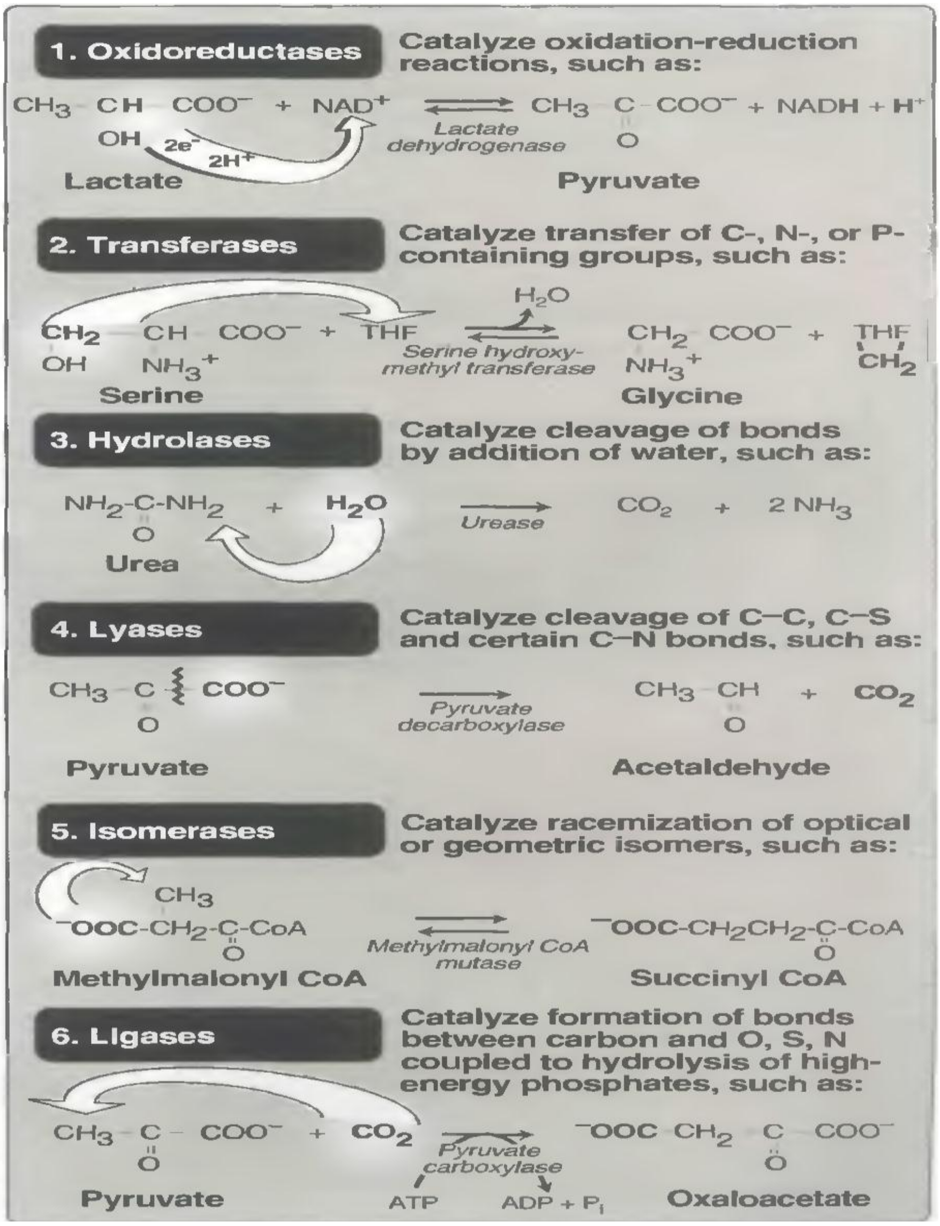
تتصف الأنزيمات بخصوصيتها العالية سواء كان ذلك من حيث التفاعلات التي تحفزها او المادة الاساس التي تعمل عليها (Substrate) فالإنزيم الواحد يحفز على إحداث تفاعل كيميائي واحد او مجموعة من التفاعلات المتشابهة ، لذا تتميز الإنزيمات بخصوصية عالية او قد تكون مطلقة في بعض الأحيان .
مثال على ذلك الانزيمات المحللة للبروتينات protolytic enzyme والتي تحلل الاواصر الببتيدية ، فهي انزيمات غير متخصصة ، كذلك قد تكون مسؤولة عن تحلل الاواصر الاسترية ، الا انه بعض الانزيمات المحللة للبروتينات مثل التربسين trypsin يكون عالي التخصص فيشترط وجود Arg , Lys عند الطرف الكاربوكسيلي للاواصر الببتيدية ، كذلك انزيم الثرومبين الذي يشترط وجود Arg مجاور الى Gly لتحلل الاصرة الببتيدية .

تسمية وتصنيف الانزيمات

لقد اعتمدت طرق مختلفة لتسمية وتصنيف الانزيمات ، فمنها مايسمى اعتمادا على التفاعل الذي تحفزه ، والاخرى تسمى اعتمادا على اسم المادة الاساس التي يعمل عليها بعد وضع المقطع (ase) لنهاية اسم التفاعل او اسم المادة الاساس . فمثلا الانزيمات التي تحفز تفاعلات الاكسدة تسمى اوكسيديز oxidase والانزيمات التي تحفز تحلل اليوريا تسمى يوريز urease وهكذا . وان هذا النظام لايزال يستخدم في تسمية الانزيمات ، الا انه بعض الانزيمات لها اسماء شائعة لاتعبر عن اسم التفاعل او اسم المادة الاساس

مثل البيبسين والتريبسين والكيموتريبسين ، وهي مجموعة من الانزيمات المحللة للاواصر البيبتيدية . الا انه بعد ذلك تم الاتفاق على استخدام نظام جديد لتسمية الانزيمات يعتمد على اساس طبيعة التفاعلات التي تحفزها الانزيمات ، لذلك صنفت الانزيمات الى ست اصناف رئيسية هي :

١- الاوكسيدوردكتيز (انزيمات الاكسدة والاختزال) Oxidoreductase
٢- الترانسفيريز (الانزيمات الناقلة) Transferase
٣- الهايدروليز (انزيمات المحللة تحلل مائي) Hydrolase
٤- اللاييز (انزيمات الاضافة الى الاواصر المزدوجة) Lyase
٥- الايزوميريز (الانزيمات المسؤولة عن التحولات الايزومرية) Isomerase
٦- اللايكيز (الانزيمات الرابطة بين مكونتين وتكوين اصرة جديدة) Ligase



وان هذه الاصناف الرئيسية تقسم الى اصناف فرعية ، لذا يسبق اسم الانزيم باربع ارقام تعبر عن الصنف الرئيسي ونوع المرافق الانزيمي ، ونوع الايزومرات ونوع الروابط المراد تحللها .

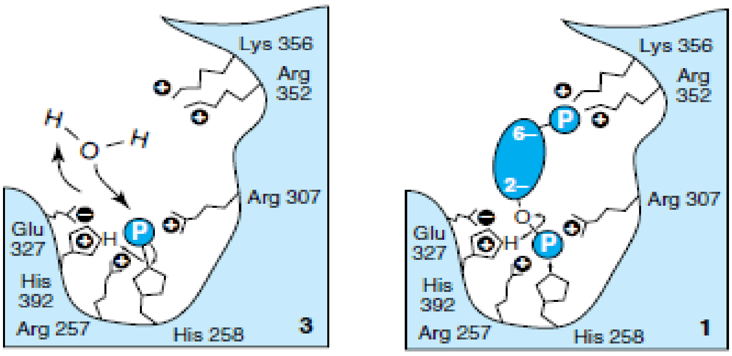
الموقع الفعال (الموقع النشط) Active site

تتميز الانزيمات باحتوائها على مواقع خاصة تقوم من خلالها بالقيام بفعاليتها الحيوية واتمام التفاعلات التي تحفزها ، يسمى هذا الموقع بالموقع الفعال او النشط Active site والذي يعرف على انه : هو تلك المنطقة الموجودة في الانزيم والتي يرتبط من خلالها مع المادة الاساس تمهيدا لتكوين اواصر جديدة او تحلل اواصر وتكوين النواتج .

هناك بعض المظاهر التي يتميز بها الموقع الفعال للانزيمات منها :

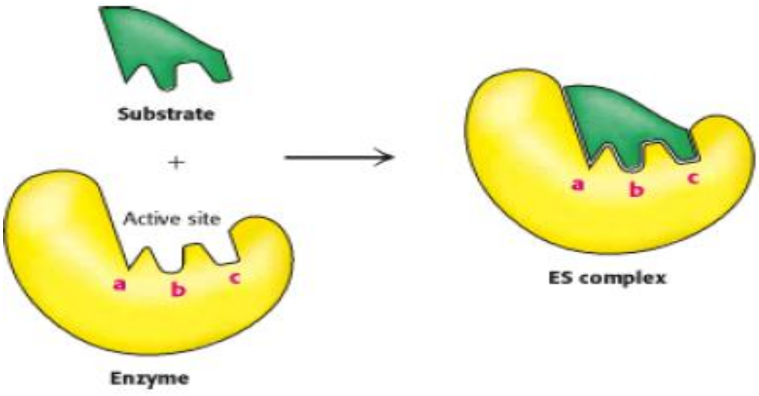
١- يؤلف الموقع الفعال جزءا صغيرا من الحجم الكلي للانزيم ، وبذلك فان معظم الاحماض الامينية في جزيئة الانزيم تكون بعيدة عن المادة الاساس .

٢- يتميز الموقع الفعال بشكله الثلاثي الابعاد ، والذي يتألف من تقارب عدد من الاحماض الامينية في مواقع مختلفة من السلسلة الببتيدية (الاحماض الامينية المكونة للموقع الفعال غير متجاورة) .

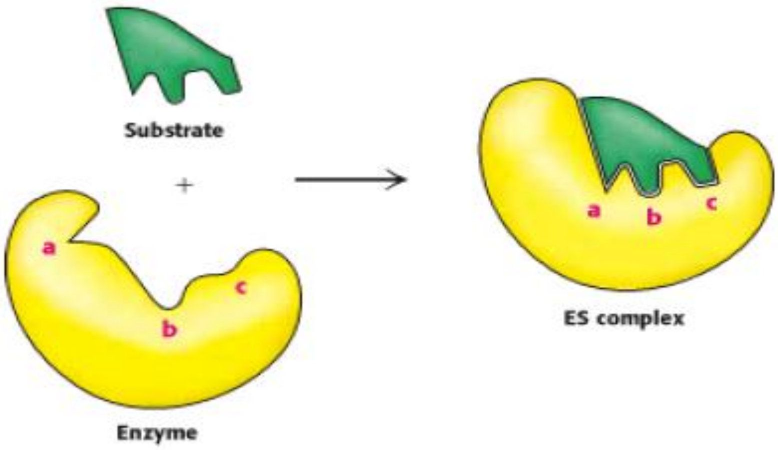


٣- تعتمد خصوصية الارتباط بين المادة الاساس والموقع الفعال على التركيب الثلاثي الابعاد للموقع الفعال والذي يعتمد بالاساس على ترتيب الاحماض الامينية المكونة لهذا الشكل . فالمادة الاساس يجب ان تملك شكل مطابق تماما لشكل الموقع الفعال لتسهل حصول التفاعل الذي يحفز بهذا الانزيم ، وهذا مايسمى بنظرية القفل والمفتاح Theory lock and key، اما اذا كان شكل الموقع الفعال غير مطابق تماما لشكل المادة الاساس التي يعمل عليها ، فسوف يغير الانزيم من شكل الموقع الفعال بحيث يتطابق مع شكل المادة الاساس وهذا مايسمى بنظرية الحث التوافقي Theory of induced fit.وكما تبين الاشكال التالية

٤- ترتبط المواد الاساس بالموقع الفعال للانزيم بقوى غير تساهمية ضعيفة نسبيا .



Lock-and-Key Model of Enzyme-Substrate Binding



Induced-Fit Model of Enzyme-Substrate Binding.

العوامل المؤثرة على سرعة تفاعل الانزيم

هناك العديد من العوامل التي تؤثر على سرعة تفاعل الانزيمات ، اذ تؤثر على طبيعة الانزيم ، من هذه العوامل :

١- تركيز الانزيم Enzyme concentration

ان تركيز الانزيم يؤثر طرديا على سرعة التفاعل ، اذ انه بزيادة تركيز الانزيم يزداد تحول المادة الاساس الى مادة ناتجة مما يزيد من سرعة التفاعل .

وان هذه العلاقة تطبق على معظم تفاعلات الانزيمات ، الا انه قد يحصل حيود عن هذه العلاقة بسبب وجود بعض الشوائب التي قد ترتبط مع الانزيم والتي قد تؤثر على طبيعة الانزيم نفسه .

$$V = K [E]$$

٢- تركيز المادة الاساس Substrate concentration

يعتبر تركيز المادة الاساس من اهم العوامل المؤثرة على سرعة التفاعل الانزيمي ، اذ تزداد سرعة التفاعل بازدياد تركيز المادة الاساس وتستمر هذه الزيادة الى ان تصل الى حد معين تثبت فيه السرعة وذلك لحصول تشبع لجزيئات الانزيم بالمادة الاساس ، لذا فعند زيادة المادة الاساس لاتتغير السرعة . وكما يبين المخطط التالي :

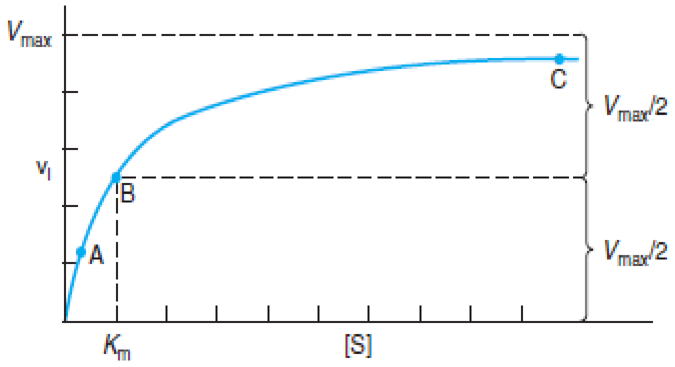


Figure 8–3. Effect of substrate concentration on the initial velocity of an enzyme-catalyzed reaction.

٣- تاثير الاس الهيدروجيني (pH)

تعتمد فعالية الانزيمات القصوى على الاس الهيدروجيني المثالي لفعالية ذلك الانزيم ، اذ ان كل انزيم له قيمة اس هيدروجيني مثالية يكون عندها باقصى فعالية وتسمى (pH- optimium)

اذ ان الانزيم و تركيب بروتيني تتغير طبيعته الكهربائية بتغير الاس الهيدروجيني للمحيط الموجود فيه ، فاما ان يكون الانزيم موجب الشحنة او سالب او متعادل كهربائيا عند نقطة التعادل الكهربائي ، لذلك تختلف الانزيمات في الاس الهيدروجيني الذي يكون فيه باقصى فعالية ، فمثلا انزيم الامايليز amaylase تكون له اقصى فعالة عند (pH= 5) ، اما انزيم البيبسين pepsineفتكون (pH= 1-2) .

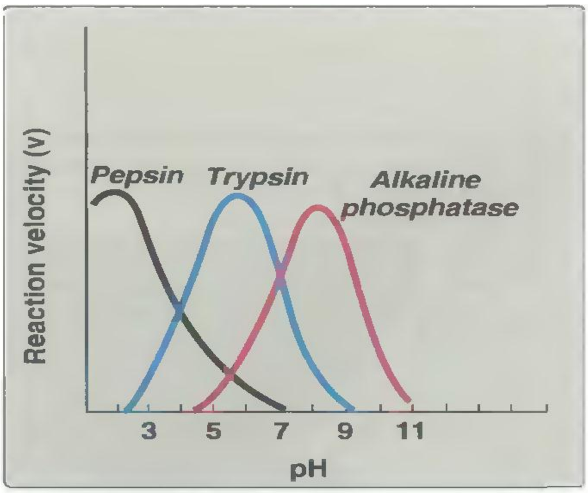


Figure 5.8
Effect of pH on enzyme-catalyzed reactions.

٤- تاثير درجة الحرارة

تزداد سرعة التفاعل الانزيمي بازدياد درجة الحرارة ، وتبقى هذه الحقيقة فعالة لغاية درجة حرارة (50 C°) ، فاذا زادت درجة الحرارة عن (50 C°) يفقد الانزيم جزء من فعاليته بسبب الحرارة الزائدة ، بسبب حصول مسخ للبروتين بفعل الحرارة . كذلك تتميز الانزيمات بامتلاكها لدرجة حرارة مثلى لفعاليتها يمكن ان تعرف

درجة الحرارة المثلى للانزيم : هي تلك الدرجة الحرارية التي يتحول فيها اكبر كمية ممكنة من المادة الاساس الى مادة ناتجة وفي وقت محدد .

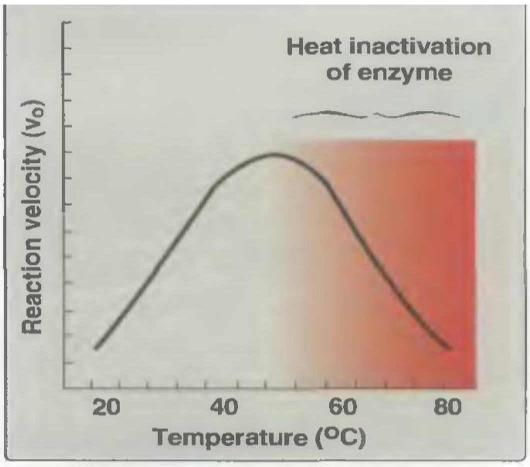


Figure 5.7
Effect of temperature on an enzyme-catalyzed reaction.

تثبيط فعالية الانزيمات Enzyme inhibition

تتميز الانزيمات بحساسيتها الشديدة تجاه المركبات الكيميائية والسموم والتي تعيق عمل الانزيمات داخل الخلايا الحية من خلال تفاعلها مع المجاميع التي تمثل الموقع الفعال او المجاميع التي تقع بالقرب منه مما تسبب تثبيط كلي او جزئي لفعالية الانزيم .

تتحد المثبطات عادة في موقع معين على سطح الانزيم مسبب تفاعل عكسي (يمكن اعادة الانزيم لشكله الفعال) او تثبيط غير عكسي (لايمكن اعادة الانزيم لشكله الفعال) ، ويمكن تعريف التثبيط العكسي وغير العكسي .

التثبيط العكسي Reversible inhibtion

يتميز هذا النوع من التثبيط بالتوازن بين العامل المثبط والانزيم ، ويعتمد حصول هذا التثبيط بالدرجة الاساس على تركيز العامل المثبط ، والذي يعبر عنه بثابت الاتزان Ki والذي يحدد قابلية اتحاد الانزيم مع العامل المثبط .

E + I ↔EI

العامل المثبط = I ، الانزيم = E ، المعقد المكون من الانزيم – المثبط EI

مثال على هذا النوع من التثبيط هو تأثير السيانيد على انزيم Cytochrom-C-oxidase وكذلك تأثير حامض malonic acid او oxalic acid على الانزيم succinate dehydrogenase .

التثبيط غير العكسي Irreversible inhibition

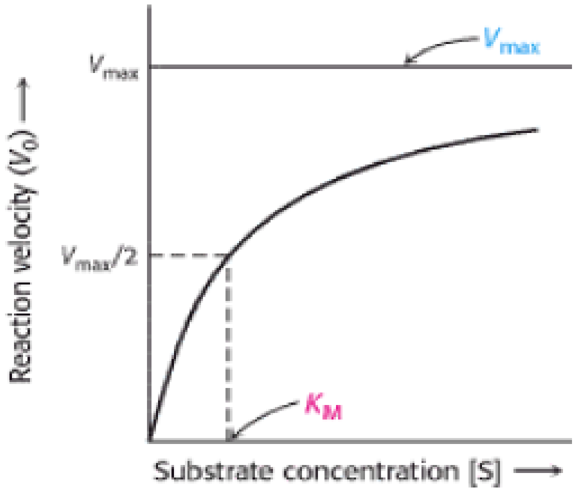
يتميز هذا النوع من التثبيط باتساع وزيادة مستوى التثبيط بمرور الوقت ليصل الى نهايته ، حتى وان كان تركيز العامل المثبط قليل جدا ، من الامثلة على هذا النوع من التثبيط هو تاثير السيانيد على انزيم xanthineoxidase، وتأثير غازات الاعصاب على الانزيم cholinesterase .

E + I → EI

تسمى هذه المعادلة بمعادلة ميكالس - منتن ، لدراسة حركية تفاعلات الانزيمات

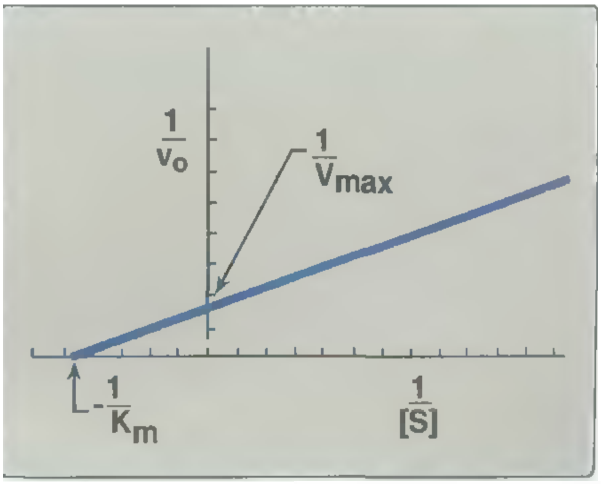
$$v_o = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

فعند رسم العلاقة بين V و [S] سوف نحصل على الشكل التالي ، ويمكن حساب Km (ثابت ميكالس) والذي يعرف على انه تركيز المادة الاساس عندما تكون سرعة التفاعل مساوية لنصف السرعة القصوى Vmax.



لقد تم تحوير معادلة ميكالس من قبل العالم لينويفر- بيرك ، وذلك من خلال اخذ مقلوب المعادلة اعلاه والحصول على المعادلة التالية :

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

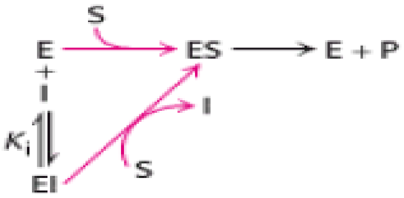


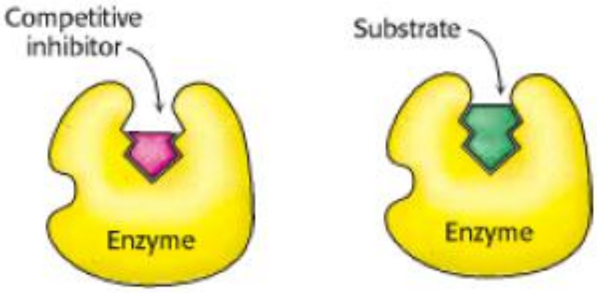
Lineweaver-Burke plot

تؤثر المثبطات على سرعة التفاعلات سواء كان من خلال تأثيرها على ثابت ميكالس Km او السرعة القصوى لتفاعل الانزيم Vmax او كلاهما ، لذلك يمكن تقسيم التثبيط الى ثلاث انواع اعتمادا على تأثيرالمثبطات على هذه العوامل .

١- التثبط التنافسية Competitive inhibition

في هذا النوع من التثبيط يحصل تنافس بين العامل المثبط والمادة الاساس للاتحاد مع الموقع الفعال للانزيم ، اذ ان كمية مقدار التثبيط يعتمد على تركيز المادة الاساس والعامل المثبط ، فعند ثبات تركيز العامل المثبط يمكن ازالة او التخلص من تأثير المثبط من خلال زيادة تركيز المادة الاساس ، اذ كلما اصبح الانزيم مشبع بالمادة الاساس يصبح الاحتمال قليل لارتباطه بالمثبط فلا يتأثر بوجوده ، مما يؤدي الى زيادة ثابت ميكالس Km بوجود المثبطات التنافسية .

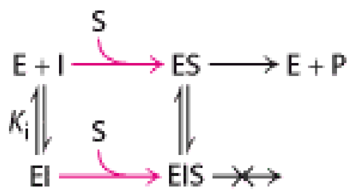


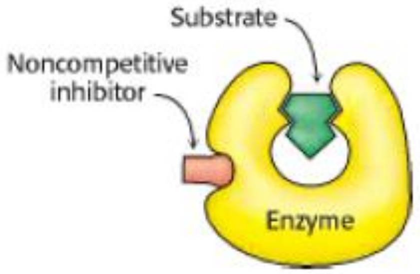


٢- التثبيط اللاتنافسي Non- Competitive inhibition

في هذا النوع من التثبيط لايؤثر العامل المثبط على ارتباط المادة الاساس مع الانزيم ، وانما يؤثر فقط على سرعة التفاعل الانزيمي ، ويحصل هذا بسبب كون المعقد (انزيم – مادة اساس) لايتفكك على الاطلاق . اذ ان سرعة التفاعل تعتمد على سرعة تفكك هذا المعقد ، اذ يعمل المثبط على انقاص كمية الانزيم النشط . من الامثلة على عمليات التثبيط من هذا النوع ، هو تثبيط بعض الانزيمات بفعل ايونات العناصر الثقيلة ، مثل انزيم اليوريز يكون حساس لهذه الايونات .

وقد يحصل هذا التثبيط بفعل احتمال اتحاد العامل المثبط بطريقة غير عكسية مع الموقع الفعال للانزيم ، او اتحاد المثبط مع موقع اخر على سطح الانزيم بحيث يؤثر على الشكل الهندسي للموقع الفعال للانزيم ، مما يقلل من فعالية الانزيم .





٣- التثبيط المختلط Mixed inhibition

يؤثر هذا النوع من التثبيط على ثابت ميكالس وسرعة التفاعل الانزيمي ، فيمكن ان تؤدي الى زيادة او نقصان ثابت ميكالس ، الا انه تأثيره على سرعة التفاعل ينتج عنه نقصان في سرعة التفاعل .

٤- التثبيط غير التنافسي Un-competitive inhibition

في هذا النوع من التثبيط يحصل اتحاد للعامل المثبط مع المعقد (انزيم – مادة اساس) المتكون ، وليس مع الانزيم مما يؤدي الى منع تكسر هذا المعقد الى مواد ناتجة ، ويسبب هذا التثبيط الى تقليل قيمة ثابت ميكالس وتقليل سرعة التفاعل .

تنشيط الأنزيمات Enzyme activation(Co-factor)

المنشطات : هي الجزيئات الصغيرة التي عادتا ما تكون لاعضوية تحتاجها بعض الانزيمات لتحفيز واتمام فعاليتها ، وغالبا ما تكون من العناصر المعدنية والتي عادتا تتحد مع الانزيم الحر او المادة الاساس لتكوين المعقد (معدن – مادة اساس) والذي بدوره يتحد مع الانزيم ، من اهم الايونات التي تشارك في تفاعلات الانزيمات هي : Zn , K ,Na, Mo, Mg, Cu , Co , Ca .

العوامل المرافقة الانزيمية Co-enzyme

تحتاج بعض الانزيمات لوجود بعض المركبات العضوية الخاصة والتي تعمل كعوامل مرافقة لها تساعدها على تادية دورها واتمام تفاعلاتها وتسريع حصولها داخل الخلية الحية . اذ تقوم بدور المانح او المستقبل للمجاميع او الذرات المضافة او المسحوبة من المادة الاساس ، كذلك تلعب دور مهم في المركبات الوسطية الناتجة خلال مراحل التفاعل دون ان تستهلك في التفاعل . غالبا ماتسمى هذه المركبات بالمرافقات الانزيمية Co-enzyme ويكون ارتباطها ضعيف بالانزيم ، الا انه بعض هذه الجزيئات يكون ارتباطها قوي بالانزيم وتسمى المجموعة المترابطة prosthetic group و اذ ان الانزيم قبل الارتباط يسمى apo-enzyme اما بعد ارتباطه بالمجموعة المترابطة فيسمى Halo-enzyme .

الايزو انزيمات Iso-enzyme

تعرف الايزوانزيمات بانها الانزيمات التي تقوم بنفس الفعالية لكنها توجد باكثر من شكل جزيئي واحد ، مثال على ذلك انزيم Lactate dehydrogenase اذ ان هذا الانزيم مكون من اربع سلاسل ويتواجد في القلب والعضلات ، ففي القلب يسمى H4 اما في العضلات فيسمى M4 ، الا انه توجد لهذا الانزيم ايزوانزيم وسطية وبالاشكال التالية : MH3 , M2H2 , M3H

الانزيمات الالوستيرية Allosteric enzyme

هي الانزيمات التي لاتمتثل لنموذج ميكالس - منتن ، والتي غالبا ماتظهر على شكل حرف C (sigmoidal) عند رسم العلاقة بين سرعة التفاعل وتركيز المادة الاساس ، وتكون هذه الانزيمات حاوية على اكثر من موقع فعال بحيث احد المواقع الفعالة يؤثر على الموقع الاخر وضمن نفس جزيئة الانزيم . ان فعالية هذه الانزيمات تتغير نتيجة لارتباطها مع بغض الجزيئات المنظمة بمواقع بعيدة عن الموقع الفعال ، وهذه المنظمات اما ان يكون تأثيرها موجب (زيادة سرعة التفاعل) وتسمى منشطات ، ا وان يكون تاثيرها سالب (يقلل سرعة التفاعل) مثبطات .