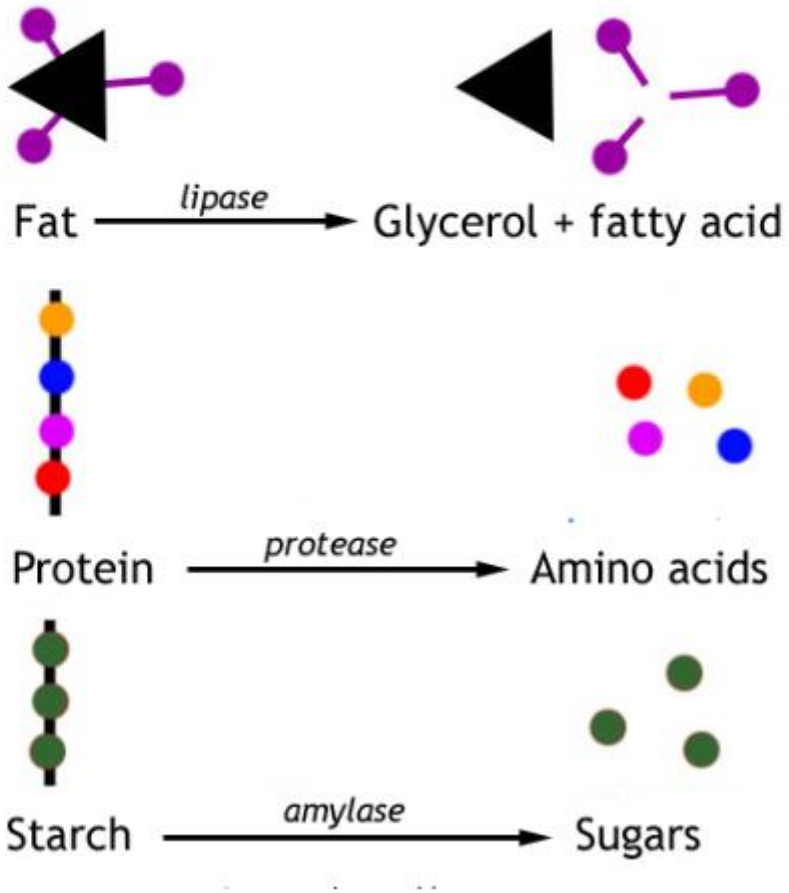
Enzymes


Fat
lipase
Glycerol + fatty acid
Protein
protease
Amino acids
Starch
amylase
Sugars

آنزیم ها

آنزیمها کاتالیزورهای پروتئینی هستند که سرعت واکنشها را بدون اینکه خود مصرف شوند افزایش می‌دهند. در واکنشهائی که از نظر انرژی انجام‌پذیر هستند، آنزیمها مواد واکنش‌دهنده (که سوبسترا گفته می‌شوند) را به بهترین مسیر هدایت می‌نمایند و در نتیجه وقایع متابولیکی را جهت می‌دهند.

مشابهت آنزیمها با کاتالیزورهای شیمیایی:

۱ـ طی واکنش مصرف یا تولید نمی‌شوند. ۲ـ واکنشها را انجام‌پذیر نمی‌کنند بلکه سرعت آنها را که بسیار کم است افزایش می‌دهند.

تفاوت آنزیمها با کاتالیزورهای شیمیائی:

۱-آنزیمها پروتئین هستند،البته بعضی از RNA ها که ریبوزیم(ribozyme)گفته می‌شوند دارای فعالیت کاتابولیکی (برش یا تولید فسفودی‌استر) هستند اما تعدادشان خیلی کم است.

۲ـ آنزیمها بسیار اختصاصی هستند و فقط محصولی خاص را تولید می‌نمایند (واکنشهای جانبی ندارند).

۳ـ در یک محدودهٔ معینی از دما و PH فعالیت می‌نمایند.

I-خصوصیات عمومی آنزیمها:

۱ـ جایگاه فعال: جایگاهی است در آنزیم بصورت شکاف یا پاکت که زنجیرهٔ جانبی اسیدهای آمینه آنزیمها در آن قرار می گیراند و محلی را برای اتصال سوبسترا فراهم می‌نمایند(شکل ۱-۴). سوبسترا در این محل به آنزیم متصل می‌شود و کمپلکس آنزیم ـ سوبسترا (ES) را تولید می‌کند، ES در اثر فعالیت آنزیم به کمپلکس آنزیم ـ محصول (EP) تبدیل و سپس محصول جدا می‌گردد.

۲ـ کارآیی کاتالیز (Turn Over Number) : واکنش های آنزیمی معمولاً $۱۵^{۸}$-$۱۵^{۳}$ برابر سریع تر از واکنشهای غیر آنزیمی پیشرفت می‌کند. تعداد مولکول های سوبسترائی که توسط یک آنزیم در واحد زمان تبدیل به محصول می‌شود را Turn Over Number (TON) گویند. واحد آن هم S^{-1} یا min^{-1} است. TON یا ثابت کاتالیتیک (K_{cat}) بیان می‌کند که یک آنزیم چقدر فعالیت دارد. K_{cat} مقایسهٔ بین توان کاتالیتیک آنزیمها را امکان‌پذیر می‌کند.

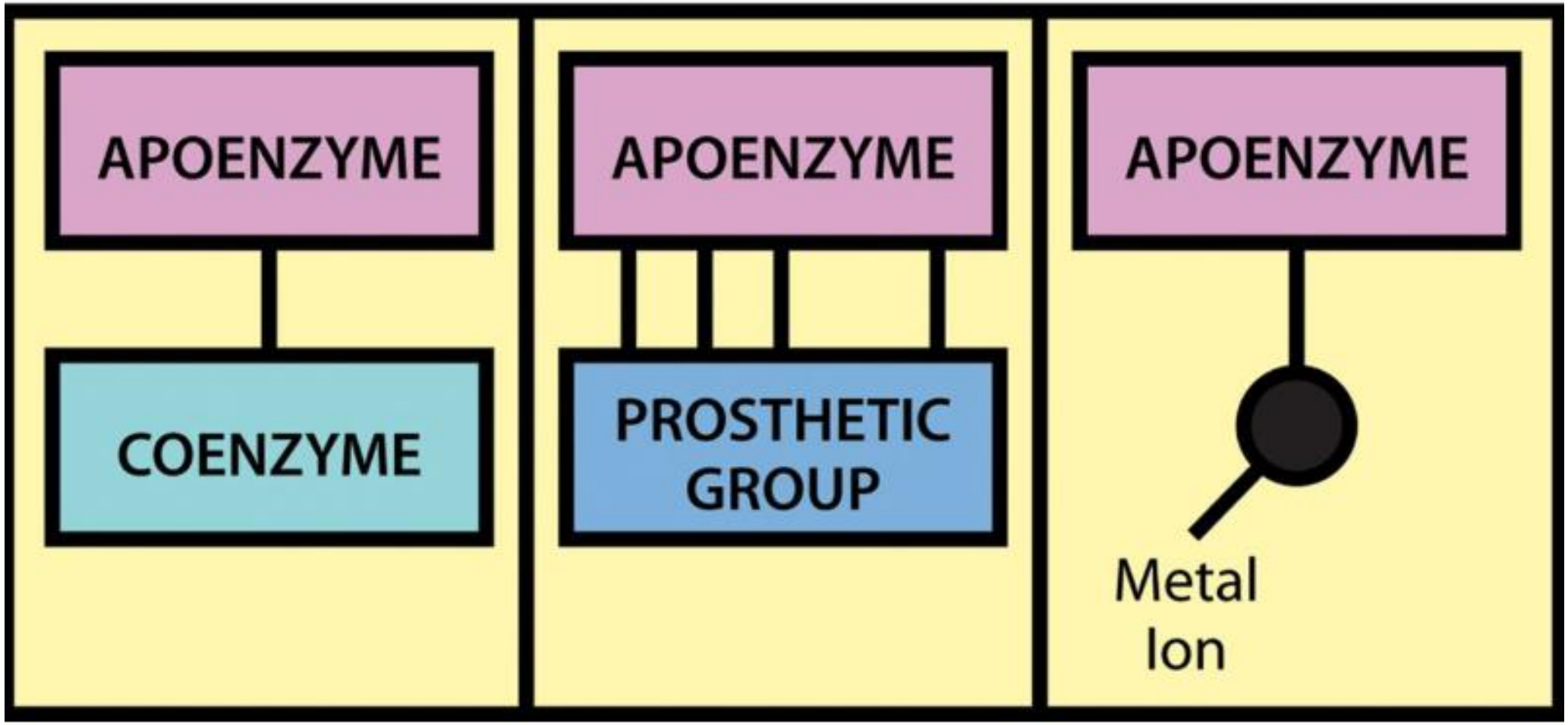
۳ـ اختصاصیت: آنزیم ها برای انجام یک واکنش اختصاص یافته اند و همچنین روی یک سوبسترای خاص (و یا تعداد کمی سوبسترای مشابه) واکنش انجام می دهند(اختصاصیت به واکنش و سوبسترا). اختصاصیت آنزیم به گروههای فعال آنزیم، گروههای فعال سوبسترا و چگونگی در کنار هم بودن این گروههای فعال بستگی دارد. در مورد اختصاصی بودن آنزیمها دو تئوری وجود دارد:

۱-تئوری قفل وکلید(look and key theory) :جایگاه فعال آنزیم از نظر شکل فضائی مکمل سوبسترا است.

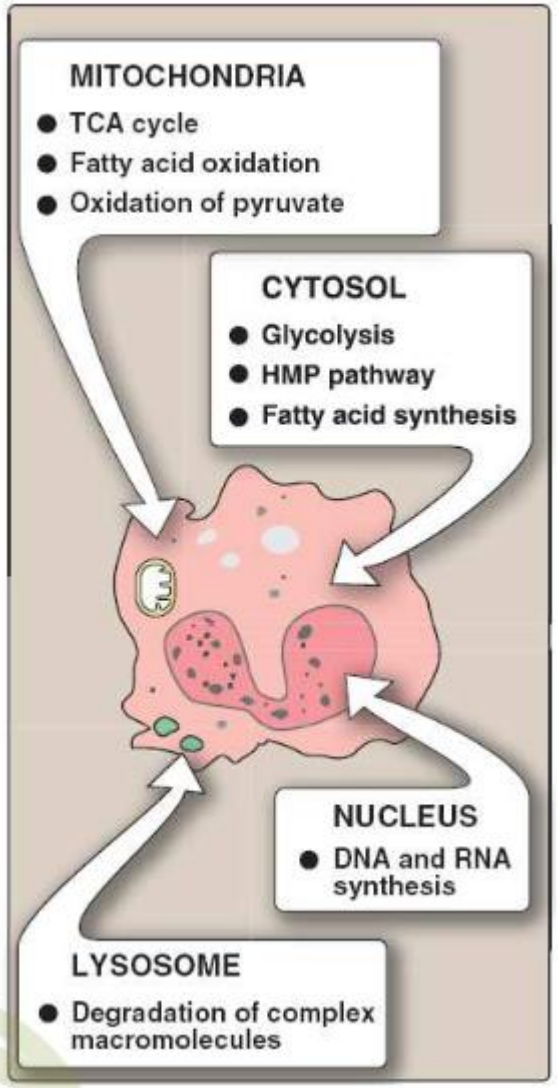
۲-تئوری قالب القاء شده (induced fit theory) :وقتی سوبسترا به آنزیم متصل گردید، شکل فضائی آنزیم بصورت مکمل سوبسترا تغییر می یابد.

HOLOENZYME

=


APOENZYME
COENZYME
APOENZYME
PROSTHETIC GROUP
APOENZYME
Metal Ion

۴ـ کوفاکتورها: بعضی از آنزیمها برای انجام واکنش آنزیمی نیازمند یک ماده دیگری برای کمک به آنها هستند. اگر این ماده معدنی باشد(مثل یونهای فلزی Zn^{2+} و Fe^{2+}) به آن کوفاکتور و اگر این ماده دارای ساختمان آلی باشد به آن کوآنزیم گویند که اغلب مشتقات ویتامینها می‌باشند (مثل NAD^+ و FAD^+). به ساختمان پروتئینی آنزیم بدون کوفاکتور آپوآنزیم (apoenzyme) و به مجموع آنزیم و کوفاکتور هولوآنزیم(holoenzyme) گفته می شود. کوآنزیم هائی که بطور موقت به آنزیم ها متصل می گردند و قادر به جدا شدن از آن هستند، کوسوبسترا (cosubstrates) گفته می شوند (مثل NAD^+) اما اگر اتصال کوآنزیم به آنزیم از نوع اتصالات محکم باشد (جدا نشود) به‌آن ریشه پروستتیک(prostetic group) گویند مثل FAD^+ و یا بیوتین در آنزیم کربوکسیلاز.



۵ـ تنظیم فعالیت :فعالیت آنزیمها بسته به نیازمندیهای سلول می‌تواند تنظیم (فعال یا مهار) گردد.

۶ـ مکان آنزیمها در سلول : بعضی آنزیمها در ارگانلهای خاصی قرار گرفته‌اند(شکل ۲-۴) اینکار باعث تفکیک سوبسترا یا محصولهای واکنش از نقاط دیگر و ایجاد یک محیط مناسب برای انجام واکنش و جهت دادن واکنشها در مسیرهای متناسب می‌گردد.

II- آنزیم ها چگونه کار می‌کنند (کینتیک آنزیمی) :

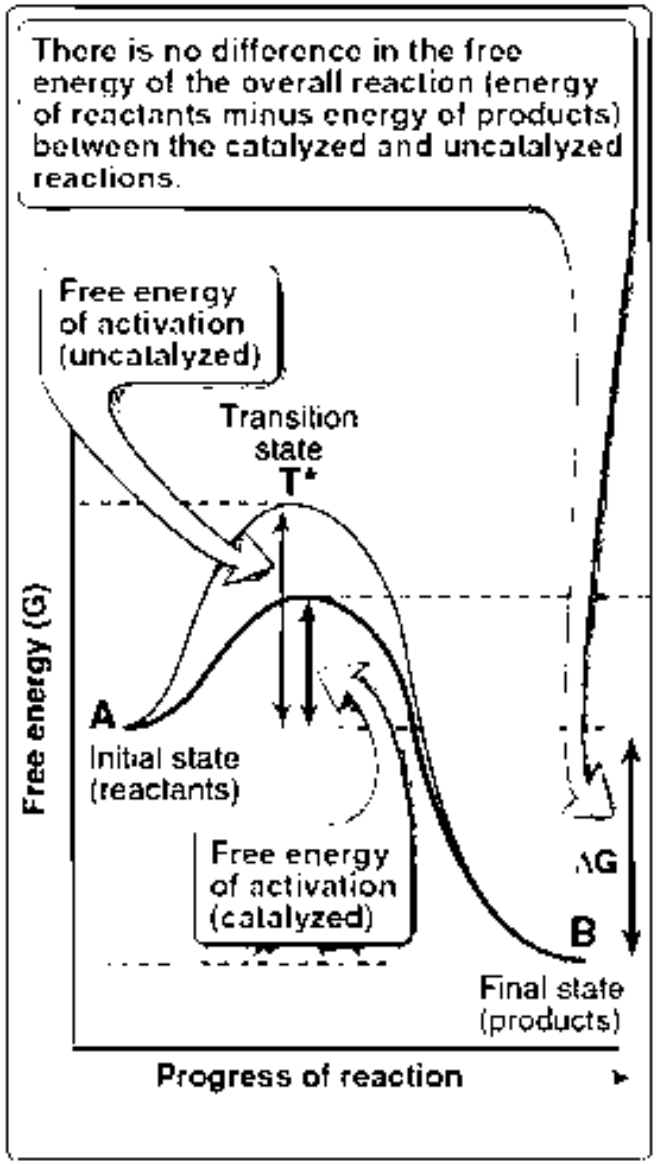
مکانیسم فعالیت آنزیمها از دو منظر قابل بررسی است:

۱- از نقطه نظر تغییرات انرژی که در طی واکنش صورت می‌گیرد. از این منظر آنزیم یک مسیر مناسبی از نظر انرژیتیکی را نسبت به حالتی که آنزیم وجود ندارد القاء می‌کند.

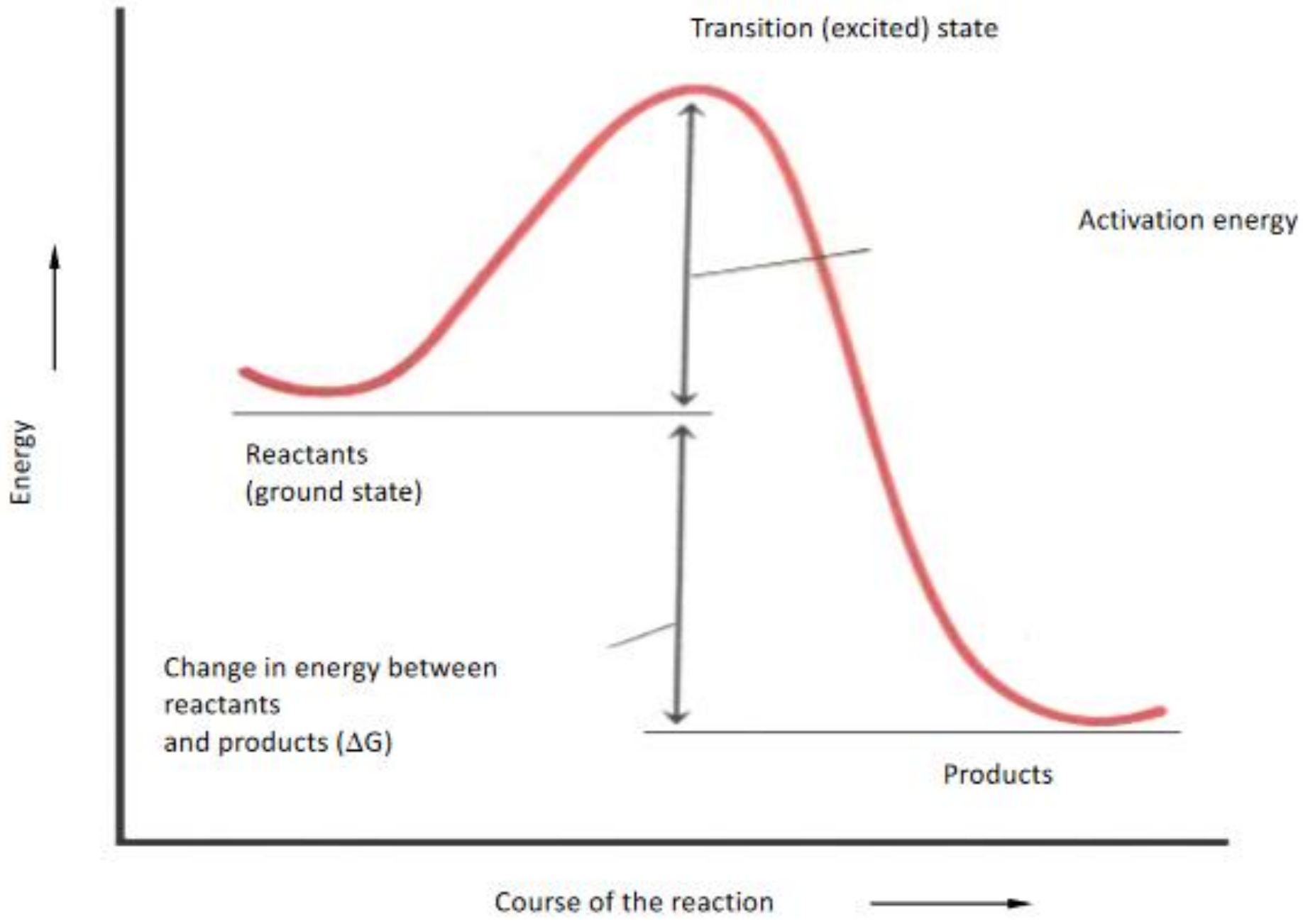
۲-از نقطه نظر اینکه جایگاه فعال چگونه به انجام واکنش کمک می‌کند.

۱-تغییرات انرژی آزاد طی واکنش :

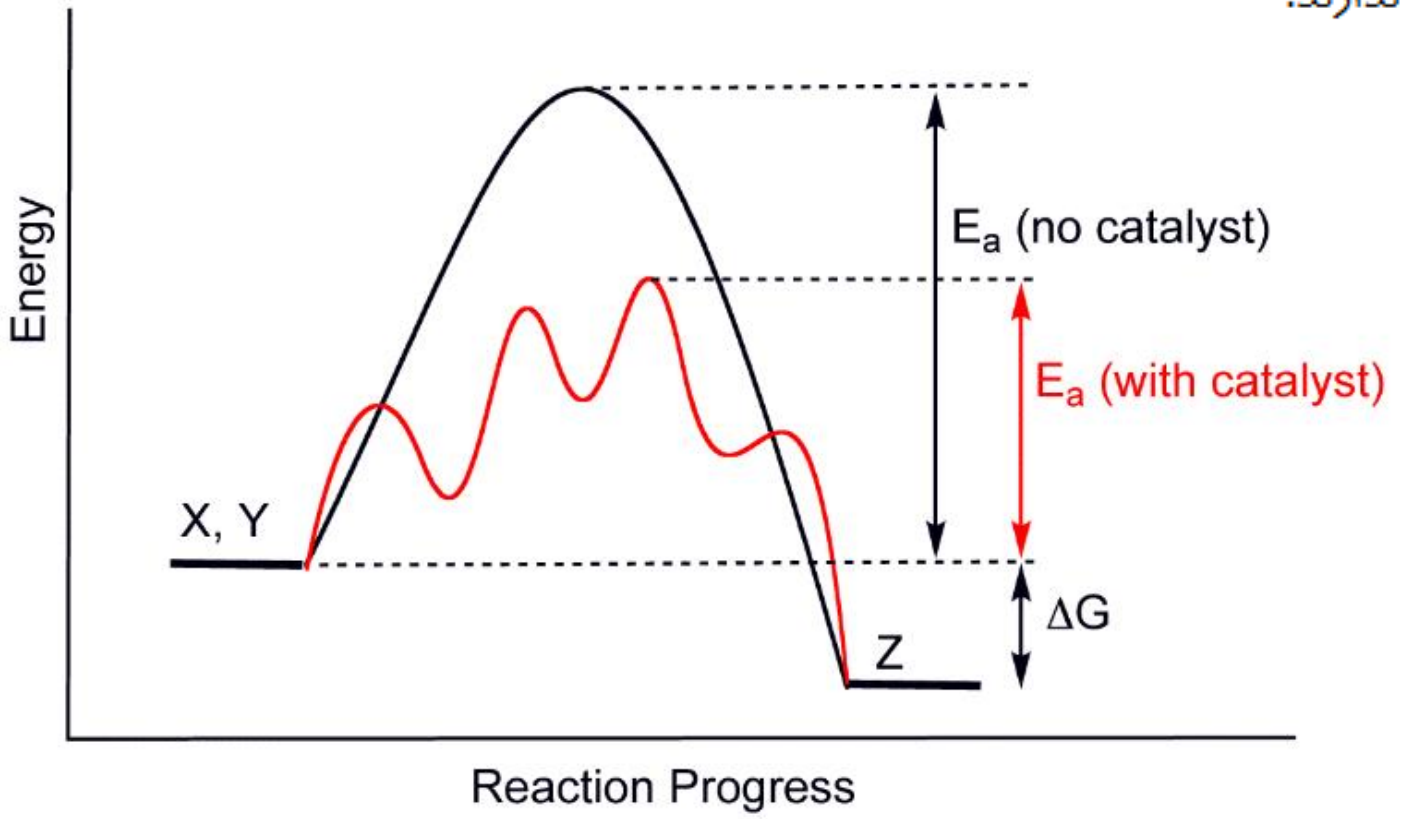
تمام واکنشهای شیمیایی دارای یک سدّ انرژی که مواد واکنش دهنده و محصولات را از یکدیگر جدا می‌کند هستند و به انرژی آزاد اکتیواسیون معروف است. انرژی اکتیواسیون مقدار انرژی لازم برای تبدیل یک ماده به یک ترکیب واسطه با انرژی بالاتر (حالت گذار) است. مثلاً در واکنش $A \leftrightarrow T^{*} \leftrightarrow B$ مادهٔ A به اندازه انرژی اکتیواسیون انرژی جذب می‌کند تا به حالت گذار (T^{*}) برسد. ماده در حالت گذار آماده انجام واکنش (ایجاد یا شکست یک پیوند) می‌باشد (قله منحنی در شکل۳-۴). مولکولها برای اینکه بتوانند به محصول تبدیل شوند بایستی انرژی کافی بدست آورند تا از سد انرژی بگذرند و به حالت گذار (transition state) برسند.

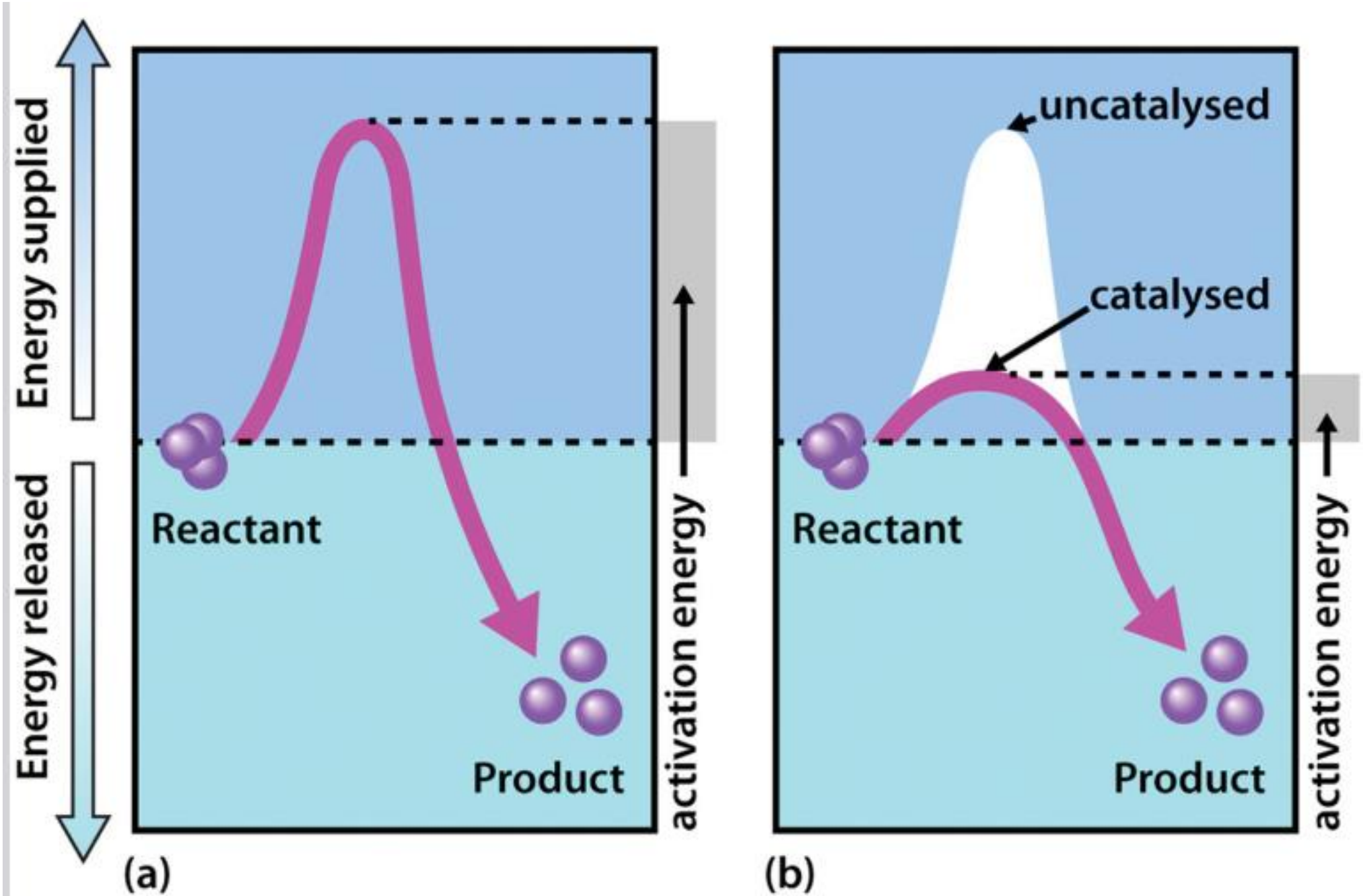


شکل(۳-۴).اثر یک آنزیم در انرژی فعال سازی یک واکنش.


Transition (excited) state
Activation energy
Energy
Reactants
(ground state)
Change in energy between
reactants
and products (ΔG)
Products
Course of the reaction

سرعت واکنش: در حالت عادی تعداد مولکولهائی که دارای انرژی کافی برای رسیدن به حالت گذرا باشندکم است. سرعت یک واکنش به تعداد ملکولهائی که انرژی لازم برای عبور از این سد انرژی را تحصیل کرده اند بستگی دارد.آنزیمها با کـاهش انـرژی اکتیواسیون تعداد مولکولهای در حالت گذار را افزایش می‌دهند و بنابراین سرعت واکنش زیاد می‌گردد. یعنی مواد واکنش‌دهنده را از مسیری هدایت می‌نمایند که نیاز به انرژی اکتیواسیون کمتری دارد. بنابراین آنزیمها انرژی مواد واکنش‌دهنده یا محصـولات را تغییری نمی‌دهند و در نتیجه روی تعادل اثری ندارند.

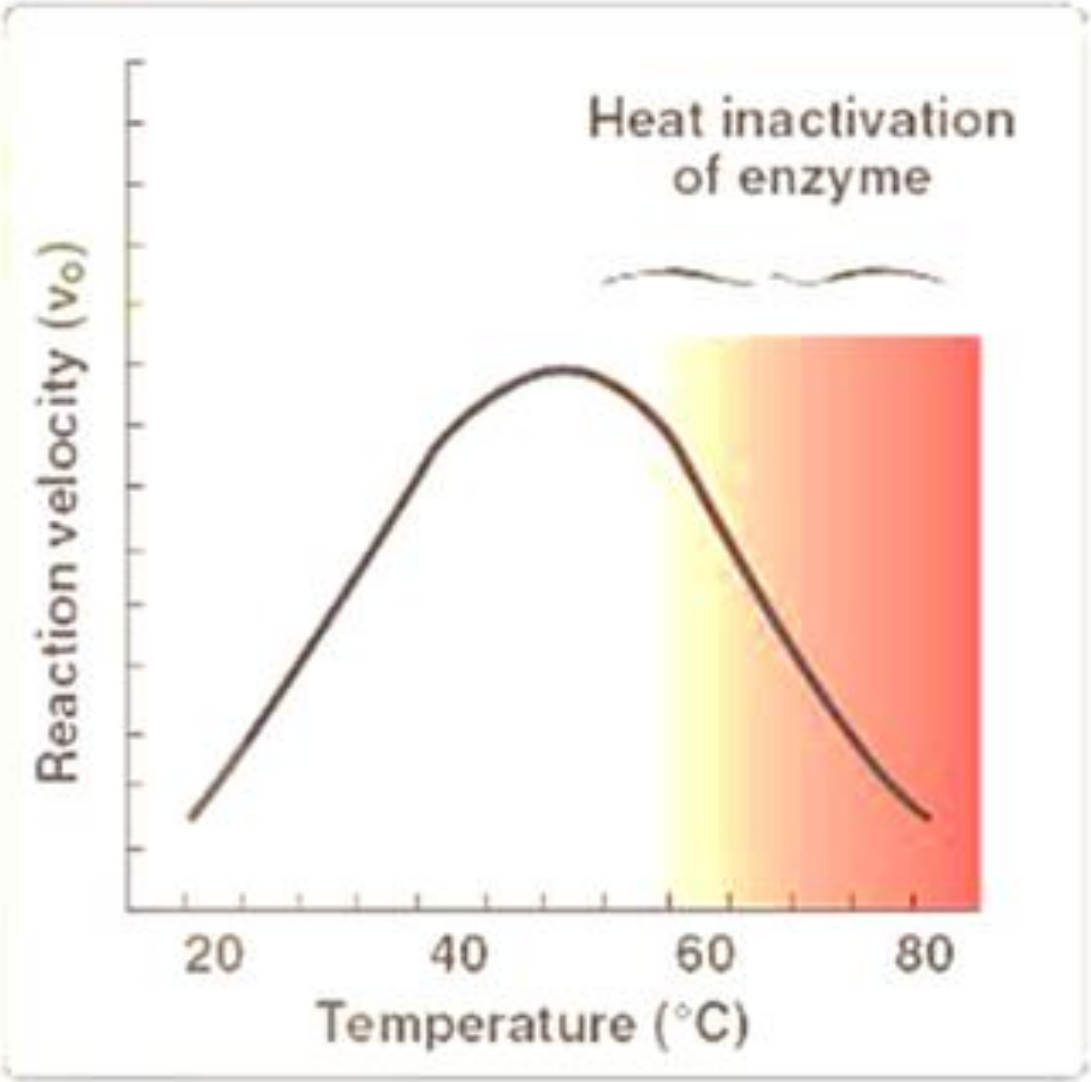



Energy supplied
Energy released
Reactant
Product
activation energy
(a)
uncatalysed
catalysed
Reactant
Product
activation energy
(b)

عوامل موثر بر سرعت واکنشهای آنزیمی:

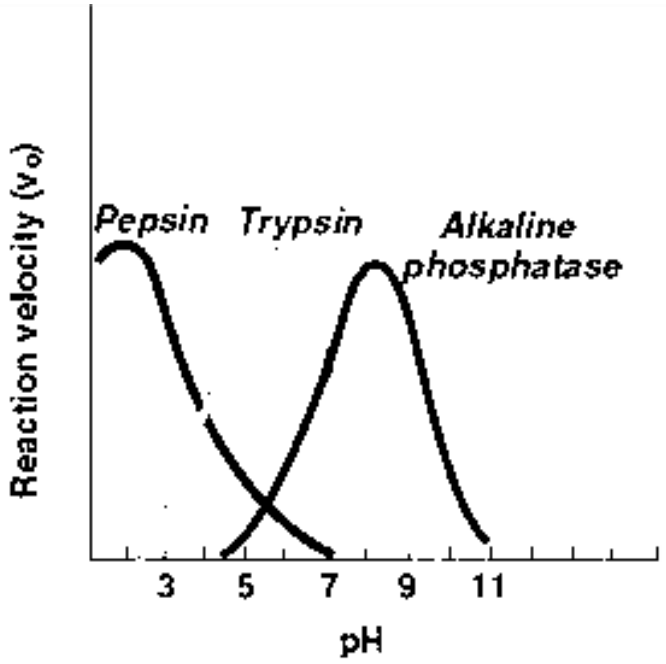
آنزیم ها را می توان از سلول استخراج کرد و خصوصیات آنها را در لوله آزمایش مورد بررسی قرار داد (به این روش in vitro گویند). آنزیم های مختلف پاسخ های متفاوتی نسبت به تغییر در دما، PH و غلظت سوبسترا از خود نشان می دهند. در این قسمت به بررسی عواملی که روی سرعت یک واکنش آنزیمی اثر می گذارند می پردازیم. سرعت واکنش آنزیمی، عبارت است از تعداد مولکولهای سوبسترا که در واحد زمان به محصول تبدیل می‌گردند و واحد آن μM/min و با V (velocity) نشان داده می شود. مطالعه تغییرات در سرعت واکنش های آنزیمی به ما این امکان را می دهد تا چگونگی کارکرد آنها در سلول را مورد ارزیابی قرار بدهیم (که in vivo گفته می شود).

۱ـ دما: سرعت واکنشهای آنزیمی با افزایش دما افزایش می‌یابد و حداکثر آن، نقطه بهینه (optimum)حرارتی است(شکل۵-۴). افزایش دما منجر به افزایش تعداد ملکول هائی می شود که توانائی عبور از سد انرژی اکتیواسیون را دارند. افزایش بیشتر دما از نقطه بهینه به علت تخریب ساختمان آنزیم باعث کاهش سرعت می‌گردد. دمای بهینه برای اکثر آنزیم های بدن انسان بین ۳۵-۴۰°C است و در دمای بالای۴۰°C آنزیم ها شروع به دناتوره شدن می کنند اما باکتری های گرما دوستی در چشمه های آبگرم وجود دارند که دارای آنزیم هائی با دمای بهینه ۷۰°C می باشند.



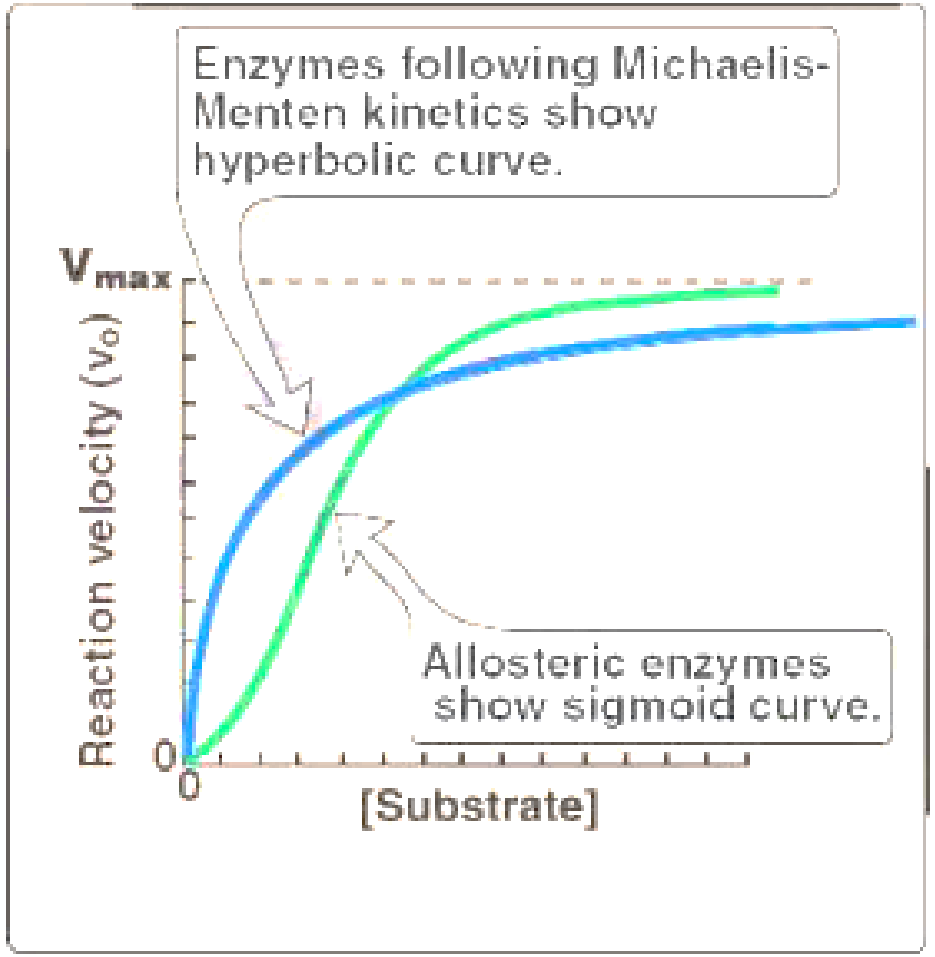
شکل(۵-۴).اثر دما در سرعت یک واکنش آنزیمی.

۲ـ اثر PH: تغییر PH با اثر روی یونیزاسیون گروههای فعال سوبسترا و آنزیم، روی سرعت واکنش اثر می‌گذارند(شکل۶-۴). مثلاً اگر برای فعالیت موثر یک آنزیم لازم باشد گروه آمین زنجیره جانبی یک اسیدآمینه موجود در جایگاه فعال بصورت پروتونه باشد($-NH^{3+}$) باشد آنگاه اگر PH را قلیایی کنیم، این گروه دپروتونه می شود و سرعت واکنش کاهش می‌یابد. از طرفی تغییر PH می‌تواند روی ساختمان آنزیم نیز اثر بگذارد و آنرا دناتوره کند چرا که ساختمان پروتئینی آنزیم به فرم یونی زنجیره‌های جانبی اسیدهای آمینه بستگی دارد. PH بهینه (optimum PH) یعنی PH که در آن آنزیم بهترین کارکرد را دارد و برای هر آنزیم متفاوت است، مثلاً پپسین در ۲= PH دارای حداکثر فعالیت است در حالیکه آنزیمهائی که در PH خنثی حداکثر فعالیت را دارند در ۲= PH غیرفعال هستند. آلکالین فسفاتاز نیز در PH های قلیائی دارای حداکثر فعالیت می‌باشد(شکل۶-۴).



شکل(۶-۴).اثر PH در سرعت یک واکنش آنزیمی.

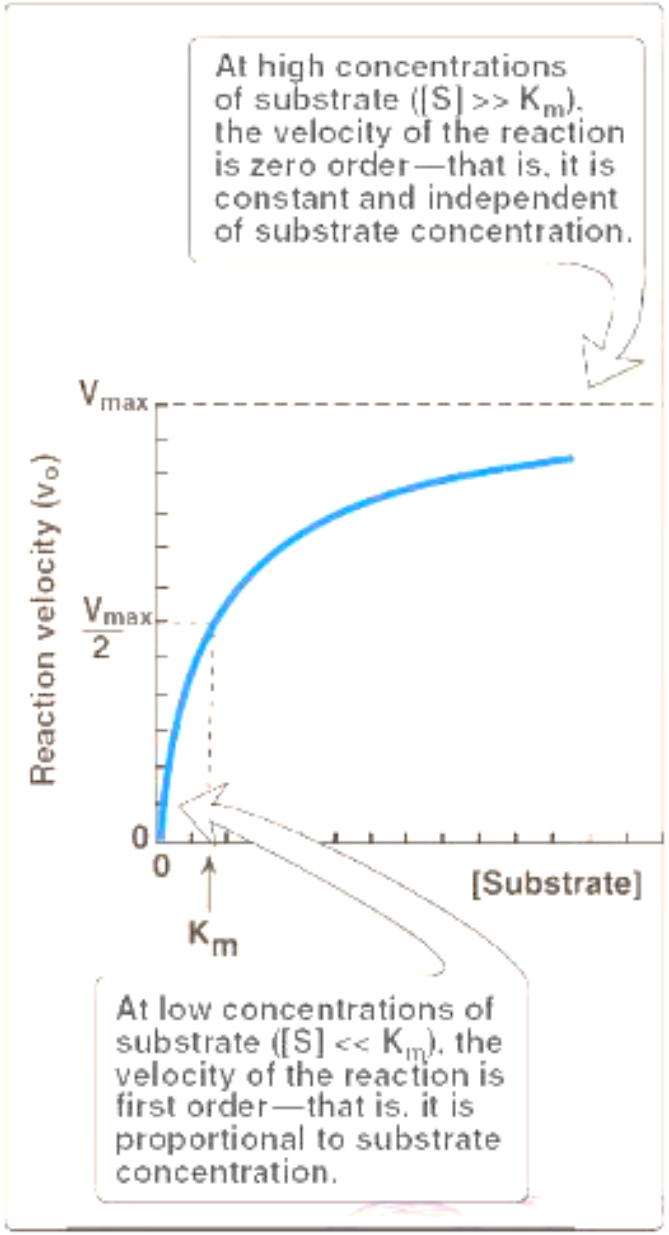
۳ـ اثر غلظت آنزیم: در صورت ثابت بودن مقدار سوبسترا، هرچه مقدار آنزیم افزایش یابد، سرعت هم افزایش می‌یابد.



۴ـ اثر غلظت سوبسترا: با فرض ثابت بودن غلظت آنزیم، هرچه غلظت سوبسترا افزایش یابد، سرعت هم افزایش می‌یابد البته تا یک حدی که به آن سرعت ماکزیمم (Vmax)گویند(شکل ۷-۴). از این حد به بعد افزایش غلظت سوبسترا اثری روی سرعت ندارد چرا که تمامی جایگاههای فعال آنزیمها با سوبسترا پر شده است. اگر نمودار سرعت به غلظت سوبسترا رسم گردد بصورت منحنی هایپربولیک درمی‌آید. در مواقعی‌که غلظت سوبسترا کم است سرعت از نوع درجه ۱ است (first order) یعنی سرعت به غلظت سوبسترا بستگی دارد و اگر غلظت سوبسترا زیاد باشد واکنش از نوع درجه صفر (zero order) است یعنی سرعت به غلظت سوبسترا بستگی ندارد (شکل ۹-۴).

توجه: نمودار آنزیمهای آلوستریک بصورت سیگموئیدی(sigmoidal) در می‌آید، مشابه نمودار مربوط به اشباع هموگلوبین با اکسیژن.

آنزیمهای آلوستریک دسته ای از آنزیمها هستند که واکنشهای تنظیمی وکلیدی در یک مسیر متابولیکی (committed steps) را کاتالیز می‌کنند و معمولاً دارای چند زیرواحد و همچنین زیر واحد تنظیمی هستند. فعالیت این آنزیمها بوسیله اتصال تنظیم کننده های آلوستریک (که افکتور (effector) گفته می شوند) به ناحیه تنظیمی در آنزیم کنترل می‌شود. این تنظیم بوسیله اتصال به محلی غیر از جایگاه فعال آنزیم (مثلاً به جایگاه آلوستریک) صورت می‌گیرد و تمایل آنزیم به سوبسترا و یا ماکزیمم فعالیت کاتالیتیکی یا هر دو را تغییر می دهد. افکتورهائی که فعالیت آنزیمها را زیاد می‌کنند افکتور مثبت(positive effectors) و آنهائی که فعالیت آنزیم را مهار می‌کنند افکتور منفی (negative effectors) گویند. افکتورهای آلوستریک از نظر


At high concentrations of substrate ([S] >> K_m), the velocity of the reaction is zero order—that is, it is constant and independent of substrate concentration.
V_{max}
$\frac{V_{max}}{2}$
Reaction velocity (v_o)
0
0
[Substrate]
K_m
At low concentrations of substrate ([S] << K_m), the velocity of the reaction is first order—that is, it is proportional to substrate concentration.

مدل کینتیکی میکائیلیس ـ منتون :

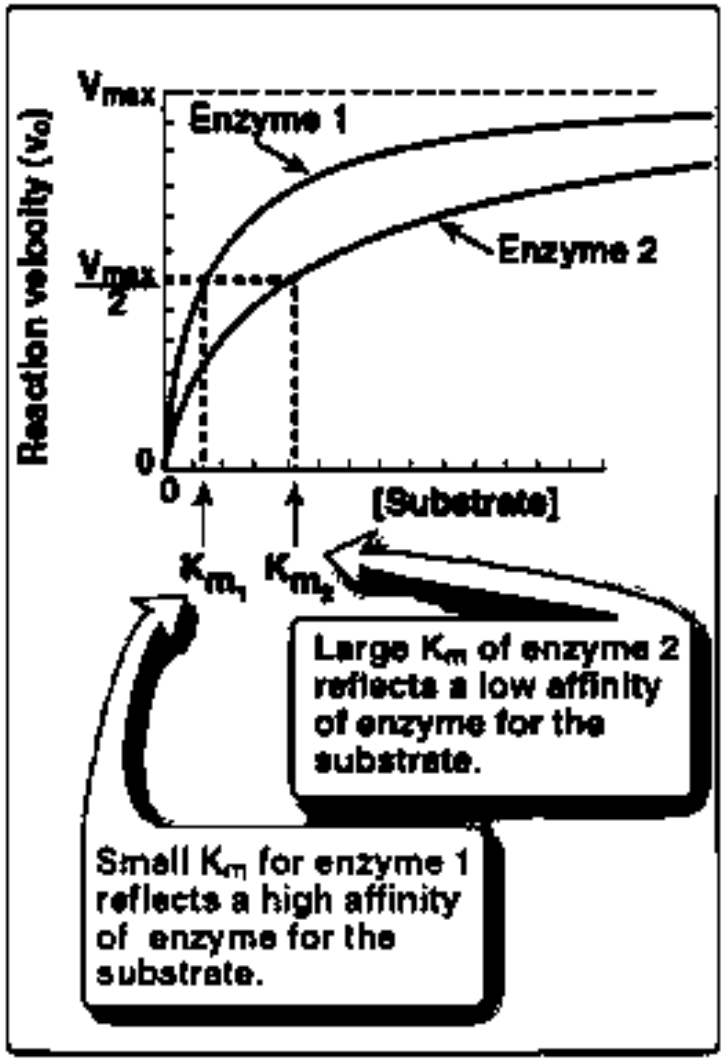
دو دانشمند بنام میکائیلیس و منتون مدلی را ارائه کردند که شمای اغلب واکنشهای آنزیمی را توجیه میکند. در این مدل، آنزیم(E) بطور برگشت‌پذیری با سوبسترا(S) ترکیب می شودو ایجاد کمپلکس آنزیم- سوبسترامی کند(ES) سپس کمپلکس شکسته می شود و به آنزیم آزاد و محصول(P) تبدیل می‌گـردد(K_1 و K_{-1} و K_2 ثابتهای سرعت هستند):

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

رابطه میکائیلیس منتون : رابطه نشان می‌دهد که چگونه سرعت‌واکـنش بـا غلظـت سوبسترا تغییر می‌کند:

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

(V_0 = سـرعت اولیـه واکـنش ، K_m = ثابـت میکـائیلیس کـه برابـر اسـت با $K_{-1} + K_2 / K_1$ ، [S]= غلظت سوبسترا و Vmax = سرعت ماکزیمم)



شکل(۸-۴).تاثیر غلظت سوبسترا در سرعت واکنش برای دو آنزیم، آنزیم۱ با Km کوچک و آنزیم۲ باKm بزرگ.

نتایج حاصل از کنیتیک میکائیلیس منتون:

۱ـ Km (ثابت میکائیلیس): عبارت است از مقدار سوبسترائی که بتواند باعث ایجاد نصف سرعت ماکزیمم گردد. Km برای هر آنزیم و سوبسترا مقدار مخصوصی است(شکل۸-۴ و ۹-۴). گرچه Km یک ثابت تجزیه واقعی نیست اما بازتاب دهندهٔ تمایل آنزیم به سوبسترا می‌باشد، بنابراین اگر Km کوچک باشد، تمایل آنزیم به سوبسترا زیاد است (یعنی مقدار کمی سوبسترا برای رسیدن به Vmax لازم است) و اگر Km بزرگ باشد یعنی تمایل E به S کم است (شکل۸-۴). Km با غلظت آنزیم تغییر پیدا نمی کند.

۲ـ درجه واکنش: اگر [S] خیلی کمتر از Km باشد، واکنش از درجهٔ اول (first order) است یعنی سرعت با [S] متناسب است اگر[S] خیلی بیشتر از Km باشد، واکنش نسبت به سوبسترا از درجهٔ صفر است یعنی سرعت به غلظت سوبسترا وابسته نیست (درموقعVmax). اگر [S] بین این دو حالت باشد واکنش mixed-order خواهد شد یعنی تناسب سرعت باغلظت سوبسترا دائماًدر حال تغییر است(شکل۹-۴).

۳- ارتباط سرعت با غلظت آنزیم: هرچه غلظت آنزیم افزایش یابد، سرعت هم افزایش می‌یابد و بالعکس. برای مثال اگر غلظت آنزیم نصف شود سرعت اولیه (V_0) و سرعت ماکزیمم (Vmax) به نصف مقدار اولیه کاهش می یابد.

V-دسته‌بندی و نامگذاری آنزیمها :

A ـ روش عمومی(trivial) : در این روش پسوند ase– به نام سوبسترای واکنش اضافه می‌گردد(مثل urease یا sucrase). در بعضی موارد نام آنزیم هیچ مشخصه‌ای از اینکه چه عملی انجام می‌دهد ندارد مثل پپسین(pepsin) و یا تریپسین(trypsin).

B ـ نامگذاری سیستمیک : اتحادیه بین‌المللی بیوشیمی و بیولوژی ملکولی(IUBMB) آنزیمها را به ۶ دسته(کلاس) بزرگ که هرکدام دارای چندین زیرکلاس(subclass) هستند تقسیم نموده است(شکل ۲۰-۴):

۱ـ اکسیدوردوکتازها(Oxidoreductases): آنزیمهای دخیل در اکسیداسیون و احیاء.

۲ـ ترانسفرازها(Transferases): انتقال دهنده گروههای شیمیائی (مثل آمین یا فسفات) هستند.

۳ـ هیدرولازها(Hydrolases): با اضافه کردن آب به پیوند آنرا می‌شکنند (هیدرولیز کننده).

۴ـ لیازها(Lyases): با اضافه کردن یا برداشتن آب، آمونیاک یا Co_2 پیوند دوگانه را تشکیل می‌دهند. برش پیوندهای C-C و C-S و پیوندهای C-N معینی را کاتالیز می کنند.

۵ـ ایزومرازها(Isomerases): نوترتیبی اتمها در درون ملکول را انجام می‌دهند.

۶ـ لیگازها(Ligases): دو ملکول را بهم متصل می‌نمایند یعنی اتصال کربن با اکسیژن یا گوگرد یا نیتروژن را با مصرف ATP کاتالیز می‌کنند.