एंजाइम काइनेटिक्स और माकेलिस - मेनटेन समीकरण

ए. सरकार, डी. वशिष्ठ, एस. कैसरे और क्लासि डी. सिल्वा
समुद्री प्रदूषण और ईकोटोक्सिकोलोजि अनुसंधान समूह
राष्ट्रीय समुद्र विज्ञान संस्थान, दोना पावला - गोवा. ४०३ ००४

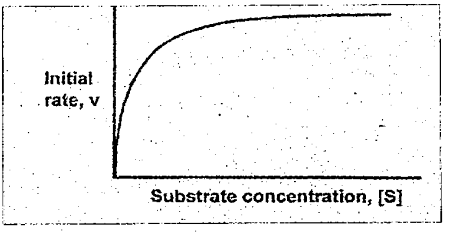
प्रासंगिकता

एंजाइम की गतिज का अभ्यास समुद्री प्रदूषण के मूल्यांकन के लिए बहुत महत्वपुर्ण है । विक्टर हेनरी द्वारा सब्स्ट्रेट और एंजाइम सान्द्रता के बीच इस आधुनिक संबंध का प्रस्ताव 1903 में किया गया था [१], उसके बाद 1913 में Leonor Michaelis और Maud Menten द्वारा एक सूक्ष्म व्याख्या का पहले कार्य के आधार पर, आर्कीबाल्ड विवियन हिल [२,३] द्वारा प्रस्ताव किया गया । यह अनुमान है कि एंजाइम (उत्प्रेरक) और सब्स्ट्रेट (reactant) दोनों अपने जटिल (complex) के साथ तेजी से संतुलन मे रहते हैं, जो वियोजन के बाद उत्पाद और मुक्त एंजाइम देता है ।

इस विश्लेषण में एंजाइम - उत्प्रेरित प्रतिक्रिया की दर में प्रयोगात्मक स्थिति के परिवर्तन (Enzyme Kinetics) के प्रभाव का अध्ययन किया गया है । Enzyme Kinetics, एंजाइम उत्प्रेरक गतिविधि की प्रक्रिया को समझने का उपयोगी उपकरण है [४] एंजाइम प्रतिक्रिया की प्रारंभिक दर पर सब्स्ट्रेट की सान्द्रता का प्रभाव एंजाइम काइनेटिक्स की केन्द्रीय संकल्पना है ।

जब प्रयोग से आंकडे उत्पन्न होते हैं और इस प्रकार के परिणाम को रेखांकित किया जाता है, आरंभिक दर (V, Y -अक्ष) बनाम सब्स्ट्रेट सान्द्रता ([S] *, X - अक्ष), तो एक आयतकार अतिशायोक्तिपूर्ण वक्र रेखा (hyperbolic curve) (जैसा की नीचे दिखाया गया है) उत्पन्न होता है जो कोई एंजाइम द्वारा दर्शाया जाता है ।

लेकिन सवाल यह है कि, १) क्यों एक वक्र इस आकार का पालन करना चाहिए २) और जो एक बीजीय समीकरण का उत्पत्ति करता है । माकेलिस-मेनटेन (Michaelis - Menten) समीकरण के उत्पन्न की व्याख्या करने के लिए कई आधुनिक तरीकें है, जिनमें से एक नीचे स्पष्ट किया गया है ।



चित्र - १ एंजाइम गतिज के ग्राफिक्स का प्रदर्शन

माकेलिस-मेनटेन समीकरण की व्युत्पत्ति

एंजाइम उत्प्रेरित उत्पादन योजना का सामान्यीकरण सब्स्ट्रेट (S) से एक उत्पाद (P) बनने से शुरू होता है । प्रतिक्रिया आरंभ करने के लिए एंजाइम (E) को सब्स्ट्रेट (S) के साथ भौतिक संपर्क स्थापित करना पड़ता है जिससे [ES] को कोम्पलेक्स (complex) बनता है । Michaelis और Menten द्वारा निर्धारित योजना निम्नलिखित है ।

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

इसमें k1, k2 और के - 1 क्रमशः एंजाइम और सब्स्ट्रेट के वियोजन, एंजाइम से अपरिवर्तित सब्स्ट्रेट वियोजन और उत्पाद के कारण वियोजन (परिवर्तित सब्स्ट्रेट) की दर constant है ।

सैध्दांतिक विपरीत प्रतिक्रिया की संभावना, E और P से ES जटिल (complex) बनना, भी उल्लेखनीय है ।

लेकिन, इसे अनदेखा किया जा सकता हैं, क्योंकि, हम एक प्रारं भिक प्रतिक्रिया की दर को मानते है, यानी जब एंजाइम सब्स्ट्रट के साथ पहले प्रादान होता है इसलिए कोइ भी उत्पाद एंजाइम के साथ गठबंधन के लिए उपलब्ध नहीं होना चाहिए ।

समग्र प्रतिक्रिया की दर (V), प्रतिक्रिया ES से E + P बनने तक ही सीमित है और यह दो कारणों पर निर्भर करती है - उस प्रतिक्रिया की दर (K_2) और उस एंजाइम की सान्द्रता जो सब्स्ट्रेट से बाध्य है, यानी [ES] । यह निम्नलिखित समीकरण से स्पष्ट किया जा सकता है :

$$\boxed{v = k_2[ES]} \qquad \text{(Equation 1)}$$

इस समय यह महत्वपूर्ण है कि आपका ध्यान उन दो धारणाओं की तरफ आकर्षित किया जाये जो इस योजना में गए हैं । पहला यह है कि अधिकतम मात्रा में सब्स्ट्रेट की उपलब्धता, ताकि [S] >> [E] । दूसरा, यह मान लिया जाता है कि, यह प्रणाली निरतर स्थिति में है, यानी परिसर कागठन और वियोजन एक ही दर पर होता हैं, जिससे समग्र [ES] एक समान रहता हैं ।

$$k_1[E]\,[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

अगला कदम इस समीकरण का पुनर्न्यास हैं । सबसे पहले हम सभी दर निरन्तर को एक साथ एकत्रित करके दाएँ हाथ की ओर ले जा सकता है क्योंकि वे दोनों [ES] द्वारा गुणा किया गया है :

$$k_1[E]\,[S] = (k_{-1} + k_2)[ES]$$

इसके बाद दोनों तरफ $(K_{-1} + K_2)$ द्वारा विभाजित करने पर :

$$\frac{k_1[E][S]}{(k_{-1} + k_2)} = [ES]$$

अब यह देखा जा सकता है कि तीन दर निरन्तर समीकरण के एक ही पक्ष में है । जैसा कि, नाम से समझ आता है, कि यह तीन निरन्तर हैं, इसलिए हम उनको एक शब्द में रुपान्तर कर सकते है । यह नया निरन्तर, माकेलिस निरन्तर (Michaelis-Menten constant) कहलाता है, जिसे K_M लिखा जाता है ।

$$\frac{(k_{-1} + k_2)}{k_1} = K_M$$

यह ध्यान दें कि, ये तीन निरन्तर दर, K_M की परिभाषा में वास्तव में पिछले समीकरण की तुलना में विपरीत है । K_M की इस परिभाषा के पिछले समीकरण मे प्रतिस्थापना करने पर :

$$\boxed{\frac{[E][S]}{K_M}} = [ES] \qquad \text{(Equation 2)}$$

वास्तव में पूरे प्रयोग में एंजाइम की राशि एक ही होना आवश्यक है, लेकिन वह या तो मुक्त [E] (बिना किसी बंधन) के या सब्स्ट्रेट [S] के साथ बंधन में [ES] । यदि कुल एंजाइम E_0 है, तो यह संबंध लिखा जा सकता है :

$$[E_0] = [E] + [ES]$$

दोनों पक्षों से [ES] घटाने पर :

$$[E] = [E_0] - [ES]$$

इसलिए, मुक्त एंजाइम [E] की कुल राशि, सब्स्ट्रेट बाध्य एंजाइम राशि को घटाने से मिलती है । इस परिबाषा को वापिस समीकरण 2 में प्रतिस्थापन करने पर :

$$\frac{([E_0] - [ES])[S]}{K_M} = [ES]$$

यह अब कई तरह से पुनर्व्यवथित किया जा सकता है । इस लिंए सबसे पहलें, वर्ग को खोलने की जरूरत है ताकि $[E_0]$ और [ES] को अलग से [S] द्वारा गुणा किया जा सके ।

इसके बाद, प्रत्येक पक्ष को K_M द्वारा गुणा, करने पर :

$$[E_0][S]-[ES][S]=K_M[ES]$$

अब दोनों [ES] पदों को एक साथ एकत्र करके लिखने पर :

$$[E_0][S] = K_M[ES]+[ES][S]$$

अब क्योंकि दाएँ हाथ की ओर [ES] दोनों पदों से गुणा हैं, हम उसे एक साथ एकत्रित कर एक ही वर्ग के अन्दर रख सकते है :

$$[E_0][S] = (K_M+[S])[ES]$$

दोनों पक्षों को (K_M + [S]) द्वारा विभाजित करने पर :

$$\frac{[E_0][S]}{[S] + K_M} = [ES]$$

इस बाँयी ओर के पद को समीकरण १ में [ES] के स्थान पर प्रतिस्थापना करने पर :

$$v = k_2 \frac{[E_0][S]}{[S] + K_M}$$

अधिकतम दर, V_{max} तभी प्राप्त होगी जब सभी एंजाइम के अणु सब्स्ट्रेट के साथ बाँधा हुआ है। उन परिस्थितियों में जब [E] के तुलना में [S] की मात्रा अधिक से अधिक हो, अर्थात यह मान लेना उचित होगा कि सभी S, ES के रूप में रूपान्तरित हो गया है। इसलिए $[E_0]$ = [ES] है। समीकरण 1 को पुनः देखने पर हम V के विकल्प स्वरुप V_{max} और $[E_0]$ के स्थान पर [ES] लिख सकते हैं।

$$V_{max} = k_2[E_0]$$

हमारे पिछले समीकरण में K2 [E0] मौजूद था, इसलिए हम इसे V_{max} के साथ प्रतिस्थापित की सकते है, जिससे अंतिम समीकरण इस प्रकार होगी :

$$V = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

इस अंतिम समीकरण को माकेलिस-मेनटेन (Machaelis- Menten) समीकरण कहा जाता है।

स्पष्टीकरण

शायद यह व्युत्पत्ति अबी भी Machaelis - Menten समीकरण के महत्व के बारे में उलझन रखती है । यह उन परिस्थितियों से स्पष्ट होता है जब प्रतिक्रिया की दर (V) ठीक अधिकतम दर (V_{max}) की आधी होती है । तब मावेकेलिस-मेनटेन (Machaelis - Menten) समीकरण कुछ इस तरह से लिखा जा सकता है :

$$\frac{V_{max}}{2} = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

दोनों पक्षों को V_{max} द्वारा विभाजित करने पर :

$$\frac{1}{2} = \frac{[S]}{K_M + [S]}$$

दोनों पक्षों को (KM + [S]) द्वारा गुणा करने पर :

$$\frac{K_M + [S]}{2} = [S]$$

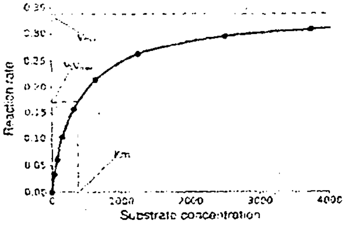
और फिर समीकरण को आगे हल करने के लिए दोनों पक्षों को 2 द्वारा गुणा करने पर :

$$K_M + [S] = 2[S]$$

दाहिने तरफ पर 2[S] पद वास्तव में [S] + [S] के समान है, इसलिए हम एक [S] पद को प्रत्येक पक्ष से हटा सकते हैं । इस प्रकार जब प्रतिकिया की दर अधिकतम दर की आधी के समान है :

$$K_M = [S]$$

इसलिए एक एंजाइम की E_0 सब्स्ट्रेट की वह सान्द्रता के बराबर है, जिस पर प्रतिक्रिया की दर अधिकतम दर की आधी होती है । यदि अब हम उस ग्राफ पर पुनर्विचार करे जो इस अध्याय के प्रारंभ में बताया गया था, तो यह निम्नलिखित रूप में लिखा जा सकता है ।:

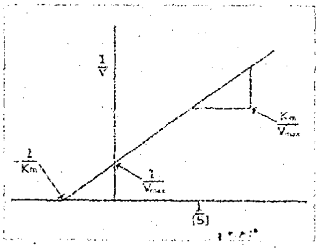


चित्र - २ इस चित्र में एंजाइम में एंजाइम की संतृप्तता की वक्र रेखा, सब्स्ट्रेट की सान्द्रता और प्रतिक्रिया की दर के बीच संबंध, को प्रदर्शन कर रहे है ।

भौतिक दृष्टी से इस सबका क्या मतलब है? K_M एंजाइम का सब्स्ट्रेट की तरफ आकर्षण का संकेत है अतः एंजाइम और सब्स्ट्रेट का जटिल संयोजन की स्थिरता।

ग्राफ के आकार को देखिए। सब्स्ट्रेट [S] की उपलब्धता कम होने पर वह दीमित कारक होता है। इसलिए थोड़ा सा सब्स्ट्रेट डालने पर प्रारंभिक प्रतिक्रिया की दर में अधिक तेजी से वृध्दि होती है। वास्तव में K_M का अर्थ है, पचास प्रतिशत सक्रिय साइटों का सब्स्ट्रेट बाध्य होना। जब सब्स्ट्रेट की अधिकता होती है, तब एक ऐसा बिन्दु मिलता है (सैध्दंतिक) जहाँ सभी एंजाइम स्ब्स्ट्रेट के साथ बाध्य होते है और प्रतिक्रिया में और अधिक सब्स्ट्रेट डालने पर प्रतिक्रिया की दर में कोई वृध्दि नकीं होती है। फिर भी इस प्रकार का ग्राफ, जो मावेकेलिस (Michaelis) ग्रफिक के नाम से जाना जाता है, की कुछ मात्रात्मक व्याख्या (यानी संख्यात्मक) सीमा हैं। वास्तव में यह V_{max} कभी पहुंचता नहीं है इसलिए ग्राफ से V_{max} और K_M की कुछ अनुमानित की मिलती है।

डेटा को रैखिक Lineweaver - Burk ग्राफिक में बदलना, V_{max} और K_M निर्धारित करने के लिए एक उचित तरीका है। (हालाँकि अभी भी पूर्ण नहीं है)।



Lineweaver - Burk ग्राफ

यदि संयोगवश, हम मानते है कि प्रारंभिक योजना के अन्तर, ES से E+P में रूपान्तरण के लिए दर निरन्तर (K_2) समग्र उत्पादन P को निर्धारित करता है (जैसे हमारे पास मावेकेलिस-मेनटेन (Macaelis - Menten) समीकरण व्युत्पत्ति के रूप में है।)

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

संदर्भ

१. Victor Henri. Lois Generales de l'Action des Diastases. Paris, Hermann, 1903.

२. Leonor Michaelis, Maud Menten (1913). die Kinetic der Invetinwirkung, Biochem. Z. 49:333-369.

३. G. E. Briggs and J. B. S. Haldane (1925) A note on the kinetics of enzyme action, Biochem, J., 19,339-339.

४. Nelson, DL., Cox, MM. (2000) lehninger Principles of Biochemistery, 3rd Ed., Worth Publishers, USA.