الإنزيمات Enzymes

الإنزيمات عبارة عن مواد بايولوجية محفزة (مساعدة) تقوم وبكميات قليلة بزيادة سرعة التفاعلات الكيميائية بتقليل طاقة التنشيط والتي تحدث داخل الخلية الحية (سواءً نباتية أم حيوانية) بدون أن تتغير خلال هذه التفاعلات. إن معظم الإنزيمات هي بروتينات تتألف من أحماض أمينية تتكون بوساطة الخلايا الحية (الحيوانية أو النباتية أو الأحياء الدقيقة) وتستطيع أن تعمل بصورة مستقلة خارج الخلايا الحية بعد توفر الظروف الملائمة لها. ويطلق على المادة المتفاعلة في التفاعلات الإنزيمية بالمادة الأساس (المادة الخاضعة أو الركيزة) Substrate (المادة التي يعمل عليها الإنزيم).

الخواص العامة للإنزيمات:

إن الفرق بين التفاعلات الإنزيمية والتفاعلات غير الإنزيمية هو أن مادة الأساس في التفاعلات الإنزيمية تتحول بكفاءة وسرعة عاليتين، في حين أن التفاعلات غير الإنزيمية هناك نسبة معينة من المادة الأولية تتحول إلى ناتج والباقي من المادة الأولية تفقد في كثير من التفاعلات الجانبية، فعلى سبيل المثال إنزيم الكاتاليز Catalase الذي يحفز التفاعل الآتي:

$$2H_2O_2 \xrightarrow[Fe]{Catalase} 2H_2O + O_2$$

إن من أهم خواص الإنزيمات هي كونها متخصصة إذ تعمل على مادة أساس واحدة أو عدة مواد أساسية (ولكنها من نفس النوع) لينتج عن ذلك ناتج أو عدة نواتج.

الأواصر التي تثبت سلسلة جزيئة الإنزيم في أوضاعها استناداً الى ما ذكرت سابقاً للبروتينات وهي: الأواصر الأيونية، الأواصر الهيدروجينية، الأواصر الهيدروفوبية، الأواصر ثنائية الكبريت، تجاذب فاندرفال، التداخلات القطبية للمجاميع Polar groups interactions.

تحتوي جميع الإنزيمات على منطقة تسمى الموقع الفعال Active site وهي وحدات من الأحماض الأمينية في الإنزيم تشترك في عملية التحفيز Catalysis وتكون على شكل حفرة أو التفاف لسلسلة متعددة الببتيد يربط الجزيئات المتفاعلة بحيث تكون هذه الجزيئات مثبتة بوضع فراغي صحيح في الموقع

إن لكل إنزيم عددا محددا من المواقع الفعالة فإنزيم

تقسيم الإنزيمات:

تم تقسيم الإنزيمات استناداً الى عدد السلاسل الموجودة في تركيبها البنائي الى:

1- **الإنزيمات الأحادية السلسلة Monomeric:** وهي التي تتألف من سلسلة ببتيدية واحدة والتي تساعد في التحلل المائي مثل التربسين Trypsin ورايبونيوكليز Ribonuclease.

2- **الإنزيمات قليلة الوحدات Oligomeric:** وهي التي تتألف من 2-10 سلسلة ببتيدية مثل إنزيم هيكسوكاينيز Hexokinase المكون من أربع سلاسل ببتيدية.

3- **المجمع الإنزيمي المعقد Multienzyme complex** : وهو عدد أو مجموعة من الإنزيمات مرتبطة مع بعضها وتشترك جميعاً في مسارها لتحول مادة أو مواد الأساس إلى ناتج مثل إنزيم بايروفيت ديهيدروجنيز Pyruvate dehydrogenase الذي يتكون من ثلاثة إنزيمات وخمس مرافقات إنزيمية لتحويل البايروفيت إلى أسيتايل مرافق الإنزيم A .

الإنزيمات القاتلة Killer enzymes : وهو اتجاه حديث بدأ يظهر في سنة 1992 وهذا الاتجاه يتلخص بما يأتي: هناك مجموعة من الإنزيمات وخاصة البروتينيز Proteinase تهاجم إنزيمات الأكسدة وتعمل على هضمها Digestion وبالتالي لا تقوم بتثبيط الإنزيم فقط بل القضاء تماماً على خصائص إنزيم الأكسدة. وهذا النظام يعرف باسم قتل النظام بوساطة الإنزيمات القاتلة Killing system by killer enzymes.

العوامل المؤثرة على فعالية الإنزيم

إن العوامل التي تؤثر على فعالية الإنزيم تؤثر بالتالي على معدل سرعة التفاعل الذي يستخدم الإنزيم بوصفه عاملاً مساعداً (تحفيزياً). وهناك عدة عوامل تؤثر على فعالية الإنزيم أهمها:

1- تركيز الإنزيم.
2- تركيز المادة الأساس.
3- درجة الحرارة.

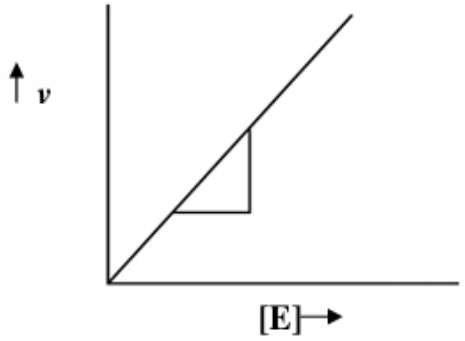
4- الأس الهيدروجيني.

5- وجود المثبطات Inhibitors أو المنشطات Activators.

إذ تؤثر هذه العوامل أعلاه على فعالية الإنزيم ولكي يتم جعل الإنزيم يعمل بصورته المثالية فيجب التحكم في تأثير هذه الظروف عليه. **وفي ما يأتي وصف لهذه العوامل المؤثرة:**

1- تأثير تركيز الإنزيم

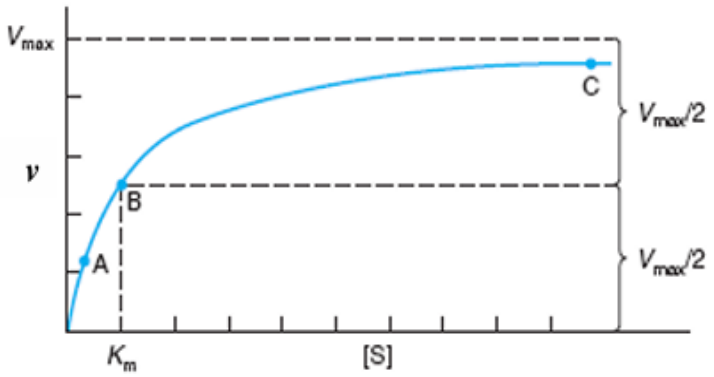
إن معدل سرعة التفاعل المحفز بالإنزيم (وخاصة الإنزيم النقي لحد ما) يتناسب طردياً مع تركيز الإنزيم عندما تكون المادة الأساس بوفرة في محيط التفاعل (**الشكل 5-10**). ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية الإنزيم (فعالية الإنزيم) في عينة معينة (مصل، بول، دم، محلول وغيرها) بعد تثبيت الظروف من درجة الحرارة وpH ومادة الأساس اذ يمثل **الشكل (5-10)** الشكل المنحني القياسي Standard Curve الذي يمكن من خلاله قياس كمية الإنزيم بعملية التسقيط على المحور السيني.



الشكل(5-10): علاقة سرعة التفاعل v وتركيز الإنزيم [E].

2- تأثير تركيز المادة الأساس

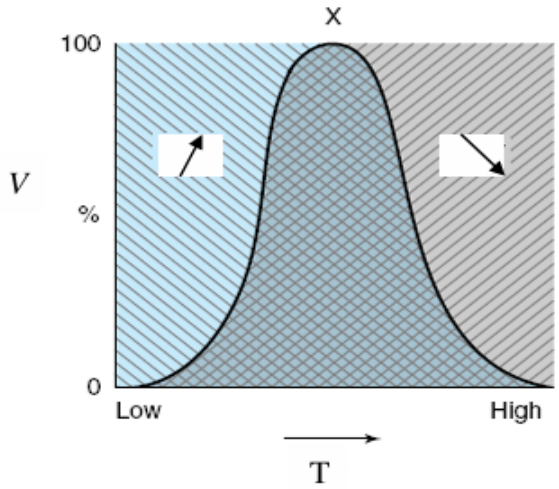
عند إبقاء تركيز الإنزيم ثابتاً، فان الزيادة في تركيز المادة الأساس**[S]** تسبب في البداية ارتفاعاً سريعاً في معدل سرعة التفاعل v ولكن عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الأساس فان الزيادة في معدل السرعة تبطؤ إلى أن تصبح السرعة ثابتة مهما زاد تركيز المادة الأساس ويطلق على السرعة عند أعلى تركيز للمادة الأساس السرعة القصوى ويرمز لها V_{max} (Maximal velocity) (**الشكل 6-10**).



الشكل(6-10): تأثير تركيز مادة الأساس[S] في معدل سرعة التفاعل v مع ثبوت تركيز الإنزيم.

3- تأثير درجة الحرارة

إن ارتفاع درجة الحرارة يزيد من فعالية الإنزيم وبالتالي زيادة سرعة التفاعل بشرط أن لا يصل هذا الارتفاع للحد الذي يؤدي إلى مسخ الإنزيم (كون الإنزيم هو مادة بروتينية يمكن أن تتعرض للمسخ أيضاً) وإن ارتفاع درجة الحرارة تعمل على زيادة الطاقة الحركية للإنزيم فتزيد من تقارب الإنزيم مع المادة الأساس مما يسبب زيادة سرعة التفاعل وإن الدرجة الحرارية التي يكون عندها التفاعل الإنزيمي في سرعته القصوى تطلق عليها الدرجة الحرارية المثلى لذلك الإنزيم والتي تمثل قمة المنحني في **الشكل (10-10)** الذي يمثل العلاقة بين درجة الحرارة وسرعة التفاعل. ولكن عند استخدام درجات حرارية أعلى من القصوى (أعلى من قابلية الإنزيم على تحمل الحرارة) والتي تكون غالباً أكثر من 50° م فأن ذلك يمكن أن يؤدي الى مسخ البروتين من خلال تفكك الأواصر الهيدروجينية وبعض القوى الأخرى المسئولة عن ثباتية الإنزيم مؤدياً إلى فقدان فعاليتها وانخفاضها بصورة تدريجية (**الشكل 10-10**). ولكن هناك بعض الإنزيمات النباتية متخصصة قد ترتفع فيها درجة الحرارة المثلى إلى 60° م أو أكثر وإنزيمات مستخلصة من البكتريا Thermophilic bacteria قد تستمر فعاليتها إلى أكثر من 100°م.



الشكل(10-10): علاقة درجة الحرارة T وسرعة التفاعل الإنزيمي *V*.

4- تأثير الأس الهيدروجيني

يؤثر الأس الهيدروجيني في مواقع معينة من الإنزيم منها:

أ- الصفات الأيونية للمجاميع الأمينية والكاربوكسيلية للإنزيم.

ب- الصفات الأيونية للمجاميع الجانبية لوحدات الأحماض الأمينية.

جـ- الصفات الأيونية لوحدات الأحماض الأمينية الكائنة في الموقع الفعال والموقع المسئول عن التحفيز.

5- تثبيط الإنزيم Enzyme inhibition

المثبطات هي مركبات كيميائية (قد تكون أيونات معدنية أو مركبات جزيئية عضوية صغيرة) تخفض من معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو توقفه من خلال تأثيرها على عامل واحد أو أكثر من العوامل التي تكــون في تركيب أو مرافق الإنزيم وهي كالأتي:

أ- الموقع الفعال.

ب- الجزء البروتيني من الإنزيم والمسمى أبو إنزيم (الإنزيم المجرد) Apoenzyme.

جـ- المرافق الإنزيمي (أيونات معدنية أو جزيئات عضوية).

د- المجموعة الرابطة في الإنزيم Prosthetic group.

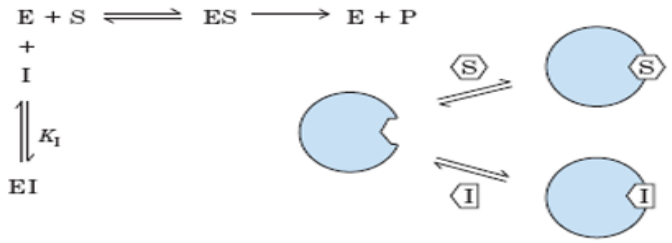
فضلاً عن ذلك يمكن خفض معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو إيقافه من خلال التغيير في درجة الحــرارة أو الأس الهيدروجيني الأمثل للإنزيم أو بإضافة احد عوامل مرسبات البروتين المختلفة.

استخدمت المثبطات في العديد من التفاعلات الإنزيمية وذلك لمعرفة ودراسة المسارات الأيضية المختلفــة في الجسم فضلاً عن دراسة تأثير بعض العقاقير والمواد السامة على التفاعلات الإنزيمية في الجسم.

ويمكن تصنيف متبطات الإنزيم إلى ثلاثه اصناف:

أ- **المثبط التنافسي Competitive inhibitor**

يحدث التثبيط التنافسي عندما يتنافس المثبط (Inhibitor (I)) مع المادة الأساس (S) على الاتحــاد مــع الموقع الفعال للإنزيم **(الشكل 12-10)** :



الشكل (12-10): التثبيط التنافسي.

ب- المثبط غير التنافسي Noncompetitive Inhibitor

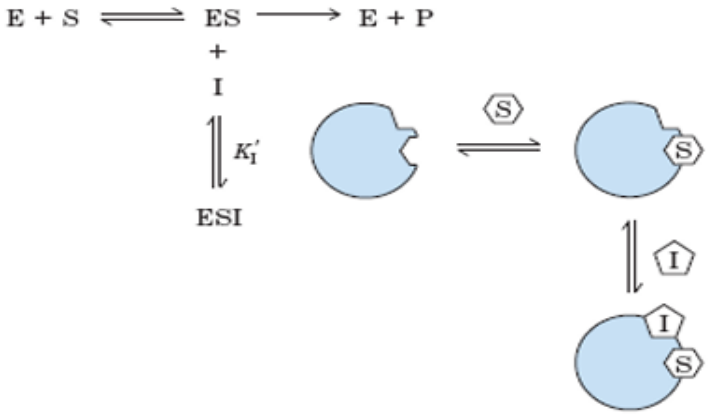
في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الأساس أو قد يشابهه قليلاً، ويرتبط المثبط غير التنافسي عادةً مع الإنزيم في موقع آخر يختلف عن الموقع الفعال أي لا يوجد أي تنــافس بــين المثبط والمادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للإنزيم لذا فان زيادة تركيز مادة الأساس لا يلغي تأثير عمل هذه المثبطات. **ويقسم المثبط غير التنافسي الى نوعين:**

1- المثبط غير التنافسي العكسي Reversible noncompetitive inhibitor .

2- المثبط غير التنافسي غير العكسي Irreversible noncompetitive inhibitor .

جـــ- التثبيط اللاتنافسي Uncompetitive Inhibitor

يعد المثبط اللاتنافسي جزءاً من المثبط غير التنافسي العكسي إذ كلاهما يحتويان على المعقد EIS فالمثبط اللاتنافسي يتحد مع المعقد ES فقط ليكون EIS (**الشكل 18-10**).



الشكل (18-10): التثبيط اللاتنافسي

6- تنشيط الإنزيم Enzyme Activation

يقصد بالمنشطات Activators الجزيئات الصغيرة والتي عادة تكون أيونات لاعضوية تحتاجهـــا بعـــض الإنزيمات لتحفيز نشاطها إذ تعمل على خفض طاقة تنشيط التفاعل وبالتالي جعلها أكثر سهولة فـــي إعطـــاء الناتج النهائي. ومما هو جدير بالذكر فان عمل هذه المنشطات لا يشابه العمل الذي تقوم به مرافقات الإنزيم. فهي لا تدخل بحد ذاتها في تفاعل الإنزيمات التي تحتوي على مرافقات إنزيمية وعادة تتحد هذه المنـــشطات مع الإنزيم الحر أو مع المادة الأساس لتكون معقد المنشط- المادة الأساس (وليكن هذا المنشط هو الايـــون المعدني M) الذي يتحد بدوره مع الإنزيم ليكون مركب معقد ثلاثي بين الإنزيم (E) والايون المعـــدني (M) والمادة الأساس (S) وقد أشار العالم ملدفان Meldvan عام 1970، إن هناك عدة اقتراحات في عملية تكون المعقد الثلاثي وهي:

أ- قد يرتبط بفعل الإنزيم ليكون [M-E-S] .

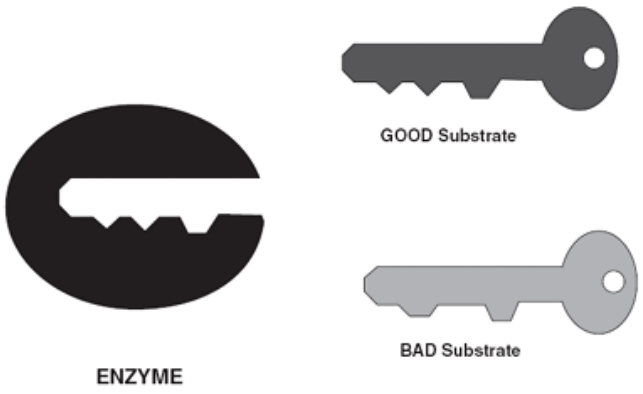
ب- قد يرتبط بفعل المادة الأساس ليكون [E-S-M] .

جـــ- قد يرتبط بفعل الايون المعدن ليكون [E-M-S] .

هناك نظريتان تتضمنان اتحاد المادة الأساس بالموقع الفعال وتكوين الإنزيم- المادة الأســاس المعقــد وهما:

أ- نظرية القفل والمفتاح Lock and key theory

اقترحت هذه النظرية من قبل الباحث إميل فيشر Emil Fischer في سنة 1890، ففــي هــذه النظريــة بب خصوصية الإنزيم فأنه يتحد مع مادة أساس ذات شكل ملائم تماماً للموقع الفعــال اذ يــؤثر المفتــاح ادة الأساس) على قفل واحد فقط وليس كل المجموعات الموجودة بجزيئة الإنزيم **(الشكل22-10 أ و ب)**. ن عيوب هذه النظرية هي صلابة أو عدم مرونة الموقع الفعال بالنسبة للمادة الأساس وتنطبق هذه النظرية ى عدد من الإنزيمات ذات الحركية البسيطة.



(أ)

ب- نظرية الحث التوافقي Induced fit theory

يعتمد اتحاد مادة الأساس مع الموقع الفعال للإنزيم على المجاميع الجانبية (R-group) للأحماض الأمينية في الموقع الفعال والتي تشترك جميعاً في عملية الاتحاد **ويمكن تصنيف وحدات الأحمــاض الأمينيــة فــي الموقع الفعال إلى أربع مجاميع، وهي:**

1- **وحدات اتحادية:** التي تتحد مع مادة الأساس.
2- **وحدات تحفيزية:** مسئولة عن التغيرات الكيميائية.
3- **وحدات تركيبية:** التي تحافظ على التركيب ثلاثي الأبعاد للإنزيم.
4- **وحدات غيــر أساسية:** التــي تكون علــى سطح الإنزيم ولا تشارك في عملية التحفيز.

تشترك المجاميع الأربعة أعلاه في عملية الاتحاد مع المادة الأساس، ويمكــن تــشبيه نظريــة التوافــق المستحث بالقفاز الذي يغير من شكله عند دخول اليد فيه، فالقفاز هنا، يعد الموقع الفعال في الإنزيم واليد هي المادة الأساس.