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.

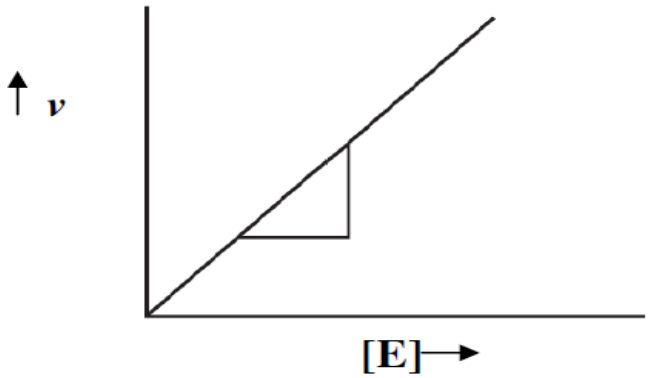
4- الأس الهيدروجيني.

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

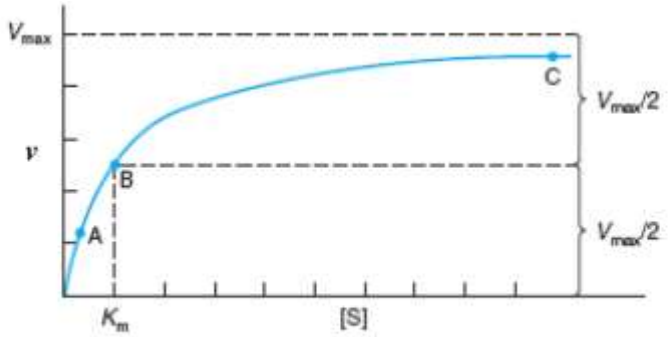
إن معدل سرعة التفاعل المحفز بالإنزيم (وخاصة الإنزيم النقي لحد ما) يتناسب طردياً مع تركيز الإنزيم عندما تكون المادة الأساس بوفرة في محيط التفاعل (**الشكل 5-10**). ويمكن استخدام هذه العلاقة لقياس كمية الإنزيم (فعالية الإنزيم) في عينة معينة (مصل، بول، دم، محلول وغيرها) بعد تثبيت الظروف من درجة الحرارة و pH 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

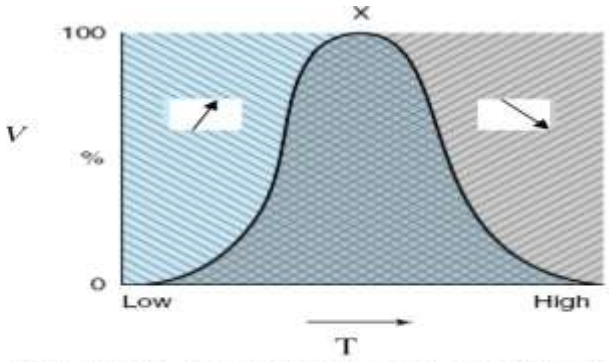
عند إبقاء تركيز الإنزيم ثابتاً، فان الزيادة في تركيز المادة الأساس[S] تسبب في البداية ارتفاعاً سريعاً في معدل سرعة التفاعل v ولكن عند الاستمرار في زيادة تركيز المادة الأساس فان الزيادة في معدل السرعة تبطؤ إلى أن تصبح السرعة ثابتة مهما زاد تركيز المادة الأساس ويطلق على السرعة عند أعلى تركيز للمادة الأساس 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 الانزيم منها:

أ- الصفات الأيونية للمجاميع الأمينية و الكاربوكسيلية للإنزيم.

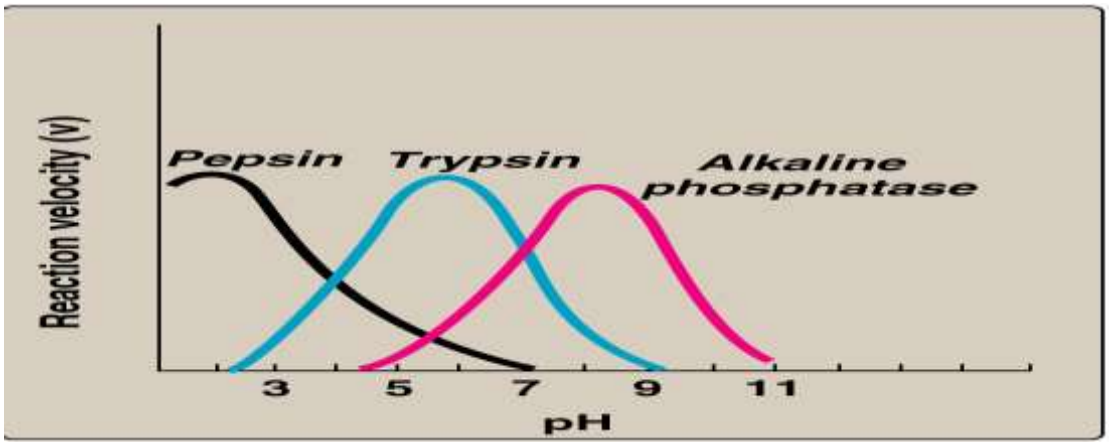
بـــ- الصفات الأيونية للمجاميع الجانبية لوحدات الأحماض الأمينية.

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

وبالتالي فان لكل إنزيم أس هيدروجيني pH عنده يبدي الإنزيم أقصى فعالية ويسمى الأس الهيـــدروجيني الأمثل (الأقصى) Optimal pH. يتراوح الأس الهيدروجيني الأمثل لأغلب الإنزيمـــات مـــابين 5 - 9 ، إذ غالباً يكون الأس الهيدروجيني للإنزيم مقارباً للأس الهيدروجيني للنسيج الذي أستخلص منه ذلك الإنزيم فعلى

سبيل المثال إنزيم البيسين Pepsine تكون الـــ pH المثلى له تقريباً عند 1.6 (وقيمة pH لعـــصارة المعـــدة

ولكن عند استخدام اس هيدروجيني عالي جدا او واطىء جدا فيمكن ان يؤدي ذلك الى عملية مسخ للبرويتن وفقدان فعاليته.



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 تكـــون في تركيب أو مرافق الإنزيم وهي كالأتي:

أ- الموقع الفعال.

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

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

د- المجموعة الرابطة في الإنزيم Prosthetic group.

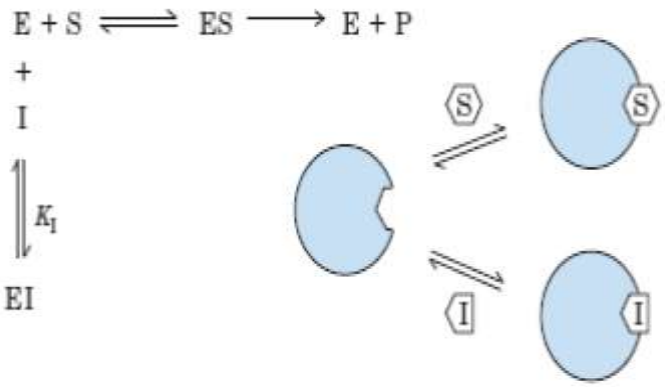
فضلاً عن ذلك يمكن خفض معدل سرعة التفاعل الإنزيمي أو إيقافه من خلال التغيير في درجة الحـــرارة أو الأس الهيدروجيني الأمثل للإنزيم أو بإضافة احد عوامل مرسبات البروتين المختلفة.

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

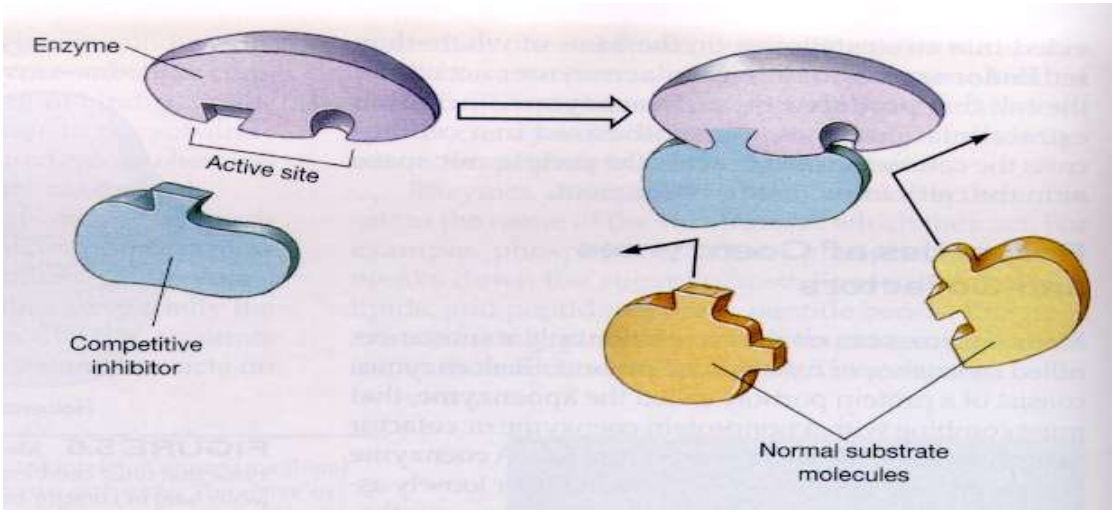
ويمكن تصنيف مثبطات الإنزيم إلى ثلاثة أصناف:

أ- المثبط التنافسي Competitive inhibitor

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



ويكون هذا النوع من التثبيط عكسيا (إذ أن المثبطات العكسية هي التي تتحد مع الإنزيم مباشرة ويمكن إزالتها بعملية الفرز الغشائي Dialysis أو بالتخفيف وبهذا تسترجع الفعالية الإنزيمية)، **ويعتمد هذا التثبيط التنافسي العكسي على تركيز المثبط والمادة الأساس والألفة النسبية بين المثبط والمادة الأساس**، فبزيادة تركيز المادة الأساس يمكن تقليل نسبة التثبيط الذي يكون تركيبه (المثبط) في الغالب مشابهاً لتركيب مادة الأساس.



ب- المثبط غير التنافسي Noncompetitive Inhibitor

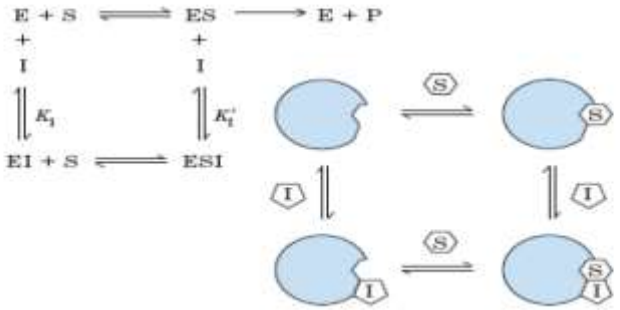
في هذا النوع من التثبيط يكون تركيب المثبط لا يشابه تركيب المادة الأساس أو قد يشابهه قليلاً، ويرتبط المثبط غير التنافسي عادة مع الإنزيم في موقع آخر يختلف عن الموقع الفعال أي لا يوجد أي تنافس بين المثبط والمادة الأساس على الاتحاد مع الموقع الفعال للإنزيم لذا فان زيادة تركيز مادة الأساس لا يلغي تأثير عمل 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 .

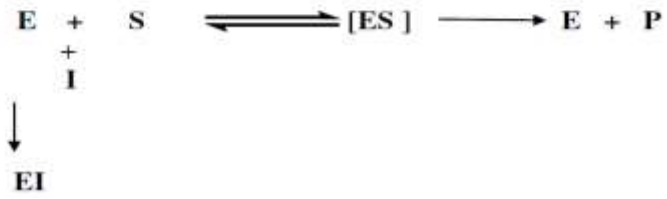
وفي مايأتي وصف للنوعين السابقين:

1- **المثبط غير التنافسي العكسي:** يتكون معقدان بوجود المثبط وهما EI (معقد الإنزيم- المثبط) و EIS (معقد الإنزيم- المثبط- المادة الأساس) كما في الشكل **(15-10)**:



أن المعقد EIS يمكن أن يتحلل ليعطي الناتج ولكن بمعدل سرعة اقل مما هو عليه لتحلل ES وبهذا يكون التفاعل الإنزيمي أبطأ مما هو عليه بغياب هذا النوع من المثبطات.

2- المثبط غير التنافسي غير العكسي: يرتبط المثبط مع وحدة الحامض الأميني للإنزيم بوساطة آصرة تساهمية بحيث لا يمكن فصل المثبط عن الإنزيم بوساطة التخفيف أو الديلزة (الفرز الغشائي) والتي تسمى هذه الحالة في بعض الأحيان تسمم الإنزيم Poison enzyme. إن هذا الارتباط يعمل على تحوير الإنزيم وخفض فعاليته ثم توقفها كلياً لذلك يقال عن الإنزيم بأنه تسمم بالمثبط. ويمكن توضيح إتحاد المثبط غير التنافسي غير العكسي بالإنزيم بالشكل أدناه:



6- تنشيط الإنزيم Enzyme Activation

يقصد بالمنشطات Activators الجزيئات الصغيرة والتي عادة تكون أيونات لاعضوية تحتاجها بعض الإنزيمات لتحفيز نشاطها إذ تعمل على خفض طاقة تنشيط التفاعل وبالتالي جعلها أكثر سهولة في إعطاء 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 المنشطات مع الإنزيم الحر أو مع المادة الأساس لتكون معقد المنشط- المادة الأساس (وليكن هذا المنشط هو الايون المعدني M) الذي يتحد بدوره مع الإنزيم ليكون مركب معقد ثلاثي بين الإنزيم (E) والايون المعدني (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] .

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

ومن أهم الأيونات التي أثبتت مشاركتها في التفاعلات الإنزيمية هي أيونات (Zn, K, Na, Mo, Mg, Cu, Co, Ca).

العوامل المرافقة للإنزيم

تحتاج بعض الإنزيمات إلى وجود مركبات عضوية خاصة Coenzymes بوصفها موادا مرافقة تساعدها على تأدية دورها وتسريع التفاعلات الحيوية التي تجري داخل الخلية الحية. ويتلخص دور هذه المرافقات عموماً بالقيام بدور المستقبل أو المانح لبعض المجاميع أو الذرات المفصولة أو المضافة من المادة الأساس، وهي تلعب دوراً مهماً في المركبات الوسطية الناتجة خلال مراحل التفاعل دون أن تستهلك أثناء هذه العمليات وعلى هذا الأساس يمكن اعتبارها عوامل مهمة في عمليات التحفيز الإنزيمي.

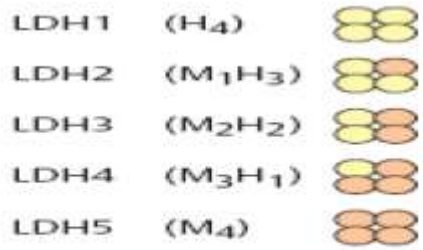
إن مشاركة المرافقات الإنزيمية (مثل $FAD, FADH_2, NADPH, NADP^+, NAD^+, NADH$ وغيرها) في التفاعلات الإنزيمية من خلال تكوينها آصرة بين المرافق الإنزيمي والإنزيم يختلف من حالة إلى أخرى ولا يوجد هناك خط واضح بين العامل المرافق المرتبط تساهمياً بالإنزيم (ويطلق على العامل المرافق في هذه الحالة بالمجموعة الترقيعية Prosthatic group الذي يعد جزءاً لا يتجزأ من الموقع الفعال للإنزيم ولا يتغير خلال التفاعل الإنزيمي أما عندما تكون المرافقات الإنزيمية مرتبطة بارتخاء (بضعف) بالإنزيم فتعد Co-substrates لأنها ترتبط بجزيئة الإنزيم البروتينية مع المواد الأساس في بداية التفاعل وتغادر الإنزيم في نهاية التفاعل بعد أن يتغير شكلها (أي المرافقات الإنزيمية).

الإنزيمات المتماثلة(المتناظرة)الأصل Isoenzymes

تعرّف الإنزيمات المتماثلة الأصل بأنها إنزيمات تتشابه في عملها على نفس المادة الأساس **ولكنها تختلف في ما بينها بالنسبة لـ:**

1- السرعة القصوى V_{max}.
2- ثابت مكيلس K_m.
3- قيمة R_f (وهي المسافة التي يقطعها الإنزيم من نقطة البداية عند فصلها بوساطة تقنية الهجرة الكهربائية Electrophoresis).
4- طبيعة سلاسل متعددة الببتيد (عدد الوحدات Subunit) التي يحتويها اذ قد تحتوي على سلسلتين أو أكثر من سلاسل متعدد الببتيد والتي تختلف في ما بينها باختلاف ما تحويه من الأحماض الأمينية وأنواعها وتسلسلها.
5- الصفات الفيزيائية والكيميائية والمناعية.

الإنزيمات المتماثلة الأصل قد توجد بشكلين أو أكثر اعتماداً على طبيعة سلاسل متعدد الببتيد التي يحتويها والتي يمكن فصلها بوساطة طرائق الهجرة الكهربائية والكروماتوغرافيا. ومثال على هذا النوع من الإنزيمات هو إنزيم اللاكتيت ديهيدروجينيز Lactate dehydrogenase (LDH) الذي يعمل على تحفيز التفاعل العكسي بين البايروفيت واللاكتيت **(الشكل 5-10)** اذ يوجد بخمسة أشكال أمكن فصلهم بتقنية الهجرة الكهربائية وكل شكل يحتوي على أربع من سلاسل متعدد الببتيد الموجودة في العضلات الهيكلية Skeletal muscle (M) وفي القلب Heart (H) اذ إن الإنزيم المتماثل الأصل (لاكتيت ديهيدروجينيز) السائد في العضلات يحتوي على أربع وحدات متطابقة ويرمز لها M_4 أما في القلب فالإنزيم السائد يكون أربع وحدات متطابقة من نوع H_4 وفي الأنسجة المختلفة فيوجد الإنزيم على شكل مزيج هجين من سلاسل M و H أي M_3H و M_2H_2 و MH_3 **(الشكل 26-10)**.



الشكل(26-10): الأشكال الخمسة لإنزيم لاكتيت ديهيدروجينيز.

الإنزيمات المنظّمة Regulatory (أو الإنزيمات الألوسترية Allosteric)

الإنزيمات المنظّمة تتميز عن بقية الإنزيمات بعدة مميزات منها:

1- تتميز باحتوائها على موقع منظم يختلف عن الموقع الفعال (المحفز) ترتبط فيه المواد المعدلة أو المؤثرة. التي هي عبارة عن مواد إما أن تعزز ارتباط المادة الأساس بالإنزيم وتسمى المؤثر الموجب Positive effector أو تقلل من ارتباط المادة الأساس بالإنزيم وتسمى المؤثر السالب Negative effector.