इकाई 11

एन्ज़ाइम गतिकी और विनियमन

इकाई की रूपरेखा

11.1 प्रस्तावना

उद्देश्य

11.2 एन्ज़ाइम गतिकी

माइकेलिस–मेन्टन समीकरण

लाइनविवर–बर्क प्लॉट

K_m और V_{max} का महत्व

K_{cat} और टर्नओवर संख्या

11.3 एन्ज़ाइमों का विनियमन

11.4 सारांश

1.5 अंत में कुछ प्रश्न

11.6 उत्तर

11.1 प्रस्तावना

गतिकी अभिक्रिया की दर, उनके मात्रात्मक माप और एन्ज़ाइमों की गतिविधि को प्रभावित करने वाले कारकों का एक व्यवस्थित अध्ययन है। इस इकाई में, आप एन्ज़ाइम प्रक्रिया के साथ–साथ उपापचयी मार्गो को विनियमित करने में एन्ज़ाइम गतिविधि द्वारा निभाई गई भूमिका की अंतर्दृष्टि प्राप्त करेंगे। एन्ज़ाइम सब्सट्रेट को चरणों की एक श्रृंखला (एन्ज़ाइम प्रक्रिया) के माध्यम से उत्पादों में परिवर्तित करते हैं। इसलिए एन्ज़ाइम गतिविधि पर सब्सट्रेट सांद्रता का प्रभाव एन्ज़ाइम गतिकी में प्रमुख अवधारणाओं में से एक है। एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाओं के गतिकी की व्याख्या करने के लिए कई नमूने (model) प्रस्तावित किए गए हैं। एकल एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाओं के लिए क्लासिकल प्रयोगात्मक कार्य हेनरी–माइकेलिस–मेन्टन प्लॉट, ब्रिग्स हाल्डेन समीकरण, लाइनविवर–बर्क प्लॉट, आदि हैं।

उचित समस्थिति (homeostasis) सुनिश्चित करने के लिए एन्ज़ाइमों की उत्प्रेरक दक्षता को प्रभावी ढंग से नियंत्रित करने की आवश्यकता है। एन्ज़ाइम की गतिविधि को विनियमित करने के लिए कोशिका में कई अलग–अलग प्रक्रियाएं प्रचलित हैं। एन्ज़ाइमों की गतिविधि को विनियमित करने वाले प्रभावक अणु उपापचयी मार्गो के समाकलन (integration) में अतिआवश्यक तत्वों (vital elements) के रूप में कार्य करते हैं।

एन्ज़ाइम के विनियमन की आवश्यकता इस तथ्य से उत्पन्न होती है कि जैविक परिवर्तनों की जटिल प्रणाली को विनियमित किया जाना चाहिए ताकि प्रमुख उपापचयों की सांद्रता को स्थान एवं समय दोनों के संदर्भ में नियंत्रित किया जा सके ताकि वांछित दिशा (desired direction) में उपापचय को निर्देशित किया जा सके और बहाव (drifting) की अनुमति न दी जा सके। एन्ज़ाइमों के उपापचय पूल या उनके विनियमन में किसी भी तरह की असामान्यताएं गंभीर विकार या कैंसर, मधुमेह या तंत्रिका अपह्रास जैसी बीमारियों को जन्म देंगी।

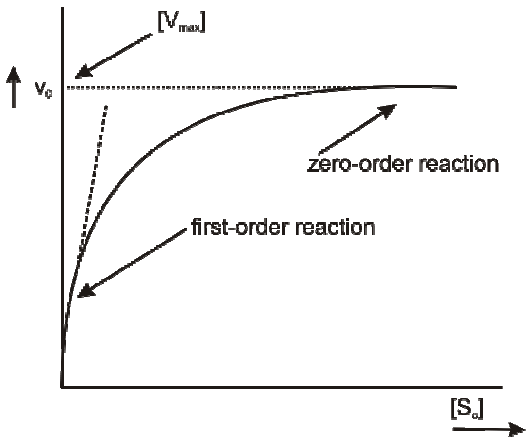
उद्देश्य

इस इकाई का अध्ययन करने के बाद, आपको निम्नलिखित में सक्षम होना चाहिए :

- ❖ माइकेलिस–मेन्टन समीकरण प्राप्त करें,
- ❖ एन्ज़ाइम उत्प्रेरक के प्रक्रिया की व्याख्या करें,
- ❖ लाइनविवर–बर्क प्लॉट को चित्रित करें,
- ❖ K_m और V_{max} का वर्णन करें, और
- ❖ उपापचयी मार्गों की दिशात्मकता के लिए विभिन्न नियामक प्रक्रिया निर्धारित करें।

11.2 एन्ज़ाइम गतिकी

गतिक विश्लेषण, सब्सट्रेट को उत्पादों के परिवर्तन में शामिल विशेष चरणों की संख्या और क्रम का खुलासा करने में मदद करता है। अतीत में, एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाओं के प्रयोगों से उत्पन्न आकड़ा एकत्र किया गया और अभिक्रिया की दर निर्धारित करने के लिए इसका विश्लेषण किया गया। यह पता चला कि सब्सट्रेट की कम सांद्रता पर, अभिक्रिया सब्सट्रेट के संबंध में पहले–क्रम (first-order) की थी। हालांकि, सब्सट्रेट की उच्च सांद्रता पर, अभिक्रिया शून्य–क्रम (zero-order) बन गई। कृपया अपने रसायन विज्ञान की पुस्तकों से शून्य क्रम या पहले क्रम एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाओं के बारे में याद करें। आम तौर पर सभी एकल सब्सट्रेट एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाएं और यहां तक कि बहु–सब्सट्रेट अभिक्रियाएं जहां सभी की सांद्रता केवल एक को स्थिर रखा जाता है, वह उसी क्रम का अनुसरण करती है। स्थिर एन्ज़ाइम सांद्रता पर, सब्सट्रेट [S] सांद्रता (X– अक्ष पर) के विरूद्ध प्रारंभिक वेग vo, (Y– अक्ष पर) का ग्राफ एक हाइपरबोलिक वक्र का प्रदर्शन करता पाया गया है (चित्र 11.1)।



चित्र 11.1 : एकल सब्सट्रेट एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया के लिए सब्सट्रेट सांद्रता के विरूद्ध प्रारंभिक वेग का ग्राफ।

ग्राफ से सामान्य समीकरण है

$$v_o = \frac{V_{max}[S_o]}{[S_o]+b}$$

V_{max} = अधिकतम वेग = v_o का अधिकतम मान

b = स्थिर = $[S_o]$ का मान जहां v_o = ½ V_{max}

सामान्य शब्दों में, एक–सब्सट्रेट एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया में सिर्फ एक सब्सट्रेट बाध्यकारी साइट प्रति एन्ज़ाइम अणु का विचार करें, सब्सट्रेट [S] एन्ज़ाइम [E] के साथ भौतिक संपर्क में आता है और एक एन्ज़ाइम सब्सट्रेट कॉम्प्लेक्स [ES] समष्टि (complex) होती है जो अंततः आगे की अभिक्रिया से गुजरते हुए उत्पाद [P] के निर्माण की ओर जाता है। इसे इस प्रकार दर्शाया जा सकता है :

दर स्थिर k_1 दर स्थिर k_2

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P$$

दर स्थिर k_{-1}

$k1$ = सब्सट्रेट और एन्ज़ाइम के जुड़ाव के लिए स्थिर दर

$k2$ = एन्ज़ाइम और उत्पाद के टूटने के लिए स्थिर दर

$k-1$ = मुक्त एन्ज़ाइम और सब्सट्रेट बनाने के लिए [ES] समष्टि के पृथक्करण के लिए स्थिर दर

अभिक्रिया की समग्र दर दो कारकों द्वारा सीमित है:

1) एन्ज़ाइम की सांद्रता की मात्रा

2) एन्ज़ाइम –सब्सट्रेट समष्टि का टूटना

कम सब्सट्रेट सांद्रता पर, अभिक्रिया की समग्र दर उस दर से सीमित होगी जिस पर एन्ज़ाइम और सब्सट्रेट अणु, एन्ज़ाइम–सब्सट्रेट समष्टि बनाने के लिए अभिक्रिया करते हैं। स्थिर एन्ज़ाइम सांद्रता पर अभिक्रिया की दर सब्सट्रेट सांद्रता के आनुपातिक होगी (प्रथम–क्रम अभिक्रिया)। हालांकि, उच्च सब्सट्रेट सांद्रता होने पर एन्ज़ाइम सब्सट्रेट के साथ संतृप्त हो जाएगा और इसलिए कोई स्वतंत्र एन्ज़ाइम उपलब्ध नहीं होगा। इसलिये अभिक्रिया की समग्र दर सब्सट्रेट सांद्रता से स्वतंत्र होगी। अधिकतम प्रारंभिक वेग तब संभव होगा

$V_{max} = k_2 [E_o]$ E_o = कुल एन्जाइम सांद्रता

बोध प्रश्न 1

सब्सट्रेट सांद्रता कैसे एन्ज़ाइम अभिक्रियाओं की दर को प्रभावित करता है?

11.2.1 माइकेलिस–मेन्टन समीकरण

उपर्युक्त निष्कर्षों को समझाने के लिए उपयोग किए जाने वाले गतिक मॉडल माइकेलिस और मेन्टन (1913) द्वारा प्रस्तावित किए गए थे। माइकेलिस–मेन्टन समीकरण प्रारंभिक अभिक्रिया वेग और सब्सट्रेट सांद्रता के बीच संबंधों को प्रदर्शित करता है। इस समीकरण की व्युत्पत्ति एक सब्सट्रेट एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया पर विचार करने वाली घटनाओं की सामान्यीकृत पद्धति से शुरू होती है जैसा कि पहले कहा गया है; सब्सट्रेट [S] एन्ज़ाइम [E] के साथ एक एन्ज़ाइम सब्सट्रेट [ES] समष्टि बनाता है जो अंततः मुक्त एंजाइम [E] और उत्पाद [P] के गठन के लिए टूट जाता है। माइकेलिस और मेंटन ने निम्नलिखित पद्धति निर्धारित की है

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

शब्द k_1, ES समष्टि के गठन के लिए स्थिर दर को दर्शाता है। ES समष्टि के दो भाग्य होते हैं, यह दर स्थिरांक k_{-1} के साथ वापस एन्ज़ाइम और सब्सट्रेट को अलग कर सकता है, या उत्पाद बनाने के लिए आगे बढ़ सकता है और एक दर स्थिरांक k_2 के साथ स्वतंत्र एन्ज़ाइम मुक्त कर सकता है। किसी भी एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया में, सब्सट्रेट की सांद्रता एन्ज़ाइम की तुलना में पांच या छह गुना अधिक होनी चाहिए। उपरोक्त नमूना भी मानता है कि $k_2 << k_1$। इस बात की पूरी संभावना है कि अभिक्रिया पीछे की ओर जा सकती है लेकिन यदि हम केवल अभिक्रिया की प्रारंभिक दर पर विचार करते हैं, तो हम पीछे की ओर की अभिक्रिया को अनदेखा कर सकते हैं।

अभिक्रिया की समग्र दर को प्रारंभिक वेग (v_o) कहा जाता है और यह दो कारकों पर निर्भर करेगा – उत्पाद के गठन की दर (k_2) और सब्सट्रेट के साथ बंधे एन्ज़ाइम की सांद्रता, अर्थात [ES]

इसलिए $v_o = k_2[ES]$ ..... समीकरण 1

माइकेलिस और मेन्टन ने अपने मॉडल में दो धारणाएँ बनाईं। सबसे पहले, अतिरिक्त सब्सट्रेट [S] >> [E] की उपलब्धता। दूसरी बात यह है कि अभिकारकों ([E] + [S]) और [ES] समष्टि के बीच तेजी से एक संतुलन स्थापित किया जाता है। इसके अलावा, एन्ज़ाइम–सब्सट्रेट समष्टि का टूटना भी संतुलन में किसी भी बदलाव का कारण बनने के लिए बहुत धीमा है। इसलिए माइकेलिस और मेन्टन नमूना को "रैपिड संतुलन मॉडल" के रूप में भी जाना जाता है। इस प्रकार संतुलन अवस्था में:

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES]$$ ..... समीकरण 2

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1}}{k_1} = K_s$$ ..... समीकरण 3

K_s पृथक्करण स्थिरांक है। यदि E_o कुल एन्ज़ाइम सांद्रता है, तो यह स्वतंत्र एन्ज़ाइम [E] और सब्सट्रेट से जुड़े एन्ज़ाइम [ES] के योग के बराबर है जैसा कि निम्नलिखित समीकरण में दर्शाया गया है :

$$E_o = [E] + [ES]$$ ..... समीकरण 4

$$E = [E_o] - [ES]$$

समीकरण 3 में E के मान को प्रतिस्थापित करने पर

$$\frac{([E_o] - [ES])[S]}{[ES]} = K_s$$

$$([E_o] - [ES])[S] = K_s[ES]$$

$$[E_o][S] - [ES][S] = K_s[ES]$$

$$[E_o][S] = K_s[ES] + [ES][S]$$

$$[E_o][S] = [ES](K_s + [S])$$

$$[ES] = \frac{[E_o][S]}{(K_s + [S])}$$

समीकरण 1 में [ES] के मान को प्रतिस्थापित करने से हमें मिलता है

इसलिए $v_o = k_2 \frac{[E_o][S]}{(K_s + [S])}$ ..... समीकरण 5

एन्ज़ाइम अभिक्रिया की अधिकतम दर तब प्राप्त होगी जब सभी एन्ज़ाइम अणु सब्सट्रेट अणुओं से बंधे होते हैं।

So $V_{max} = k_2 [E_o]$ ..... समीकरण 6

समीकरण 5 में इस मान को प्रतिस्थापित करने से हमें मिलता है

$$v_o = \frac{V_{max}[S]}{(K_s + [S])}$$

माइकेलिस और मेन्टन ने यह भी तर्क दिया कि प्रारंभिक सब्सट्रेट सांद्रता $[S_o]$ प्रारंभिक एन्ज़ाइम सांद्रता $[E_o]$ की तुलना में बहुत अधिक है, ऐसे में एन्ज़ाइम–सब्सट्रेट समष्टि के गठन से स्वतंत्र सब्सट्रेट सांद्रता में ऐसा कोई बड़ा बदलाव नहीं होगा। v_o के लिए अभिव्यक्ति होगी:

$$v_o = \frac{V_{max}[S_o]}{(K_s + [S_o])}$$ ..... समीकरण 7

उपरोक्त समीकरण 7 समीकरण को माइकेलिस–मेन्टन समीकरण के रूप में जाना जाता है।

ब्रिग्स हाल्डेन ने माइकेलिस–मेंटन प्लॉट को संशोधित किया :

माइकेलिस–मेन्टन मॉडल किसी भी एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया में तीव्र संतुलन दृष्टिकोण की धारणा पर निर्भर है। यह केवल तेजी से गतिक अभिक्रियाओं के लिए समीकरण की प्रयोज्यता को सीमित करता है जो अन्य एन्ज़ाइम अभिक्रियाओं के कई मामलों में नहीं हो सकता है। अधिकांश एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाएं एन्ज़ाइम –सब्सट्रेट समष्टि [ES] की स्थिर सांद्रता को मानती हैं।

आम तौर पर अगर कोई एन्ज़ाइम सब्सट्रेट की उच्च सांद्रता के साथ मिलाया जाता है, तो पूर्व–स्थिर अवस्था (माइक्रो सेकंड में रहती है) के रूप में व्यक्त एक प्रारंभिक अवधि होती है जहां [ES] की सांद्रता धीरे–धीरे बढ़ती है। आखिरकार [ES] की सांद्रता बढ़ जाती है और एक स्थिर स्थिति का निर्माण करती है जो समय के साथ स्थिर रहती है। स्थिर अवस्था की अवधारणा को 1925 में ब्रिग्स और हाल्डेन ने प्रस्तुत किया जो माइकेलिस–मेन्टन की संशोधित विधि थी। इस अवधारणा को पहले की तुलना में अधिक मान्य धारणा माना जाता है। माइकेलिस–मेन्टन मॉडल ने [ES] के गठन को महत्व दिया जबकि ब्रिग्स–हाल्डेन पद्धति [ES] समष्टि की स्थिरता, इसके संरक्षण (maintenance), स्थिर सांद्रता और उत्पादों के टूटने पर पर केंद्रित है।

एक और बार एकल सब्सट्रेट एंजाइम उत्प्रेरित प्रतिक्रिया को ध्यान में रखते हुए आप पाएंगे कि स्थिर अवस्था प्रतिक्रिया में, [ES] के गठन की दर उत्पादों के अपघटन की दर के बराबर होगी। इसलिये

$$k_1[E][S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$ ..... समीकरण 8

चर (variables) से स्थिरांक को अलग करेंगे:

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{k_{-1} + k_2[ES]}{k_1} = K_m$$ ..... समीकरण 9

जहाँ K_m = माइकेलिस स्थिरांक

उपरोक्त समीकरणों (4–7) में K_m के साथ K_s को प्रतिस्थापित करने पर

$$E = [E_o] - [ES]$$

समीकरण 9 में E के मान को प्रतिस्थापित करने पर

$$\frac{([E_o] - [ES])[S]}{[ES]} = K_m$$

$$([E_o] - [ES])[S] = K_m[ES]$$

$$[E_o][S] - [ES][S] = K_m[ES]$$

$$[E_o][S] = K_m[ES] + [ES][S]$$

$$[E_o][S] = [ES](K_m + [S])$$

$$[ES] = \frac{[E_o][S]}{(K_m + [S])}$$

समीकरण 1 में हमें [ES] का मान प्रतिस्थापन से प्राप्त होता है

इसलिए $v_o = k_2 \frac{[E_o][S]}{(K_m + [S])}$

चूंकि $V_{max} = k_2 [E_o]$

उपर्युक्त समीकरण में इस मान को प्रतिस्थापित करने पर

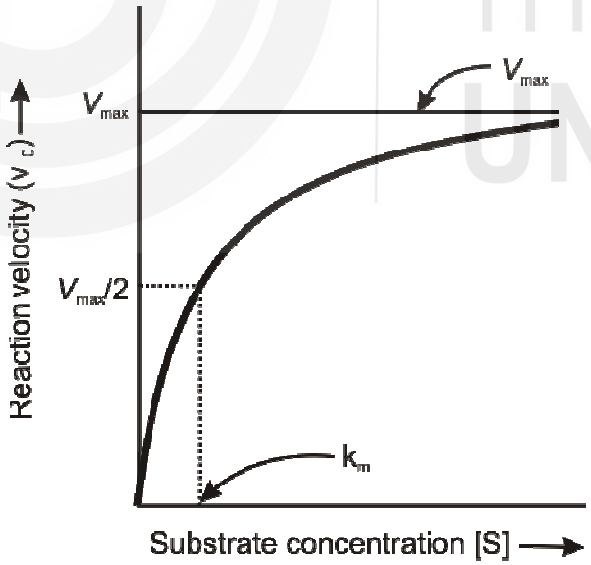
$$v_o = \frac{V_{max}[S]}{(K_m + [S])}$$

चूंकि सब्सट्रेट सांद्रता एन्ज़ाइम सांद्रता [*S*]~ [S_o] से बहुत अधिक है इसलिए

$$v_o = \frac{V_{max}[S_o]}{(K_m + [S_o])} \quad \text{..... समीकरण 10}$$

उपरोक्त समीकरण 10 प्रसिद्ध माइकेलिस–मेन्टन समीकरण के समान है। केवल भाजक (denominator) में K_s के बजाय K_m है। इसलिए समीकरण माइकेलिस–मेन्टन समीकरण के अपने पिछले नाम को बनाए रखता है और स्थिरांक K_m को माइकलिस–मेन्टेन स्थिरांक के रूप में जाना जाता है।

x– अक्ष पर y– अक्ष बनाम सब्सट्रेट सांद्रता [S] पर v_o ग्राफ हाइपरबोलिक वक्र के रूप में होगा (चित्र 11.2)।



चित्र 11.2 : एकल सब्सट्रेट उत्प्रेरित एन्ज़ाइम अभिक्रिया का माइकेलिस–मेन्टन प्लॉट।

बोध प्रश्न 2

बताइए कि माइकेलिस–मेन्टन समीकरण में उच्च–सब्सट्रेट पर एक एन्ज़ाइम–उत्प्रेरित अभिक्रिया की दर अधिकतम मान तक कैसे पहुंचती है?

11.2.2 लाइनविवर–बर्क प्लॉट

यदि आप माइकेलिस–मेन्टन प्लॉट को देखते हैं, तो आप अवलोकन करेंगे कि उच्च सब्सट्रेट सांद्रता में v_o स्पर्शरेखीय तरीके से V_{max} तक पहुँचता है। इसलिए यदि आप प्लॉट से V_{max} और K_m निर्धारित करना चाहते हैं, तो यह मुश्किल और असंतोषजनक होगा। ग्राफ की हाइपरबोलिक वक्र प्रकृति V_{max} और K_m के सटीक मान को निर्धारित करना कठिन करती है। इसलिए, इस कठिनाई को दूर करने के लिए, लाइनविवर और बर्क (1934) ने माइकेलिस–मेन्टन समीकरण का पालन करते हुए एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रियाओं के लिए एक सीधी रेखा ग्राफ का सुझाव दिया। उन्होंने कोई नई धारणाएं नहीं बनाईं और लाइनविवर–बर्क प्लॉट प्राप्त किया, जिसे दोहरे पारस्परिक प्लॉट (double reciprocal plot) के रूप में भी जाना जाता है। लाइनविवर और बर्क ने माइकेलिस–मेन्टन समीकरण लिया और इसे उलटा कर दिया।

$$v_o = \frac{V_{max}[S_o]}{(K_m + [S_o])}$$

$$\frac{1}{v_o} = \frac{(K_m + [S_o])}{V_{max}[S_o]}$$

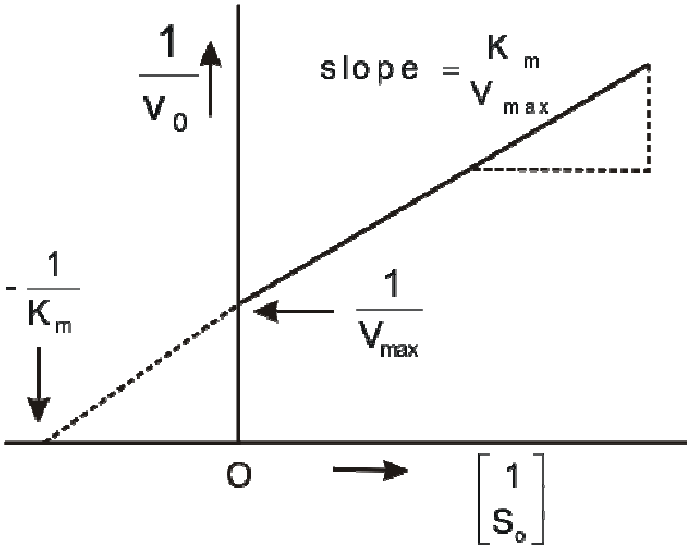
$$\frac{1}{v_o} = \frac{[S_o]}{V_{max}[S_o]} + \frac{K_m}{V_{max}[S_o]}$$

$$\frac{1}{v_o} = \frac{1}{V_{max}} + \frac{K_m}{V_{max}[S_o]}$$

इस समीकरण को लाइनविवर–बर्क समीकरण के रूप में जाना जाता है।

y = mx+ ..... समीकरण 11

के रूप में है जो एक सीधी रेखा ग्राफ का समीकरण है। $1/S_o$ के खिलाफ $1/v$ का प्लॉट रैखिक है और माइकेलिस–मेन्टन समीकरण का पालन करता है (चित्र 11.3)। इसे लाइनविवर–बर्क प्लॉट या दोहरे पारस्परिक प्लॉट के रूप में जाना जाता है।



चित्र 11.3 : माइकेलिस–मेन्टन समीकरण का दोहरा पारस्परिक प्लॉट।

11.2.3 K_m और V_{max} का महत्व

K_m या माइकेलिस स्थिरांक को सब्सट्रेट सांद्रता के रूप में परिभाषित किया गया है जो एन्ज़ाइम को V_{max} (अधिकतम वेग) के आधे हिस्से को प्राप्त करने की अनुमति देता है [चित्र 11.2 और 11.3 देखें]। इसके अलावा, K_m में सांद्रता की इकाइयाँ होती हैं लेकिन यह एन्ज़ाइम और सब्सट्रेट सांद्रता से स्वतंत्र होती है। K_m एन्ज़ाइम की सब्सट्रेट के प्रति आत्मीयता के विलोम को मापता है। सब्सट्रेट की सांद्रता (K_m) जो आधे एन्ज़ाइम अणुओं को ES समष्टि में स्थानांतरित करने के लिए आवश्यक है, सब्सट्रेट के लिए एन्ज़ाइम की आत्मीयता (affinity) को दर्शाता है। K_m के निम्न मान सब्सट्रेट के लिए एन्ज़ाइम की उच्च आत्मीयता (affinity) को दर्शाता हैं। दूसरी ओर, K_m के उच्च मान से पता चलता है कि एन्ज़ाइम को संतृप्ति के लिए अपेक्षाकृत उच्च स्तर की सब्सट्रेट सांद्रता की आवश्यकता होती है, जिससे सब्सट्रेट के लिए एन्ज़ाइम की कमजोर आत्मीयता (affinity) का पता चलता है।

K_m और V_{max} दोनों गतिक मापदण्ड हैं। अभिक्रिया की दर अधिकतम हो जाती है जब एन्ज़ाइम पूरी तरह से सब्सट्रेट अणुओं से संतृप्त होता है और इसे V_{max} के रूप में निरूपित किया जाता है।

बोध प्रश्न 3

टिक [√] सही विकल्प को चिह्नित करें :

क) माइकेलिस–मेन्टन समीकरण एन्ज़ाइम –उत्प्रेरित अभिक्रिया को सब्सट्रेट सांद्रता/ उत्पाद सांद्रता की दर से संबंधित करते है (एक को चुने)।

ख) हाइपरबोलिक वक्र V_{max} और K_{max} का सटीक मान देता है (सही / गलत)।

ग) लाइनविवर–बर्क प्लॉट रैखिक / हाइपरबोलिक है (एक विकल्प चुनें)।

घ) K_m ½ V_{max} पर सब्सट्रेट सांद्रता के बराबर / अधिक है (एक विकल्प चुनें)।

11.2.4 k_{cat} और टर्नओवर नंबर

एन्ज़ाइम गतिक में एन्ज़ाइम दक्षता निर्धारित करने के लिए, हमें यह जानने में रुचि है कि सब्सट्रेट के कितने अधिकतम अणुओं को प्रति इकाई समय एन्ज़ाइम की सांद्रता के उत्प्रेरक साइट प्रति उत्पाद में परिवर्तित किया जा सकता है।

$k_{cat} = V_{max}/E_t$

जहाँ

k_{cat} = टर्नओवर संख्या,

V_{max} = एन्ज़ाइम उत्प्रेरक साइट सब्सट्रेट के साथ संतृप्त होने पर अभिक्रिया की अधिकतम दर

E_t = कुल एन्ज़ाइम सांद्रता या कुल एन्ज़ाइम उत्प्रेरक साइटों की सांद्रता।

k_{cat} इष्टतम परिस्थितियों (optimal conditions) में उत्पाद के उत्प्रेरक उत्पादन का एक सीधा माप है। टर्न ओवर नंबर (k_{cat}) की इकाइयाँ = (उत्पाद में मोल्स/ सेकंड) / (एन्ज़ाइम के मोल्स) या सेकंड$^{-1}$ ।

एन्ज़ाइम कार्बोनिक एनहाइड्रेज कार्बोनिक अम्ल और बाइकार्बोनेट आयनों के लिए कार्बन डाइऑक्साइड के रूपांतरण को उत्प्रेरित करता है। इसकी टर्नओवर संख्या 400,000 से 600,000 s^{-1} बताती है कि प्रत्येक एन्ज़ाइम अणु प्रति सेकंड 600,000 तक उत्पाद अणुओं (बाइकार्बोनेट आयन) का उत्पादन कर सकता है।

11.3 एन्ज़ाइम का विनियमन

क्या आपने उन तरीकों के बारे में सोचा है जिनके द्वारा एन्ज़ाइम गतिविधि को विनियमित किया जा सकता है? नीचे सूचीबद्ध के रूप में एन्ज़ाइम विनियमन के विभिन्न तंत्र हैं :

1. एन्ज़ाइम मात्रा
2. निषेध
   क) उत्क्रमणीय निषेध
   ख) अनुत्क्रमणीय निषेध
3. ऐलोस्टेरिक विनियमन
4. प्रतिक्रिया विनियमन या निषेध
5. सह–संयोजक संशोधन
6. प्रोटियोलिटिक अपघटन

1. एन्ज़ाइम मात्रा (Enzyme Quantity)

एन्ज़ाइम या टर्नओवर संख्या की मात्रा, संश्लेषण की समग्र दर और एन्ज़ाइम के क्षरण की दर से निर्धारित होती है। इसकी मात्रा में कोई भी परिवर्तन समग्र संश्लेषण और क्षरण प्रक्रियाओं या दोनों के लिए स्थिर दर में परिवर्तन से प्रभावित हो सकता है। प्रोटीन या एन्ज़ाइमों की सांद्रता अनिवार्य रूप से 'गतिशील संतुलन' (dynamic equilibrium) की स्थिति में स्थिर बनी रहती है। यह शारीरिक, हार्मोनल या आहार कारकों की एक विस्तृत श्रृंखला से प्रभावित होता है। विभिन्न एन्ज़ाइमों के लिए एन्ज़ाइमों की टर्नओवर संख्या मिनटों से घंटे से दिनों तक भिन्न हो सकती है।

1.1 आनुवंशिक नियंत्रणः जीन स्तर पर एन्ज़ाइम संश्लेषण (Genetic Control: Enzyme synthesis at the gene level)

एन्ज़ाइमों के संश्लेषण में शामिल जीनों को प्रेरित या दमित (induced or repressed) किया जा सकता है। एन्ज़ाइमों की प्रेरण जीन अभिव्यक्ति (Expression) RNA अनुवाद (translation) या अनुवाद उपरांत संशोधनों के स्तर पर की जा सकती है। हार्मोन या

वृद्धि कारक (growth factors) संकेतक प्रपात (cassade) संकेत के पहले मौजूद एन्ज़ाइम की अभिव्यक्ति या अनुवाद में वृद्धि का कारण हो सकते हैं। विप्रेरक (Inducers) एन्ज़ाइमों के संश्लेषण को प्रेरित करते हैं जबकि दमनकर (repressors) एन्ज़ाइमों के उत्पादन को कम करते हैं। विप्रेरक आमतौर पर सब्सट्रेट या संरचनात्मक रूप से समान अणु होते हैं जो एन्ज़ाइमों के संश्लेषण की शुरुआत करते हैं। मनुष्यों में प्रेरणीय (Inducible) एन्ज़ाइमो में ट्रिप्टोफैन पायरोलेज, थ्रियोनिन् डिहाइड्रैटेज, HMG-CoA रिडक्टेज और साइटोक्रोम P–450 शामिल हैं। दूसरी ओर एक मेटाबोलाइट या दमनकारी जब अधिक मात्रा में उत्पन्न होता है, तो अपने गठन में शामिल एन्ज़ाइमों के संश्लेषण को रोकता है। ये नियामक अणु ऑपरेटर के रूप में करार दिए गए DNA के एक हिस्से से आबद्ध होकर mRNA के प्रतिलेखन (transcription) को अवरुद्ध करते हैं। दमनकारी ऐलोस्टेरिक प्रोटीन होते हैं, जिनसे विशिष्ट अणु आबद्ध होने पर उनके आकार और DNA को बांधने की क्षमता को बदल सकते हैं। विप्रेरक अणु दमनकारी अणु से आबद्ध होते है और इसे DNA के ऑपरेटर क्षेत्र में आबद्ध होने के लिए रोकते है। यह एन्ज़ाइमों के लिए कोडिंग अनुक्रमों के प्रतिलेखन की अनुमति देता है। उदाहरण के लिए, इ . कोलाई (E.coli) में लैक ऑपेरोन, लैक्टोज आसपास के वातावरण में मौजूद होने पर इसके क्षरण में शामिल तीन एन्ज़ाइमों (β– गैलेक्टोसाइडेज, परमीएज और ट्रांसएसिटिलेज) के संश्लेषण को स्थानांतरित करने के लिए एक विप्रेरक का कार्य करता है।

2. निषेध (Inhibition)

अणु जो एन्ज़ाइमों से आबद्ध होते हैं और उनकी गतिविधि में कमी का कारण बनते हैं उन्हें एन्ज़ाइमों अवरोधक (enzyme inhibitors) कहा जाता है। ये अणु या तो एन्ज़ाइम की सक्रिय जगह पर बंधते हैं जिससे सब्सट्रेट अणु को एन्ज़ाइम से बँधने में रोकते हैं या वे एन्ज़ाइम की उत्प्रेरक गतिविधि को रोक सकते हैं। आपको पता होना चाहिए कि इनमें से कई अणु उपापचय में कई नियामक भूमिकाएं निभाते हैं। उनमें से कुछ वनस्पति नाशकों या कीटनाशकों के रूप में उपयोग किए जाते हैं। अधिकांश दवा के अणु एन्ज़ाइम अवरोधक के रूप में भी कार्य करते हैं। प्राकृतिक एन्ज़ाइम अवरोधक जैसे जहर जो जंगली जानवरों में रक्षा तंत्र का एक हिस्सा है इसका उदाहरण है।

एन्ज़ाइम अवरोधकों को मुख्य रूप से दो प्रकारों में वर्गीकृत किया जाता है

क) उत्क्रमणीय निषेध (Reversible Inhibition)

ख) अनुत्क्रमणीय निषेध (Irreversible Inhibition)

क) उत्क्रमणीय एन्ज़ाइम निषेध : उत्क्रमणीय एन्ज़ाइम निषेध में, निरोधात्मक अणु के कारण एन्ज़ाइम गतिविधि का नुकसान उत्क्रमणीय है। अवरोधक को हटाने पर एन्ज़ाइम गतिविधि बहाल हो जाती है। ये अवरोधक गैर–सहसंयोजक बंध से बँधते हैं और विभिन्न प्रकार के निषेध को जन्म देते हैं। अवरोधक और एन्ज़ाइम के बीच कई कमजोर बंधन मजबूत बंधन देने के लिए गठबंधन करते हैं जो उत्पाद के गठन को रोकता है। पूर्ण एन्ज़ाइम गतिविधि को बहाल करने के लिए उन्हें तनुकरण या डायलिसिस द्वारा आसानी से हटाया जा सकता है। उत्क्रमणीय अवरोधक एक एन्ज़ाइम के साथ संतुलन बनाने की प्रवृत्ति रखते हैं जिससे कुछ हद तक एन्ज़ाइम निषेध होता है।

ख) **अनुत्क्रमणीय एन्ज़ाइम निषेध :** अनुत्क्रमणीय निषेध उत्क्रमणीय अवरोधक द्वारा अस्थायी एन्ज़ाइम निष्क्रियता से अलग है। एन्ज़ाइम के अवरोध करने वाले अणुओं का एन्ज़ाइम से आबद्ध होने पर, एन्ज़ाइम गतिविधि नष्ट हो जाती है और इस गतिविधि को बाद में पुनर्प्राप्त नहीं किया जा सकता है। ये निरोधात्मक अणु अत्यधिक विशिष्ट हैं और एन्ज़ाइम की 3 डी संरचना को संशोधित कर सकते हैं। एन्ज़ाइम निष्क्रिय हो जाता है एवं समय निर्भरता अनुसार एन्ज़ाइम सांद्रता का नुकसान होता है। एन्ज़ाइम गतिविधि को खोये बिना तनूकरण या डायलिसिस द्वारा निषेध को हटाया नहीं जा सकता है। यह अवरोधक अणु आम तौर पर सब्सट्रेट बंधन, उत्प्रेरण या एन्ज़ाइम के रखरखाव के लिए आवश्यक अमीनो अम्ल अवशेषों (residues) के साथ सहसंयोजक बंधन बनाते हैं या तोड़ते हैं।

उदाहरण : भारी धातु आयन जैसे कि पारा, सीसा, एल्डीहाइड और हैलोएल्केन। आयोडोएसिटेट और आयोडोएसिटामाइड के रूप में अल्काइलेटिंग एजेंट एन्ज़ाइम के –SH समूहों के साथ सहसंयोजक संबंध बनाते हैं।

$$E\text{-}SH + ICH_2.CO^-_2 \text{ ----------} \rightarrow E\text{-}S\text{-}CH_2.CO^-_2 + HI$$

कई महत्वपूर्ण दवाएं अनुत्क्रमणीय अवरोधकों के प्रसिद्ध उदाहरण हैं। व्यापक रूप से उपयोग में लाई जाने वाली दवा पेनिसिलिन एन्ज़ाइम ट्रांसपेप्टिडेज से सहसंयोजक बंध बनाकर उन्हें रोकने का कार्य करती है, जिससे बैक्टीरिया कोशिका की दीवारों के संश्लेषण को रोका जा सकता है और इस प्रकार बैक्टीरिया को मार दिया जाता है। आपने टैबलेट एस्पिरिन के बारे में सुना होगा। दवा एस्पिरिन एन्ज़ाइम साइक्लोऑक्सीजिनेज को बाधित करता है जिससे उत्तेजक संकेतों (inflammatory signals) के संश्लेषण को कम किया जाता है। एन्ज़ाइम मोनोअमीन ऑक्सीडेज न्यूरोट्रांसमीटर जैसे डोपामाइन और सेरोटोनिन को डिएमिनेट्स करता है, और मस्तिष्क में इन हार्मोनों के स्तर को कम करता है। एक तंत्रिका अपह्रास रोग जैसे कि पार्किंसंस रोग डोपामाइन के निम्न स्तर से जुड़ा हुआ है, जबकि अवसाद सेरोटोनिन के निम्न स्तर से संबंधित है। ड्रग (–) डेप्रिनिल जैसे आत्महत्या अवरोधक का उपयोग पार्किंसंस रोग और अवसाद के इलाज के लिए व्यापक रूप से किया जाता है।

3. ऐलोस्टेरिक विनियमन (Allosteric Regulation)

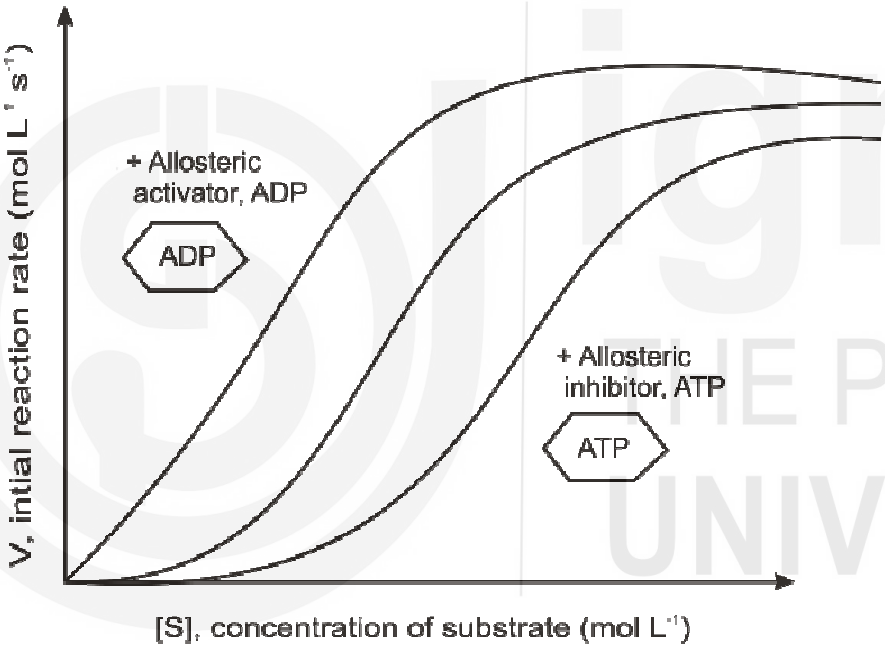
ऐलोस्टेरिक का अर्थ है 'अन्य संरचना या अलग साइट'। ऐलोस्टेरिक एन्ज़ाइम वे एन्ज़ाइम होते हैं जिनकी उत्प्रेरक गतिविधि को प्रभावकारी अणुओं द्वारा संशोधित किया जा सकता है। ये अणु सीधे उत्प्रेरण में भाग नहीं लेते हैं। ये एन्ज़ाइम पर सक्रिय साइट के अलावा एक साइट पर बँधते हैं और एन्ज़ाइम की सक्रियता या निषेध का कारण बन सकते हैं। उत्क्रमणीय बंधन, गैर–सहसंयोजक होता है और सक्रिय साइट में अनुरूप परिवर्तन (conformational change) लाता है। ये अनुरूप परिवर्तन प्रोटीन संगठन के तृतीयक (tertiary) और चतुर्धातुक (quaternary) स्तर पर होते हैं। ऐलोस्टेरिक एन्ज़ाइम आम तौर पर बड़े होते हैं और कई उपइकाईयों से बने होते हैं जिनमें अलग–अलग सक्रिय साइट और ऐलोस्टेरिक साइट होती है। एक्स–रे क्रिस्टलोग्राफी और साइट निर्देशित उत्परिवर्तजन पर कई अध्ययनों ने विभिन्न प्रकार के एन्ज़ाइमों पर दो अलग–अलग साइटों के अस्तित्व की पुष्टि की है।

ऐलोस्टेरिक एन्ज़ाइम हाइपरबोलिक वक्र [माइकेलिस–मेन्टन वक्र] के बजाय एक विशेषता सिग्मोइडल संतृप्ति वक्र प्रदर्शित करते हैं जब v_o बनाम [S] प्लॉट किया जाता है, इसका कारण एन्ज़ाइम उपइकाईयों के बीच संरचनात्मक परिवर्तनों की सहयोगात्मकता है (चित्र 11.4)। ऐलोस्टेरिक एन्ज़ाइम सब्सट्रेट के साथ–साथ मॉड्यूलेटर के साथ सहकारी प्रणाली तरीके से व्यवहार करते हैं। सब्सट्रेट, अवरोध करनेवाला या सक्रियण सांद्रता में एक छोटा सा परिवर्तन अभिक्रिया की दर में एक बड़ा बदलाव लाता है। उत्प्रेरक गतिविधि को बढ़ाने वाले प्रभावकों को सकारात्मक प्रभावक कहा जाता है और जो उत्प्रेरक गतिविधि को कम या बाधित करते हैं, उन्हें नकारात्मक प्रभावक कहा जाता है।

उदाहरण के लिए, फॉस्फोफ्रक्टोकाईनेज (PFK) को नीचे लिखे प्रभावकों द्वारा नियंत्रित किया जाता है

क) नकारात्मक प्रभाव: ATP और सिट्रेट के उच्च स्तर

ख) सकारात्मक प्रभावकारक: उच्च स्तर के ADP और AMP



चित्र 11.4 : ऐलोस्टेरिक एन्ज़ाइमों की सिगमॉइडल गतिक।

4. प्रतिक्रिया विनियमन या निषेध (Feedback Regulation or Inhibition)

एन्ज़ाइम विनियमन का एक और दिलचस्प पहलू प्रतिक्रिया विनियमन मार्ग के अंतिम उत्पाद द्वारा जैव संश्लेषित मार्ग में एक एन्ज़ाइम का निषेध है। इस प्रकार के निषेध को प्रतिक्रिया अवरोधक भी कहा जाता है और यह तब विकसित होता है जब मार्ग के अंतिम उत्पाद के लिए उपापचय की मांग में गिरावट आती है। अंतिम उत्पाद उपापचय मार्ग के शुरू में एन्ज़ाइम के नियामक स्थल से आबद्ध होता है और इसकी गतिविधि को अवरूद्ध कर देता है। प्रतिक्रिया अवरोधकों की एन्ज़ाइमों के सब्सट्रेट जैसी कोई संरचनात्मक समानता नहीं हैं। उदाहरण के लिए, निम्नलिखित प्रतिक्रिया पर विचार करें:

Enz 1 Enz 2 Enz 3

A----------→ B---------→ C ---------→ D

अंत उत्पाद D की उच्च सांद्रता एन्ज़ाइम Enz 1 के प्रतिक्रिया अवरोधक के रूप में कार्य करेगी। अमीनो अम्ल या न्यूक्लियोटाइड जैसे छोटे अणु कई जैव संश्लेषित मार्गो में प्रतिक्रिया अवरोधक के रूप में कार्य करते हैं। जीवाण्विक एन्ज़ाइम प्रणाली में, L–थ्रियोनिन् को पांच चरणों के उपापचय पथ के अनुक्रम में L–आईसोल्युसीन में परिवर्तित किया जाता है। आईसोल्युसीन एक गैर सहसंयोजक तरीके से मार्ग में पहले एन्ज़ाइम थ्रियोनिन् डिहाइड्रैटेज से आबद्ध होता है और अपने स्वयं के उत्पादन को रोकता है।

बोध प्रश्न 4

निर्देशानुसार करें :

क) प्रोटीन या एन्ज़ाइम की सांद्रता अनिवार्य रूप से ..... संतुलन की स्थिति में स्थिर रहती है (रिक्त स्थान भरें)।

ख) दमनकर ..... प्रोटीन होते हैं, जिनसे विशिष्ट अणु आबद्ध होने पर वह अपने आकार और DNA को बांधने की क्षमता को बदल सकते हैं (रिक्त स्थान भरें)।

ग) प्रतिक्रिया अवरोधकों की एन्ज़ाइमों के सब्सट्रेट जैसी कोई संरचनात्मक समानता नहीं होती है (सही / गलत)।

घ) अंतिम उत्पाद की उच्च / निम्न सांद्रता प्रतिक्रिया अवरोधक के रूप में कार्य करेगी (एक विकल्प चुनें)।

5. सह–संयोजक संशोधन (Covalent Modification)

सहसंयोजक संशोधन भी एन्ज़ाइम गतिविधि को विनियमित करने का एक साधन है। एन्ज़ाइम विनियमन के उत्क्रमणीय सहसंयोजक संशोधन प्रक्रिया में कई लक्षित प्रोटीन और झिल्ली चैनल सम्मिलित हैं। संशोधित समूह सहसंयोजक बंधन द्वारा एन्ज़ाइम से जुड़े होते हैं। सहसंयोजक संशोधन कुछ एन्ज़ाइमों को सक्रिय करते हैं और साथ ही दूसरों को निष्क्रिय करते हैं। अधिकांश संशोधन उत्क्रमणीय हैं।

फास्फोरिलीकरण और विफास्फोरिलीकरण सबसे सामान्य प्रक्रिया हैं, लेकिन सहसंयोजक संशोधन का एकमात्र साधन नहीं है। फास्फोरिलीकरण–विफास्फोरिलीकरण द्वारा एन्ज़ाइम विनियमन कोशिका संकेतन (cell signaling) में एक महत्वपूर्ण भूमिका निभाता है। यह कोशिका को उसकी सतह पर एक संकेत का जवाब देने की अनुमति देता है और उसके प्रभाव को अंतराकोशकीय एन्ज़ाइमों तक पहुंचाता है। फास्फोरिलीकरण प्रपात (cascade) अत्यधिक चयनात्मक है। नियामक एन्ज़ाइम पर सेरिल, थ्रियोनिल या टायरोसिल अवशेषों (residues) को विशिष्ट प्रोटीन काइनेजेज द्वारा फॉस्फोराइलेट किया जाता है।

प्रोटीन के तहों (folding) की प्रकृति यह निर्धारित करती है कि प्रोटीन काइनेज की फास्फोरिलीकरण के दौर से गुजरने वाले सब्सट्रेट तक पहुंच है या नहीं। फॉस्फोरिल समूहों को प्रोटीन फॉस्फेटेजेज द्वारा उत्प्रेरित क्रिया से हटाया जाता है। स्तनधारी

कोशिका में कई फास्फोरिलीकृत प्रोटीन, कई प्रोटीन काइनेजेज और फॉस्फेटेजेज शामिल होते हैं जो विनियामक नियंत्रण के लिए उनके अंतर–परिवर्तन को उत्प्रेरित करते हैं। फास्फोरिलीकरण, एन्ज़ाइम के त्रि–आयामी संरचना में फेरबदल कर उसके कार्यात्मक गुणों को प्रभावित करता है। एक एन्ज़ाइम का फास्फोरिलीकरण एक अलग एन्ज़ाइम के फास्फोरिलीकरण का कारण बन सकता है जो बदले में दूसरे एन्ज़ाइम पर कार्य करता है और इस तरह कई जैविक प्रक्रियाएं प्रभावित होती हैं।

ग्लाइकोसिलेशन, हाइड्रॉक्सिलेशन, वसीय अम्ल एसाइलेशन, पामिटोयलेशन और प्रीनायलेशन जैसे अन्य सहसंयोजक संशोधन अद्वितीय परिवर्तन हैं जो एन्ज़ाइम को अपने जीवनकाल के लिए उसकी संरचना और स्थानीयकरण को आकार देते हैं। हाइड्रोफोबिक एसाइलेशन के कारण लक्ष्य प्रोटीन कोशिका विलेय के बजाय झिल्ली से जुड़ा हो सकता है।

6. प्रोटियोलिटिक एन्ज़ाइम (Proteolytic enzymes)

कुछ एन्ज़ाइमों को एक निष्क्रिय रूप में पूर्ववर्तीयों (precursors) के रूप में स्रावित किया जाता है और उन्हें प्रोएन्ज़ाइम या जाइमोजेन्स के रूप में जाना जाता है। प्रोएन्ज़ाइम, प्रोटीन को निष्क्रिय रूप में ले जाने या संग्रहीत करने में मदद करते हैं जिन्हें किसी विशेष साइट पर सक्रिय रूपों में परिवर्तित किया जा सकता है। पेप्सिन का पूर्ववर्ती पेप्सीनोजेन है, ट्रिप्सिन को ट्रिप्सिनोजेन के रूप में संश्लेषित किया जाता है और प्रोकार्बोक्सिपेप्टिडेज कार्बोक्सिपेप्टिडेज का जाइमोजेन है। कई अन्य उदाहरणों में रक्त के थक्के बनाने वाले एन्ज़ाइम, प्रोकोलेजन और प्रोइन्सुलिन शामिल हैं। जाइमोजेन्स उस तंत्र को रेखांकित करता है जिससे एन्ज़ाइमों के स्तर को अनुवाद उपरांत (Post translation) स्तर पर प्रोटियोलिटिक क्लीवेज, एक अनुत्क्रमणीय संशोधन द्वारा आसानी से बढ़ाया जा सकता है। आमतौर पर, कोशिकीय और जैव आण्विक प्रोटियोलिटिक एन्ज़ाइम अवांछित प्रोटीन अपघटन को रोकने के लिए निष्क्रिय पूर्ववर्ती (जाइमोजन) के रूप में संश्लेषित होते हैं। जाइमोजेन्स को सक्रिय रूप में रूपांतरण के लिए pH में गिरावट के जवाब में या तो सहायक अणुओं या स्वत:उत्प्रेरणात्मक प्रक्रियाओं की आवश्यकता होती है।

एन्ज़ाइम और उनके जाइमोजेन्स के कुछ उदाहरण नीचे दिए गए हैं :

एन्ज़ाइम	पूर्ववर्ती	कार्य
ट्रिप्सिन	ट्रिप्सिनोजन	अग्नाशय का स्राव
काइमोट्रिप्सिन	काइमोट्रिप्सिनोजन	अग्नाशय का स्राव
कार्बोक्सिपेप्टिडेज	प्रोकार्बोक्सिपेप्टिडेज	अग्नाशय का स्राव
इलास्टेज	प्रोइलास्टेज	अग्नाशय का स्राव
फॉस्फेलाइपेज A2	प्रोफॉस्फोलाइपेज A2	अग्नाशय का स्राव
पेप्सिन	पेप्सिनोजेन	गैस्ट्रिक जूस में स्रावित (पीएच रेंज 1–5 में सबसे अधिक सक्रिय)

11.4 सारांश

- एन्ज़ाइम गतिक (Enzyme kinetics) एन्ज़ाइम उत्प्रेरित जैव रासायनिक अभिक्रियाओं का आधार है। इसलिए, इन जैविक प्रक्रियाओं को समझने के लिए एन्ज़ाइम गतिक की समझ महत्वपूर्ण है।

- गतिक एन्ज़ाइम के जटिल व्यवहार के लिए तर्क प्रदान करता है। यह तर्कसंगत सरल रासायनिक सिद्धांतों पर आधारित है।

- एकल सब्सट्रेट अभिक्रियाओं के लिए, एकाग्र E पर, बढ़ते हुए S के परिणामस्वरूप, बढ़ते उत्पाद का गठन एक स्तर पर पहुँचता है जहां उत्पाद का गठन अब ओर अधिक नहीं बढ़ता है। इस संतृप्ति से इस तथ्य को प्रतिबिंबित करने के लिए माना जाता है कि सभी E अब ES के रूप में हैं।

- माइकेलिस–मेन्टन द्वारा प्रस्तावित गतिक मॉडल ने माइकेलिस–मेन्टन समीकरण को प्राप्त करने के लिए संतुलित धारणा का उपयोग किया।

- संतुलित धारणा बाद में एक अधिक मान्य स्थिर अवस्था धारणा शुरू करने के लिए संशोधित की गई। माइकेलिस स्थिरांक (K_m) की परिभाषा को छोड़कर समीकरण समान रहता है। सब्सट्रेट सांद्रता, जिस पर वेग V_{max} (अधिकतम वेग) का आधा है, को माइकेलिस स्थिरांक (K_m) के रूप में जाना जाता है। यह स्थिरांक अपने सब्सट्रेट के लिए एन्ज़ाइम की आत्मीयता (affinity) के बारे में बताता है।

- माइकेलिस–मेन्टन समीकरण द्वारा प्राप्त v बनाम S का हाइपरबोलिक ग्राफ, V_{max} और K_m के सटीक मान को निर्धारित करने के लिए अपर्याप्त साबित हुआ। लाइनविवर और बर्क ने माइकेलिस–मेन्टन समीकरण को उलटा कर दोहरे पारस्परिक प्लॉट द्वारा समाधान दिया।

- नियामक एन्ज़ाइमों का उपयोग करके उपापचय मार्गो का तंग एकीकरण (Tight integration) संभव है। नियामक एन्ज़ाइम आमतौर पर उपापचय मार्गो में सबसे धीमी गति से चरण को उत्प्रेरित करते हैं। ये एन्ज़ाइम कोशिका के बाहरी वातावरण में कई बदलावों के बावजूद समस्थापन को बनाए रखते हैं।

- एन्ज़ाइम को एक जैव संश्लेषित मार्ग के अंतिम उत्पाद द्वारा विनियमित किया जा सकता है। अंतिम अंत उत्पाद उस मार्ग के पहले एन्ज़ाइम को एक ऐलोस्टेरिक साइट जो सक्रिय साइट से अलग है, से आबद्ध होकर रोकता है। पहले एन्ज़ाइम के ओलिगोमेरिक संरचना में एक अनुरूप परिवर्तन के परिणामस्वरूप अवरोध उत्पन्न होता है।

- एक अन्य प्रकार के विनियमन में, एन्ज़ाइम के अमीनो अम्ल श्रृंखला को उत्क्रमणीय रूप से संशोधित किया जाता है, मुख्य रूप से फास्फोरिलीकरण और विफास्फोरिलीकरण द्वारा। यह एक सक्रिय या निष्क्रिय एन्ज़ाइम बनाता है।

- अवरोधकों, ऐलोस्टेरिक और सहसंयोजक संशोधकों द्वारा एन्ज़ाइम गतिविधि के विनियमन का चिकित्सा और कृषि के क्षेत्र में व्यापक अनुप्रयोग हैं।

11.5 अंत में कुछ प्रश्न

1. एक एन्ज़ाइम–उत्प्रेरित अभिक्रिया की दर ES समष्टि की मात्रा के अनुपात में क्यों है?

2. v_o बनाम S ग्राफ में अधिकतम वेग V_{max} की व्याख्या करें?

3. माइकेलिस–मेन्टन समीकरण से दोहरे–पारस्परिक समीकरण प्राप्त करें और इसके महत्व को बताएं।

4. v_o बनाम S ग्राफ से K_m का मान कैसे प्राप्त किया जा सकता है जब v_o = 1/2 V_{max} होता है।

5. एन्ज़ाइम गतिविधि का ऐलोस्टेरिक विनियमन बताइए?

6. प्रोटियोलिटिक एन्ज़ाइम क्या हैं? उदाहरण दीजिये।

11.6 उत्तर

बोध प्रश्न

1. कम सब्सट्रेट सांद्रता पर, अभिक्रिया की समग्र दर उस दर से सीमित होगी जिस पर एन्ज़ाइम और सब्सट्रेट अणु एन्ज़ाइम–सब्सट्रेट समष्टि बनाने के लिए अभिक्रिया करते हैं। स्थिर एन्ज़ाइम सांद्रता पर अभिक्रिया की दर सब्सट्रेट सांद्रता (प्रथम–क्रम अभिक्रिया) के आनुपातिक होगी। हालांकि, उच्च सब्सट्रेट सांद्रता एन्ज़ाइम पर सब्सट्रेट के साथ संतृप्त किया जाएगा और इसलिए कोई स्वतंत्र एन्ज़ाइम उपलब्ध नहीं होगा। तो प्रतिक्रिया की समग्र दर सब्सट्रेट सांद्रता से स्वतंत्र होगी।

2. उच्च सब्सट्रेट सांद्रता पर S_o, $Km <<<< S_o$ (संख्यात्मक रूप से), इसलिए माइकेलिस–मेन्टन समीकरण में $K_m + S_o$ टर्म (term) S_o के बराबर हो जाता है। $v_o = (V_{max} S_o)/S_o$, और S_o समाप्त। इसलिए, उच्च S_o पर, $v_o = V_{max}$

3. क) सब्सट्रेट सांद्रता, ख) गलत, ग) रैखिक, घ) बराबर

4. क) गतिशील (dynamic), ख) ऐलोस्टेरिक, ग) सही, घ) उच्च।

अंत में कुछ प्रश्न

1. उत्पाद गठन एन्ज़ाइम उत्प्रेरित अभिक्रिया में ES समष्टि गठन के बाद होता है। एन्ज़ाइम E उत्पाद बनने से पहले सब्सट्रेट S से आबद्ध होता है। इसलिए, एन्ज़ाइम–उत्प्रेरित अभिक्रिया की दर ES की मात्रा के आनुपातिक है।

2. उच्च सब्सट्रेट सांद्रता पर, एन्ज़ाइम E सब्सट्रेट S से आबद्ध के लिए बाध्य होगा। इसलिए इन स्थितियों के तहत ES की अधिकतम मात्रा का गठन होता है। चूंकि अभिक्रिया दर ES की मात्रा के आनुपातिक है, इसलिए इन शर्तों के तहत दर अधिकतम मान पर होगी।

3. खंड 11.2.1 और 11.2.2 का संदर्भ लें।

4. जब $v_o = V_{max}/2$, then $V_{max}/2 = V_{max}.S/K_m + S$

   समाप्त करें V_{max},

   $1/2 = S/(K_m + S)$

   $K_m + S = 2S$

   or $K_m = S$ at $v_o = V_{max}/2$

5. ऐलोस्टेरिक नियंत्रण एन्ज़ाइम विनियमन के महत्वपूर्ण तंत्रों में से एक है। एक ऐलोस्टीयरिक एन्ज़ाइम में, सक्रिय साइट के अलावा अन्य साइट पर अणु के बंधन द्वारा एन्ज़ाइम की गतिविधि को नियंत्रित किया जाता है। इस दूसरी साइट को ऐलोस्टेरिक साइट के रूप में जाना जाता है। एक ऐलोस्टेरिक माडुलक (modulator) के बंधन से अनुरूप परिवर्तन होता है जिसके परिणामस्वरूप एन्ज़ाइम की उत्प्रेरक गतिविधि में परिवर्तन होता है। दो प्रकार के ऐलोस्टेरिक माडुलन–पॉजिटिव ऐलोस्टेरिक माडुलन हैं जब माडुलक को एन्ज़ाइम से बांधने पर अभिक्रिया की दर बढ़ जाती है। दूसरी ओर नकारात्मक ऐलोस्टेरिक माडुलक एन्ज़ाइम की गतिविधि को कम कर देता है (विवरण के लिए खंड 11.3, उपखंड –3 का संदर्भ लें)।

6. खंड 11.3, उपखंड –6 का संदर्भ लें।

अन्य संदर्भ पुस्तकें

1. David L. Nelson and Michael M. Cox: Lehninger Principles of Biochemistry6th Ed., W.H. Freeman.

2. Robert K. Murray, Daryl K. Granner, Victor W. Rodwell Harper's Illustrated Biochemistry, 27th edition. 2006, McGraw-Hill.

3. Donald J Voetand Judith G. Voet: Principles of Biochemistry 4th ed., John Wiley and Sons, Inc, USA.

4. Eric E Conn, Paul K Stumpf: Outlines of Biochemistry, John Wiley and Sons, Inc, USA.

5. S. Shanmugan and T. Sathishkumar: Enzyme Technology, I K International Publishing House Pvt Ltd, New Delhi.

6. Nicholas C Price and Lewis Stevens: Fundamentals of Enzymology, Oxford University Press, Oxford, New York, USA.