ورقة بحثية مجلة مفتوحة الوصول

الإنزيمات: المبادئ والتطبيقات التكنولوجية الحيوية للإنزيمات

د. سوسن يوسف سعد*

*(كلية طب الأسنان، جامعة المنارة ، البريد الإلكتروني: Sawsan.Saad@manara.edu.sy)

الملخص

الإنزيمات محفزات بيولوجية (تُعرف أيضًا بالمحفزات الحيوية) تُسرّع التفاعلات الكيميائية الحيوية في الكائنات الحية، ويمكن استخلاصها من الخلايا واستخدامها لتحفيز مجموعة واسعة من العمليات ذات الأهمية التجارية. تناولنا في هذه الدراسة المبادئ الأساسية لعلم الإنزيمات، مثل التصنيف والبنية والحركية والتثبيط، كما يُقدّم لمحة عامة عن تطبيقاتها الصناعية. بالإضافة إلى ذلك، يُناقش تقنيات تنقية الإنزيمات.

كلمات مفتاحية – إنزيم، محفّز، ركيزة.

Abstract

Enzymes are biological catalysts (also known as biocatalysts) that speed up biochemical reactions in living organisms, and which can be extracted from cells and then used to catalyse a wide range of commercially important processes. This chapter covers the basic principles of enzymology, such as classification, structure, kinetics and inhibition, and also provides an overview of industrial applications. In addition, techniques for the purification of enzymes are discussed.

Keywords: .Pillar ،Motivator ،Enzyme

I. مقدمة

بينت الدراسات السابقة في أواخر القرن السابع عشر وأوائل القرن الثامن عشر أنّ هضم اللحوم يتم عن طريق إفرازات المعدة [1] وتحويل النشا إلى سكريات عن طريق المستخلصات النباتية واللعاب، لكن الآليات التي تتم بها هذه العمليات لم تحدد بعد [2].

إنّ الكيميائي الفرنسي أنسيلم باين أول من اكتشف إنزيم الدياستاز عام 1833.[3] بعد بضعة عقود، وعند دراسة تخمير السكر إلى كحول بواسطة الخميرة، استنتج لويس باستور أن هذا التخمير ناتج عن قوة حيوية موجودة داخل خلايا الخميرة تُسمى "الخمائر"، والتي كان يُعتقد أنها تعمل فقط داخل الكائنات الحية. كتب أن "التخمر الكحولي عملية مرتبطة بحياة خلايا الخميرة وتنظيمها، وليس بموتها أو تعفنها".[4] .

استخدم عالم وظائف الأعضاء الألماني فيلهلم كوهن عام 1877

لأول مرة مصطلح "إنزيم"، وهو مشتق من الكلمة اليونانية القديمة ἔνζυμον (énzymon) وتعني "مخمّر في الخميرة"، لوصف هذه العملية.[5] استُخدمت كلمة "إنزيم" لاحقًا للإشارة إلى مواد غير حية مثل البيبسين، بينما استُخدمت كلمة "تخمر" للإشارة إلى النشاط الكيميائي الذي تُنتجه الكائنات الحية [6].

قدّم أول بحث له حول مستخلصات الخميرة عام ١٨٩٧. وفي سلسلة من التجارب في جامعة برلين، وجد أن السكر يُخمّر بواسطة مستخلصات الخميرة حتى في غياب خلايا الخميرة الحية في الخليط.[7] أطلق على الإنزيم الذي يُحفّز تخمير السكروز اسم "زيماز".[8] وفي عام 1907، حصل على جائزة نوبل في الكيمياء لاكتشافه التخمير الخالي من الخلايا. واتباعًا لمثال بوخنر،

تُسمّى الإنزيمات عادةً وفقًا للتفاعل الذي تُجريه: تُضاف اللاحقة –ase إلى اسم المادة المُركّبة (على سبيل المثال، اللاكتاز هو الإنزيم الذي يُفكّك اللاكتوز) أو إلى نوع التفاعل (على سبيل المثال، بوليميراز الحمض النووي يُشكّل بوليميرات الحمض النووي) [9].

كانت الهوية الكيميائية الحيوية للإنزيمات لا تزال مجهولة في أوائل القرن العشرين. لاحظ العديد من العلماء أن النشاط الأنزيمي مرتبط بالبروتينات، لكن آخرين (مثل الحائز على جائزة نوبل ريتشارد ويلستاتر) جادلوا بأن البروتينات مجرد ناقلات للإنزيمات الحقيقية، وأن البروتينات في حد ذاتها غير قادرة على التحفيز [10]. في عام 1926، أظهر جيمس ب. سومنر أن إنزيم اليورياز بروتين نقي وقام ببلورته؛ وفعل الشيء نفسه مع إنزيم الكاتالاز في عام 1937. وقد أثبت جون هوارد نورثروب ووينديل ميريديث ستانلي بشكل قاطع، واللذان عملا على إنزيمات الهضم البيبسين (1930) والتربسين والكيموتربسين، استنتاج أن البروتينات النقية يمكن أن تكون إنزيمات. وقد مُنح هؤلاء العلماء الثلاثة جائزة نوبل في الكيمياء عام 1946 [11].

سمح اكتشاف إمكانية تبلور الإنزيمات في النهاية بحل بنيتها بواسطة علم البلورات بالأشعة السينية. تم إجراء ذلك لأول مرة على الليزوزيم، وهو إنزيم موجود في الدموع واللعاب وبياض البيض الذي يهضم غلاف بعض البكتيريا؛ وقد تم حل البنية بواسطة مجموعة بقيادة ديفيد شيلتون فيليبس ونشرت في عام 1965.[12] وقد مثل هذا الهيكل عالي الدقة للليزوزيم بداية مجال علم الأحياء البنيوي والجهود المبذولة لفهم كيفية عمل الإنزيمات على المستوى الذري من التفاصيل.[13]

II. التصنيف والتسمية

الإنزيمات: هي محفّزات بيولوجية ذات فعالية كبيرة، معظمها ذو تركيب بروتيني، تزيد سرعة التفاعل عبر ارتباط الركيزة بالموقع الفعال في شروط مثالية من الحرارة ودرجة الحموضة، وقد يرتبط الإنزيم بركيزة واحدة فقط أو عدة ركائز متشابهة في بعض الخواص، ولا يقتصر دورها على تسريع التفاعلات التي تتم على الركيزة وإنما لها أدوار تنظيمية

يوجد نوعان من تسمية الإنزيمات:

a. التسمية الشائعة (المفضلة) *Recommended Name*

نمط من التسميات القديمة التي كانت شائعة في فترة من الزمن، وتسمى أيضاً بالتسمية القصيرة. تعتمد على نمط التفاعل الذي تنجزه الإنزيمات أو وفق الركيزة التي يعمل عليها الإنزيم. يطلق على الإنزيم اسم مشتق من اسم الركيزة + اللاحقة ase

الإنزيم	الركيزة (المادة التي يعمل عليها – يحلمها	اللاحقة + الركيزة)
اليورياز Urease	البولة (اليوريا) Urea	Ure + ase
الأميلاز Amylase	النشاء (باليونانية Amulone)	Amyl + ase
البروتياز Protease	البروتينات Proteins	Prote + ase
اللاكتاز Lactase	اللاكتوز Lactose	Lact + ase
الغلوكوزيداز Glucosidase	الغلوكوز Glucose	Glucosid + ase

b. التسمية العلمية التفصيلية *Systematic Name*

تسمى حسب نمط التفاعل المحفّز، بأن تضاف اللاحقة ase إلى اسم التفاعل

الإنزيم	الركيزة (المادة التي يعمل عليها – يحلمها
ديهيدروجيناز Dehydrogenase	تفاعلات نزع الهيدروجين في عمليات الأكسدة
رنا بوليميرات RNA - Polymerase	بلمرة تشكيل بوليميرات RNA

اعتمد الاتحاد الدولي للكيمياء الحيوية منذ عام 1964 تصنيفاً عالمياً حديثاً International Classification يعتمد على وظيفة الإنزيم.

حيث تمّ تقسيم الإنزيمات إلى 6 صفوف رئيسية Classes، ولكل صف رئيسي 4 – 13 من الصفوف تحت الرئيسية Sub – Classes (الفرعية)، ولكل صف فرعي أصناف تحت فرعية أخرى. إلا أنّ هذه الطريقة لم تعد كافية بعد اكتشاف العديد من الإنزيمات التي تحفّز تفاعلات مختلفة للركيزة نفسها، لذا تمّ اللجوء إلى طريقة جديدة للتصنيف أكثر تعقيداً لكنها أكثر دقة، وهي الهوية الإنزيمية. احتفظت بعض الإنزيمات بأسمائها الأصلية غير المهمة والتي لا تزودنا بأي معلومة حول التفاعل الإنزيمي المنجز بواسطتها مثل التربسين Trypsin والببسين Pepsin.

الأصناف الستة الرئيسية هي:

1. إنزيمات الأكسدة والإرجاع Oxidoreductases
2. الإنزيمات الناقلة Transferase
3. الإنزيمات المحلمهة Hydrolases
4. الإنزيمات الشاطرة (المفككة Lyases)
5. الإنزيمات المصاوغة (التماكب Isomerases)
6. الإنزيمات الرابطة Ligases

- ***المحفّز Catalyst:*** هو أي مادة تزيد معدّل وسرعة التفاعل الكيميائي دون أن يطرأ عليها أي تبدل أو تغيّر عند نهاية التفاعل (أي المحفّز لا يستهلك لا جزئياً ولا كلياً خلال التفاعل الكيميائي)

يوجد نوعان من المحفّزات محفّزات بيولوجية كالإنزيمات البروتينية، ومحفّزات غير بيولوجية كالمعادن (الحديد والزنك مثلاً) والفيتامينات.

- ***الركيزة Substrate:*** هي المادة التي يعمل عليها الإنزيم، وترتبط مع الموقع الفعال للإنزيم بطريقة تكاملية Complemetary maner، فيبدو الإنزيم المرتبط بركيزته ككتلة واحدة تعطي الشكل الكامل للإنزيم.

الإنزيمات محفزات بيولوجية (تُعرف أيضًا بالمحفزات الحيوية) تُسرّع التفاعلات الكيميائية الحيوية في الكائنات الحية. ويمكن استخلاصها أيضًا من الخلايا واستخدامها لتحفيز مجموعة واسعة من العمليات التجارية المهمة. على سبيل المثال، لها أدوار مهمة في إنتاج المُحليات وتعديل المضادات الحيوية، وتُستخدم في مساحيق الغسيل ومنتجات التنظيف المختلفة، كما تلعب دورًا رئيسيًا في الأجهزة التحليلية والفحوصات ذات التطبيقات السريرية والجنائية والبيئية.

أُحرز تقدم كبير في استخلاص وتوصيف واستغلال العديد من الإنزيمات تجاريًا في أواخر القرن التاسع عشر وأوائل القرن العشرين، ولكن لم يتم تبلور الإنزيمات إلا في عشرينيات القرن الماضي، مما كشف عن ارتباط النشاط التحفيزي بجزيئات البروتين. وعلى مدار الستين عامًا التالية تقريبًا، ساد الاعتقاد بأن جميع الإنزيمات بروتينات، ولكن في ثمانينيات القرن الماضي، وُجد أن بعض جزيئات الحمض النووي الريبوزي (RNA) قادرة أيضًا على ممارسة تأثيرات تحفيزية. وتلعب هذه الجزيئات، التي تُسمى الريبوزيمات، دورًا مهمًا في التعبير الجيني. وفي العقد نفسه، طوّر الكيميائيون الحيويون أيضًا تقنية توليد أجسام مضادة ذات خصائص تحفيزية. وتتمتع هذه "الأنزيمات الأبزيمية" بإمكانيات هائلة كمحفزات صناعية جديدة وفي مجال العلاج. وعلى الرغم من هذه الاستثناءات البارزة، فإن جزءًا كبيرًا من علم الإنزيمات الكلاسيكي، وما تبقى من هذه المقالة، يركز على البروتينات ذات النشاط التحفيزي. كمحفزات، لا تُطلب الإنزيمات إلا بتركيزات منخفضة جدًا، وتُسرّع التفاعلات دون استهلاكها أثناء التفاعل. عادةً ما نصف الإنزيمات بأنها قادرة على تحفيز تحويل جزيئات المادة الأساسية إلى جزيئات ناتجة كما يلي:

$$\text{المادة الأساسية} \xrightleftharpoons{\text{الإنزيم}} \text{الناتج}$$

- ***الإنزيمات محفزات فعالة***

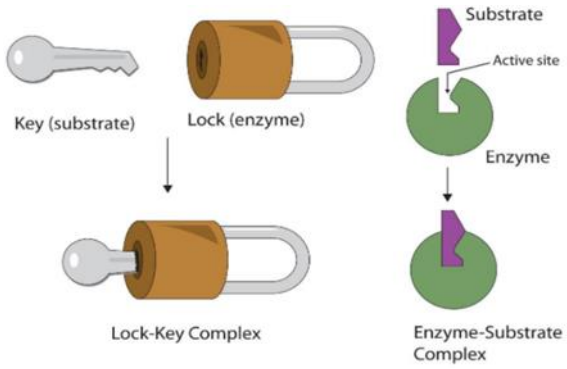
الإنزيمات محفزات فعّالة. ولعل أفضل تعبير عن النشاط التحفيزي الهائل للإنزيمات هو ثابت kcat، الذي يُشار إليه بمُعدل الدوران، أو تردد الدوران، أو رقم الدوران. يُمثل هذا الثابت عدد جزيئات المادة الأساسية التي يُمكن لجزيء إنزيم واحد تحويلها إلى ناتج في وحدة الزمن (عادةً في الدقيقة أو الثانية). يُدرج الجدول 1 أمثلة على قيم معدل الدوران. على سبيل المثال، يُمكن لجزيء واحد من أنزيم الكربونيك أنهيدراز أن يُحفز تحويل أكثر من نصف مليون جزيء من مادتيه الأساسيتين، ثاني أكسيد الكربون (CO_2) والماء (H_2O)، إلى الناتج، البيكربونات (HCO_3^-)، كل ثانية – وهو إنجازٌ رائعٌ بحق.

- ***الإنزيمات محفزات نوعية:***

تتميز الإنزيمات بدقتها الفائقة وتخصصها العالي ويمكّنها من ذلك تركيبها البروتيني. فللتفاعل الواحد إنزيم خاص لتسريعه وقد يسرع الإنزيم الواحد بضع تفاعلات متشابهة أحياناً. توجد مئات الإنزيمات في الخلية ويسرع كل منها تفاعلاً معيناً أو مجموعة متقاربة من التفاعلات أحياناً. ونظراً لكون الإنزيمات مواداً بروتينية فإنها تفقد القدرة على القيام بوظيفتها عندما يتغير تركيبها الطبيعي كما في حال تعرضها للحرارة العالية أو للأحماض والقواعد القوية وبعض أيونات المعادن الثقيلة. وحتى في ظروف ثابتة يلاحظ أن سرعة التفاعل الإنزيمي تبدأ بالتناقص تدريجياً مع الزمن بعد فترة قصيرة من بدء التفاعل ولذلك تقاس السرعة الأولية للأنزيم عادة خلال تلك الفترة وقبل تناقص السرعة.

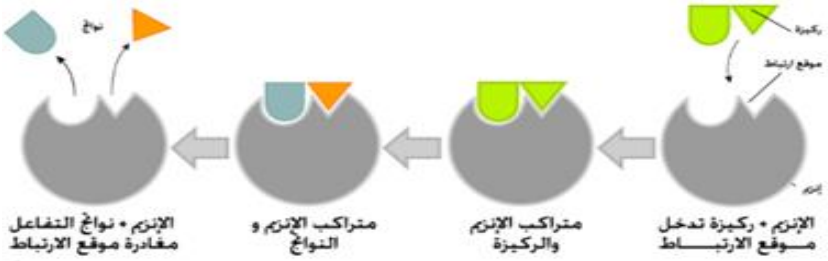
- ***آلية عمل الإنزيم:***

أن لكل إنزيم تركيباً بروتينياً فراغياً معيناً يسمح بارتباط مادة التفاعل معه في موضع صغير واحد أو أكثر بطريقة تشبه ارتباط المفتاح بأسنان القفل. تسمى هذه المواضع المراكز الفعالة (Active Sites) في الإنزيم وهي موجودة غالباً على شكل جيب في جزيء الإنزيم يتوافق فراغياً مع شكل مادة التفاعل. يبطن هذا الجيب بأحماض أمينية ذات جذور قطبية مشحونة بشحنات موجبة أو سالبة بحيث تساهم في إعطاء أو استقبال بروتونات. كما قد يحتوي المركز الفعال على واحد من الأحماض الأمينية ذات المجموعات الوظيفية الفعالة في الجذر R. وأهم أمثلة تلك الأحماض السيرين الذي يحتوي على مجموعة هيدروكسيل والسيستايين الذي يحتوي على مجموعة سلفوهيدريل والهيستيدين الذي يحتوي على ايميدازوليوم.



الشكل 1. نظرية القفل والمفتاح

إضافة لنظرية القفل والمفتاح في آلية عمل الإنزيمات هناك نظريات أخرى نذكر منها نظرية التوافق التحريضي Induced fit بين مادة التفاعل والإنزيم حيث يحرّض وجود مادة التفاعل على حدوث تغيرات في التركيب الثالثي والرابعي لجزيء الإنزيم فتسهل هذه التغيرات الترابط بينهما (أي بين الإنزيم ومادة التفاعل). تتأثر المجموعات الكيميائية في المراكز الفعالة بتركيز أيونات الهيدروجين بحيث يصل النشاط الإنزيمي أقصاه عند درجة معينة من الـ pH خاصة بكل إنزيم، كما يتأثر التركيب الطبيعي لبروتين الإنزيم بالحرارة فيفقد الإنزيمي نشاطه عند تغير هذا التركيب ونادراً ما يستعيد نشاطه بعد التبريد.



الشكل 2. نظرية التوافق التحريضي

IV. التحكم بالاصطناع الحيوي للإنزيمات:

تتحدد تراكيز أي إنزيم بمعدلات اصطناعه الحيوي ضمن الخلية ومعدلات تثبيطه أو تحطيمه بفعل إنزيمات البروتياز. على جميع الأحوال تؤدي معدلات الاصطناع الحيوي للإنزيم الدور الأهم في عمليات التحكم وتنظيم المسارات الاستقلابية. هناك بعض الإنزيمات التي يتم اصطناعها الحيوي ضمن الخلية بشكل مستمر وبتراكيز مختلفة تتحدد تبعاً لقوة التعبير المورثي للمورثات البنيوية المشفرة لها والتي

تتحدد بدورها بقوة العامل المحفز المتواجد أمام المورثة البنيوية في حين هناك مجموعة من الإنزيمات التي يتم اصطناعها ضمن الخلية فقط عند الحاجة.

يتم تنظيم والتحكم بالاصطناع الحيوي للعديد من الإنزيمات التي تتوسط المسارات الاستقلابية الهدمية بفعل التحفيز من قبل ركائزها حيث يتم الاصطناع الحيوي لهذه الإنزيمات ضمن الخلية فقط في حال تواجد ركيزتها، في حين يكون التحكم بالاصطناع الحيوي للإنزيمات التي تتوسط مسارات الاستقلاب البنائي بفعل الكبح من قبل المنتج النهائي المتراكم ضمن الخلية مثل الحمض الأميني أو في حال تواجده في البيئة المحيطة حيث يتسبب في إيقاف الاصطناع الحيوي للإنزيمات التي تتوسط مسارات الاستقلاب البنائي المؤدية لإنتاجه. يجدر الإشارة إلى قدرة المنتجات النهائية على التحكم بالمسار الاستقلابي البنائي بفعل ظاهرة التثبيط الرجعية للإنزيمات المنظمة الموضحة سابقاً حيث تمثل وسيلة تحكم أسرع مقارنة مع وسيلة تنظيم المسار البنائي عبر التحكم بالاصطناع الحيوي للإنزيمات التي تتوسطه.

IIV. الاستنتاجات

يعد اكتشاف الإنزيمات ودورها التحفيزي في التفاعلات الكيميائية الحيوية ثورة علمية وبالتالي أصبح بالإمكان التحكم بهذه الإنزيمات وتعديل فعاليتها.

تتكون كل الإنزيمات المعروفة من بروتينات ولو أن بعضها يشمل جزءاً غير بروتيني ولا يكون الإنزيم فعالاً إلا إذا ارتبط الجزآن معاً.

المراجع

[1] Ferguson SJ, Nicholls D, Ferguson S (2002). Bioenergetics 3 (3rd ed.). San Diego: Academic. ISBN 0-12-518121-3.

[2] Bisswanger H (2017). Enzyme kinetics : principles and methods (Third, enlarged and improved ed.). Weinheim, Germany: Wiley-VCH. ISBN 9783527806461. OCLC 992976641.

[3] Michaelis L, Menten M (1913). "Die Kinetik der Invertinwirkung" [The Kinetics of Invertase Action]. Biochem. Z. (in German). 49: 333–369.; Michaelis L, Menten ML, Johnson KA, Goody RS (October 2011). "The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis-Menten paper". Biochemistry. 50 (39): 8264–8269. doi:10.1021/bi201284u. PMC 3381512. PMID 21888353.

[4] Briggs GE, Haldane JB (1925). "A Note on the Kinetics of Enzyme Action". The Biochemical Journal. 19 (2): 338–339. doi:10.1042/bj0190338. PMC 1259181. PMID 16743508.

[5] Bar-Even A, Noor E, Savir Y, Liebermeister W, Davidi D, Tawfik DS, et al. (May 2011). "The moderately efficient enzyme: evolutionary and physicochemical trends shaping enzyme parameters". Biochemistry.50(21):4402–4410. doi^ Ferguson SJ, Nicholls D, Ferguson S (2002). Bioenergetics 3 (3rd ed.). San Diego: Academic. ISBN 0-12-518121-3.

[6] Ellis RJ (October 2001). "Macromolecular crowding: obvious but underappreciated". Trends in Biochemical Sciences. 26 (10): 597–604. doi:10.1016/S0968-0004(01)01938-7.PMID 11590012.

[7] Kopelman R (September 1988). "Fractal reaction kinetics". Science. 241 (4873): 1620–1626. Bibcode:1988Sci...241.1620K. doi:10.1126/science.241.4873.1620. PMID 17820893. S2CID 23465446.

[8] Jump up to:a b c d Cornish-Bowden A (2004). Fundamentals of Enzyme Kinetics (3 ed.). London: Portland Press. ISBN 1-85578-158-1.

[9] Jump up to:a b c d Cornish-Bowden A (2004). Fundamentals of Enzyme Kinetics (3 ed.). London: Portland Press. ISBN 1-85578-158-1.

[10] Price NC (1979). "What is meant by 'competitive inhibition'?". Trends in Biochemical Sciences. 4 (11): N272 – N273. doi:10.1016/0968-0004(79)90205-6.doi:10.1126/science.241.4873.1620. PMID 17820893. S2CID 23465446.

[11] Goodsell DS (1 August 1999). "The molecular perspective: methotrexate". The Oncologist. 4 (4): 340–341. doi:10.1634/theoncologist.4-4-340. PMID 10476546.

[12] Wu P, Clausen MH, Nielsen TE (December 2015). "Allosteric small-molecule kinase inhibitors" (PDF). Pharmacology & Therapeutics. 156: 59–68. doi:10.1016/j.pharmthera.2015.10.002. PMID 26478442. S2CID 1550698.

[13] Cornish-Bowden A (July 1986). "Why is uncompetitive inhibition so rare? A possible explanation, with implications for the design of drugs and pesticides". FEBS Letters. 203 (1): 3–6. Bibcode:1986FEBSL.203....3C. doi:10.1016/0014-5793(86)81424-7. PMID 3720956. S2CID 45356060.