الكيمياء الحياتية

BIOCHEMISTRY

الأنزيمات

Enzymes

مدرس المادة

م.م محمد حميد

الأنزيمات: Enzymes

الأنزيمات محفزات بروتينية للتفاعلات الحياتية تتألف من أحماض أمينية تتكون بواسطة الخلايا الحية ، تعمل بتخصص عالي على جزيئة (مادة اساس Substrate) وهي المادة التي يعمل عليها الأنزيم أو على صنف من الجزيئات المعينة ، وتحوي الخلية الحية الواحدة مايقارب 1000 من الانزيمات المختلفة لذلك تعمل بكفاءة عالية،حيث تقوم وبكميات قليلة بزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية بتقليل طاقة التنشيط والتي تحدث داخل الخلية الحية سواء نباتية ام حيوانية بدون أن تتغير خلال هذه التفاعلات.

لقد اكتشفت فعالية الانزيمات خلال الدراسات الاولية لعملية الهضم بالمعدة خلال الفترة من 1780_1825 وبعد ذلك استنتج لويس باستور ان تخمر السكر الى كحول بواسطة الخميرة يحفز بالخمائر او الانزيمات ، وفي سنة 1860 افترض ان هذه الانزيمات ترتبط بصورة لا يمكن فصلها عن تركيب خلية الخميرة وحياتها، وفي عام 1897 نجح بوخنر في استخلاص الانزيمات التي تحفز تخمر الكحول من خلايا الخميرة.

الخواص العامة للانزيمات:

1- تعمل الانزيمات كعوامل مساعدة بايلوجية تزيد من سرعة التفاعلات الحياتية .
2- تدخل الانزيمات التفاعلات دون اي تغير في تركيبها الكيميائي.
3- تعمل على تخفيض طاقة التنشيط اللازمة للتفاعل.
4- تمتلك القابلية على انجاز التفاعل بنسبة 100%.
5- تمتلك خواص حركية مميزة.
6- تمتاز بقدرتها على التحفيز تحت ظروف معتدلة من حيث درجة الحرارة وتركيز ايون الهيدروجين(PH)
7- جميع الانزيمات هي مواد بروتينية لذلك فان اي عامل او مادة تؤثر على تركيب البروتين تؤدي الى فقدان الانزيم لفعاليته ، حيث يعتبر التسخين او التفاعل مع الحوامض والقواعد القوية والتعرض للاشعة فوق البنفسجية او التعرض لاي مادة تؤدي الى تغير طبيعة البروتين فتؤدي الى تحطيم فعالية الانزيم.
8- يتراوح الوزن الجزيئي للانزيم من 10^4-10^6.
9- تحوي جميع الانزيمات على مركز فعال (موقع فعال) Active site يعمل على ربط الانزيم بالمادة الاساس(Substrate).

يمكن توضيح خصائص العمل التحفيزي للانزيم بالمثال انزيم كاتاليس Catalase والذي يحفز التفاعل التالي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} 2H_2O + O_2$$

حيث ان التفاعل اعلاه يتم ببطيء شديد بغياب الانزيم، ولكن تصبح سرعة التفاعل بوجود الانزيم 10^6 تحت الظروف المعتدلة.

الطبيعة الكيمياوية للانزيمات:

الانزيمات هي بروتينات تتألف من الاحماض الامينية نفسها الموجودة في البروتينات وتتكون بواسطة الخلايا الحية. وان الاشكال المجسمة الخاصة للانزيمات تعود الى وجود التعاقب المعين لمخلفات الاحماض الامينية التي تؤلف كل انزيم ، وتتكون الانزيمات من سلسلة واحدة او عدة سلاسل لمتعدد الببتيد.

تحتوي الانزيمات على مكونات ضرورية لفعاليتها تسمى العوامل المساعدة (المرافقة) Cofactor وهي إما عبارة عن معادن مثل الحديد Fe بهيئتيه Fe^{2+} او Fe^{3+} في انزيم السايتوكروميس والكتاليس ، والمغنسيوم Mg^{2+} في انزيم فوسفوترانسفيريسس والمنغنيز Mn^{2+} في انزيم الارجينيس والزنك Zn^{2+} في انزيم الكحول ديهايدروجينيس والنحاس Cu^{2+} في انزيم السايتوكروم اوكسيديز، أو تكون بشكل جزيئات عضوية معقدة تسمى مساعدات (مرافقات) الانزيم (Coenzyme) حيث تحتاج الانزيمات احيانا في عملها الى وجود كلاً من العوامل المرافقة ومرافقات الانزيمات . وعند ارتباط العوامل المرافقة بقوة مع الانزيم فإنه يطلق عليها اسم المجموعة المترابطة Prosthetic group، وتكون العوامل المساعدة ثابتة عند التسخين بينما يتأثر الجزء البروتيني للانزيم بالتسخين.

تقسيم الأنزيمات:

تختلف الإنزيمات عن بعضها البعض في بنائها الكيميائي استناداً الى:

- تسلسل ونوع وعدد الأحماض الأمينية المكونة لسلاسلها الببتيدية (التركيب الأولي)
- التوزيع الفضائي للذرات والمجموعات بالنسبة لبعضها في السلسلة الببتيدية المكونة للأنزيم وهذا يتوقف لحد كبيرعلى درجة الألتفاف او الألتواء على طول السلسلة الببتيدية (التركيب الثانوي)
- الشكل المجسامي الثلاثي الأبعاد لجزيئة الأنزيم (التركيب الثالثي).

وهناك ثلاثة انواع من مجاميع الانزيمات اعتماداً على عدد السلاسل الموجودة في تركيبها البنائي الى:

1- **الانزيمات المونومرية monomeric** وهي التي تتألف جزيئاتها من سلسلة ببتيدية واحدة مثل التربسين trupsin وريبونيوكليس ribonuclease حيث يعمل هذا النوع من الانزيمات في تفاعلات التحلل المائي.

2- **الانزيمات الأوليكومرية oligomeric** وهي التي تتألف جزيئاتها من 2_10 سلسلة ببتيدية ، مثل هيكسوكينيس hexokinase المكون من اربع سلاسل ببتيدية ، وفوسفوفركتوكاينيزphosphofructokinase المكون من سلسلتين.

3- **معقد متعدد الانزيمات multienzyme complex** وهي مجموعة انزيمات مرتبطة مع بعضها وتشترك جميعا جميعا في مسار ما لتحويل مادة الى ناتج ، مثل المعقد بايروفيت ديهايدروجينيزpyruvate dehydrogenase المكون من ثلاث انزيمات تشترك في تحويل البايروفات الى أسيتايل كو انزيم A (Acetyl CoA).

استعمالات الانزيمات Uses of Enzymes

تستخلص الانزيمات من الانسجة الحيوانية والنباتية ثم تنقى للاغراض التالية:

1- لدراسة المسارات الايضية(metabolic pathway) وتنظيم التفاعلات في ذلك المسار.
2- دراسة تركيب وآلية عمل الانزيمات.
3- تستخدم في الصناعة كعوامل مساعدة بايلوجية.
4- تستخدم دراسة فعالية الانزيمات الموجود في مصل الدم سريريا كمؤشرات لمعرفة حدوث حالة مرضية معينة.

الجدول التالي يوضح بعض الأنزيمات المستخدمة للأغراض التشخيص السريري

الأنزيم	التشخيص الرئيسي للأمراض
أسبارتيت أمينوترانسفيريز(AST or GOT)	إحتشاء العضلة القلبية
ألانين أمينوترانسفيريز(ALT or GPT)	التهاب الكبد الفيروسي
أميليز Amylase	التهاب البنكرياس الحاد
سيليروبلازمينCeruloplasmin	مرض ويلسن (تحطم الكبد)
كرياتين كاينيزCreatine Kinase	اضطرابات العضلة واحتشاء العضلة القلبية
لاكتيت ديهيدروجينيز LDH	إحتشاء العضلة القلبية
الفوسفاتيز الحامضيAcid phosphatase	سرطان البروستات
الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase	اضطرابات العظام المختلفة وأمراض الكبد الأنسدادي

وتستخدم بعض الأنزيمات لأغراض علاجية أو مضادات أكسدة أو لقاحات ضد أنواع معينة من الطفيليات مثل استخدام بروتيز Protease في عقارات المقاومة لفيروس الأيدز.
ويستخدم البعض منها بمثابة كواشف في بعض التحاليل المختبرية مثل تقدير الكلوكوز بإستخدام الإنزيم كلوكوز أوكسيديز Glucose oxidaseأو تقدير اليوريا بإستخدام إنزيم اليوريزUrease.

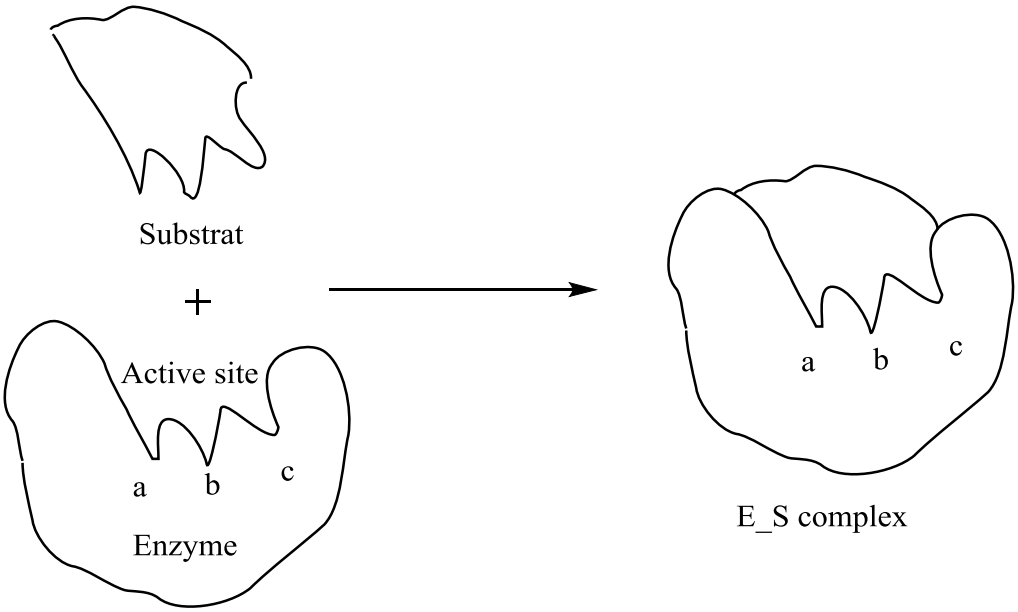
الموقع الفعال The active site

هو وحدات من الاحماض الامينية في الانزيم، تشترك في عملية التحفيز ويكون على شكل حفرة او التفاف لسلسلة متعددة الببتيد ، هناك نظريتان تتضمنان اتحاد المادة الاساس بالموقع الفعال وتكوين الانزيم – المادة الاساس المعقد (ES complex) وهما:

1- فرضية القفل والمفتاح Lock and Key hypothesis

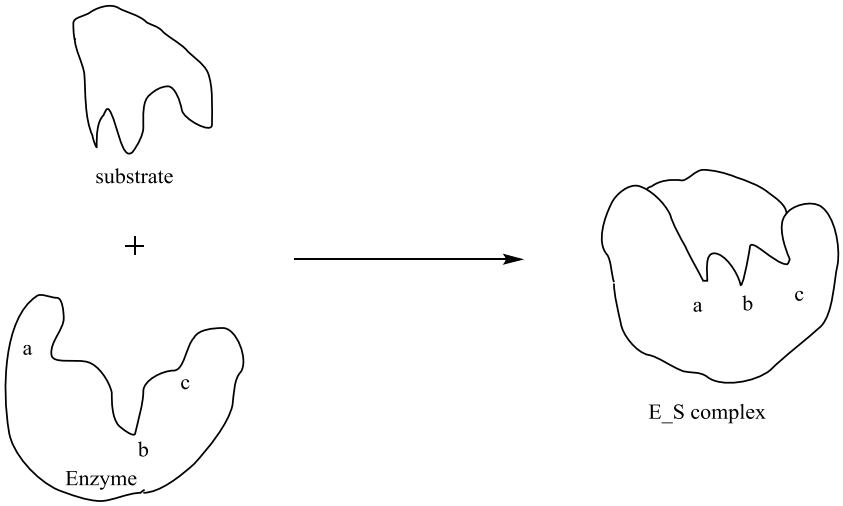
اقترح فيشر Fisher عام 1890 انه في التخصص الانزيمي يتوجب وجود تراكيب مكملة واحد للاخرى بين الانزيم والمادة الاساس بحيث تكون المادة الاساس ذات شكل ملائم تماما للموقع الفعال اشبه بدخول المفتاح داخل القفل. واثناء هذه العملية يصبح معقد انزيم – مادة اساس(E-S) له تركيب فضائي مجسم جديد ة وفعال حيث تتحور مادة اساس المرتبة لتصبح مادة

جديدة تتحرر بعدها من الانزيم الذي يستعيد شكله الاصلي. ومن عيوب هذه النظرية هي صلابة او عدم مرونة الموقع الفعال بالنسبة للمادة الاساس .



2- فرضية كوشلاند (التوافق المستحث) Koshland hypotheses

اقترح كوشلاند فرضية التوافق المستحث عام 1958 وهي تحوير لفرضية القفل والمفتاح حيث يفترض ان كلاً 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 يحدث تغير طفيف للهيئة المجسامية للانزيم ليحسن من التلائم مع المادة الاساس .



خصوصية الانزيم Enzyme specificity

تمتلك الإنزيمات درجة عالية من التخصص في التفاعلات التي تساعد فيها يوجد نوعان من التخصص بالنسبة للمادة الاساس :

1- تخصص المجموعة group specificity او التخصص غير المطلق:

وهو يعني ان الانزيمات تعمل على عدد مختلف من المواد الاساس التي تمتلك خواص تركيبية مشتركة. مثال ذلك انزيم الكحول ديهايدروجينيز الذي يساعد على اكسدة العديد من النواع الكحولات ، ومثال اخر هو انزيم الهكسو كاينيز الذي ينقل المجموعة الفوسفاتية من ATP الى عدد مختلف من السكريات السداسية.

2- تخصص مطلقabsolute specificity :

هو تخصص الانزيم المطلق للمادة الاساس التي يعمل عليها ولايحلل اي مادة اخرى ومثال ذلك انزيم الاسبارتيو الذي يحفز اضافة الامونيا الى الاصرة المزدوجة العائدة الى حامض الفيوماريك فقط، ومثال اخر هو انزيم كلوكوكاينيز الذي يساعد في نقل مجموعة فوسفاتية من ATP الى سكر الكلوكوز فقط وليس لاي سكر اخر.

تسمية وتصنيف الانزيمات Nomenclature and classification of enzymes

اكتشف لحد الأن أكثر من 2000 إنزيم تقريباً واستخدمت لذلك طرائق لغرض تسمية تلك الأنزيمات تعتمد على طبيعة التفاعلات وطبيعة المركبات المتفاعلة ومنها يتألف اسم الانزيم من قسمين، الاول هو اسم المادة الاساس التي يعمل عليها ذلك الانزيم او الناتج والقسم الثاني يصف نوع التفاعل المحفز وينتهي عادتا بالمقطع يس(ase) . وقد عين الاتحاد العالمي للكيميائيين الحياتيين (IUB) الاسم المعتمد لكل انزيم وهو اسم نظامي لكل انزيم مكون من اربعة ارقام نظامية دالة يسبقها الاختصار E.C(Enzyme Commission)، ويشير الرقم الاول من اليسار الى اليمين الى اسم احد الاصناف الرئيسية الستة للانزيمات ، اما الرقم الثاني فيشير الى اسم الصنف الثانوي (sub class) لكل من الاصناف الست الرئيسة للانزيمات ويشير الرقم الثالث الى اسم الصنف ثانوي-ثانوي(sub-sub class) للصنف الرئيس للانزيم اما الرقم الرابع فهو رقم تسلسلي يتعين فيه اسم الانزيم في صنفه ثانوي-الثانوي .

تقسم الانزيمات الى ستة اصناف حسب طريقة التفاعل الذي تحفزه هذه الانزيمات :

1- **الانزيمات المؤكسدة-المختزلة Oxido-redictasee**:وهي تشمل جميع الانزيمات التي تعمل في تفاعلات الاكسدة (تفاعلات انتقال الالكترون) مثل انزيم كحول:NAD^+ اوكسيدوريداكتيس (كحول ديهايدروجينيس) والمرقم 1.1.1.1 وهذا الانزيم يعمل على مجموعة CHOH الواهبة للالكترونات (1.1) ومجموعة ال NAD^+ المستقبلة للالكترونات (1.1.1) .

$$\text{Alcohol} + NAD^+ \longrightarrow \text{Aldehyde} + NADH + H^+$$

2- **الانزيمات الناقلة Transferase**: وهي تشمل جميع الانزيمات التي تعمل على نقل مجموعة كيمياوية فعالة من مادة اساس لأخرى مثل نقل مجاميع الامين ، المثيل، الالكيل، الاسيل والمجاميع الفوسفورية والكبريتية مثل انزيم ATP: كرياتين فوسفوترانسفيريز(ATP:creatin phosphotransferase) (كرياتين كينيس creatin kinase) .

3- الانزيمات المميئة Hydrolases

وهي تشمل جميع الانزيمات التي تعمل في تفاعلات التحلل المائي ، وتتضمن الانزيمات الهاضمة مثل الامايليس (amylase) والسكريس(sucrose) والليبيس (lipase) وانزيمات استريز(esterase) وفوسفو داي استريز (phosphodiesterase) وفوسفاتيز(phosphatase).

4- انزيمات الاضافة او الحذف Lyases (إنزيمات السنثيز Synthaase)

وهي الانزيمات التي تؤدي الى حذف مجموعة من المادة الاساس فتنتج مركبا يحتوي على اصرة مزدوجة او تعمل على إضافة للآصرة المزدوجة منتجة مركبا يحتوي اصرة منفردة ، وتشمل انزيمات ديكاربوكسليس (decarboxylase) والدوليز(aldolase) وديهيدريتيس (dehydratase) وتعمل هذه الانزيمات على اواصر C-C، C-N، C-S، C-O.

5- الانزيمات المناظرة :Isomerases

وتشمل الانزيمات التي تعمل على تغير احد متناظرات مركب ما الى متناظر اخر له ، مثل انزيمات الراسميز(recemases) والابميريز(epimerase) وسس-ترانس ايزومريز (cis-trans isomerase).

6- الانزيمات الرابطة (المكونة) Ligases

وهي الانزيمات التي تعمل على ربط (تكوين اصرة) بين جزيئتين او ربط نهايتي جزيئة واحدة لتكوين شكل حلقي ، بحيث تؤدي الى تكسر اصرة البايروفوسفات الموجودة في ATP . مثل انزيمات سينثيتيز(**Synthetase**).

العوامل المساعدة ومرافقات الانزيمات Cofactors and Coenzymes

تحتوي العديد من الانزيمات على مجموعة مرتبطة prosthetic group غير بروتينية يحتاجها الانزيم لاظهار فعالياته ، ويعرف هذا البروتين بالانزيم المتكامل holoenzyme الذي يمكن ان يتفكك الى بروتين اسمه أبوانزيم apoenzyme وهو الانزيم الاصيل بالاضافة الى المجموعة المرتبطة غير البروتينية والتي تقوم بدور العامل المساعد cofactor. مثال ذلك انزيم الكتاليز catalase الذي يتفكك في الوسط الحامضي معطيا البروتين الاصلي apoprotein والعامل المساعد الذي هو عبارة عن مجموعة حديد بورفيرينية ، وهناك انزيمات اخرى تحتوي على ذرات معدنية ترتبط ارتباطا قويا مع الانزيم ولاتنفصل الا بعد التغير في التركيب الطبيعي للانزيم ومثال ذلك انزيم superoxide dismutase الذي يحوي نوعين من المعادن هما

النحاس الخارصين ، وتشترك بعض المعادن مباشرة في التفاعلات المحفزة بالانزيم مثل الخارصين في انزيم الكحول ديهيدروجينيز والمغنسيوم في انزيمات الفوسفوترانسفيريز والنحاس في انزيم السايتوكروم اوكسديز وتسمى مثل هذه العوامل المساعدة بالعوامل المنشطة (activators) ، اما مرافقات الانزيم**Coenzymes** فهي مركبات عضوية تحتاجها بعض الإنزيمات بوصفها مواد مرافقة تساعدها على تأدية دورها وتسريع التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الخلية الحية ودور هذه المرافقات هو القيام بدور المستقبل أو المانح لبعض المجاميع أو الذرات المفصولة أو المضافة من المادة الأساس ، وهي تلعب دوراً مهما في المركبات الوسطية الناتجة خلال التفاعل دون ان تستهلك اثناء هذه العمليات وبذلك يمكن اعتبارها عوامل مهمة في عمليات التحفيز علما ان معظم مرافقات الانزيم تشتق من الفيتامينات.

العوامل التي تؤثرعلى فعالية(سرعة) الانزيم

ان العوامل التي تؤثر على فعالية الأنزيم تؤثر بالتالي على معدل سرعة التفاعل الذي يستخدم الإنزيم بوصفه عاملاً مساعد(تحفيزي)، ولكي يتم جعل الإنزيم يعمل بصورته المثالية يجب التحكم في تأثير هذه الظروف عليه، وهذه العوامل هي:

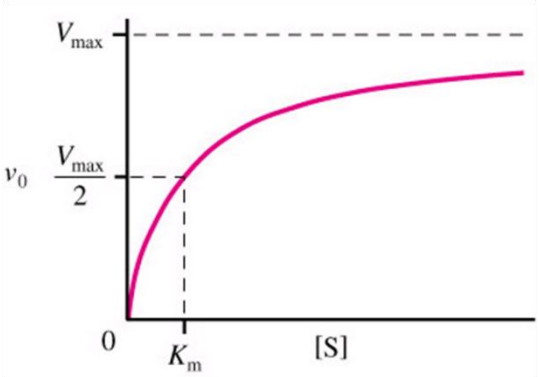
1- تأثير تركيز المادة الاساس Effect of Substrat concentration

ان فرضية تكوين معقد انزيم – مادة اساس (ES) كحالة انتقالية في التفاعلات الانزيمية ، كانت من قبل العالمين ميكايلس ومينتون (Michaelis and Menton) وحسب المعادلة :

$$E + S \underset{K_{-1}}{\overset{K_1}{\rightleftharpoons}} E_S \xrightarrow{K_2} E + P$$

عند بقاء تركيز الانزيم ثابتا ، وعند التراكيز الواطئة من المادة الاساس فإن سرعة التفاعل الانزيمي (السرعة الاولية) تزداد بازدياد تركيز المادة الاساس . لكنه عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الاساس فان الزيادة في معدل السرعة تتباطىء الى ان تصبح السرعة ثابتة ، بالرغم من زيادة تركيز المادة الاساس اكثر. ويطلق على هذه السرعة الثابتة عند التركيز العالي للمادة الاساس بالسرعة القصوى ويرمز لها maximaum velocity (V max) .

لقد قام العالمان ميكايلس ومينتون بتفسير العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس ، فأوضحا انه عند استخدام تراكيز واطئة جدا من المادة الاساس في بداية التفاعل تكون المواقع الفعالة لجزيئات الانزيم غير مشبعة بجزيئات المادة الاساس وعليه فان السرعة الاولية للتفاعل تعتمد على تركيز المادة الاساس ويعبر عنها بحركية أحادي المرتبة ، وعند زيادة تركيز المادة الاساس الى درجة كبيرة بحيث تصبح المواقع الفعالة لجزيئات الانزيم مشبعة دائما بجزيئات المادة الاساس (بسبب وفرة المادة الاساس) ولذا تكون سرعة التفاعل في هذه الحالة غير معتمدة على تركيز المادة الاساس ، ويعبر عنها بحركية صفر المرتبة Zero order kinetic وان الرسم البياني بين تركيز المادة الاساس وسرعة التفاعل تكون بشكل منحني ذي قطع مخروطي وهذه الخاصية تتميز بها الانزيمات فقط.



ان المعادلة الرياضية التي توضح العلاقة بين سرعة التفاعل الانزيمي وتركيز المادة الاساس والتي تحقق شكل منحني ذي قطع مخروطي (الشكل اعلاه)

يطلق عليها معادلة ميكايلس- منتونMichaelis – Menton equation :

$$V = \frac{Vmax\ [\ S\ ]}{Km + [S]}$$

حيث ان :

V: سرعة التفاعل (السرعة الاولية)

[S] : تركيز المادة الاساس

Vmax: السرعة القصوى للتفاعل

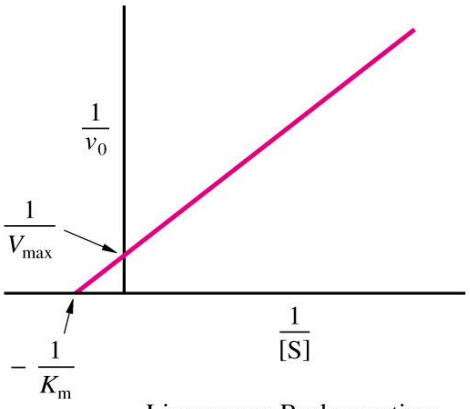
Km: ثابت ميكايلس وهو عبارة عن تركيز المادة الاساس عندما تكون سرعة التفاعل نصف السرعة القصوى وهذا يمكن اثباته كما يلي:

عندما Km = [S] فان : V = Vmax/2

ان القيمة العالية لKm تشير الى ان للانزيم ميلاً قليلاً للمادة الاساس (يعني اصرة E_S ضعيفة)، بينما القيمة الواطئة لKm تشير الى ان للانزيم ميل كبير للمادة الاساس (يعني اصرة E_S قوية) وتعتمد قيمة Km على نوعية المادة الاساس والرقم الهيدروجيني لمحلول التفاعل ودرجة الحرارة.

رسم لاينويفر- بيرك The Lineweaver –Burk plot

عند اخذ القيمة العكسية لطرفي معادلة ميكايلس – منتون واعادة ترتيبها نحصل على معادلة لاينويفر- بيرك والتي تكون مفيدة اكثر من الناحية التطبيقية وهذه المعادلة مشابهة لمعادلة الخط المستقيم . ويستفاد من رسم معادلة لاينويفر- بيرك خاصة عند دراسة مثبطات الانزيمات.



Lineweaver-Burk equation:

$$\frac{1}{v_0} = \left(\frac{K_m}{V_{max}}\right)\frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

2- تأثير الاس الهيدروجيني (PH) على فعالية الانزيمات :

بما ان الانزيمات عبارة عن مواد بروتينية فان اي تغير في الPH سوف يؤثر تاثيرا كبيرا على الصفات الايونية في المجاميع الامينية او الكاربوكسيلية الموجودة في جزيئة البروتين وبالتالي سوف تؤثر على الموقع الفعال للانزيم وكذلك على هيئة وشكل البروتين اضافة الى ان القيم العالية او الواطئة نوعا ما من PH سوف تؤدي الى تغير الحالة الطبيعية للبروتين (denaturation) ومن ثم الاقلال من فعالية الانزيم. ان لكل انزيك قيمة معينة من PH التي يعمل عليها بطاقته القصوى وتسمى بدرجة ال PH المثلى (Optimum PH) وغالبا ماتكون قريبة من PH النسيج الذي في الانزيم.

3- تأثير درجة الحرارة على فعالية الانزيم Effect Temperature

ان ارتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الانزيم بشرط ان لايصل هذا الارتفاع الى الحد الذي يؤدي الى مسخ الانزيم حيث ان ارتفاع درجة الحرارة مبدئيا يعمل على زيادة الطاقة الحركية لجزيء الانزيم وبالتالي الى ازدياد الاحتكاك بين الانزيم والمادة الاساس ممايسبب زيادة سرعة التفاعل . ان مدى الفعالية لمعظم الانزيمات يقع بين 10-50مؤية وعندما تزداد درجة الحرارة اكثر فان الانزيم يبدا بفقدان نشاطه نتيجة لفقدان خواصه الطبيعية حيث تتفكك الاواصر الهيدروجينية والقوى الاخرى المسؤولة عن ثباتية البناء المحدد لذلك البروتين وبالتالي يفقد نشاطه او فعاليته . ان الدرجة الحرارية التي يكون فيها الانزيم عند سرعته القصوى Vmax يطلق عليها درجة الحرارة المثلى لذلك الانزيم.

4- تأثير تركيز الإنزيم:

ان معدل سرعة التفاعل المحفز بالأنزيم (وخاصة الإنزيم النقي لحد ما) يتناسب طرديا مع تركيز الإنزيم عندما تكون المادة الأساس بوفرة في محيط التفاعل ،ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية الإنزيم (فعالية الإنزيم) في عينة معينة

(مصل ، بول ، دم ، محلول وغيرها)بعد تثبيت الظروف من درجة حرارة والأس الهيدروجيني والمادة الأساس.

5- وجود المثبطات Inhibitors او المنشطات Activators:

المثبطات هي مركبات كيميائية (قد تكون أيونات معدنية أو مركبات جزيئية عضوية صغيرة) تخفض من معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو توقفة.أما المنشطات وهي جزيئات صغيرة والتي عادة تكون ايونات لاعضوية تحتاجها بعض الأنزيمات لتحفيز نشاطها إذ تعمل على خفض طاقة التنشيط للتفاعل وبالتالي جعلها أكثر سهولة في اعطاء الناتج النهائي، علما ان عمل هذه المنشطات لايشابه العمل الذي تقوم به مرافقات الإنزيم فهي لاتدخل بحد ذاتها في تفاعل الإنزيمات التي تحتوي مرافقات انزيمية وعادة تتحد هذه المنشطات مع الإنزيم الحر او المادة الأساس لتكوين المعقد المنشط_المادة الأساس ، ويكون هذا المنشط الأيون المعدني ومن هذه الأيونات التي أثبتت مشاركتها في التفاعلات الإنزيمية هي أيونات Zn,K,Na,Mo,Mg,Co,Cu,Ca.

آلية عمل الانزيم Mechanism of Enzyme action:

ان احدى الطرق لفهم آلية عمل الانزيم االتي ادت الى معلومات قيمة هي دراسة التحفيز غير الانزيمي لتفاعلات نموذجية مشابهة للتفاعلات التي تحدث في الخلية وفي مثل هذه التفاعلات المحفزة وجد ان الاحماض والقواعد (واهبات ومستقبلات للبروتون) هي مواد حفازة تعمل على تعزيز سرع 10 انواع مختلفة من التفاعلات العضوية مثل التحلل المائي للاسترات والمركبات المفسفرة واضافة الماء الى مجاميع الكاربونيل وازالة الماء من الكحولات لينتج مركبات غير مشبعة، وان بعض الانزيمات معروفة بإحتواءها على مجموعات واهبة للبروتون مثل $^{+}NH3$-، COOH-، SH-وتحتوي كذلك على مجاميع مستقبلة للبروتونات مثل $^{-}NH2$ ، ^{-}COO.

المجموعات المحبة للنواة هي ايضا مواد محفزة وهي مجموعات فعالة غنية بالالكترونات وتهب زوجا من الالكترون الى نواة ذرة اخرى مثل مجموعات الهايروكسيل والسلفاهايدريد والاميدازول وهي معروفة بوجودها في البروتينات وقد تعمل هذه المجموعات الفعالة مواد محفزة تدخل في تركيب الموقع الفعال للانزيمات المختلفة.

الطريقة الثانية لفهم آلية التحفيز هي التعرف على المجموعات الكيمياوية للموقع الفعال والذي يشترك في عملية التحفيز مثل انزيم الرايبونيوكليس الذي يثبط من قبل المركب ايودو اسيتات وقد وجد ان هذه المثبط يتفاعل مع وحدتي الهستيدين في الانزيم يكون مشتقات N_كاربوكسي مثيل . ان وحدتي الهستيدين ضرورية لفعالية الانزيم وقد تبين بانها تحل في الموقع 12 والموقع 119 في سلسلة متعدد الببتيد للرايبونيوكليس المحتوية على 124 وحدة من الاحماض الامينية حيث يعمل هذا الانزيم على التحلل المائي للاواصر 5،1 فوسفات ثنائي الاستر في RNA.

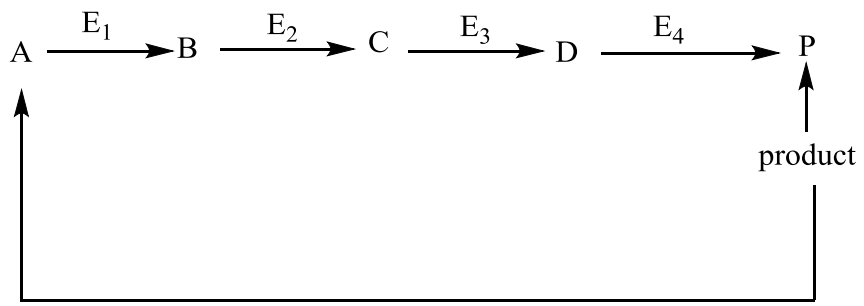
الطريقة الثالثة لفهم آلية عمل الانزيم هي دراسة تراكيب المعقدات (انزيم-مادة اساس) مثلا انزيم الكيموتربسين الذي يحفز التحلل المائي لبعض استرات حامض الخليك ، وتكوين مجموعة الاسيتيل للمادة الاساس متحدة بصورة تساهمية مع مجموعة الهيدروكسيل لوحدات السيرين في الموقع195 في جزيئة الانزيم.

الانزيمات المنظمة Allosteric Enzymes

تعمل معظم الانزيمات في الخلية بصيغة تعاقبية ويطلق عليها اجهزة متعددة الانزيمات (Multienzyme systems) والتي يكون فيها الناتج من التفاعل الانزيمي الاول مادة يعمل عليها الانزيم للتفاعل الذي بعده وهكذا.ولكل جهاز متعدد الانزيمات وظيفة خاصة به فمثلا هناك الجهاز الخاص بتحويل الكلوكوز الى حامض لاكتيك او الجهاز الخاص المحتوي على انزيمات متعددة والذي يقوم بتكوين الاحماض الامينية من مواد بسيطة.

وفي اغلب الاحيان يقوم الانزيم الاول في جهاز متعدد الانزيمات بدور المنظم لمجموع التفاعلات التي تتم في تلك السلسلة من التفاعلات ، ويسمى هذا الانزيم بالانزيم المنظم Allosteric Enzymes، وتعني Allosteric الطرف الاخر حيث تمتلك الانزيمات المنظمة طرف اخر منظم يختلف عن الموقع الفعال ترتبط فيه المواد المؤثرة او المعدلة وتتكون عادتا آصرة تساهمية بين المادة المؤثرة والانزيم.وتتالف الانزيمات المنظمة من عدة وحدات لسلاسل ببتيدية وتعمل هذه الانزيمات على تنظيم سرعة المسارات الايضية حسب حاجة الخلية .

يثبط عمل الانزيم المنظم بتراكم الناتج النهائي لتك السلسلة من التفاعلات فوق حد معين ونتيجة لذلك تتوقف هذه السلسلة من التفاعلات فمثلا عندما تتحول Aالى D مرورا بمركبات وسطية Bو C كما يلي:



حيث E_1 وE_2 وE_3 ثلاث انزيمات مختلفة في هذه السلسلة من التفاعلات يؤدي تراكم D الى تثبيط فعل الانزيمE_1علما ان B وC لايوجد لهما اثر عكسي على فعالية الانزيم E_1 ، ويسمى هذا النوع من التثبيط بتثبيط الناتج النهائي او التثبيط للتغذية المرتدة feedback inhibition.

ان الانزيمات المنظمة لاتتبع فرضية الحركية لميكايليس منتون ، وتمتاز هذه الانزيمات بامتلاكها وزن جزيئي كبير، وتحتوي على عدد من الوحدات الفرعية كذلك تحتوي على مواقع اتحاد ليس فقط للمادة الاساس الاعتيادية ولكن ايضا للمواد المنظمة التي

تسمى المؤثرة وموقع الاتحاد بالنسبة للمعدل يسمى الموقع المنظم allosteric site ويكون مخصصا لتلك المادة.

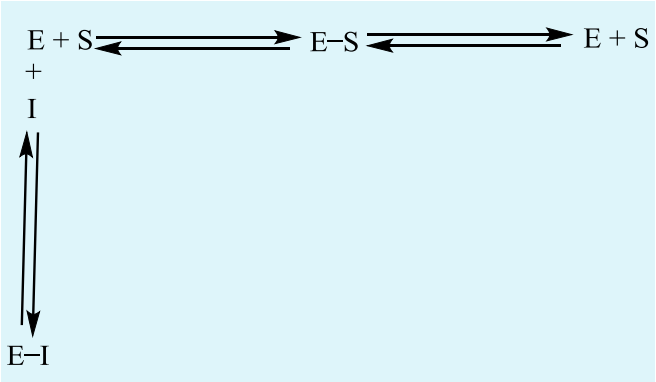
التثبيط الانزيمي:Enzyme inhibition

هي العملية التي يتم فيها اعاقة عمل الانزيم نتيجة لمؤثرات خارجية فيزياوية اوكيمياوية ،. وأنواع التثبيط هي :

1- التثبيط التنافسي:competitive inhibition:

يحصل هذا النوع من التثبيط نتيجة لتنافس كل من المادة الاساس substrat والمادة المثبطة inhibition على الارتباط بالموقع الفعال للانزيم،وبالامكان التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز المادة الاساس في محيط التفاعل ، وتعتمد درجة التثبيط في هذا النوع على تركيز كل من المادة الاساس والمادة المثبطة وعلى الالفة النسبيةrelative affinity.

وفي التثبيط التنافسي يتحد الانزيم E مع المثبط I بصورة عكسية لينتج عنه مركب معقد والذي يتنافس مع المركب المعقد E-S حيث تتغير قيمة Km ولكن لاتتغير السرعة القصوى.



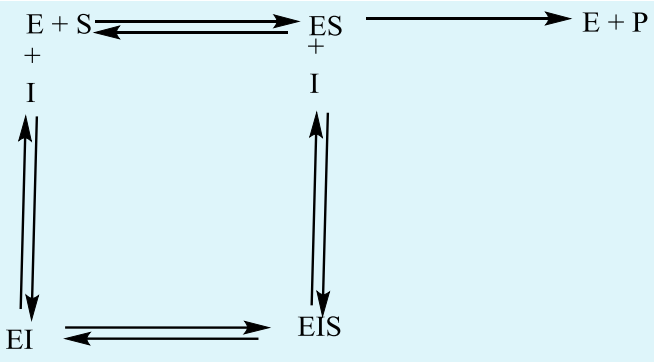
ومن أمثلة المثبطات التنافسية التسمم بالميثانول إذ ان تناول الميثانول خطأ ممكن ان يؤدي الى تكوين الفورمالديهايد من الميثانول بوجود انزيم الكحول ديهايدروجنيز والذي يعتبر مادة سامة ويتم العلاج بإعطاء الشخص ايثانول والذي يعتبر مثبط تنافسي لاحتلال الموقع الفعال للانزيم الكحول ديهايدروجينيز والذي يعطي مشتقات الحامض الكاربوكسيلي والتي ممكن ان تتبلور في الكلية.

2-التثبيط غير التنافسي Noncompetitive inhibition

في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الأساس أو يشابهه قليلا ، ويرتبط المثبط غير التنافسي عادة مع الأنزيم في موقع اخر يختلف عن الموقع الفعال أي لايوجد اي تنافس بين المثبط والمادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للأنزيم لذا فإن زيادة تركيز المادة الأساس لا يلغي تأثير عمل هذه المثبطات، ويقسم التثبيط غير التنافسي الى نوعين:

_ التثبيط غير التنافسي العكسي Reversible Noncompetitive inhibition

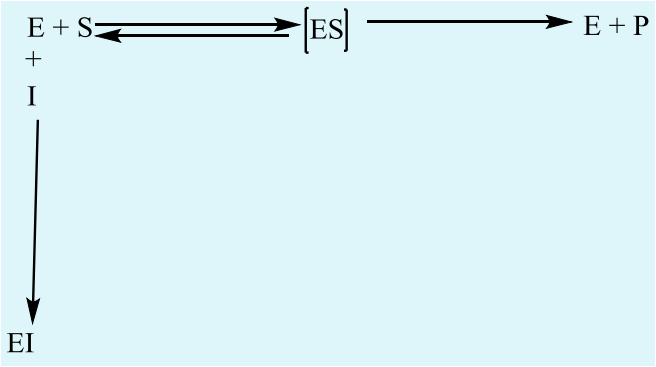
يتكون معقدان بوجود المثبط وهما EI(معقد الإنزيم- المثبط) و EIS (معقد الإنزيم – المثبط – المادة الأساس) كما في الشكل:



ان المعقد EIS يمكن ان يتحلل ليعطي الناتج ولكن بمعدل سرعة أقل مما هو عليه لتحلل ES ، وبهذا يكون التفاعل الأنزيمي المعين ابطأ مما هو عليه بغياب هذا النوع من المثبطات.

_ التثبيط غير التنافسي غير العكسي Irreversible Noncompetitive inhibition

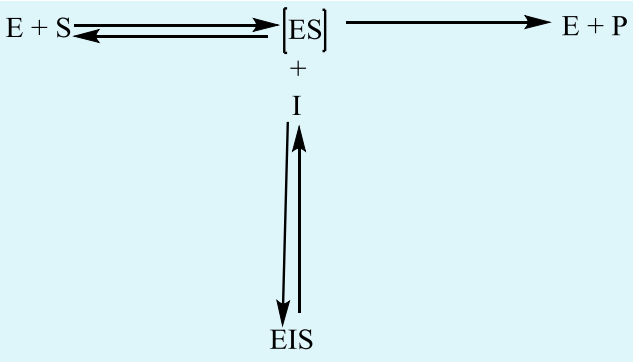
يرتبط المثبط مع وحدة الحامض الأميني للإنزيم بواسطة أصرة تساهمية بحيث لايمكن فصل المثبط عن الإنزيم بواسطة التخفيف أو الديلزة(الفرز الغشائي) وتسمى هذه الحالة في بعض الأحيان بتسمم الأنزيم poison enzyme ، ان هذا الإرتباط يعمل على تحوير الإنزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كليا لذلك يقال عن الإنزيم بإنه تسمم بالمثبط ، وكما في الشكل:



ومن الأمثلة على هذا النوع من التثبيط أيونات المعادن الثقيلة مثل(الرصاص والزئبق والفضة) التي لها القابلية على الإرتباط بقوة مع مجاميع الثايول لبعض الانزيمات ، فضلا عن غاز الأعصاب ثنائي ايزوبروبيل فلوروفوسفات (DIPF) الذي يعمل على تثبيط إنزيم أسيتايل كولين إستريز بإرتباطه مع مجموعة الهيدروكسيل لوحدات السيرين في الإنزيم.

3-التثبيط اللاتنافسيUncompetitive inhibition

يتحد المثبط اللاتنافسي في هذه الحالة مع المعقد ES فقط ، لتكوين EIS وكما موضح بالمعادلة:



ويعد المثبط اللاتنافسي جزءاً من المثبط غير التنافسي العكسي ،إذ كلاهما يحتويان على المعقد EIS . لايمكن التغلب على هذا النوع من التثبيط بزيادة تركيز المادة الاساس اذ يرتبط المثبط بصورة غير عكسية بموقع ما على سطح الانزيم وليس بالموقع الفعال لذا لايمكن التغلب على المادة المثبطة بزيادة تركيز المادة الاساس ، ويعتمد هذا النوع من التثبيط على تركيز المادة المثبطة والالفة الموجودة بين المادة المثبطة والانزيم وتبقى قيمة Km ثابتة ولاتتغير في هذا النوع من التثبيط بينما لاتصل سرعة التفاعل الى السرعة القصوى.

أهمية الانزيمات

للانزيمات اهمية كبيرة في التشخيصات السريرية، حيث ان مصل الانسان الانسان يحتوي على عدد من الانزيمات ذات الفعالية الثابتة والمحددة في الحالات الطبيعية ،اما في في حالات المرض فقد لوحظ زيادة او نقصان في فعالية الانزيمات مما يعطي دلالة على بعض الامراض ومن هذه الانزيمات انزيم Lipase والاميليز والفوسفاتيز الحامضي وGPT,GOT . واللانزيمات استعمالات تطبيقية في الصناعة من خلال فعالية بعض الانزيمات التي تعطي دلالة على كفائة المعاملة الحرارية التي تتعرض لها المادة الغذائية ، وكذلك تقدير درجة التلوث البكتيري للاغذية ، وبالامكان استعمال الفحص الانزيمي للتعرف فيما اذا كانت المنتجات النباتية المخزونة صالحة للاستهلاك الغذائي،وكذلك استخدامات اخرى في الصناعات الغذائية والادوية والمبيدات الزراعية

الاشكال الفعالة وغير الفعالة للانزيمات

تطرح بعض الانزيمات في مختلف الاجهزة الحياتية بشكل غير فعال يسمى proenzyme أو zymogen وتتحول الى اشكالها النشطة بفعل انزيمات اخرى او مواد عضوية، كمثال يقوم انزيم Entrokinase بتحويل trypsinogen الى trypsin نشط، كما تقوم كبريتات الامونيوم أو المغنسيوم بهذا الدورايضا.وهناك فؤاد عملية لوجود الشكل غير الفعال للانزيم ، فمثلا يوجد الانزيم الخامل prothrombin في الدم بهذا الشكل وعند حدوث جرح تتكسر الصفائح الدموية وتحرر الانزيمThrombokinase الذي ينشط بوجود ايونات الكالسيوم ويحول الانزيم الخامل prothrombin الىthrombin والذي يحول Fibrinogen الى Fibrin والذي يترسب على شكل خيوط بيضاء متقاطعة تضم بينها كريات الدم الحمراء وتسمى بالجلطة،كما يمكن ان يكون التحول من الشكل غير الفعال الى الفعال بواسطة ايون الهيدروجين+H الذي يحول الببسينوجين الى ببسينpepsin.