الإنزيمات

Enzymes

الإنزيمات Enzymes

هي وسائط حيوية هامة، ذات طبيعة بروتينية أو بروتينية سكرية، تقوم بتنشيط التفاعلات الكيميائية من خلال خفض الطاقة اللازمة للتفاعل. وهي تتألف من:

١. جزء بروتيني (صَميمُ الإِنْزيم apoenzyme)، بشكل موحود monomere (أي سلسلة عديد ببتيد واحدة) (مثل ريبونوكْلِياز ribonuclease)، أو مكثور polymere (مثل LDH أو هكزوكِيناز hexokinase).

٢. جزء غير بروتيني (الزمرة الضميمة أو تَميمُ الإِنْزيم coenzyme) يرتبط إلى صميم الإنزيم، وهو ضروري لأن الكثير من تفاعلات الأكسدة/الإرجاع، والزمر الناقلة والمصاوغة isomerization وتشكيل الرابطة يتطلب وجود تَميمُ الإِنْزيم، ويشتق الكثير منها طبيعياً من معقد الفيتامين B. وتحتوي:

أدنين، وريبوز، وفسفات، وتعد من مشتقات AMP.

دور الشوارد المعدنية في عمل الإنزيمات:

- تعتمد فعالية العديد من الإنزيمات على وجود الشوارد المعدنية مثل Ca^{++}، Mg^{++}، Zn^{++}، Cu^{++}، K^{+}.
- تقوم تلك الشوارد بتشكيل معقدات مقلقلة وسهلة الانشطار في إنزيمات معينة وتدعى الإنزيمات في هذه الحالة **Metal-activated-enzymes**.
- ويمكن انتزاع الشوارد من الإنزيمات بالديال دون تبديل في بنية صميم الإنزيم.
- النمط الثاني من الإنزيمات المعدنية يسمى **Metallo-enzymes**: وفيه ترتبط المعادن بقوة إلى الإنزيم ولا تنفصل عنه حتى بعد محاولات عديدة للتنقية.

- من أهم التمامات الإنزيمية زمرة الهيم، التي تعمل كزمرة ضميمة prosthetic group في إنزيمات السيتوكروم، والبيروكسيدات، ومعقد PG سنتتاز.
- المعقد الإنزيمي:

مجموعة من الإنزيمات التي تحفز التفاعل ذاته في مواقع مختلفة للجزيء نفسه، ويصبح المعقد غير فعال عندما يتفكك إلى وحيداته الصغيرة.

مثال: سنتتاز الحمض الدسم، كاربامويل فسفات سنتتاز II.

تلعب المعادن أدواراً هامة في الإنزيمات منها:

- تشكيل البنية الفعالة للإنزيم و المحافظة عليها؛
- تشكيل معقد ركازة – إنزيم؛
- حصر التبدلات البنيوية في جزيئة الركازة؛
- استقبال و إعطاء الالكترونات؛
- تشكيل معقدات ثلاثية مع الإنزيم و الركازة.

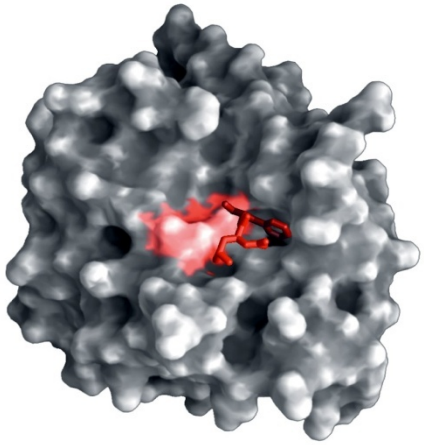
تحوي الخلية الواحدة عدة مئات من الإنزيمات، وهي وسائط حيوية بروتينية ذوابة، تنشط التفاعلات الكيميائية نوعياً، دون ان تستهلك بذاتها، وإنما تعود إلى حالتها الأولى بعد إنتهاء التفاعل.

طبيعة التحفيز Catalysis: يعتمد التحفيز على زيادة سرعة التفاعلات الكيميائية عن طريق خفض طاقة التفعيل activation energy فالإنزيمات تخفض طاقة التفعيل إلى درجة حرارة أقل من ٤٠ درجة مئوية، لتحقيق درجة حرارة التفاعلات جميعها.

فمثلاً : يتفكك H_2O_2 بطاقة ٧٦ كيلو جول/ مول، لكن بتوسط إنزيم الكاتالاز تنخفض الطاقة إلى ٨ كيلو جول/مول.

تقوم الإنزيمات في الجسم بتسريع وتحفيز التفاعلات التالية:

- أكسدة السكريات والأحماض الأمينية والدسم لتحرير الطاقة.
- استخدام هذه الطاقة المتحررة في اصطناع المكونات الخلوية.
- قيام المركبات المصطنعة بوظيفتها.

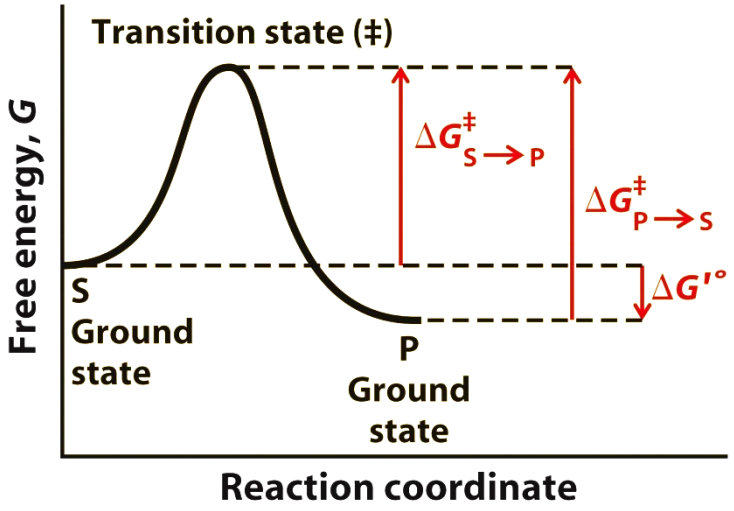


Binding of a substrate to an enzyme at the active site

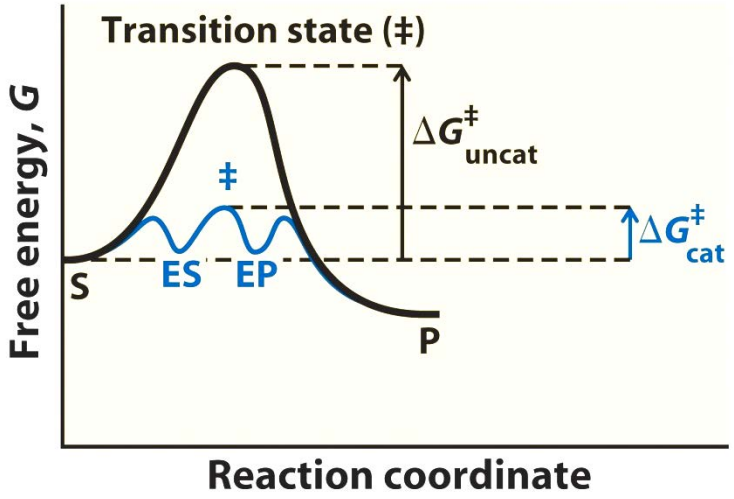
Representation of a simple enzymatic reaction

$$E + S \Leftrightarrow ES \Leftrightarrow EP \Leftrightarrow E + P$$

Enzymes affect reaction rates, not equilibria

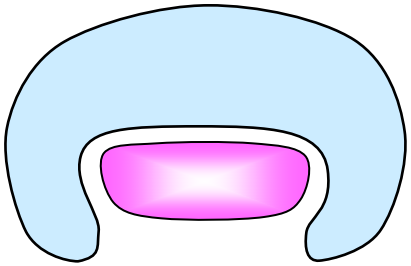


Reaction coordinate diagram for a chemical reaction



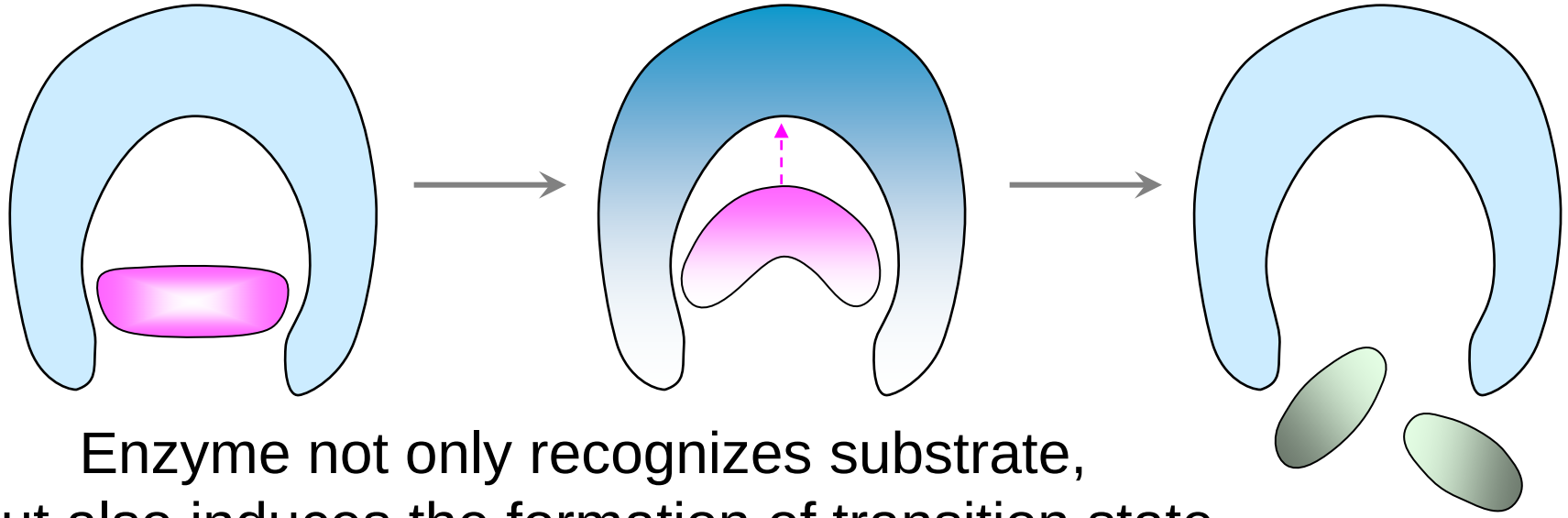
Reaction coordinate diagram comparing enzyme-catalyzed and uncatalyzed reactions

Stickase



X

If enzyme just binds substrate
then there will be no further reaction

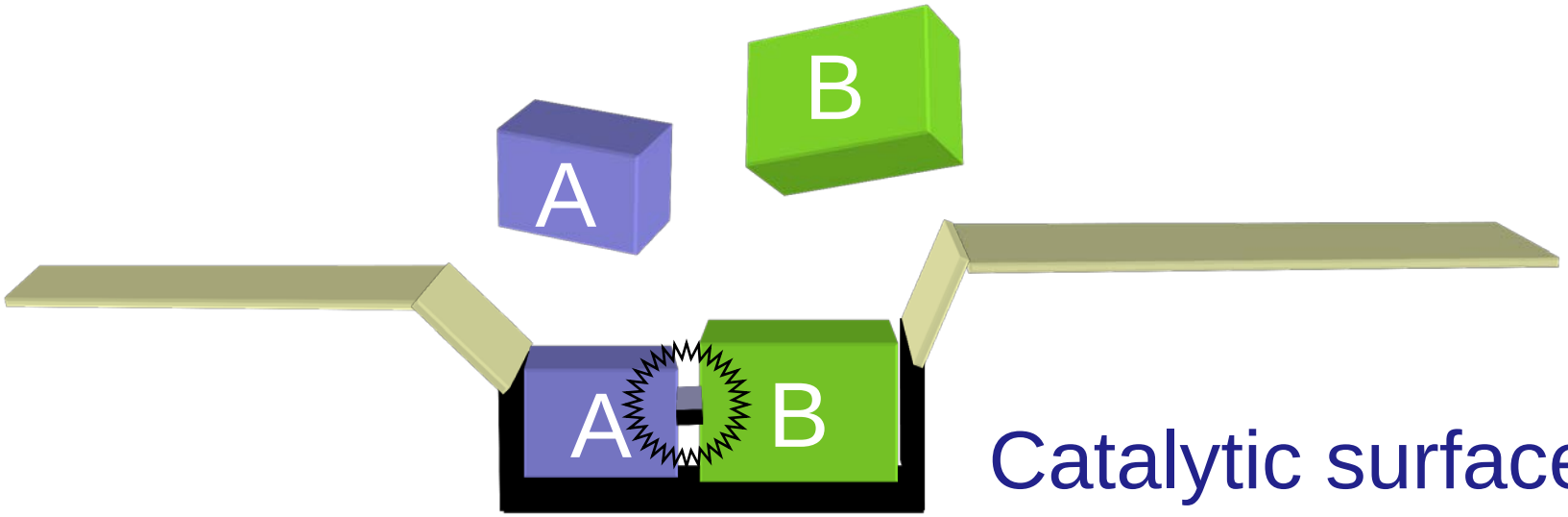


Enzyme not only recognizes substrate,
but also induces the formation of transition state

Adapted from Nelson & Cox (2000) Lehninger Principles of Biochemistry (3e) p.252

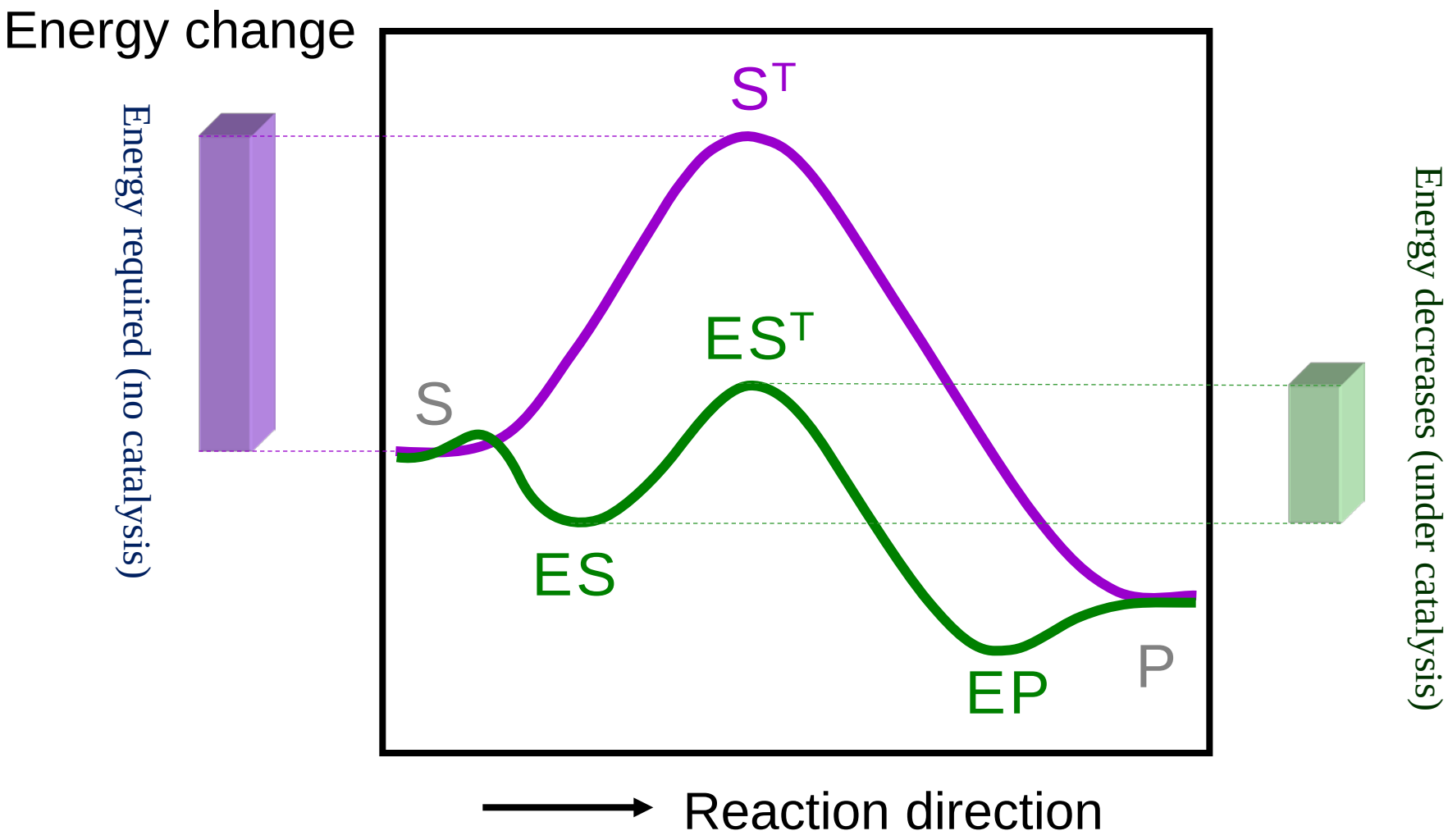
The Nature of Enzyme Catalysis

- Enzyme provides a catalytic surface
- This surface stabilizes transition state
- Transformed transition state to product



Juang RH (2004) BCbasics

Enzyme Stabilizes Transition State



T = Transition state

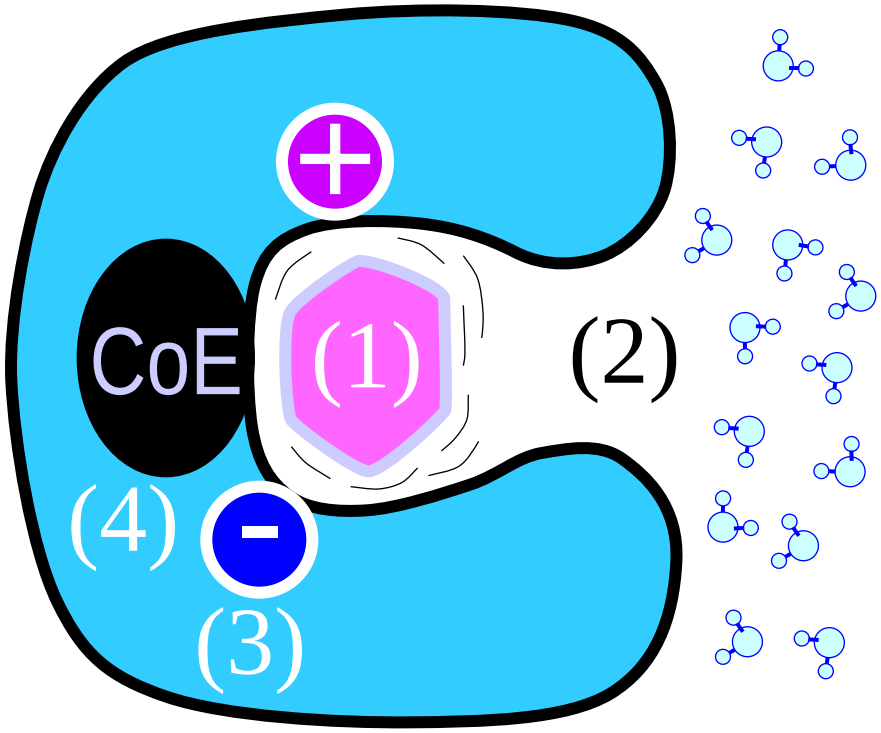
What's the difference?

Adapted from Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.166

Active Site Is a Deep Buried Pocket

Why energy required to reach transition state is lower in the active site?

It is a magic pocket



(1) Stabilizes transition

(2) Expels water

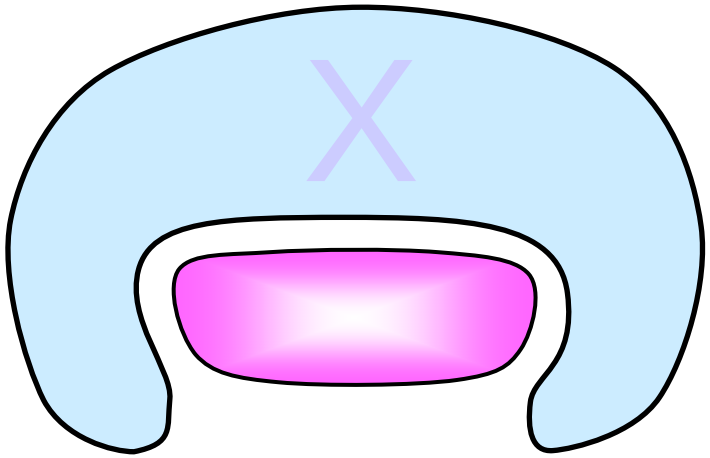
(3) Reactive groups

(4) Coenzyme helps

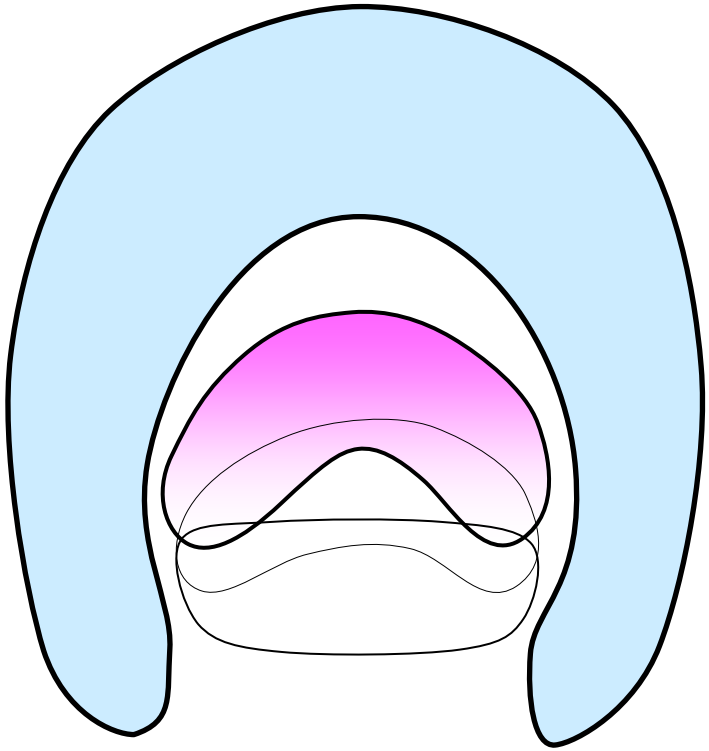
Juang RH (2004) BCbasics

Enzyme Active Site Is Deeper than Ab Binding

Ag binding site on Ab binds to Ag complementally, no further reaction occurs.

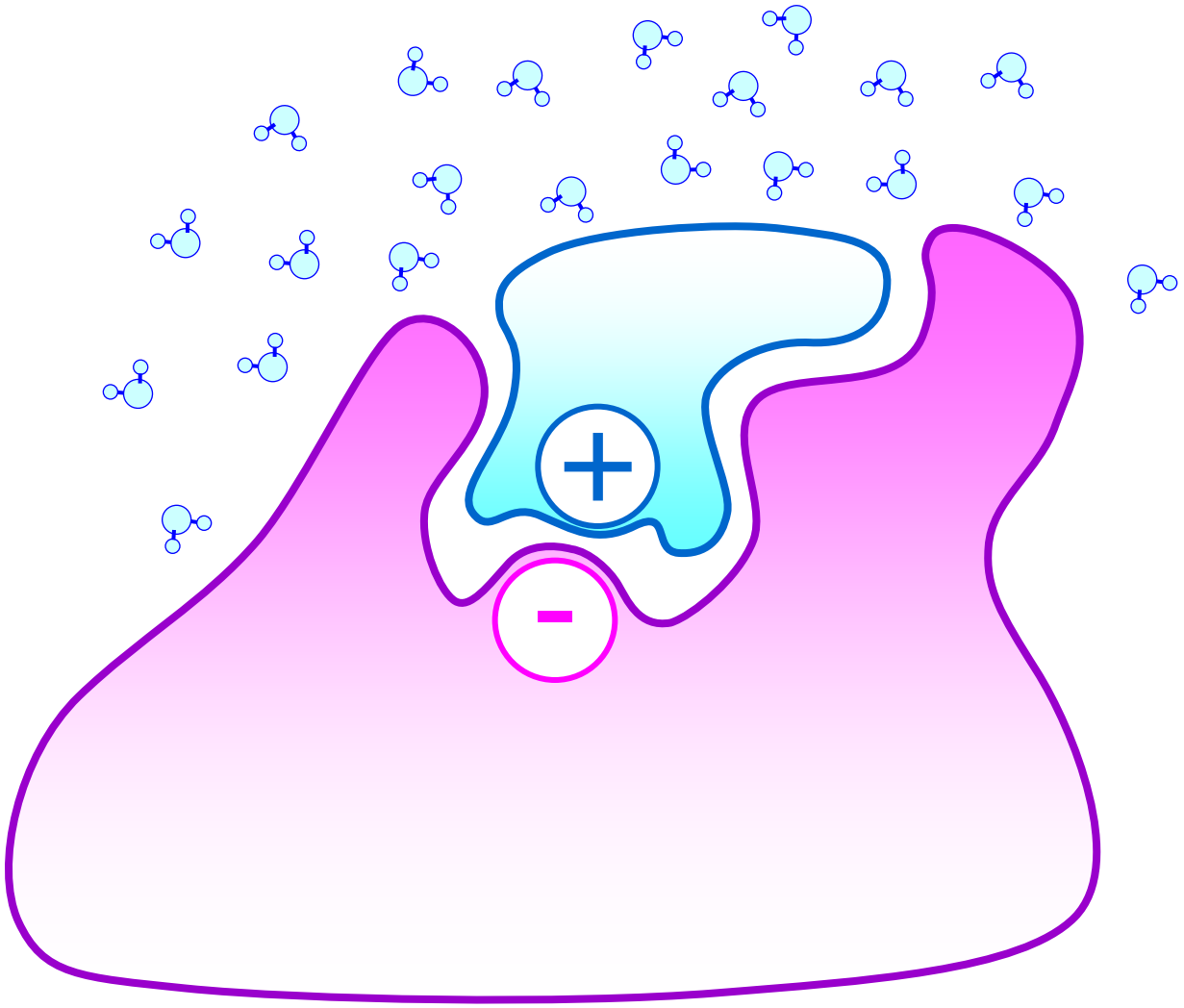


Instead, active site on enzyme also recognizes substrate, but actually complementally fits the transition state and stabilized it.



Adapted from Nelson & Cox (2000) Lehninger Principles of Biochemistry (3e) p.252

Active Site Avoids the Influence of Water



Preventing the influence of water sustains the formation of stable ionic bonds

Adapted from Alberts et al (2002) Molecular Biology of the Cell (4e) p.115

تسمية الإنزيمات وتصنيفها Nomenclature and Classification of Enzymes

- تتم تسمية الإنزيمات عادة بإضافة اللاحقة ase إلى الركازة Substrate مثل الإنزيمات التي تعمل على الأحماض النووية (nuclease)، والتي تعمل على حلمهة الببتيدات (dipeptidase). وهنالك أرجيناز، يورياز.
- وقد يشتق الاسم من وظيفة الإنزيم (أكسيداز، ديهيدروجيناز)،
- هنالك بعض الاستثناءات في التسمية وتسميات قديمة ما تزال شائعة مثل الببسين والرينين والتربسين والكيموتربسين.
- العديد من الإنزيمات تكون بشكلها غير الفعال وتدعى طليعة إنزيم proenzyme، أو مُوَلِّدٌ للإنْزيم zymogen (ببسينوجين).

- لقد أقر الاتحاد الدولي للكيمياء International (IUB) Union of Biochemistry نظاماً لتسمية الإنزيمات، وهو يعتمد على زمرة التفاعل الكيميائي وآليته.

- وبناءً على ذلك النظام صُنفت الإنزيمات إلى ست زمر أساسية. ويتم فيها تمييز كل إنزيم من خلال رمز معين، مؤلف من أربعة أرقام، مفصولة عن بعضها بنقط،

- يدل الرقم الأول على الزمرة الأساسية من الزمر الستة.

- ويدل الرقم الثاني على الزمرة الكيميائية المرتبطة بالتفاعل (-OH، COOH).

- ويشير الرقم الثالث إلى التفاعل أكثر من الركازة التي يعمل عليها الإنزيم.

- والرقم الرابع هو الرقم التسلسلي للإنزيم.

الرمز الإنزيمي
Enzyme Code

EC : 3 . 1 . 3 . 1

- نمط التفاعل الذي يحققه الإنزيم "حلمهة"
- العمل العام "حلمهة رابط استري"
- العمل الخاص "حلمهة استر فسفاتي وحيد"
- الرقم الخاص بالأنزيم "ALP" Alkaline phosphatase

لهذا تصنف الإنزيمات إلى:

١- إنزيمات الأكسدة و الإرجاع Oxidoreductase:

تتوسط تفاعلات الأكسدة والإرجاع بين ركازتين.

رمزها الإنزيمي EC: 1.

كحول + NAD^+ ⟷ ألدهيد + $NADH + H^+$

EC : 1 . 1 . 1 . 1 alcohol dehydrogenase

- رقم الإنزيم الخاص
- المستقبل NAD^+ $NADP^+$
- المعطي زمرة كحولية
- أكسدة و إرجاع

٢- إنزيمات ناقلة Transferase:

تنقل زمرة ما (عدا الهدروجين) كالزمر أحادية الكربون، والثمالات الألدهيدية، والفسفور، والكبريت، وزمر الكربوكسيل والألكيل والغليكوزيل.

رمزها الإنزيمي EC: 2

EC : 2 . 7 . 1 . 1

هيكزو كيناز Hexo Kinase

نقل زمرة فسفورية

المستقبل زمرة كحولية

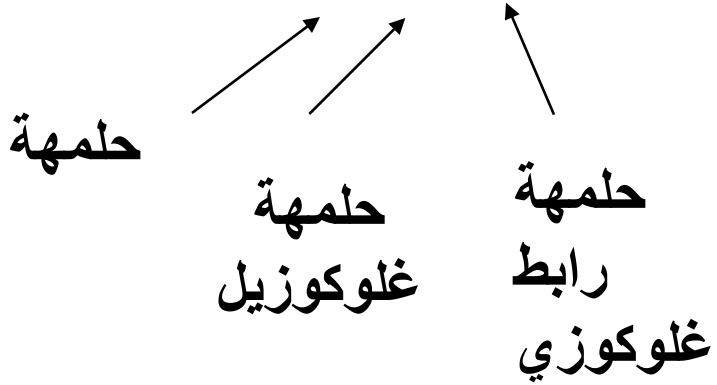
٣- إنزيمات الحلمهة Hydrolysis:

تتوسط حلمهة الأسترات والإيترات والببتيدات.

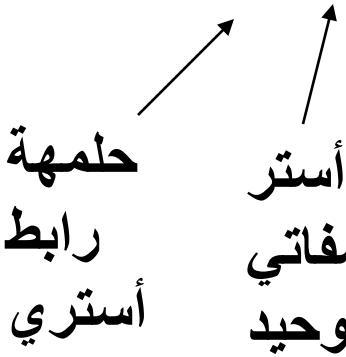
رمزها الإنزيمي EC: 3

EC : 3 . 2 . 1 . 1

ألفا أميلاز



EC : 3 . 1 . 3 . 1



الفسفاتاز القلوية

٤- إنزيمات التفكك اللامائي Lyase:

تتوسط نزع الزمر الكيميائية من الركازات، تؤثر في الروابط: C-S، C-N، C-O، C-C

رمزها الإنزيمي EC: 4

EC : 4 . 1 . 2 . 7

الدولاز aldolase

فك رباط ألدهيدي فك رباط C-C

٥- إنزيمات المزامرة Isomerase:

تتوسط تفاعلات البينية للمماكبات البصرية والهندسية والوصفية تماكب مقرون – مفروق، سكاكر، ألدهيدية – خلونية.

رمزها الإنزيمي EC: 5

فسفو تريوز إيزوميراز **EC : 5 . 3 . 1 . 1**

تبديل ألدوز- كيتوز

أكسدة وإرجاع داخل الجزيء

٦- إنزيمات الضم Ligase:

تتوسط ربط مركبين مع بعضهما، يترافق ذلك مع تفكك رابطة فسفورية في الـ ATP. وتتوسط إنشاء روابط C-N، C-C، C-S، C-O.

بروبيونيل CoA كربوكسيلاز

رمزها الإنزيمي EC: 6

EC : 6 . 4 . 1 . 3

إنشاء رباط C-C

ضم CO_2

أنماط الإنزيمات

مُؤَكْسِدةٌ مُخْتَزِلَة، ناقِلَة، هيدرولاز، لَيَّاز، مُصاوِغَة (إيزوميراز)، ليغاز .

- **Oxidoreductase**: ومنها كزانتين أكسيداز، غلوتاتيون ريدكتاز، غلوكوز ٦- فسفات ديهيدروجيناز.
- **Transferase**: تحفز نقل مجموعة وظيفية من ركازة إلى أخرى (ALT، AST).
- **Hydrolase**: تقوم بحلمهة الركائز (استراز، غلوكوز-٦- فسفاتاز)، غلوكوزيد هيدرولاز.
- **Lyase**: تحفز نزع جزيئات صغيرة من ركازات كبيرة (فوماراز، أرجينوسكسيناز، هيستيدين دي كربوكسيلاز).
- **Isomerase**: مسؤولة عن مصاوغة المركبات مثل: تريوزفسفات إيزوميراز، UDP–غلوكوز إيبي ميراز.
- **Ligase**: تعمل على دمج ركازتين معاً مثل: غلوتامين سينثيتاز، DNA ليغاز.

خصائص الإنزيمات:

- لها خصائص البروتينات " تمسخ – تعطل بالحرارة".
- تتعلق الفاعلية بالبنيتين الثانوية والثالثية.
- **pH** : تؤثر على الحالة الشاردية للإنزيم.
  - تبدل بنيوي.
  - تبدل الشحنة للجمل أو الثمالات الوظيفية في الموقع الفعال.
  - تمسخ الإنزيم في **pH** عالية أو منخفضة جداً.

عمل الببسين في pH حامضة (1.1-2.6).
عمل الفسفاتاز القلوية في pH قلوية (10.4).

pH: تؤثر في الحالة الشاردية للركازة أيضاً.

$$E^- + S\text{-}H^+ \longrightarrow E\text{-}S\text{-}H \longrightarrow E+P$$

إنزيم ركازة إنزيم – ركازة

pH منخفضة (H^+) بيئة حمضية يتم تعديل شحنة الإنزيم (يفقد شحنته السالبة)

$$E^- + H^+ \longrightarrow EH$$

pH عالية (OH^-) بيئة قلوية تفقد الركازة شحنتها الموجبة.

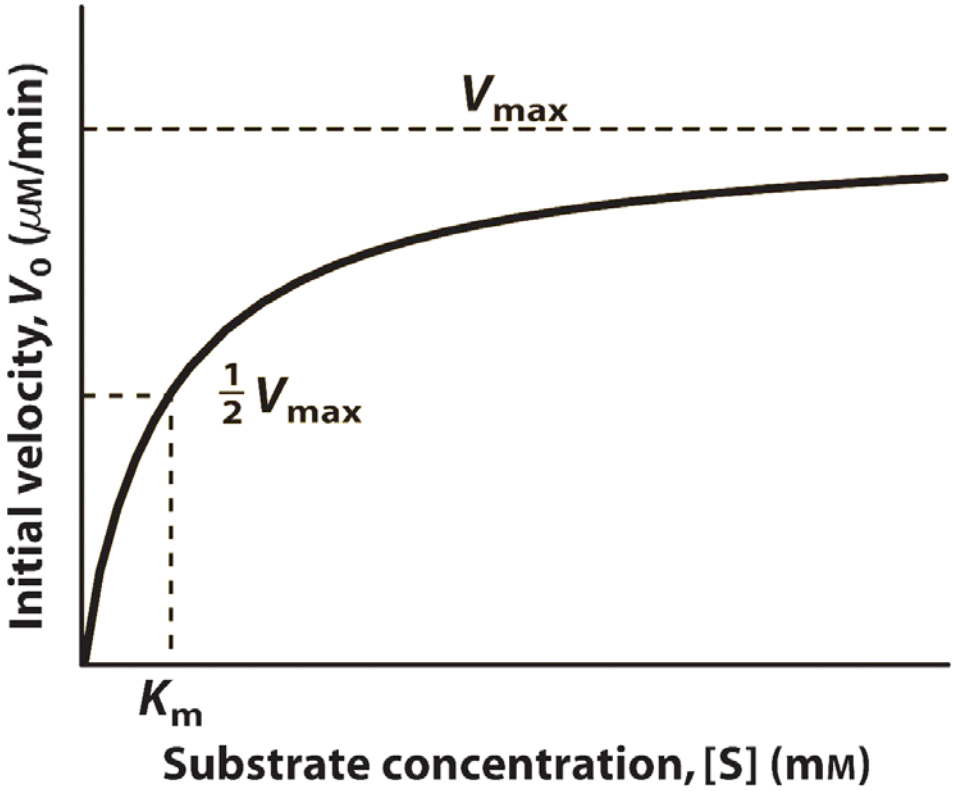
$$S\,H^+ + OH^- \longrightarrow S + H^+OH^-$$

الأشكال EH و S لا يمكنها أن تتفاعل وبالتالي في قيم عالية أو منخفضة ينخفض التركيز الفعال لشاردتي الإنزيم والركازة، ويعني ذلك بالتالي انخفاض سرعة التفاعل الإنزيمي.

- الحرارة: الحرارة تزيد من الطاقة الحركية لجزيء الإنزيم، تزداد سرعة التفاعل الإنزيمي بارتفاع الحرارة (تضاعف الفاعلية كل ١٠ درجات).

- تركيز الركازة: كلما زاد تركيز الركازة زادت سرعة التفاعل الإنزيمي إلى أن يشبع الإنزيم بالركازة Vmax (سرعة التفاعل العظمى).

إن كمية الركازة المطلوبة لإنجاز ½ سرعة التفاعل العظمى ½ Vmax.
تعبر عن ثابتة ميكائيليس Km للإنزيم والركازة.



في بداية التفاعل الإنزيمي: تتناسب سرعة التفاعل مع تركيز الإنزيم، وبعد الوصول إلى حال التوازن، فإن ثابتة التوازن تتعلق بتركيز الناتج وتركيز الركازة.

$$Keq = \frac{[P]}{[S]}$$

Enzyme Kinetics

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftharpoons}} E + P$$

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

Michaelis-Menten kinetics

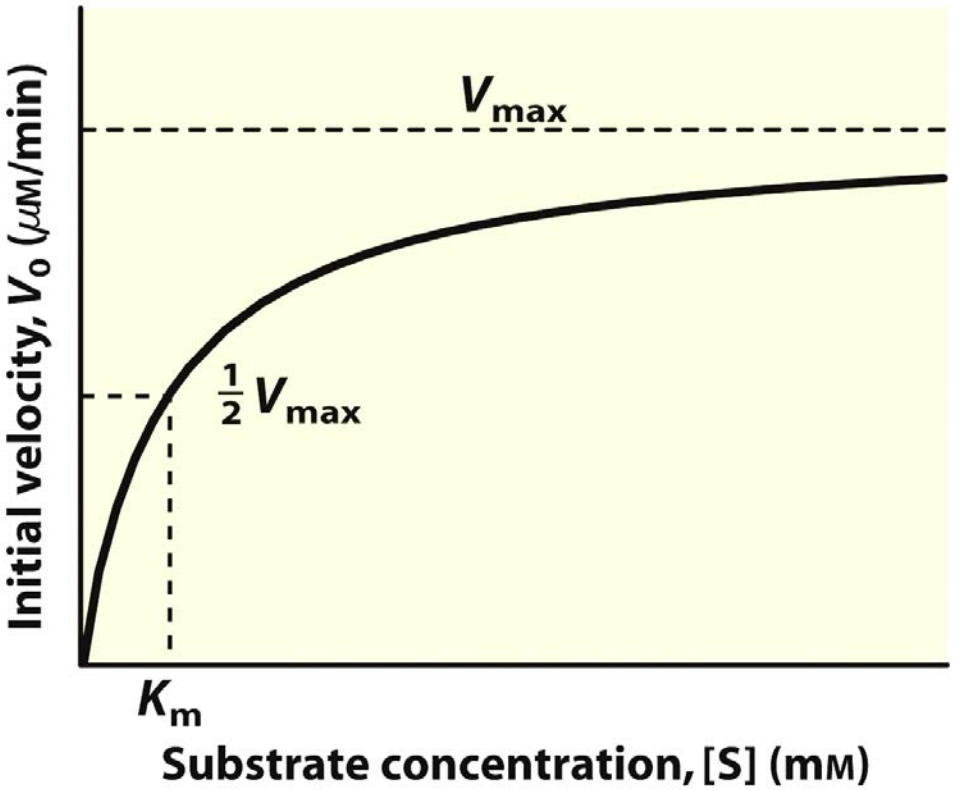
initial rate measurements

[S] >> [E]

[ES] ~ constant

$V_0 = K_2$ [ES]

Effect of substrate concentration on the initial velocity of an enzyme-catalyzed reaction



$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$

Michaelis constant

Leonor Michaelis
1875–1949

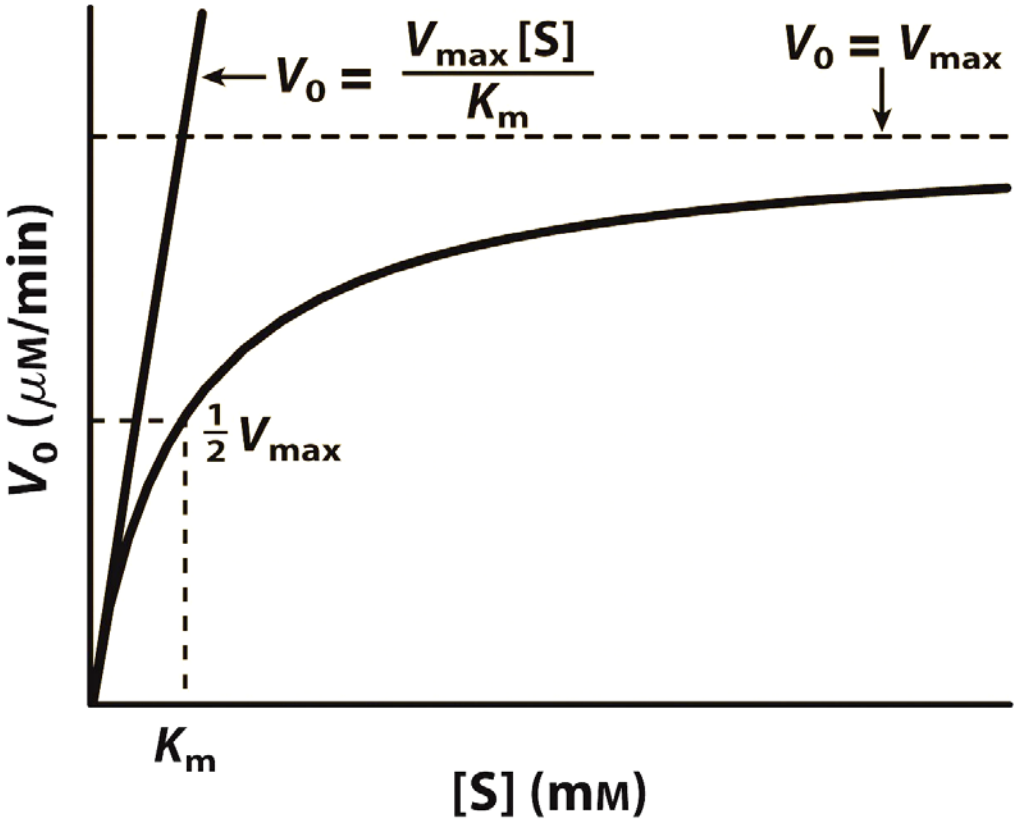
Maud Menten
1879–1960

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} ES \xrightarrow{k_2} E + P$$

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m + [S]}$$

$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$

Dependence of initial velocity on substrate concentration



When k_m > > [S]

$$V_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_m}$$

When [S] > > k_m

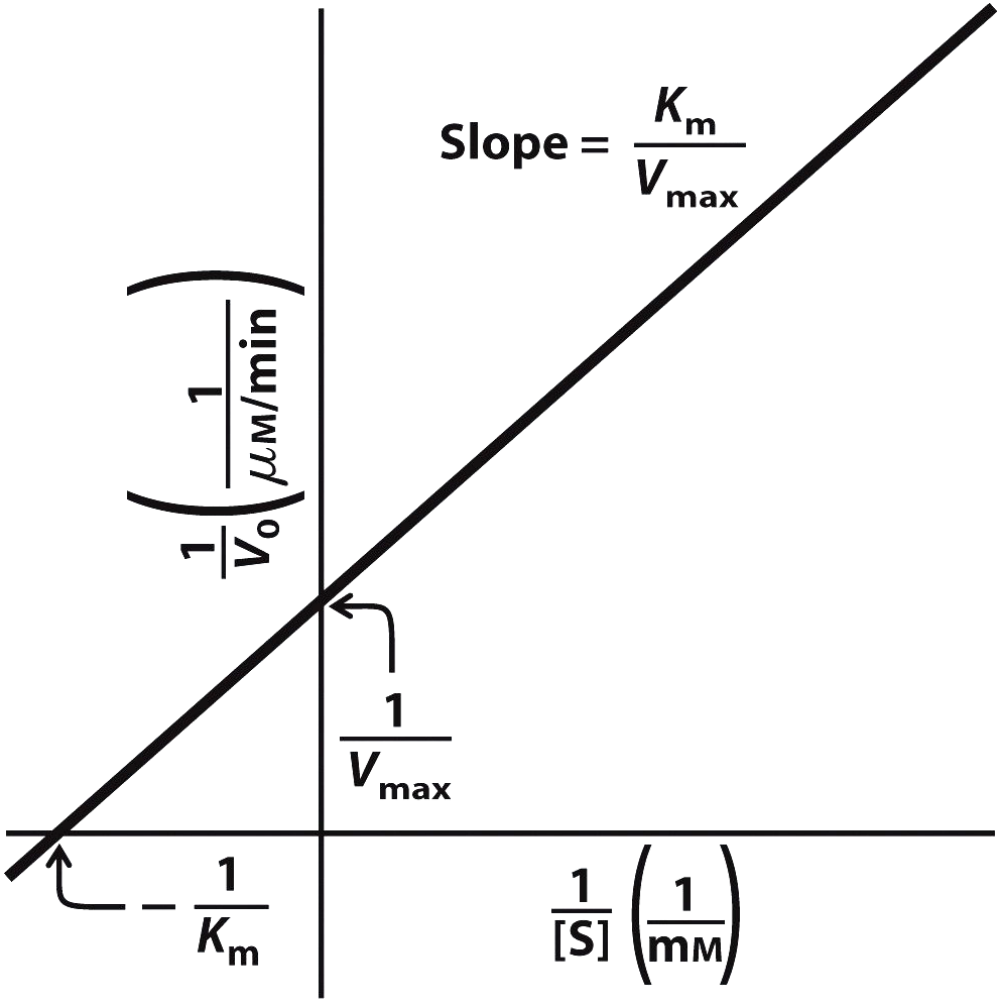
$$V_0 = V_{max}$$

A double-reciprocal or Lineweaver-Burk plot

$$V_0 = \frac{V_{max}\,[S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{max}\,[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

Lineweaver-Burk equation



العوامل المؤثرة في عمل الإنزيمات

تتأثر فعالية الإنزيمات بعدة عوامل منها :

❖ درجة الحرارة :

- درجة الحرارة المثالية هي التي تؤدي إلى فعالية عظمى للإنزيمات. وارتفاع درجة الحرارة يؤدي إلى زيادة طاقة التفعيل، حيث تتضاعف سرعة التفاعل إذا ارتفعت درجة الحرارة بمقدار 10 درجة مئوية. لكن الارتفاع يجب أن يكون محدوداً لأن الحرارة المرتفعة تؤدي إلى تمسخ البروتينات.
- والحرارة المثالية لمعظم إنزيمات الجسم بين 35 و 40 ْم.

❖ pH التفاعل: القيمة المثالية 4 -9. وتختلف هذه القيمة من ركازة لأخرى.

- **تركيز الإنزيمات:** في بداية التفاعل تكون السرعة الابتدائية متناسبة طرداً مع تركيز الإنزيم. وتزداد سرعة التفاعل بزيادة تركيز الركازة أيضاً.
- **تركيز المنتجات:** تراكم المنتجات تسبب انخفاض في سرعة التفاعل الإنزيمي (حيث تشغل المواقع الفعالة في كل الإنزيمات).
- **تأثير المنشطات والتمامات الإنزيمية:** تزداد فعالية الإنزيمات بوجود الشوارد المعدنية والتمامات الإنزيمية.
- **الزمن:** الزمن متناسب عكساً مع درجة الحرارة.

نوعية الإنزيمات

وهذه النوعية لها ثلاثة أنماط مختلفة:

- النوعية في الكيميائية الفراغية stereochemical specificity.
- نوعية التفاعل الكيميائي reaction specificity
- نوعية الركازة specificity substrate

* المُناوِعُة الفَرَاغِيّة Stereospecificity

- **النوعية البصرية Optical specificity:**
- **هنالك العديد من المصاوغات البصرية للركازات، ولكن واحدة من تلك المصاوغات تعمل كركازة وحيدة للإنزيم، مثل الأحماض الأمينية L، وبالمقابل هنالك نوعين من الإنزيمات التي تعمل على الأحماض الأمينية L و D.**
- **وقد يتوافر أحد منتجات الإنزيم الذي يملك أيضاً عدة مصاوغات، لكن الإنزيم ذاته سينتج المصاوغ ذاته. فمثلاً عندما تعمل سكسينيك ديهدروجيناز على حمض السكسينيك فإنها تنتج حمض الفوماريك ولا تعطي حمض الماليك المصاوغ.**

* نوعية التفاعل reaction specificity

- قد تخضع الركازة إلى عدة تفاعلات كيميائية، لكن إنزيم واحد يحفز طريقاً واحداً فقط من التفاعلات؛ مثال oxaloacetic acid يخضع إلى عدة تفاعلات، وكل تفاعل يشرف عليه إنزيم واحد فقط.

* نوعية الركازة specificity substrate

- وتنطوي على تحت النوعية المطلقة والنوعية النسبية. والنوعية المطلقة نادرة مثل: اليورياز التي تعمل فقط على اليوريا. والنوعية النسبية تقسم إلى نوعية بالنسبة للرابطة ونوعية بالنسبة للزمرة.

- ونوعية الزمرة نجدها في الببسين الذي يعمل على حلمهة ثمالات الليزين والأرجينين. والكيموتريسين الذي يعمل على حلمهة ثمالات من الأحماض الأمينية العطرية.

- نوعية الرابطة كما في الإنزيمات الحالة للبروتين، غلوكوزيداز، ليباز، والتي تعمل على حلمهة الروابط الببتيدية، والغلوكوزيدية، والاسترية على الترتيب.