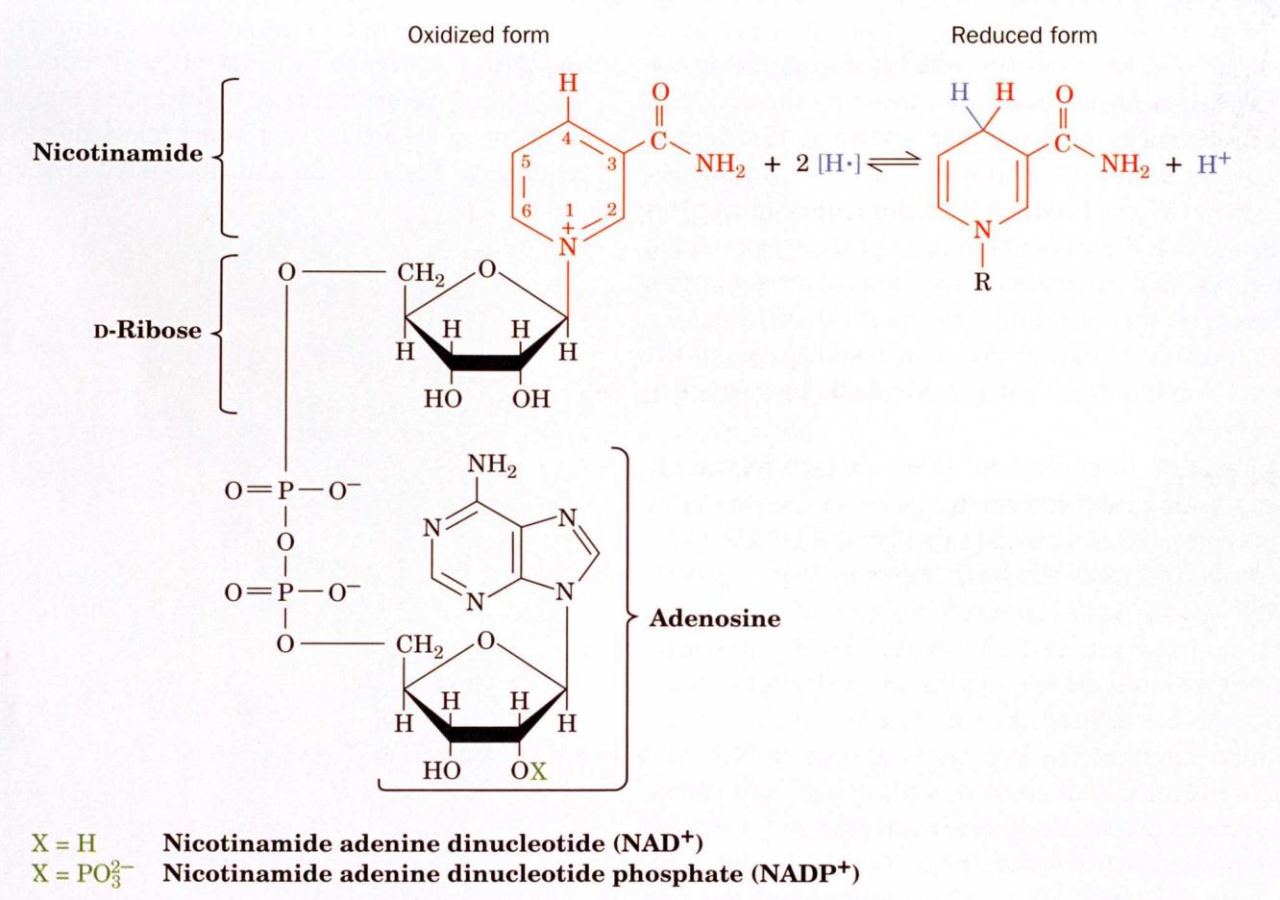
الفصل الخامس

الانزيمات

Enzymes

المقدمة:

الانزيمات هي بروتينات تتالف من الاحماض الامينية نفسها الموجودة في البروتين وتتكون بواسطة الخلايا الحية وتستطيع ان تعمل بصورة مستقلة خارج الخلايا الحية حيث تتكون من سلسلة او عدة سلاسل بيبتيدية. كما يحتوي البعض منها على مكونات ضرورية اخرى لفعالية الانزيم وتسمى بالعوامل المرافقة (المساعدة) Cofactor وتكون بشكل معادن مثل المغنيسيوم والحديد او تكون بشكل جزيئات عضوية معقدة وتسمى بمرافقات الانزيم وعند ارتباط العوامل المرافقة مع الانزيم بقوة فتسمى بالمجموعة الرابطة Prosthetic group، ويوضح التركيب الكيميائي التالي مثال على احد الانزيمات وهو Yeast alcohol dehydrogenase:



وهناك ثلاث انواع من الانزيمات هي:

1- الانزيمات الاحادية Monoenzymes : وهي انزيمات تتالف جزياتها من سلسلة بيبتيدية واحدة وهذا النوع يساعد في تفاعلات التحلل المائي مثل انزيم Trypsin.

2- **الانزيمات المعدودة Oligoenzymes**: وهي انزيمات تتالف جزيئاتها من 2-60 سلسلة بيبتيدية وتدعى كل سلسلة بيبتيدية بوحدة ثانوية مثل انزيم Hexokinase .

3- **الانزيمات المتعددة Polyenzymes**: وهي مجموعة انزيمات مرتبطة مع بعضها وتشترك جميعا في مسار ما لتحويل مادة او مواد الاساس الى ناتج مثل المعقد Pyruvate dehydrogenase المكون من ثلاثة انزيمات تشترك في تحويل البايروفات الى Acetyl CoA.

اهمية الانزيمات:

تستخلص الانزيمات من الانسجة الحيوانية والنباتية ثم تنقى وتستعمل للاغراض التالية:

1- دراسة المسارات الايضية وتنظيم التفاعلات الجارية في ذلك المسار.

2- دراسة تركيب والية عمل الانزيمات.

3- تستعمل في الصناعة كعوامل مساعدة بايولوجية.

4- تستخدم دراسة فعالية الانزيمات الموجودة في مصل الدم سريريا كمؤشرات لمعرفة حالة مرضية.

تصنيف الانزيمات:

تصنف الانزيمات حسب طبيعة التفاعل المحفز الى ستة اصناف هي:

1- الانزيمات المؤكسدة – المختزلة Oxido-Reductase enzymes:

وهي انزيمات تشمل جميع الانزيمات التي تعمل في تفاعلات الاكسدة مثل انزيم Alcohol NAD^+ oxidoreductase والمرقم 1.1.1.1 .

2- الانزيمات الناقلة Transferase enzymes:

وهس انزيمات تشمل جميع الانزيمات التي تنقل مجموعة كيمياوية من مادة اساس لاخرى مثل نقل مجاميع الامين او المثيل او نقل مجاميع تحتوي الفسفور والكبريت مثل انزيم Creutin phosphor transferase والمرقم 2.7.3.2 .

3- الانزيمات المميئة Hydrolases :

وهي انزيمات تشمل جميع الانزيمات التي تعمل في تفاعلات التحلل المائي مثل الانزيمات الهاضمة Lipase and Amylase ويشار له بالرقم 3.1.1.3 حيث ان رقم 3 يشير الى ان الانزيم مميء وهو يعمل على الاواصر الاسترية 3.1 وهي اواصر كاربوكسيلية.

4- الانزيمات الفاصلة بدون تميؤ Lyases :

وهي انزيمات تشمل جميع الانزيمات التي تعمل على حذف مجاميع كيمياوية بدون تميؤ حيث تزيح مجموعة من المادة الاساس لتكوين اصرة ثنائية او تضيف مجموعة الى الاصرة الثنائية للمادة الاساس لينتج اصرة مفردة وتعمل هذه الانزيمات على الاواصر (C-C, C-N, C-S, C-O) مثل انزيم 2- Oxoacid carboxy lyase (Pyruvate decarboxylase) والمرقم 4.1.1.1 وهو يعمل على الاواصر 4.1 (C-C) حاذفا مجموعة كاربوكسيل 4.1.1 .

5- الانزيمات المناظرة (المتماثلة) Isomerase :

وهي انزيمات تشمل جميع الانزيمات التي تعمل على تغير احد متناظرات مركب ما الى متناظر اخر له مثل انزيم Retinol isomerase والذي يتعلق بعملية الابصار والمرقم 5.2.1.3 .

6- الانزيمات المكونة Ligase:

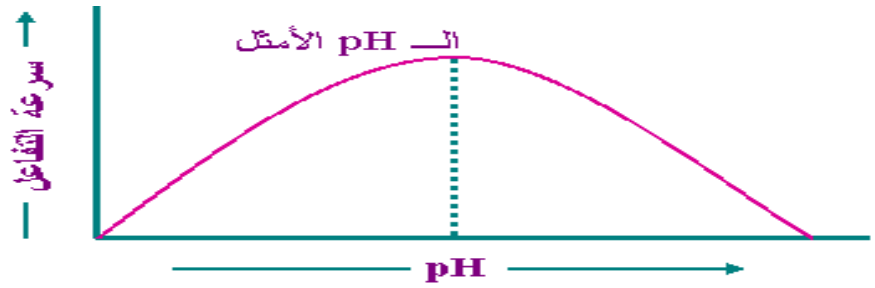
وهي انزيمات تشمل الانزيمات التي تعمل على تكوين اصرة بين جزيئتين معا او ربط نهايتي جزيء واحد لتكوين شكل حلقي وتقترن التفاعلات المحفزة بهذه الانزيمات بتكسر اصرة بايروفوسفات لـ ATP مثل انزيم Tyrosyl itRNA synthetase الذي يربط جزيئتين معا مكونا اواصر 6.1 (C-O) .

الخواص الحركية للانزيمات:

ان دراسة سرع التفاعلات الانزيمية والعوامل المؤثرة عليها يطلق عليه بعلم الحركية للانزيمات، وهناك عدة عوامل تؤثر على فعالية الانزيم اهمها:

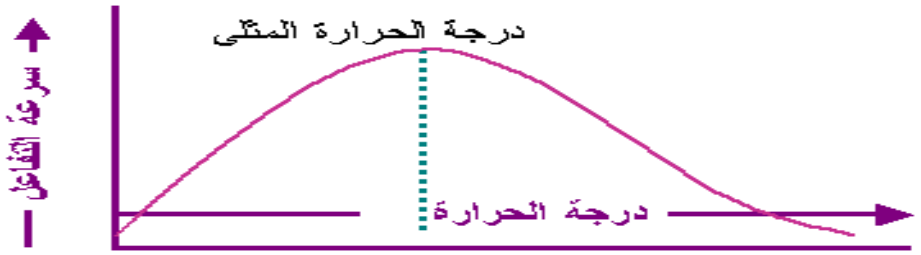
1- تاثير الدالة الحامضية:

لكل انزيم دالة حامضية معينة تدعى بالرقم الهيدروجيني الامثل للانزيم، حيث تكون عنده فعالية الانزيم بدرجتها القصوى، وتقل فعالية الانزيم فوق او تحت الرقم الهيدروجيني مثل انزيم Pepsin الذي يفرز داخل المعدة وله دالة حامضية مثلى قيمتها حوالي 2 وقيمة الدالة الحامضية للمعدة هو 3.2 وكما موضح في المخطط التالي:



2- تأثير درجة الحرارة:

ان ارتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الانزيم بشرط ان لا يصل هذا الارتفاع الى الحد الذي يؤدي الى مسخ الانزيم، وان فعالية الانزيم تقع بين 10-50 درجة مئوية، كما ان الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الانزيمي في سرعته القصوى يطلق عليها بالدرجة الحرارية المثلى للانزيم وكما موضح في المخطط التالي:



3- تأثير كمية الانزيم:

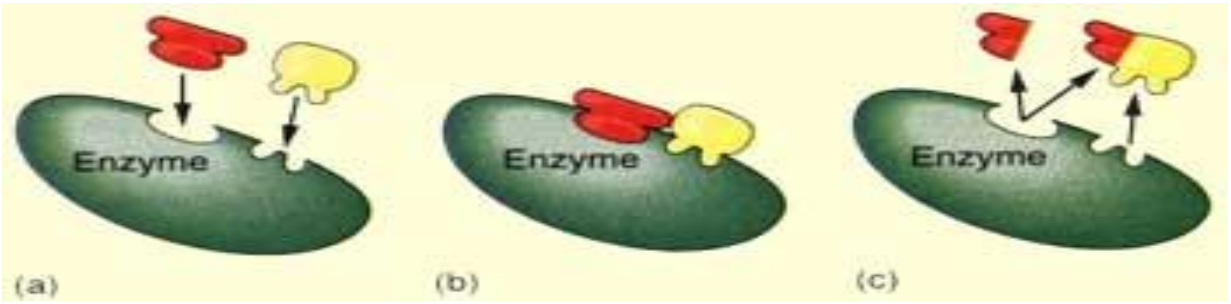
ان سرعة التفاعل تتناسب طرديا مع كمية الانزيم ضمن مدى واسع لذا ينبغي استعمال تركيز ثابت من المادة الاساس وبمقدار فائض عن حاجة الانزيم ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية انزيم معين في مستخلص لنسيج معين او في سائل بايولوجي معين.

4- تأثير تركيز المادة الاساس:

عند ابقاء تركيز الانزيم ثابتا او عند التركيز الواطيء للمادة الاساس فان سرعة التفاعل الانزيمي (السرعة الاولية) تزداد بازدياد تركيز المادة الاساس لكنه عند الا ستمرار في زيادة تركيز المادة الاساس فان الزيادة في معدل السرعة تتباطيء الى ان تصبح السرعة ثابتة بالرغم من زيادة تركيز المادة الاساس ويطلق على هذه السرعة الثابتة عند التركيز العالي للمادة الاساس بالسرعة القصوى وكما موضح في المخطط التالي:

الية عمل الانزيم:

لكل انزيم تركيب خاص ودقيق يميزه عن غيره، وفي كل انزيم مركز منشط او اكثر مسؤول عن قيام الانزيم بعمله حيث يتلاءم الموقع الفعال هذا مع نوع مادة الاساس (substrate) التي يعمل عليها الانزيم ، حيث ترتبط المادة الاساس في هذا المكان. في البدايه ترتبط مادة الاساس بالانزيم فيتكون مركبا "معقدا" مؤقتا (Enzyme-Substrate Complex). ثم يتحلل المركب المعقد المؤقت ليكون نواتج ويتحرر الانزيم وكما موضح في الشكل التالي :



وهناك فرضيتان وضعتا لتفسر الية عمل الانزيمات وهما:

1- فرضية القفل والمفتاح:

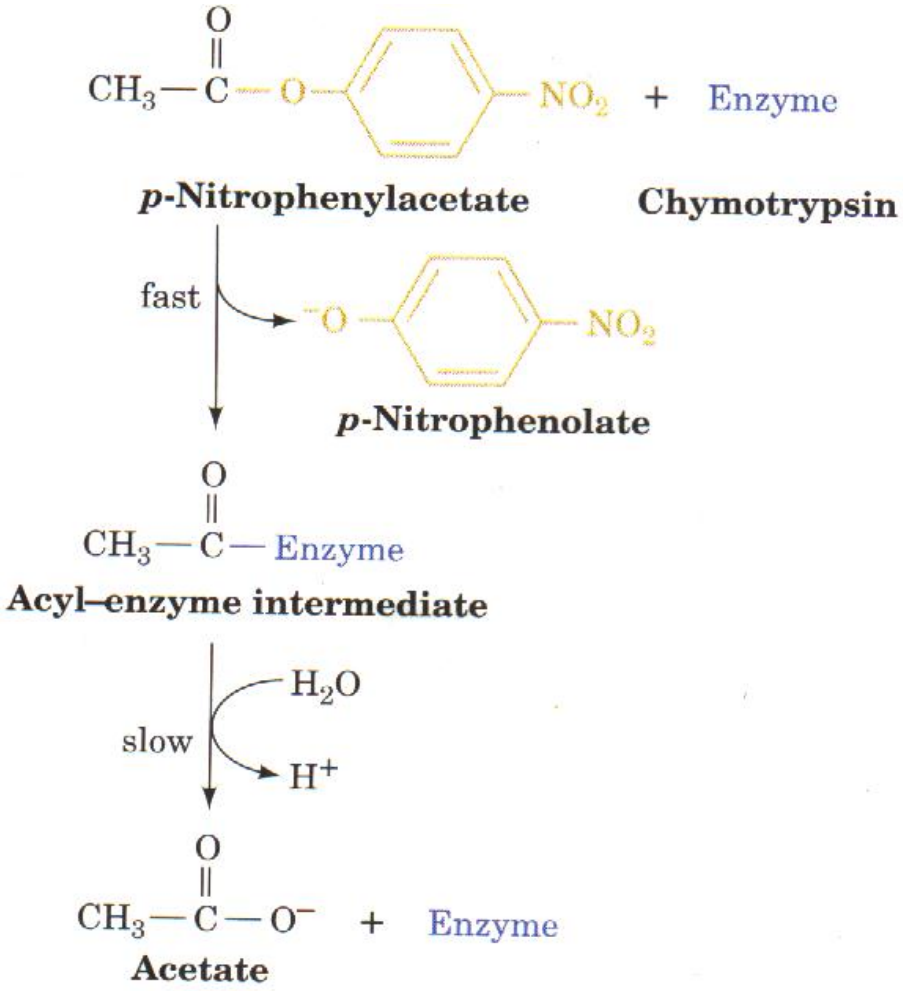
اقترح العالم Fischer عام 1890 انه في التخصص الانزيمي يتوجب وجود تراكيب مكملة واحد للاخر بين الانزيم والمادة الاساس حيث يقترن الانزيم بالمادة الاساس اثناء عملية التحفيز بشكل يكون فيه الموقع الفعال للانزيم موافقا تماما للمادة الاساس وهو يشبه توافق عمل القفل والمفتاح واثناء هذه العملية يصبح معقد انزيم – مادة اساس له تركيب فضائي مجسم جديد وفعال حيث تتحرر المادة الاساس لتصبح مادة جيدية تتحرر بعدها من الانزيم الذي يستعيد شكلة الاصلي.

2- فرضية كوشلاند:

اقترح كوشلاند عام 1958 فرضية التوافق المستحث وهي تحوير لفرضية القفل والمفتاح حيث يفترض بان كلا من الموقع الفعال والمادة الاساس تمتلك نوعا من المرونة وان تركيب الموقع الفعال يكون مقاربا فقط لتركيب المادة الاساس وعند حدوث الاتحاد لتكوين معقد انزيم-مادة اساس يحثد تغير طفيف للهيئة المجسمة للانزيم حيث يحسن من التلاؤم مع المادة الاساس ويؤدي الى تحويل معقد انزيم-مادة اساس الى صورة اكثر فعالية فتؤدي الى تكوين الناتج الذي يتحرر من الانزيم حيث يستعيد الانزيم شكله الاصلي ،ويوضح الشكل التالي مثال على الفريضيتين:

شكل تخطيطي يوضح عمل الإنزيم

كما يوضح المخطط التالي مثال على ميكانيكية عمل الانزيم:



وتتالف الانزيمات من:

1- الانزيمات المنظمة Allosteric enzymes :

للانزيمات المنظمة موقع اخر منظم يختلف عن اطرف المحفز للموقع الفعال ترتبط فيه المواد المؤثرة وتتكون عادة اصرة تساهمية بين المادة المؤثرة والانزيم حيث تتالف الانزيمات المنظمة من عدة وحدات لسلاسل ببيتيدية وتعمل هذه الانزيمات على تنظيم سرعة المسارات الايضية وحسب حاجة الخلية ولهذا تسمى بالانزيمات المنظمة.

2- الانزيمات المتماثلة الاصل Isoenzymes :

وهي الانزيمات التي تحتوي على عدد من الوحدات لسلاسل ببيتيدية من نوعين او اكثر والتي يمكن ان تتواجد باكثر من شكل جزيئي واحد مثل انزيم Lactate dehydrogenase .

تثبيط الانزيم Enzyme Inhibition:

يمكن تثبيط الانزيم من خلال خفض سرعة التفاعل الانزيمي بواسطة:

1- رفع درجة الحرارة. 2- تغير الدالة الحامضية. 3- اضافة احدى مرسبات البروتين المختلفة 4- اضافة مواد كيمياوية معينة تسمى بالمثبطات.

المثبطات Inhibitors :

وهي مواد كيمياوية معينة تعمل على خفض سرعة التفاعل الانزيمي من خلال تاثيرها على مجاميع معينة لنظام الانزيم وتكمن اهميتها في:

1- التعرف على المجاميع الوظيفية الموجودة في الموقع الفعل للانزيم.

2- التعرف على الية عمل الانزيم في تحفيزه لتفاعل معين.

3- تعطي معلومات مفيدة في توضيح المسارات الحياتية المختلفة.

4- توضح عمل بعض العقاقير والمواد السامة والمبيدات.

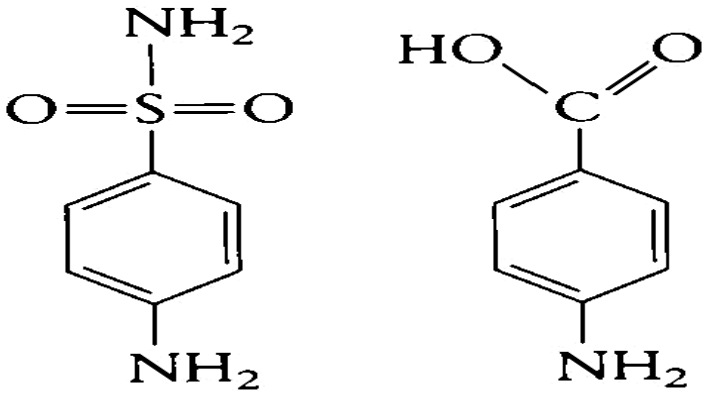
انواع التثبيط:

1- التثبيط العكسي Reversible Inhibition :

وهي المثبطات التي تتحد مع الانزيم مباشرة ويمكن ازالتها بعملية الفرز الغشائي او بالتخفيف ليسترجع الانزيم فعاليته ومن انواعها:

1- التثبيط التنافسي Competitative Inhibition :

وهو التثبيط الذي يكون فيه التركيب الكيمياوي للمثبط مشابها لتركيب المادة الاساس لذلك الانزيم وبالتالي فان هذا المثبط يتنافس مباشرة مع المدة الاساس لاحتلا الموقع الفعال للنزيم وتكوين المعقد EI مثل المثبط Sulfanilamide الذي يكون تركيبه مشابها للمركب P- aminobenzoic aicd وهو عامل لنمو البكتريا لذا يستخدم هذا المثبط كعلاج للحد من نمو البكتريا:



Sulfanilamide PABA

2- التثبيط غير التنافسي العكسي Reversible noncompetitative inhibition :

وهو التثبيط الذي يكون فيه التركيب الكيمياوي للمثبط لا يشابه تركيب المادة الاساس او قد يشابه قليلا حيث يرتبط مع الانزيم في موقع اخر يختلف عن الموقع الفعال بغض النظر فيما اذا كان ذلك الانزيم حرا او مرتبطا بمادة اساس وفي هذه الحالة يمكن تكوين كلا من المعقد EIS , EI.

3- التثبيط اللاتنافسي Noncompetitive inhibition:

وهو التثبيط الذي يتحد فيه المثبط مع المعقد ES فقط لتكوين المعقد EIS حيث يعد المثبط اللاتنافسي جزءا من المثبط غير التنافسي العكسي لان كلاهما يحتويان المعقد EIS.

2- التثبيط غير العكسي (تسمم الانزيم) Irreversible inhibition :

وهو التثبيط الذي يكون فيه تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الاساس حيث تتحد المثبطات بقوة مع الانزيم ولا يمكن فصلها عنه بالتخفيف او بعملية الفرز الغشائي حيث يؤدي هذا الارتباط الى خفض فعالية الانزيم ثم توقفها كليا ويطلق عليه بتسمم الانزيم. كما ان زيادة تركيز المادة الاساس لا يلغي تاثير عمل هذه المثبطات مثل ايونات المعادن الثقيلة وIodo acetamide التي تتحد بقوة مع مجاميع ثايول لبعض الانزيمات.

الفحص الكمي لفعالية الانزيم:

يمكن قياس فعالية الانزيم في محلول او مستخلص نسيجي معين بواسطة الفحص الكمي نسبة الى التاثير المحفز الذي ينتجه ذلك الانزيم. كما من الضروري معرفة المعادلة الكلية للتفاعل المحفز لذلك الانزيم ومعرفة طريقة تحليلية بسيطة لتعيين اختفاء المادة الاساس او ظهور نواتج التفاعل، حيث تفحص الانزيمات عادة عند درجة الرقم الهيدروجيني ودرجة الحرارة المثليين وكلك التركيز الاشباعي بالمادة الاساس.

وحدة قياس فعالية الانزيم:

ويقصد بها كمية الانزيم التي تسبب في تحويل مايكرومول واحد من المادة الاساس خلال دقيقة واحدة عند درجة حرارة الغرفة وتحت ظروف مثالية للقياس وتستعمل الوحدة Katal (kat) لقياس فعالية الانزيم وهي تشير الى كمية الانزيم اللازمة لتحويل مول واحد من المادة الاساس في الثانية وان العلاقة بين وحدة الانزيم و الكاتال هي: $1\ kat = 6 \times 10^7\ U$

الفعالية النوعية للانزيم:

ويقصد بها عدد وحدات الانزيم لكل ملغرام من البروتين ويستفاد منه لقياس نقواة الانزيم.

عدد التحول:

ويقصد به عدد الجزيئات المتحررة من التفاعل لكل وحدة زمن بواسطة جزيئة واحدة من الانزيم عندما يكون الانزيم هو العامل المحدد للسرعة مثلا عدد التحول لانزيم Carbonic anhydrase هو 136×10^6 جزيئة/ دقيقة وهو اعلى عدد تحول معروف.

تخصص الانزيم:

تكون درجة تخصص الانزيم مع مادة اساس واحدة واكثر متفاوتة حيث تعتمد طبيعة تخصص الانزيم على عدد من العوامل المشتركة في ارتباط المادة الاساس بالانزيم وهي:

1. **تجاذب المجموعات المشحونة للمادة الاساس مع مثيلتها في البروتين.**
2. **تداخل المجموعات الكارهة للماء مع مثيلتها في البروتين.**
3. **التاصر الهيدروجيني مع البروتين.**
4. **التداخل مع المجموعات المترابطة للبروتين.**

اسئلة الفصل الخامس:

س1/ وضح ماذا تمثل الارقام 2.7.3.2 في تسمية الانزيم كرياتين فوسفو ترانسفيريس؟

س2/ الى ماذا يشير الرقم (5.2) والرقم (5.2.1) في انزيم ريتينول ايزوميريس؟

س3/ ماالمقصود بالرقم الهيدروجيني الامثل؟

س4/ ماالمقصود بالسرعة القصوى للانزيم؟ موضحا" كيف فسر سببها من قبل العالمين ميكايلس ومينتون؟

س5/ مالمقصود بالمحفز الموجب والسالب؟ وماهو تاثير اقتران المؤثران بالموقع المنظم؟

س6/ اين يوجد انزيم لاكتيت ديهايدروجينيس، موضحا" كيفية تكوين الاشكال الخمسة واهميتها لهذا الانزيم؟

س7/ وضح بمخطط الفرضية المقترحة لالية عمل انزيم الكيميوتريبسين؟

س8/ ماهي الظروف التي يعتمد عليها التثبيط التنافسي؟

س9/ وضح بالتفصيل رسم لينويفر-بيرك للتحقق من التثبيط التنافسي والتثبيط عير التنافسي العكسي والتثبيط اللاتنافسي؟

س10/ وضح كيف يتم تثبيط انزيم اسيتايل كولين استريس باستخدام المثبط داي ايسو بروبايل فلورو فوسفات؟ مع ذكر معادلة التثبيط؟

س11/ ماهي وظيفة المثبط داي ايسو بروبايل فلورو فوسفات و انزيم اسيتايل كولين استريس؟