

Enzimler

Prof. Dr. Bektaş TEPE

Biyokimya

Bölüm 6



Enzimler ve Yaşamın Temel Gereksinimleri

- Yaşamın sürdürülebilmesi için organizmanın kendini çoğaltabilmesi ve kimyasal reaksiyonları verimli ve seçici biçimde katalizleyebilmesi gerekir.
- Canlı hücrelerdeki pek çok kimyasal reaksiyon, katalizör olmadan biyolojik gereksinimleri karşılayamayacak kadar yavaş gerçekleşir.
- Enzimler, biyolojik sistemlerde reaksiyon hızlarını olağanüstü ölçüde artıran yüksek düzeyde özelleşmiş proteinlerdir.
- Enzimlerin katalitik gücü çoğu zaman sentetik veya inorganik katalizörlerden çok daha yüksektir.





Enzimlerin Biyolojik Önemi

- Enzimler substratlarına karşı yüksek özgüllük gösterir ve kimyasal reaksiyonları çok yüksek hızlarda gerçekleştirebilir.
- Enzimatik reaksiyonlar, çoğunlukla hücresel ortamın ılımlı sıcaklık ve pH koşullarında gerçekleşir.
- Hücrelerde yüzlerce reaksiyonun düzenli diziler hâlinde ilerlemesi, besinlerin parçalanmasını ve kimyasal enerjinin kullanılabilir hâle gelmesini sağlar.
- Enzimler aynı zamanda basit öncüllerden biyolojik makromoleküllerin sentezlenmesine olanak sağlar.





Enzimlerin Tıp ve Biyoteknolojideki Önemi

- Kalıtsal genetik hastalıklarda belirli bir enzimin eksikliği veya tamamen bulunmaması önemli klinik sonuçlara yol açabilir.
- Bazı hastalıklarda ise bir veya daha fazla enzimin aşırı aktivitesi görülebilir.
- Kan plazması, eritrositler veya doku örneklerindeki enzim aktivitelerinin ölçülmesi bazı hastalıkların tanısında önem taşır.
- Enzimler ilaçların başlıca etki hedefleri arasında yer alırken kimya mühendisliği, gıda teknolojisi ve tarımda da önemli uygulamalara sahiptir.





Enzim Araştırmalarının Tarihsel Gelişimi

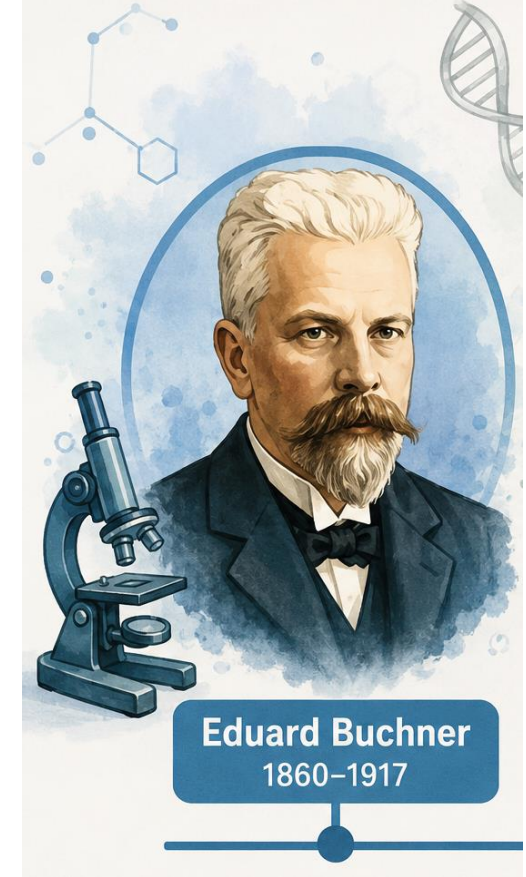
- Biyolojik katalizin bilimsel olarak incelenmesi, 1700'lü yılların sonlarında etin mide salgıları tarafından sindirilmesinin araştırılmasıyla başlar.
- 1800'lü yıllarda nişastanın tükürük ve çeşitli bitki özütleri tarafından şekere dönüştürülmesi üzerine çalışmalar sürdürülür.
- Louis Pasteur, maya tarafından gerçekleştirilen şekerin alkole fermantasyonunun “fermentler” olarak adlandırdığı yapılar tarafından katalizlendiğini ileri sürer.
- Pasteur bu fermentlerin canlı maya hücrelerinin yapısından ayıramayacağını düşünür.





Buchner ve Hücre Dışı Kataliz

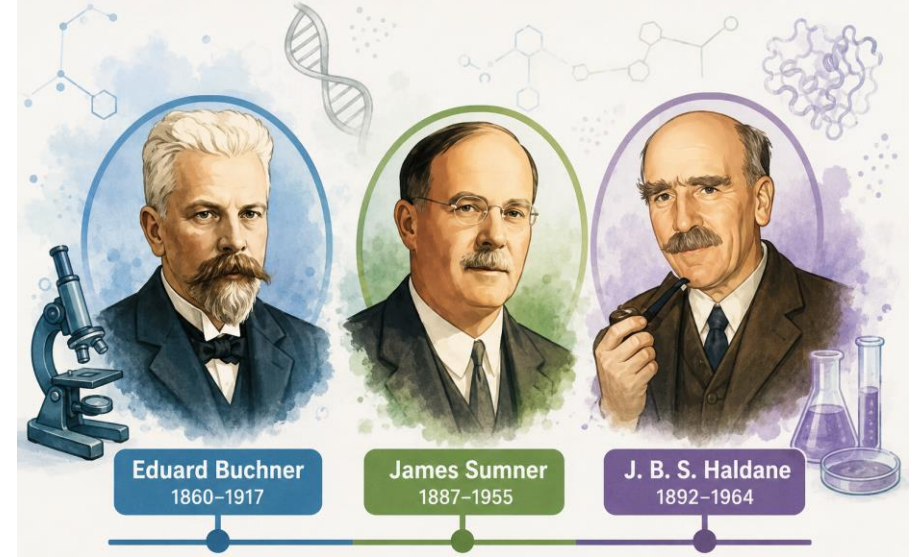
- Eduard Buchner 1897'de maya özütlerinin, canlı maya hücreleri ortamda bulunmasa bile şekeri alkole fermente edebildiğini gösterir.
- Bu bulgu, fermentasyonda görev alan katalitik yapıların hücreden ayrıldıktan sonra da işlev görebildiğini ortaya koyar.
- Buchner'in çalışmaları biyokimya biliminin gelişiminde önemli bir dönüm noktası oluşturur.
- Frederick W. Kühne daha önce bu molekülleri tanımlamak için “enzim” terimini kullanmıştır.





Enzimlerin Protein Yapısının Ortaya Konması

- James Sumner 1926'da üreaz enzimini izole edip kristalleştirerek enzimlerin yapısının anlaşılmasında önemli bir ilerleme sağlar.
- Sumner, üreaz kristallerinin tamamen proteinden oluştuğunu ve enzimlerin protein yapısında olduğunu ileri sürer.
- John Northrop ve Moses Kunitz'in pepsin, tripsin ve diğer sindirim enzimlerini kristalleştirmesi bu görüşü destekler.
- J. B. S. Haldane ise enzim ile substrat arasındaki zayıf bağlanma etkileşimlerinin katalitik süreçte kullanılabileceğini öne sürer.





Enzimlerin Protein Yapısı ve Katalitik Aktivite

- Küçük bir katalitik RNA grubu dışında bilinen enzimlerin tamamı proteindir.
- Enzimlerin katalitik aktivitesi, doğal protein konformasyonlarının bütünlüğüne bağlıdır.
- Bir enzim denatüre olduğunda veya alt birimlerine ayrıldığında katalitik aktivitesi genellikle kaybolur.
- Protein yapısının birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül düzeyleri enzimlerin katalitik işlevleri açısından önem taşır.





Enzimlerin Moleküler Büyüklüğü ve Yardımcı Bileşenleri

- Enzimler diğer proteinler gibi yaklaşık 12.000'den 1 milyonun üzerine kadar değişebilen moleküler ağırlıklara sahip olabilir.
- Bazı enzimler aktivite için kendi amino asit kalıntıları dışında herhangi bir kimyasal gruba ihtiyaç duymaz.
- Bazı enzimlerin aktivitesi ise Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} veya Zn^{2+} gibi inorganik iyonlara bağlıdır.
- Enzimlere yardımcı olan bu inorganik iyonlar kofaktör olarak adlandırılır ve örnekleri yandaki tabloda verilmiştir.

	Enzimler İçin Ko-Faktör Olarak Görev Yapan Bazı İnorganik İyonlar
İyonlar	Enzimler
Cu^{2+}	Sitokrom oksidaz
Fe^{2+} veya Fe^{3+}	Sitokrom oksidaz, katalaz, peroksidaz
K^{+}	Piruvat kinaz
Mg^{2+}	Heksokinaz, glukoz 6-fosfataz, piruvat kinaz
Mn^{2+}	Arjinaz, ribonükleotid redüktaz
Mo	Dinitrogenaz
Ni^{2+}	Üreaz
Se	Glutasyon peroksidaz
Zn^{2+}	Karbonik anhidraz, alkol dehidrogenaz, karboksipeptidazlar A ve B





Enzimlerde Kofaktör Olarak Görev Yapan İyonlar

- Yandaki tablo, farklı enzimlerin aktivitesinde kofaktör olarak görev yapan çeşitli inorganik iyonları göstermektedir.
- Cu^{2+} sitokrom oksidazda; Fe^{2+} veya Fe^{3+} ise sitokrom oksidaz, katalaz ve peroksidazlarda görev alır.
- K^+ pirüvat kinazla, Mg^{2+} ise heksokinaz, glukoz 6-fosfataz ve pirüvat kinazla ilişkilidir.
- Mn^{2+} , Mo, Ni^{2+} , Se ve Zn^{2+} gibi iyonların görev aldığı diğer enzim örnekleri de tabloda sunulmuştur.

Enzimler İçin Ko-Faktör Olarak Görev Yapan Bazı İnorganik İyonlar	
İyonlar	Enzimler
Cu^{2+}	Sitokrom oksidaz
Fe^{2+} veya Fe^{3+}	Sitokrom oksidaz, katalaz, peroksidaz
K^+	Piruvat kinaz
Mg^{2+}	Heksokinaz, glukoz 6-fosfataz, piruvat kinaz
Mn^{2+}	Arjinaz, ribonükleotid redüktaz
Mo	Dinitrogenaz
Ni^{2+}	Üreaz
Se	Glutasyon peroksidaz
Zn^{2+}	Karbonik anhidraz, alkol dehidrogenaz, karboksipeptidazlar A ve B





Koenzimler ve Taşıdıkları Kimyasal Gruplar

- Bazı enzimler aktivite için koenzim olarak adlandırılan karmaşık organik veya metalloorganik moleküllere ihtiyaç duyar.
- Koenzimler enzimatik reaksiyonlar sırasında belirli fonksiyonel grupların geçici taşıyıcıları olarak görev yapar.
- Koenzimlerin büyük bölümü vitaminlerden türetilir ve beslenmeyle küçük miktarlarda alınması gereken organik bileşiklerle ilişkilidir.
- Başlıca koenzimler, taşıdıkları kimyasal gruplar ve memelilerdeki öncülleri yandaki tabloda verilmiştir.

Belirli Atomların veya Fonksiyonel Grupların Geçici Taşıyıcısı Olarak Görev Yapan Bazı Koenzimler		
Koenzim	Aktarılan kimyasal grup(lar)a örnekler	Memelilerdeki diyet kaynağı (öncül madde)
Biyositin	CO ₂ (karbondioksit)	Biyotin
Koenzim A	Açıl grupları	Pantotenik asit ve diğer bileşikler
5'-Deoksiadenosilkobalamin (koenzim B ₁₂)	H atomları ve alkil grupları	Vitamin B ₁₂
Flavin adenin dinükleotid (FAD)	Elektronlar	Riboflavin (vitamin B ₂)
Lipoat (lipoik asit)	Elektronlar ve açıl grupları	Diyetle alınması gerekmez
Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD ⁺)	Hidrit iyonu (:H ⁻)	Nikotinik asit (niasin)
Piridoksal fosfat (PLP)	Amino grupları	Piridoksin (vitamin B ₆)
Tetrahidrofolat (THF)	Tek karbonlu gruplar	Folat
Tiamin pirofosfat (TPP)	Aldehit grupları	Tiamin (vitamin B ₁)





Başlıca Koenzimlerin İşlevleri

- Yandaki tabloda biyositin CO₂, koenzim A'nın ise açıl gruplarının taşınmasında görev aldığı görülmektedir.
- 5'-Deoksiadenosilkobalamin H atomları ve alkil gruplarını, FAD ise elektronları taşır.
- Lipoat elektron ve açıl gruplarının; NAD⁺ ise hidrit iyonunun taşınmasında görev yapar.
- Piridoksal fosfat, tetrahidrofolat ve tiamin pirofosfat sırasıyla amino, tek karbonlu ve aldehit gruplarının taşınmasıyla ilişkilidir.

Belirli Atomların veya Fonksiyonel Grupların Geçici Taşıyıcısı Olarak Görev Yapan Bazı Koenzimler		
Koenzim	Aktarılan kimyasal grup(lar)a örnekler	Memelilerdeki diyet kaynağı (öncül madde)
Biyositin	CO ₂ (karbondioksit)	Biyotin
Koenzim A	Açıl grupları	Pantotenik asit ve diğer bileşikler
5'-Deoksiadenosilkobalamin (koenzim B ₁₂)	H atomları ve alkil grupları	Vitamin B ₁₂
Flavin adenin dinükleotid (FAD)	Elektronlar	Riboflavin (vitamin B ₂)
Lipoat (lipoik asit)	Elektronlar ve açıl grupları	Diyetle alınması gerekmez
Nikotinamid adenin dinükleotid (NAD ⁺)	Hidrit iyonu (:H ⁻)	Nikotinik asit (niasin)
Piridoksal fosfat (PLP)	Amino grupları	Piridoksin (vitamin B ₆)
Tetrahidrofolat (THF)	Tek karbonlu gruplar	Folat
Tiamin pirofosfat (TPP)	Aldehit grupları	Tiamin (vitamin B ₁)





Prostetik Grup, Holoenzim ve Apoenzim

- Bazı enzimler aktivite için hem koenzime hem de bir veya daha fazla metal iyonuna ihtiyaç duyabilir.
- Enzim proteinine çok sıkı veya kovalent biçimde bağlanan koenzim ya da metal iyonu prostetik grup olarak adlandırılır.
- Katalitik olarak aktif enzim ile bağlı koenzim veya metal iyonlarının oluşturduğu tam yapı holoenzim olarak tanımlanır.
- Proteinden oluşan enzim kısmı ise apoenzim veya apoprotein olarak adlandırılır.





Enzim Aktivitesinin Düzenlenmesi

- Bazı enzim proteinleri fosforilasyon, glikozilasyon ve benzeri süreçlerle kovalent olarak değiştirilebilir.
- Bu tür yapısal değişikliklerin birçoğu enzim aktivitesinin düzenlenmesinde görev alır.
- Enzimlerin katalitik işlevi yalnızca protein yapısına değil, gerekli yardımcı bileşenlerin varlığına da bağlı olabilir.





Enzimlerin Adlandırılması

- Birçok enzim, substratının veya katalizlediği reaksiyonun adına “-az” eki eklenerek adlandırılır.
- Üreaz ürenin hidrolizini, DNA polimeraz ise DNA oluşturmak üzere nükleotidlerin polimerizasyonunu katalizler.
- Tripsin ve pepsin gibi bazı enzimlerin adları ise katalizledikleri özgül reaksiyonlar bilinmeden önce verilmiştir.
- Aynı enzimin birden fazla ad taşıması veya farklı enzimlerin aynı adla anılması sistematik bir sınıflandırmayı gerekli kılmıştır.



Enzimlerin Uluslararası Sınıflandırılması

- Uluslararası bir sistem enzimleri katalizledikleri reaksiyon tipine göre altı temel sınıfa ayırır.
- Bu sınıflar oksidoredüktazlar, transferazlar, hidrolazlar, liyazlar, izomerazlar ve ligazlardan oluşur.
- Her sınıf, katalizlenen reaksiyonun daha ayrıntılı özelliklerine göre alt sınıflara ayrılır.
- Altı temel enzim sınıfı ve katalizledikleri reaksiyon türleri yandaki tabloda sunulmuştur.

Enzimlerin Uluslararası Sınıflandırması		
Sınıf no.	Sınıf adı	Katalizlenen reaksiyon tipi
1	Oksidoredüktazlar	Elektron transferi (hidrit iyonları veya H atomları)
2	Transferazlar	Grup transferi reaksiyonları
3	Hidrolazlar	Hidroliz reaksiyonları (fonksiyonel grupların suya transferi)
4	Liyazlar	Çift bağlara grup eklenmesi veya grupların uzaklaştırılmasıyla çift bağ oluşumu
5	İzomerazlar	İzomerik formlar elde etmek üzere moleküller içinde grup transferi
6	Ligazlar	ATP'nin veya benzer bir kofaktörün hidrolizi ile eşleşmiş kondensasyon reaksiyonları yoluyla C—C, C—S, C—O ve C—N bağlarının oluşumu





Altı Temel Enzim Sınıfı

- Yandaki tabloya göre oksidoredüktazlar elektron transferini, transferazlar ise fonksiyonel grup transferini katalizler.
- Hidrolazlar hidroliz reaksiyonlarını gerçekleştirirken liyazlar çift bağlara grup eklenmesini veya grup uzaklaştırılmasıyla çift bağ oluşmasını katalizler.
- İzomerazlar molekül içindeki grupların yeniden düzenlenerek izomerik yapıların oluşmasını sağlar.
- Ligazlar ATP veya benzeri bir kofaktörün parçalanmasıyla eşleşmiş kondensasyon reaksiyonlarında çeşitli bağların oluşumunu katalizler.

Enzimlerin Uluslararası Sınıflandırması		
Sınıf no.	Sınıf adı	Katalizlenen reaksiyon tipi
1	Oksidoredüktazlar	Elektron transferi (hidrit iyonları veya H atomları)
2	Transferazlar	Grup transferi reaksiyonları
3	Hidrolazlar	Hidroliz reaksiyonları (fonksiyonel grupların suya transferi)
4	Liyazlar	Çift bağlara grup eklenmesi veya grupların uzaklaştırılmasıyla çift bağ oluşumu
5	İzomerazlar	İzomerik formlar elde etmek üzere moleküller içinde grup transferi
6	Ligazlar	ATP'nin veya benzer bir kofaktörün hidrolizi ile eşleşmiş kondensasyon reaksiyonları yoluyla C—C, C—S, C—O ve C—N bağlarının oluşumu





Enzimlerin EC Numaraları

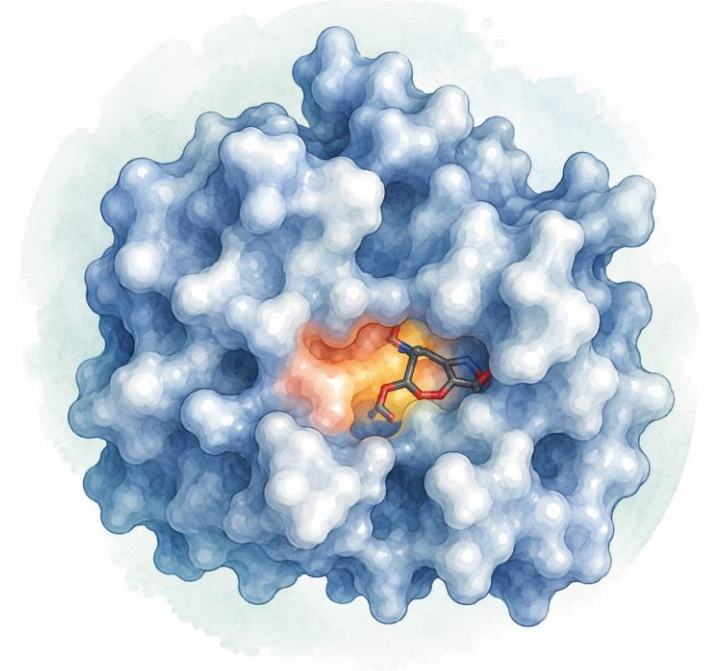
- Her enzime reaksiyon sınıflandırmasını yansıtan dört bölümlü bir sınıflandırma numarası ve sistematik bir ad verilir.
- $\text{ATP} + \text{D-glukoz} \rightarrow \text{ADP} + \text{D-glukoz 6-fosfat}$ reaksiyonunu katalizleyen enzim ATP:glukoz fosfotransferazdır.
- Bu enzimin EC 2.7.1.1 numarasındaki ilk sayı transferaz sınıfını, ikinci sayı fosfotransferazları ve üçüncü sayı hidroksil grubunun alıcı olduğunu belirtir.
- Dördüncü sayı enzimin kendi alt sınıfındaki özgül konumunu belirtirken enzimin yaygın adı heksokinazdır.





Enzim–Substrat Etkileşimi ve Aktif Bölge

- Enzimlerin katalitik özellikleri, substratın enzimin belirli bir bölgesine bağlanmasıyla yakından ilişkilidir.
- Yandaki figürde kimotripsin enziminin yüzeyine bağlanmış bir substrat ve aktif bölgedeki bazı amino asit kalıntıları gösterilmektedir.
- Substrat aktif bölgeye bağlanırken enzimin belirli amino asit kalıntılarıyla etkileşime girer.
- Enzimlerin katalitik mekanizmalarının anlaşılması, bu özgül moleküler etkileşimlerin incelenmesine dayanır.





Enzimler Nasıl Çalışır?

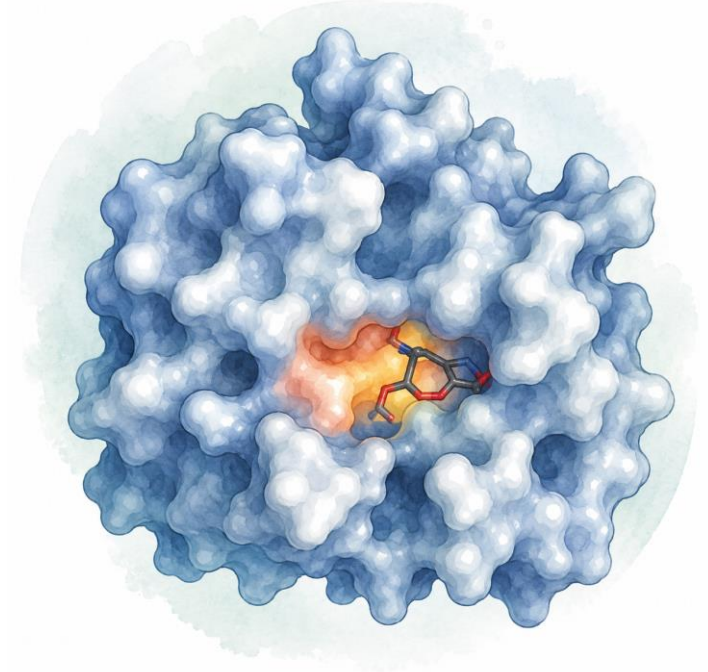
- Hücresel koşullarda birçok biyolojik reaksiyon kendiliğinden gerçekleşemeyecek kadar yavaş ilerler.
- Bunun önemli nedenlerinden biri, reaksiyon sırasında kararsız yüklü ara ürünlerin veya geçici moleküler düzenlenmelerin oluşmasıdır.
- Enzimler, belirli bir reaksiyonun daha hızlı gerçekleşebileceği özgül bir ortam sağlayarak bu kinetik engellerin aşılmasını sağlar.
- Enzim–substrat kompleksinin oluşması, enzimatik katalizin anlaşılmasında temel başlangıç noktasıdır.





Aktif Bölge ve Enzim–Substrat Kompleksi

- Enzim molekülündeki özel bir cep veya yarık, aktif bölge olarak adlandırılır.
- Aktif bölgeye bağlanan ve enzimin etki ettiği molekül substrat olarak tanımlanır.
- Aktif bölgedeki amino asit kalıntıları substratla etkileşir ve onun kimyasal dönüşümünü katalizler.
- Aktif bölgenin substratı çevrelemesiyle oluşan enzim–substrat kompleksi, enzimatik reaksiyonun temel basamaklarından biridir.





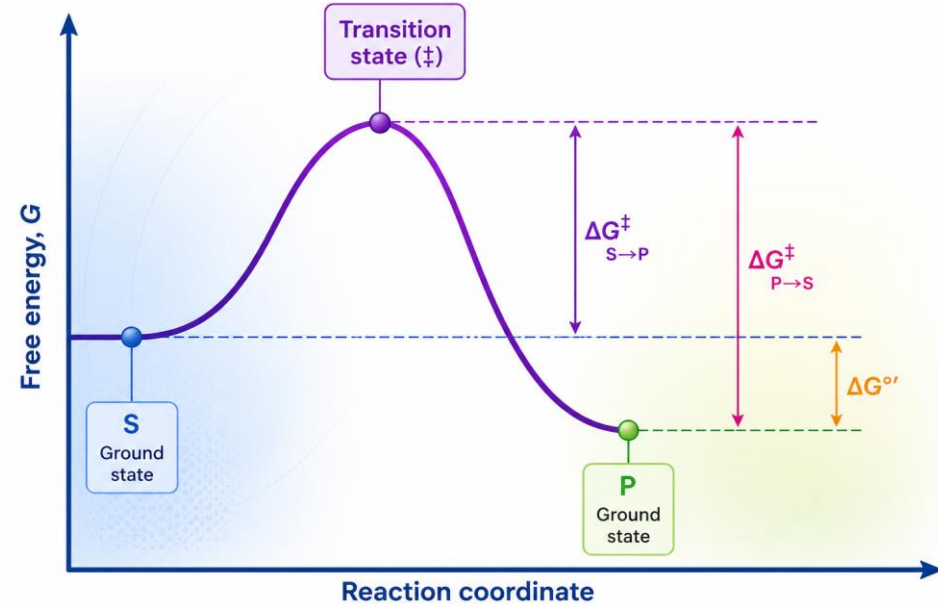
Enzimler Reaksiyon Hızını Değiştirir

- Basit bir enzimatik reaksiyon $E + S \rightleftharpoons ES \rightleftharpoons EP \rightleftharpoons E + P$ biçiminde gösterilebilir.
- Burada E enzimi, S substratı, P ürünü; ES ve EP ise enzimin substrat ve ürünle oluşturduğu geçici kompleksleri temsil eder.
- Bir katalizörün temel işlevi reaksiyonun hızını artırmaktır.
- Enzimler reaksiyon hızını değiştirirken reaksiyonun denge konumunu değiştirmez.



Serbest Enerji ve Reaksiyon Koordinatı

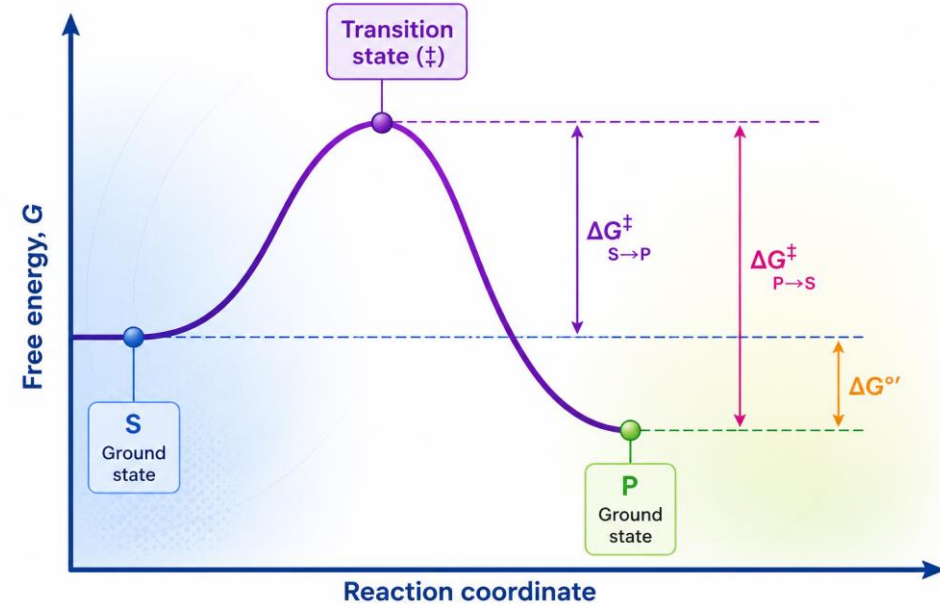
- Bir reaksiyonun enerji değişimleri, serbest enerjinin reaksiyonun ilerleyişine karşı çizildiği reaksiyon koordinatı diyagramıyla açıklanabilir.
- Başlangıçtaki substrat ve son durumdaki ürün, belirli koşullarda kendi temel durumlarında bulunur.
- Substrat ile ürünün temel durumları arasındaki serbest enerji farkı, reaksiyonun standart serbest enerji değişimiyle ilişkilidir.
- Bu enerji ilişkileri ve geçiş durumu yandaki figürde reaksiyon koordinatı üzerinde gösterilmektedir.





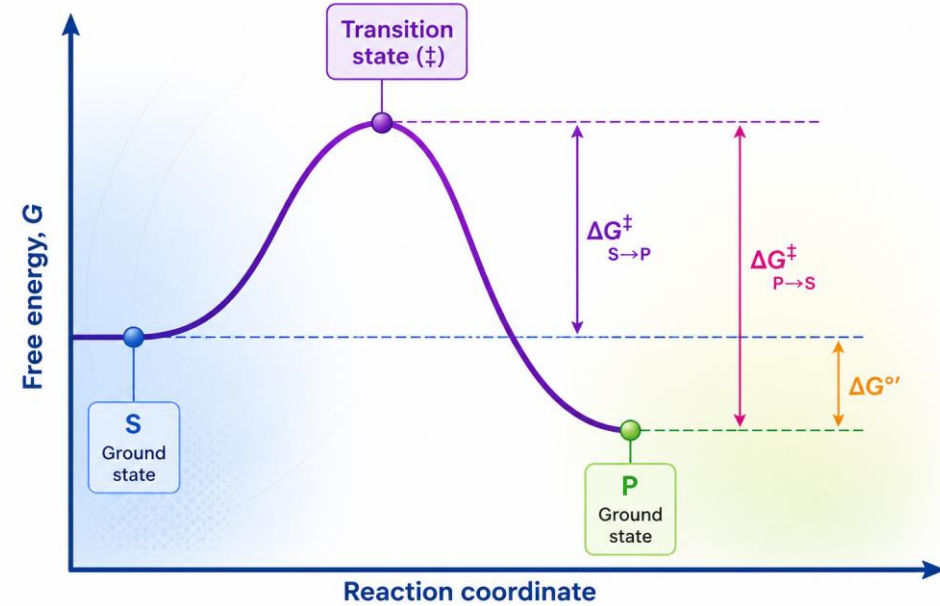
$\Delta G^{\circ'}$ ve Kimyasal Denge

- Biyokimyasal reaksiyonlarda standart serbest enerji değişimi genellikle $\Delta G^{\circ'}$ ile ifade edilir.
- $\Delta G^{\circ'}$, biyokimyasal sistemler için standart koşulların yanı sıra pH 7 koşulunu da dikkate alır.
- S ve P arasındaki denge, bu iki temel durumun serbest enerjileri arasındaki farkı yansıtır.
- $\Delta G^{\circ'}$ değeri negatif olduğunda $S \rightarrow P$ reaksiyonu termodinamik açıdan elverişlidir ancak bu durum reaksiyonun mutlaka hızlı gerçekleşeceği anlamına gelmez.



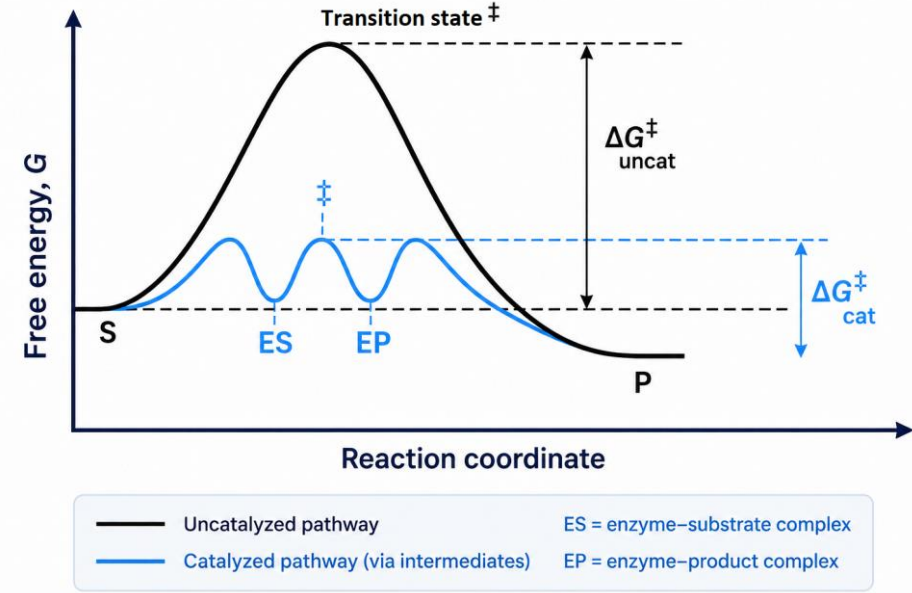
Geçiş Durumu ve Aktivasyon Enerjisi

- Substratın ürüne dönüşebilmesi için temel durum ile ürün arasında bulunan bir enerji bariyerinin aşılması gerekir.
- Enerji bariyerinin en yüksek noktasında reaksiyona giren molekülün parçalanma veya ürüne dönüşme olasılıkları eşittir.
- Bu yüksek enerjili durum geçiş durumu, temel durum ile geçiş durumu arasındaki enerji farkı ise aktivasyon enerjisi $\Delta G^\ddagger$ olarak adlandırılır.
- Aktivasyon enerjisi yükseldikçe reaksiyon yavaşlar; sıcaklık veya basınç artışı ise yeterli enerjiye sahip molekül sayısını artırabilir.



Enzimler Aktivasyon Enerjisini Düşürür

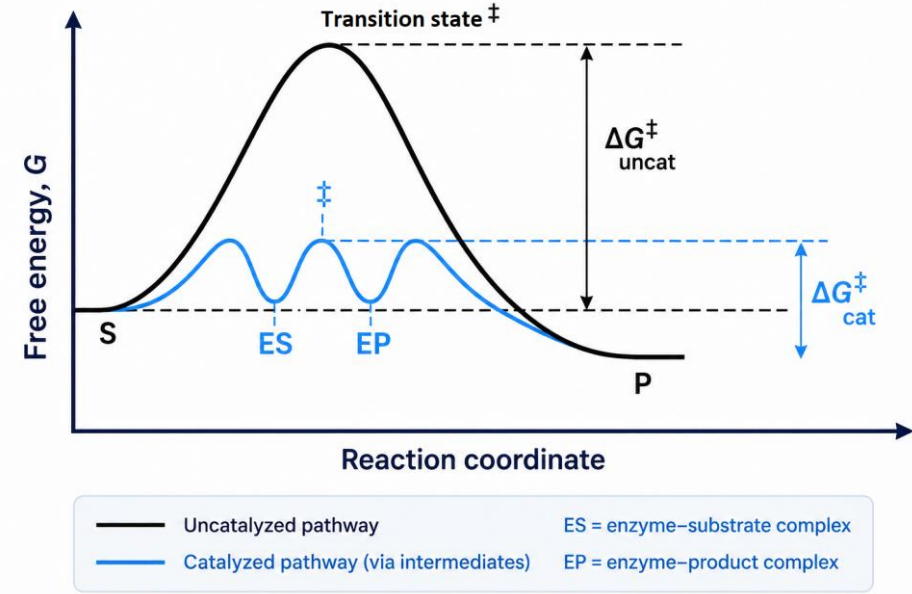
- Enzimler reaksiyon dengesini değiştirmeden aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artırır.
- $S \rightarrow P$ reaksiyonunu katalizleyen bir enzim, ters yöndeki $P \rightarrow S$ reaksiyonunu da katalizleyebilir.
- Enzim yalnızca S ve P arasındaki dönüşümün daha hızlı gerçekleşmesini sağlar; denge noktasını değiştirmez.
- Katalizlenen ve katalizlenmeyen reaksiyonların aktivasyon enerjileri yandaki figürde karşılaştırılmaktadır.





Enzimler Dengeye Ulaşmayı Hızlandırır

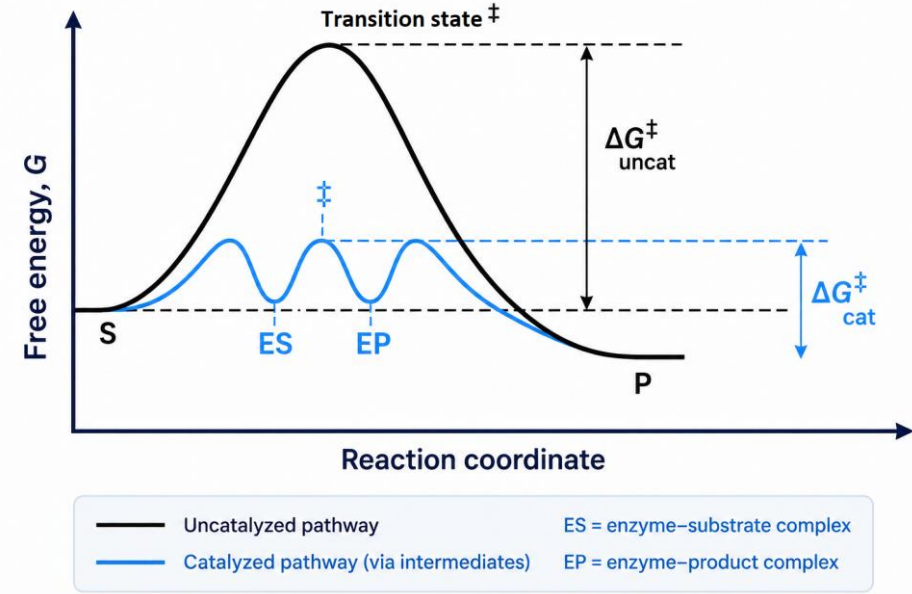
- Termodinamik açıdan elverişli bir reaksiyonun hücresel koşullarda ölçülebilir hızda gerçekleşmesi garanti değildir.
- Örneğin sakkarozun oksijenle CO_2 ve H_2O 'ya dönüşümü büyük ve negatif bir ΔG° değerine sahip olmasına rağmen yüksek bir aktivasyon bariyeri taşır.
- Sakkaroz hücre dışında oksijen varlığında uzun süre kararlı kalabilirken hücre içinde enzimlerin katalizlediği reaksiyon dizileriyle hızla parçalanır.
- Enzimler böylece termodinamik olarak mümkün dönüşümlerin biyolojik olarak kullanılabilir zaman ölçeklerinde gerçekleşmesini sağlar.





Reaksiyon Ara Ürünleri ve Hız Belirleyici Basamak

- Çok basamaklı reaksiyonlarda kimyasal olarak tanımlanabilen geçici türler reaksiyon ara ürünleri olarak adlandırılır.
- Enzimatik reaksiyonlardaki ES ve EP kompleksleri bu tür ara ürünlere örnek oluşturur.
- Ardışık ara ürünlerin birbirine dönüşmesi birer reaksiyon basamağıdır.
- En yüksek aktivasyon enerjisine sahip basamak hız belirleyici basamak olarak adlandırılır ve belirli koşullarda toplam reaksiyon hızını sınırlar.





Termodinamik ve Kinetik Arasındaki İlişki

- Reaksiyon dengesi standart serbest enerji değişimi ΔG° , reaksiyon hızı ise aktivasyon enerjisi $\Delta G^\ddagger$ ile ilişkilidir.
- Bir reaksiyonun denge sabiti $K'_{eq} = [P]/[S]$ bağıntısıyla ifade edilebilir.
- Standart serbest enerji değişimi ile denge sabiti arasındaki ilişki $\Delta G^\circ = -RT \ln K'_{eq}$ bağıntısıyla tanımlanır.
- Büyük negatif ΔG° değerleri elverişli dengeyi gösterse de reaksiyonun hızlı gerçekleşeceğini tek başına göstermez.





Denge Sabiti ve Standart Serbest Enerji

- Yandaki tablo, K'_{eq} ile $\Delta G'^{\circ}$ arasındaki nicel ilişkiyi göstermektedir.
- K'_{eq} değeri 1 olduğunda $\Delta G'^{\circ}$ sıfırdır ve substrat ile ürün arasında belirgin bir termodinamik üstünlük bulunmaz.
- K'_{eq} arttıkça $\Delta G'^{\circ}$ daha negatif, K'_{eq} azaldıkça ise daha pozitif değerlere ulaşır.
- Bu ilişki, reaksiyonun denge konumunun standart serbest enerji değişimiyle doğrudan bağlantılı olduğunu ortaya koyar.

K'_{eq} ile $\Delta G'^{\circ}$ Arasındaki İlişki	
K'_{eq}	$\Delta G'^{\circ}$ (kJ/mol)
10^{-6}	34.2
10^{-5}	28.5
10^{-4}	22.8
10^{-3}	17.1
10^{-2}	11.4
10^{-1}	5.7
1	0.0
10^1	-5.7
10^2	-11.4
10^3	-17.1





Reaksiyon Hızının Matematiksel İfadesi

- Bir reaksiyonun hızı, reaktanların derişimine ve hız sabiti k olarak adlandırılan katsayıya bağlıdır.
- Birinci dereceden $S \rightarrow P$ reaksiyonu için hız bağıntısı $V = k[S]$ şeklindedir.
- İki farklı bileşğin çarpışmasına bağlı ikinci dereceden bir reaksiyonda hız $V = k[S_1][S_2]$ şeklinde ifade edilir.
- Geçiş durumu teorisine göre hız sabiti ile aktivasyon enerjisi ters ilişkilidir; düşük aktivasyon enerjisi daha hızlı reaksiyona karşılık gelir.





Enzimlerin Olağanüstü Katalitik Gücü

- Enzimler reaksiyon hızlarını yaklaşık 5–17 kat artırabilen son derece güçlü katalizörlerdir.
- Farklı enzimlerin sağladığı hız artışlarına ilişkin örnekler yandaki tabloda verilmiştir.
- Örneğin karbonik anhidraz yaklaşık 10^7 , üreaz 10^{14} ve orotidin monofosfat dekarboksilaz 10^{17} düzeyinde hız artışı sağlayabilir.
- Bu büyük katalitik etkinin temelinde aktivasyon enerjisinin önemli ölçüde düşürülmesi yer alır.

Enzimler Tarafından Sağlanan Bazı Hız Artışları	
Siklofilin	10^5
Karbonik anhidraz	10^7
Trioz fosfat izomerase	10^9
Karboksipeptidaz A	10^{11}
Fosfoglukomutaz	10^{12}
Suksinil-KoA transferaz	10^{13}
Üreaz	10^{14}
Orotidin monofosfat dekarboksilaz	10^{17}



Enzimatik Katalizin İki Temel İlkesi

- Enzimlerin katalitik gücünün önemli bölümü, enzim ile substrat arasındaki çok sayıdaki zayıf etkileşimden açığa çıkan serbest enerjiden kaynaklanır.
- Bu etkileşimlerden sağlanan enerji bağlanma enerjisi ΔG_p olarak adlandırılır.
- Bağlanma enerjisi hem substrat özgüllüğüne hem de katalize katkıda bulunur.
- Zayıf etkileşimler en güçlü biçimde substratın temel durumunda değil, reaksiyonun geçiş durumunda optimize edilir.





Zayıf Etkileşimler ve Bağlanma Enerjisi

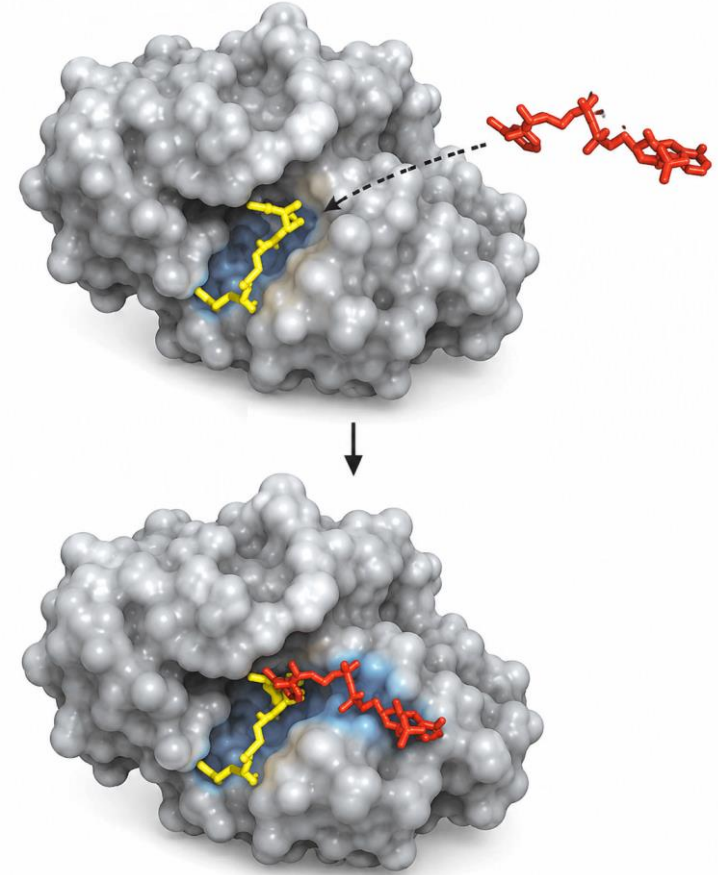
- ES kompleksinde hidrojen bağları, iyonik etkileşimler ve hidrofobik etkileşimler gibi çok sayıda zayıf kuvvet oluşabilir.
- Tek tek küçük enerji katkıları sağlayan bu etkileşimlerin toplamı önemli miktarda bağlanma enerjisi oluşturur.
- Bağlanma enerjisi, enzim–substrat etkileşiminin basitçe kararlı hâle getirilmesinin ötesinde kataliz için önemli bir serbest enerji kaynağıdır.
- Enzimlerin aktivasyon enerjisini düşürmesinde bu bağlanma enerjisi temel rol oynar.





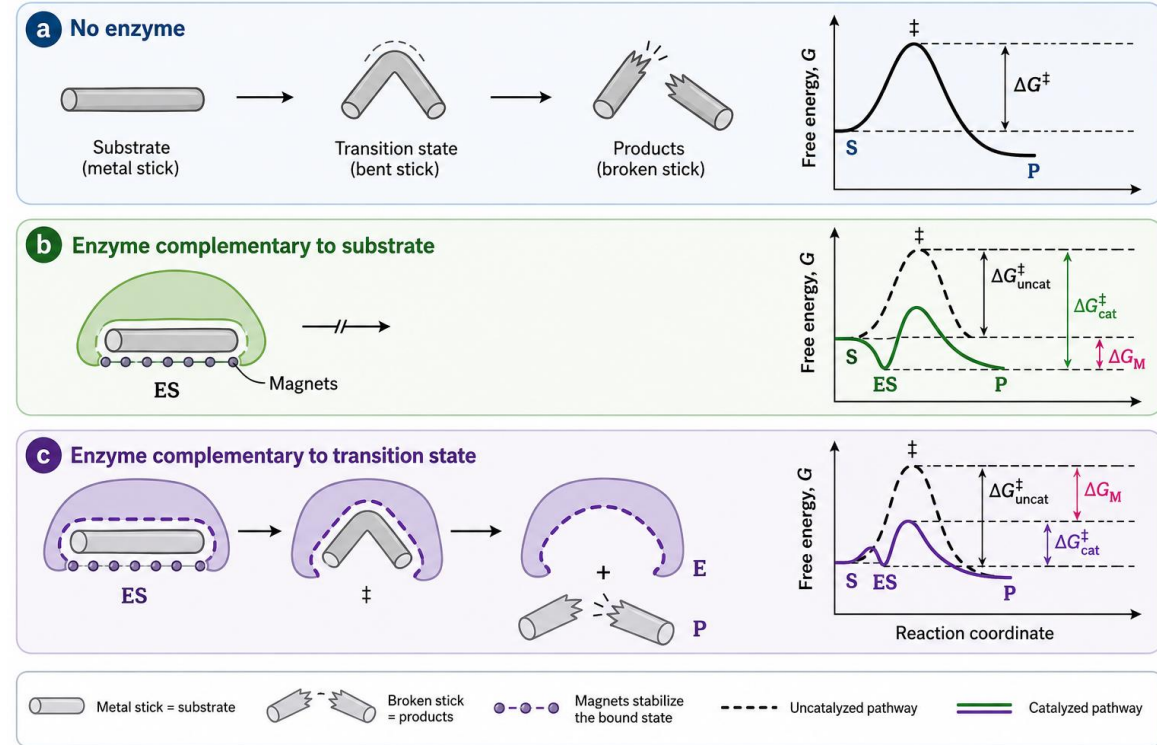
Kilit–Anahtar Modelinin Sınırları

- Emil Fischer'in 1894'te önerdiği anahtar–kilit modeli, enzim ile substrat arasındaki yapısal tamamlayıcılığı vurgular.
- Ancak substrata tamamen tamamlayıcı bir aktif bölge, substratın temel durumunu aşırı derecede kararlı hâle getirebilir.
- Böyle bir kararlılık, substratın geçiş durumuna ulaşmasını kolaylaştırmak yerine güçleştirebilir.
- Enzim ve substrat arasındaki yapısal tamamlayıcılık yandaki figürde NADP⁺ bağlayan dihidrofolat redüktaz örneği üzerinden gösterilmektedir.



Enzim Geçiş Durumuna Tamamlayıcıdır

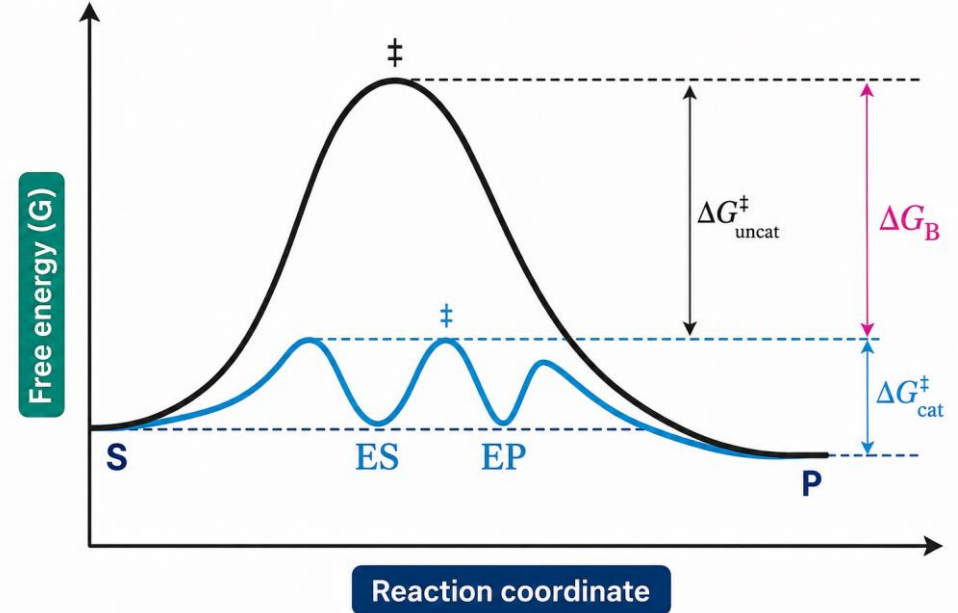
- Etkili katalizde aktif bölgenin substratın temel durumundan çok geçiş durumuna tamamlayıcı olması gerekir.
- Bu ilke, metal bir çubuğun kırılmasını katalizleyen hayali bir “stickase” enzimi üzerinden yandaki figürde açıklanmaktadır.
- Substrata tamamlayıcı bir aktif bölge ES kompleksini kararlı hâle getirerek aktivasyon bariyerini artırabilir.
- Geçiş durumuna tamamlayıcı aktif bölge ise bağlanma enerjisini geçiş durumunu kararlı hâle getirmek için kullanarak aktivasyon enerjisini düşürür.





Geçiş Durumunun Kararlı Hâle Getirilmesi

- Gerçek enzimlerde ES kompleksinde bazı zayıf etkileşimler oluşsa da tam tamamlayıcılık yalnızca substrat geçiş durumuna ulaştığında ortaya çıkar.
- Geçiş durumunda oluşan ilave etkileşimlerden açığa çıkan bağlanma enerjisi, enerji bariyerinin bir bölümünü karşılar.
- Aktivasyon enerjisindeki bu azalma enzimatik reaksiyonun katalizlenmeyen reaksiyondan çok daha hızlı gerçekleşmesini sağlar.
- Bağlanma enerjisinin aktivasyon enerjisini nasıl düşürdüğü yandaki figürdeki reaksiyon koordinatı üzerinde gösterilmektedir.





Bağlanma Enerjisinin Katalize Katkısı

- Enzim–substrat arasındaki zayıf etkileşimler, substratın geçiş durumuna ulaşması için gerekli enerjinin bir bölümünü sağlar.
- Bu etkileşimlerin toplam bağlanma enerjisi yaklaşık 4–30 kJ/mol düzeyinde olabilir.
- Çok sayıdaki zayıf etkileşimin toplam enerjisi, enzimlerin sağladığı büyük hız artışlarını açıklayabilecek büyüklüğe ulaşabilir.
- Bağlanma enerjisi böylece hem katalitik hızın hem de enzim özgüllüğünün temel bileşenlerinden birini oluşturur.





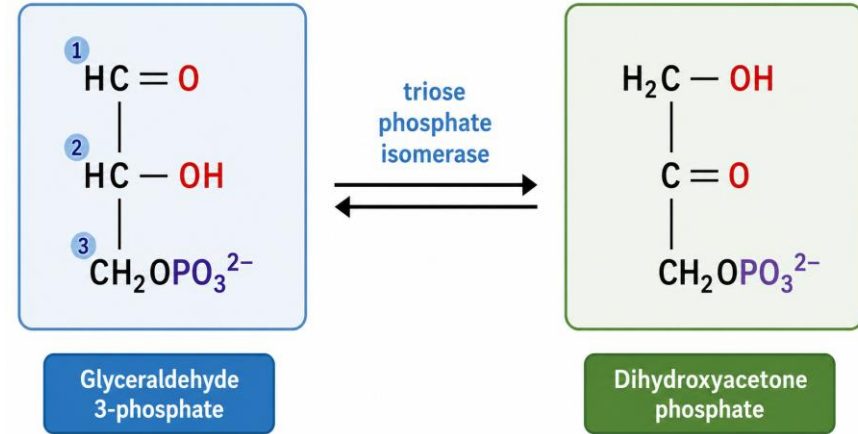
Enzim Özgüllüğünün Enerjik Temeli

- Enzimlerin substratları ayırt etmesi, aktif bölgedeki çok sayıdaki zayıf etkileşimin doğru biçimde kurulmasına bağlıdır.
- Fonksiyonel gruplardan biri doğru konumda bulunmadığında belirli bir zayıf etkileşim kaybolabilir ve molekül daha zayıf bağlanabilir.
- Molekülde bağlanabileceği uygun bir cep bulunmayan hacimli bir grup varsa substrat aktif bölgeden tamamen dışlanabilir.
- Enzim özgüllüğü genel olarak enzim ile özgül substrat arasında oluşan çok sayıdaki zayıf etkileşimden kaynaklanır.



Bağlanma Enerjisi ve Katalitik Etkinlik

- Bağlanma enerjisinin katalize katkısı, trioz fosfat izomerazın katalizlediği reaksiyon üzerinden nicel olarak gösterilebilir.
- Bu enzim gliseraldehit 3-fosfat ile dihidroksiaseton fosfatın birbirine dönüşümünü katalizler.
- Enzimatik hız artışının yaklaşık %80'i substratın üçüncü karbonundaki fosfat grubunu içeren enzim-substrat etkileşimlerine bağlanmıştır.
- Bu örnek, substratın belirli bir bölümünün doğrudan reaksiyona katılmasa bile katalitik etkinliğe önemli katkı sağlayabileceğini gösterir.





Katalizde Entropi Azalmasının Rolü

- Çözeltide serbestçe hareket eden iki reaktantın uygun biçimde çarpışması düşük olasılıklı olduğundan, moleküllerin hareket özgürlüğü reaksiyon için önemli bir engel oluşturabilir.
- Enzim substratları doğru konumda bağlayarak görelî hareketlerini sınırlar ve entropi azalması yoluyla reaksiyonu kolaylaştırır.
- Substratların aktif bölgede doğru yönlendirilmesi, üretken moleküler çarpışmaların olasılığını artırır.
- Moleküler hareketin sınırlandırılmasının reaksiyon hızını ne ölçüde artırabileceği yandaki figürde gösterilmektedir.

REACTION		RATE ENHANCEMENT
(a)		1
(b)		10^5 M
(c)		10^8 M





Desolvasyon ve Substratın Bozulması

- Enzim ile substrat arasında zayıf bağların oluşması, substratı çevreleyen su moleküllerinin bir bölümünün uzaklaştırılmasına yol açar.
- Bu desolvasyon, substrat ile su arasındaki hidrojen bağlarının bir kısmını veya tamamını ortadan kaldırabilir.
- Geçiş durumunda oluşan zayıf etkileşimlerin bağlanma enerjisi, substratta elektron dağılımı gibi değişiklikleri termodinamik olarak destekleyebilir.
- Böylece substrat geçiş durumuna yaklaştırılarak reaksiyonun gerçekleşmesi kolaylaştırılır.





İndüklenmiş Uyum

- Substrat bağlandığında enzim genellikle konformasyon değişikliğine uğrar ve bu durum indüklenmiş uyum olarak adlandırılır.
- Konformasyon değişikliği aktif bölgedeki fonksiyonel grupların kataliz için uygun konumlara taşınmasını sağlar.
- İndüklenmiş uyum aynı zamanda ek zayıf bağlanma etkileşimlerinin oluşmasına katkıda bulunabilir.
- Bu mekanizma, enzim ile substrat arasındaki etkileşimin statik değil dinamik bir süreç olduğunu gösterir.





Katalitik Grupların Rolü

- Bazı enzimlerde ES kompleksinin oluşmasını sağlayan bağlanma enerjisi, toplam katalitik mekanizmanın yalnızca bir bölümünü oluşturur.
- Substrat enzime bağlandıktan sonra aktif bölgedeki uygun konumlandırılmış fonksiyonel gruplar reaksiyona yardımcı olur.
- Enzimlerde genel asit–baz katalizi, kovalent kataliz ve metal iyonu katalizi gibi farklı mekanizmalar kullanılabilir.
- Bu mekanizmalar genellikle geçici kovalent etkileşimler veya substrattan ya da substrata grup aktarımı içerir.



Genel Asit–Baz Katalizi

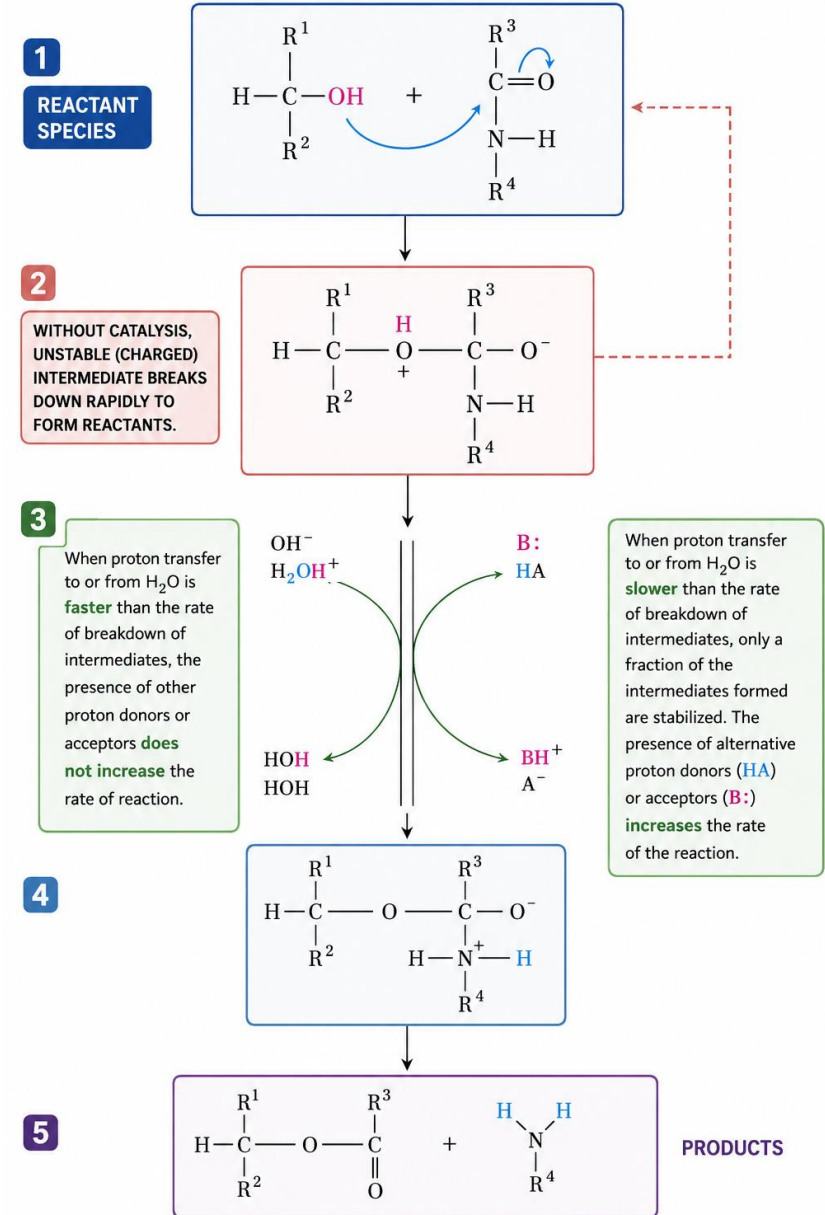
- Birçok biyokimyasal reaksiyon, hızla parçalanabilen kararsız yüklü ara ürünlerin oluşumunu içerir.
- Protonların substrata aktarılması veya substrattan uzaklaştırılması bu ara ürünleri kararlı hâle getirerek reaksiyonu hızlandırabilir.
- Yalnızca H^+ veya OH^- iyonlarının rol aldığı proton transferleri özgül asit–baz katalizi olarak adlandırılır.
- Su dışındaki proton verici veya alıcıların rol aldığı süreçler ise genel asit–baz katalizi olarak tanımlanır.





Proton Transferi Katalizi Nasıl Hızlandırır?

- Amid bağının hidrolizi sırasında oluşan kararsız yüklü ara ürün, proton aktarımıyla kararlı hâle getirilebilir.
- Protonun H_3O^+ 'dan veya başka bir asitten ara ürüne aktarılması, ara ürünün ürünlere parçalanmasını hızlandırabilir.
- Benzer şekilde protonun ara üründen H_2O 'ya veya başka bir proton alıcısına aktarılması da reaksiyon hızını artırabilir.
- Bu iki genel asit–baz katalizi yolu yandaki figürde amid bağının hidrolizi üzerinden gösterilmektedir.





Aktif Bölgedeki Asit–Baz Grupları

- Enzimlerin aktif bölgelerinde bazı amino asit yan zincirleri proton vericisi veya proton alıcısı olarak görev yapabilir.
- Glu, Asp, Lys, Arg, Cys, His, Ser ve Tyr kalıntılarının bu işlevleri yandaki figürde gösterilmektedir.
- Bu fonksiyonel gruplar proton transferlerini kolaylaştıracak şekilde aktif bölgede hassas biçimde konumlandırılabilir.
- Genel asit–baz katalizi enzimlerde yaygındır ve proton transferleri biyokimyasal reaksiyonlarda sık görülür.

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
1 Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
2 Lys, Arg	$R-\overset{\overset{H}{ }}{N^+}-H$	$R-\ddot{N}H_2$
3 Cys	$R-SH$	$R-S^-$
4 His	$R-\begin{array}{c} C=CH \\ \quad \\ HN \quad N^+-H \\ \\ C-H \end{array}$	$R-\begin{array}{c} C=CH \\ \quad \\ HN \quad N: \\ \\ C-H \end{array}$
5 Ser	$R-OH$	$R-O^-$
6 Tyr	$R-\text{C}_6\text{H}_4-OH$	$R-\text{C}_6\text{H}_4-O^-$





Kovalent Kataliz

- Kovalent katalizde enzim ile substrat arasında geçici bir kovalent bağ oluşur.
- Enzimdeki nükleofilik bir grup substratla reaksiyona girerek yeni ve geçici bir kovalent ara ürün meydana getirir.
- Bu ara yol, katalizlenmeyen reaksiyondan daha düşük aktivasyon enerjisine sahip olduğunda reaksiyon hızlanır.
- Amino asit yan zincirlerindeki veya bazı kofaktörlerdeki nükleofilik gruplar bu tür katalize katılabilir.



Metal İyonu Katalizi

- Enzime sıkı biçimde bağlı veya substratla birlikte çözeltiden alınan metal iyonları katalize farklı yollarla katkıda bulunabilir.
- Enzime bağlı metal ile substrat arasındaki iyonik etkileşimler, substratın reaksiyon için doğru konumlandırılmasını sağlayabilir.
- Metal iyonları yüklü geçiş durumlarını kararlı hâle getirebilir ve oksidasyon–redüksiyon reaksiyonlarına aracılık edebilir.
- Enzimler çoğu zaman genel asit–baz, kovalent ve metal iyonu katalizi gibi birden fazla stratejiyi birlikte kullanarak reaksiyon hızını artırır.





Enzim Kinetiği ve Reaksiyon Mekanizması

- Enzimlerin etki mekanizmalarını incelemek için protein yapısı, bölgeye özgü mutagenез ve enzim kinetiği gibi farklı yaklaşımlar kullanılır.
- Enzim kinetiği, bir reaksiyonun hızını ve bu hızın deneysel koşullardaki değişimlere verdiği yanıtı inceler.
- Kinetik analizler, enzimlerin reaksiyon mekanizmaları hakkında önemli bilgiler sağlar.
- Bu yaklaşımın temelinde, enzim tarafından katalizlenen reaksiyonların hızlarının deneysel olarak ölçülmesi yer alır.





Substrat Derişimi Reaksiyon Hızını Etkiler

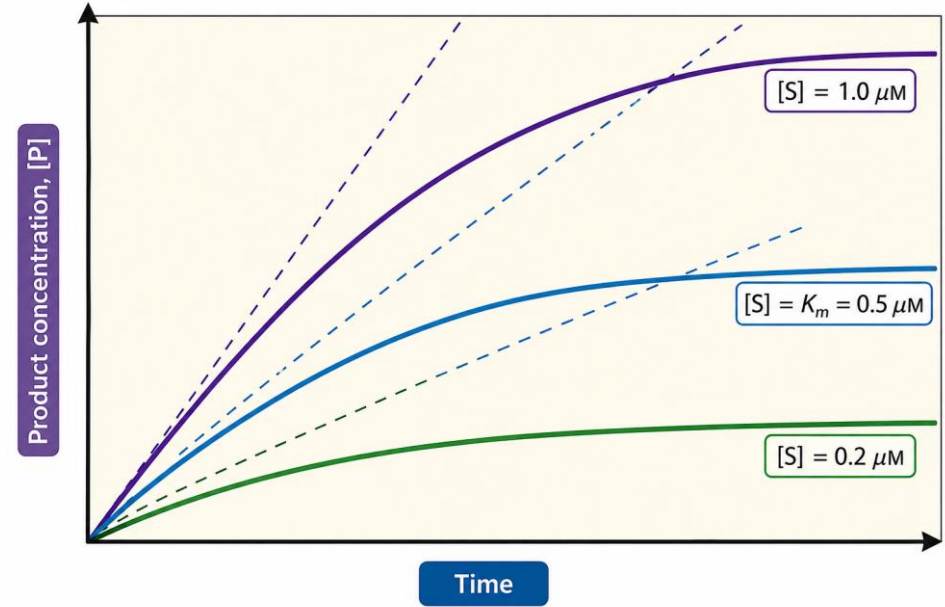
- Enzimatik reaksiyon hızını etkileyen temel faktörlerden biri substrat derişimi $[S]$ 'dir.
- Reaksiyon ilerledikçe substrat ürüne dönüştüğü için $[S]$ sürekli değişir ve kinetik analiz karmaşıklaşabilir.
- Bu nedenle deneylerde genellikle reaksiyonun başlangıcındaki başlangıç hızı V_0 ölçülür.
- Reaksiyonun yalnızca ilk bölümünün incelenmesi, $[S]$ 'deki değişimin küçük tutulmasını ve yaklaşık olarak sabit kabul edilmesini sağlar.





Başlangıç Hızının Belirlenmesi

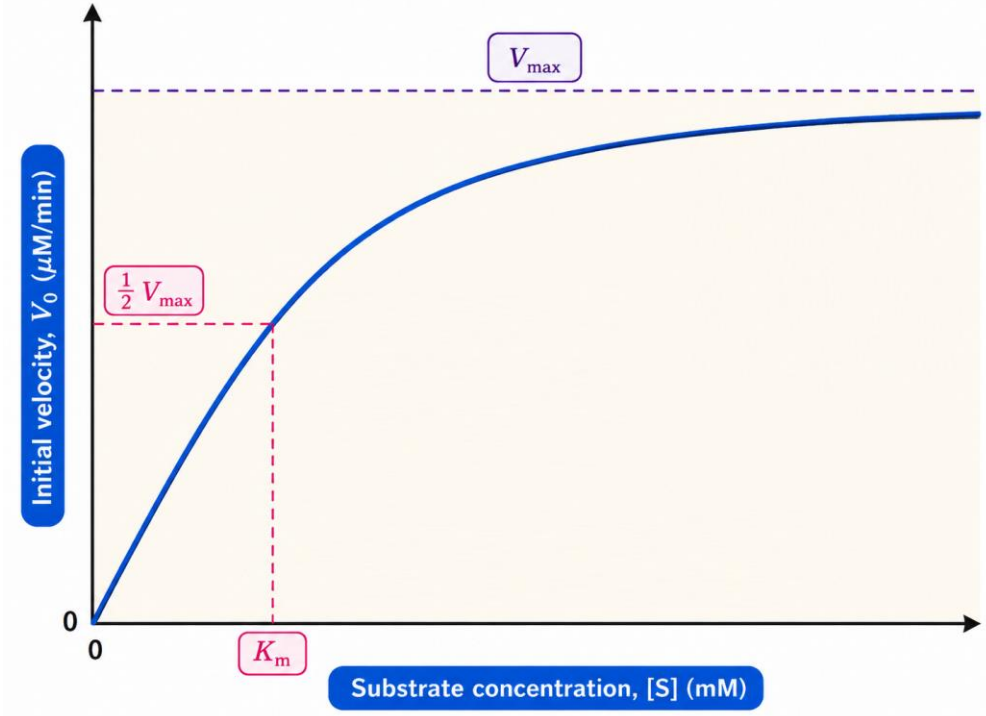
- Tipik bir deneyde enzim derişimi substrat derişimine göre oldukça düşük tutulur ve farklı $[S]$ değerlerinde reaksiyon izlenir.
- Ürün derişiminin zamana karşı değişimini gösteren eğrilerin başlangıçtaki teğetlerinin eğimi V_0 değerini verir.
- Substrat derişimi arttıkça başlangıç hızı yükselir ancak bu artış giderek azalır.
- Farklı substrat derişimlerdeki başlangıç hızlarının belirlenmesi yandaki figürde gösterilmektedir.





Substrat Derişimi ve Doygunluk

- Düşük substrat derişimlerinde V_0 , $[S]$ arttıkça yaklaşık doğrusal biçimde yükselir.
- Daha yüksek substrat derişimlerinde aynı $[S]$ artışı, V_0 üzerinde giderek daha küçük bir etki oluşturur.
- Sonunda substrat artışının V_0 üzerinde çok az etkili olduğu plato benzeri bir bölgeye ulaşılır.
- Bu bölgedeki hız, maksimum hız V_{max} değerine yakındır ve ilişki yandaki figürde gösterilmektedir.





Michaelis–Menten Modelinin Temeli

- Enzim kinetiğinin açıklanmasında enzim–substrat kompleksi ES, temel bir ara basamak olarak kabul edilir.
- Michaelis ve Menten modelinde enzim önce substrata geri dönüşümlü olarak bağlanarak ES kompleksini oluşturur.
- Ardından ES kompleksi daha yavaş bir basamakla serbest enzim ve ürüne dönüşür.
- Bu süreç temel olarak $E + S \rightleftharpoons ES \rightarrow E + P$ biçiminde ifade edilebilir.



Leonor Michaelis

1875–1949



Maud Menten

1879–1960





Enzim Doygunluğu ve ES Kompleksi

- Düşük [S] değerlerinde enzimin büyük bölümü serbest E formunda bulunurken, reaksiyon hızı [S] ile yaklaşık orantılıdır.
- [S] arttıkça denge ES kompleksinin oluşumu yönüne kayar ve başlangıç hızı yükselir.
- Enzim substratla doyduğunda enzimin neredeyse tamamı ES kompleksi hâlinde bulunur ve serbest enzim miktarı çok azalır.
- Bu noktadan sonra [S]'nin artırılması reaksiyon hızını yükseltmez ve hız $V_{\max}$ değerine yaklaşır.





Ön Kararlı Durum ve Kararlı Durum

- Enzim substrat fazlasıyla karıştırıldığında başlangıçta çok kısa süren bir ön kararlı durum oluşur.
- Ardından kararlı durum gelişir ve ES derişimi yaklaşık olarak sabit kalır.
- Kararlı durumda ES'nin oluşma hızı, ES'nin parçalanma hızına eşittir.
- Michaelis–Menten kinetiğinin temel analizi bu kararlı durum varsayımına dayanır.





Michaelis–Menten Denklemi

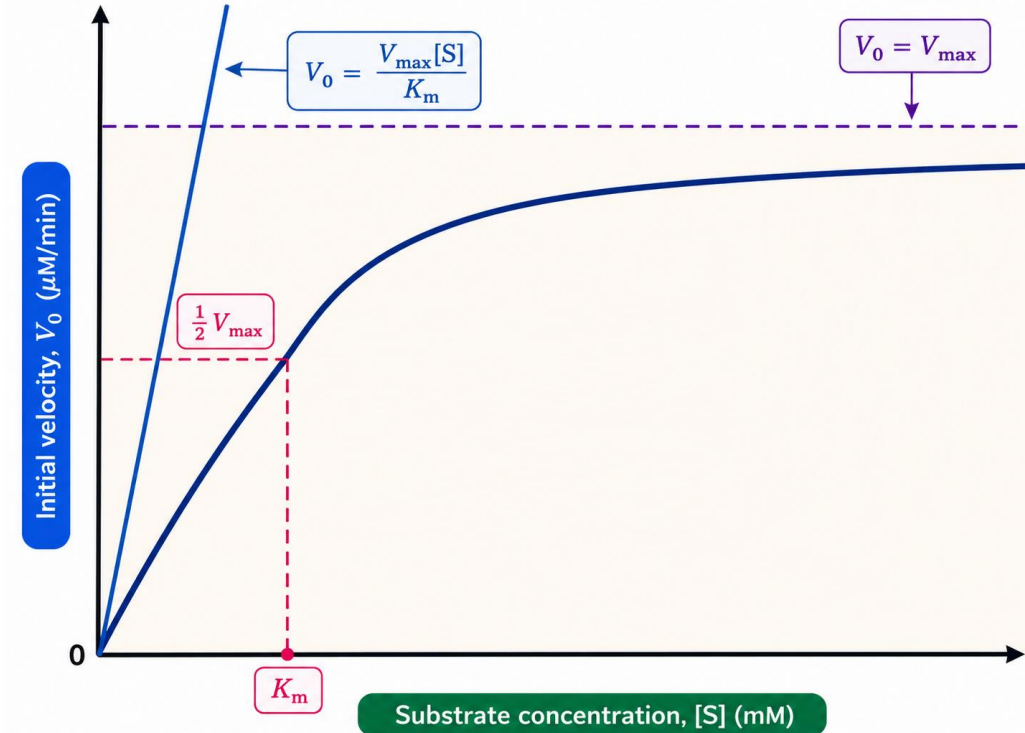
- Kararlı durum yaklaşımında başlangıç hızı, ES kompleksinin ürüne dönüşme hızına bağlıdır.
- Enzimin toplam derişimi serbest enzim ile substrata bağlı enzimin toplamı olarak $[E_t] = [E] + [ES]$ şeklinde ifade edilir.
- Bu ilişkiler kullanıldığında başlangıç hızı $V_o = V_{\max}[S]/(K_m + [S])$ biçiminde tanımlanır.
- Bu ifade, tek substratlı enzimatik reaksiyonların temel hız denklemi olan Michaelis–Menten denklemidir.





Michaelis Sabiti K_m

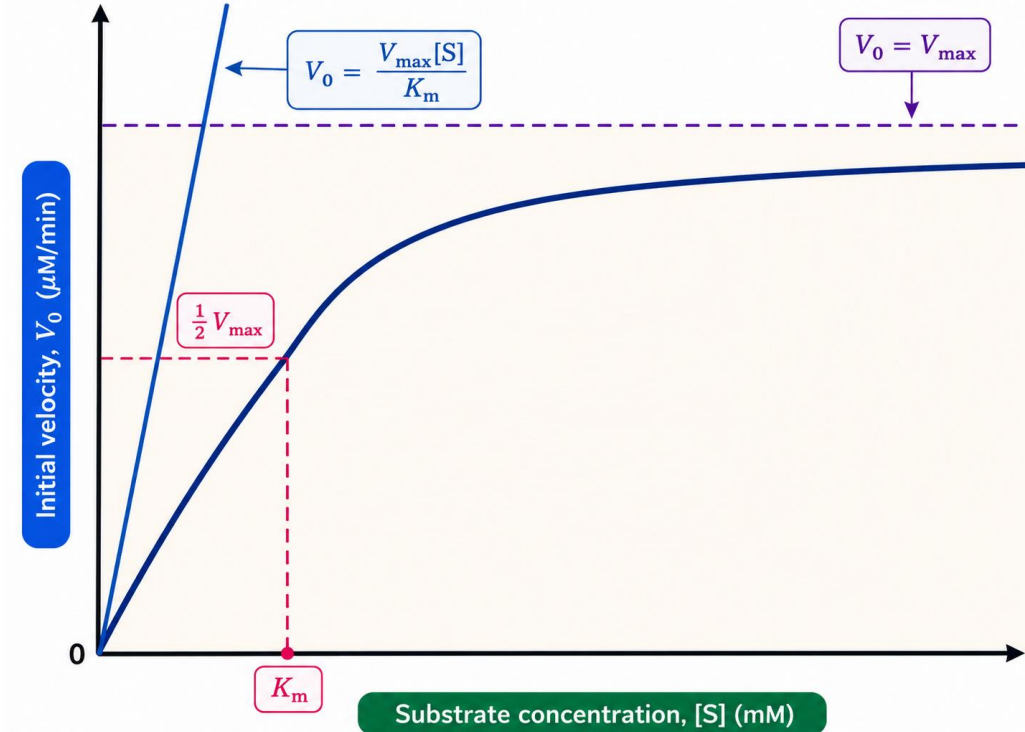
- Michaelis–Menten denklemindeki K_m , reaksiyonun kinetik özelliklerini tanımlayan önemli bir sabittir.
- $V_0 = \frac{1}{2}V_{max}$ olduğunda Michaelis–Menten denklemi $K_m = [S]$ sonucunu verir.
- Buna göre K_m , başlangıç hızının maksimum hızın yarısına ulaştığı substrat derişimine eşittir.
- K_m ve V_{max} arasındaki bu grafiksel ilişki yandaki figürde gösterilmektedir.





Düşük ve Yüksek Substrat Derişimlerinde Kinetik

- [S] değeri K_m 'den çok düşük olduğunda hız substrat derişimine yaklaşık doğrusal olarak bağımlıdır.
- [S] değeri K_m 'den çok yüksek olduğunda denklem sadeleşir ve $V_0 \approx V_{max}$ olur.
- Yüksek substrat derişiminde enzim doygunluğa yaklaştığından ilave substrat reaksiyon hızını önemli ölçüde değıştirmez.
- Yandaki figür, Michaelis–Menten eğrisinin düşük ve yüksek [S] bölgelerindeki bu davranışlarını göstermektedir.





Kinetik Parametreler ve Enzimlerin Karşılaştırılması

- Michaelis–Menten kinetiği gösteren enzimlerin davranışı $V_{\max}$ ve K_m parametreleriyle tanımlanabilir.
- Farklı enzimler ve aynı enzimin farklı substratları birbirinden oldukça farklı K_m değerlerine sahip olabilir.
- Çeşitli enzim–substrat çiftleri için deneysel K_m değerleri yandaki tabloda verilmektedir.
- Michaelis–Menten denklemi, reaksiyonun basit veya karmaşık mekanizmaya sahip olmasından bağımsız olarak birçok enzimin kinetik davranışını tanımlayabilir.

Bazı Enzimler ve Substratları için K_m Değerleri		
Enzim	Substrat	K_m (mM)
Heksokinaz (beyin)	ATP	0.4
	D-Glukoz	0.05
	D-Fruktoz	1.5
Karbonik anhidraz	HCO_3^-	26
Kimotripsin	Glisiltirozinilglisin	108
	<i>N</i> -Benzoiltirozinamid	2.5
β -Galaktozidaz	D-Laktoz	4.0
Treonin dehidrataz	L-Treonin	5.0





K_m Değerinin Yorumlanması

- K_m değeri bazı durumlarda enzimin substratına olan ilgisinin bir göstergesi olarak kullanılabilse de bu yorum her zaman geçerli değildir.
- İki basamaklı basit bir reaksiyonda $K_m = (k_2 + k_{-1})/k_1$ bağıntısıyla tanımlanır.
- k_2 , k_{-1} 'den çok küçükse K_m yaklaşık olarak ES kompleksinin ayrışma sabitine eşit hâle gelebilir.
- Daha karmaşık enzimatik reaksiyonlarda K_m , birden fazla hız sabitinin birleşik bir fonksiyonu olabilir.



$V_{\max}$ ve Hız Belirleyici Basamak

- $V_{\max}$, enzim substratla doygun olduğunda ulaşılabilen maksimum reaksiyon hızını ifade eder.
- Basit Michaelis–Menten mekanizmasında ürün oluşumu hız belirleyici olduğunda $V_{\max} = k_2[Et]$ bağıntısı geçerlidir.
- Birden fazla reaksiyon basamağının hız sınırlayıcı olması durumunda $V_{\max}$ daha karmaşık bir kinetik davranışı yansıtabilir.
- Bu nedenle K_m ve $V_{\max}$ deneysel olarak kolayca belirlenebilse de mekanizmanın ayrıntılarını tek başlarına açıklamayabilir.





Turnover Sayısı k_{cat}

- Enzim substratla doygunken hız sınırlayıcı basamağı tanımlamak için k_{cat} hız sabiti kullanılır.
- Michaelis–Menten mekanizmasında k_{cat} , ürün oluşum basamağının hız sabiti olan k_2 'ye eşittir.
- k_{cat} , bir enzim molekülünün birim zamanda ürüne dönüştürdüğü substrat molekülü sayısını ifade eden turnover sayısıdır.
- Bazı enzimlere ait k_{cat} değerleri yandaki tabloda verilmektedir.

Bazı Enzimlerin Dönüşüm Sayıları, k_{cat}		
Enzim	Substrat	k_{cat} (s^{-1})
Katalaz	H_2O_2	40,000,000
Karbonik anhidraz	HCO_3^-	400,000
Asetilkolinesteraz	Asetilkolin	14,000
β -Laktamaz	Benzilpenisilin	2,000
Fumaraz	Fumarat	800
RecA proteini (bir ATPaz)	ATP	0.5





Enzimlerin Turnover Sayıları

- Yandaki tablo, farklı enzimlerin katalitik dönüşüm hızları arasında büyük farklılıklar bulunduğunu göstermektedir.
- Katalaz yaklaşık $4 \times 10^7 \text{ s}^{-1}$, karbonik anhidraz ise yaklaşık $4 \times 10^5 \text{ s}^{-1}$ k_{cat} değerine sahiptir.
- Asetilkolinesteraz, β -laktamaz ve fumaraz daha düşük ancak yine yüksek turnover değerleri sergiler.
- RecA proteininin ATPaz aktivitesi için verilen k_{cat} değeri ise $0,5 \text{ s}^{-1}$ 'dir.

Bazı Enzimlerin Dönüşüm Sayıları, k_{cat}		
Enzim	Substrat	$k_{\text{cat}} (\text{s}^{-1})$
Katalaz	H_2O_2	40,000,000
Karbonik anhidraz	HCO_3^-	400,000
Asetilkolinesteraz	Asetilkolin	14,000
β -Laktamaz	Benzilpenisilin	2,000
Fumaraz	Fumarat	800
RecA proteini (bir ATPaz)	ATP	0.5





Katalitik Etkinlik ve Özgüllük Sabiti

- Enzimlerin kinetik etkinliğini karşılaştırmak için yalnızca k_{cat} veya K_m değerinin kullanılması her zaman yeterli değildir.
- Bu nedenle iki parametreyi birlikte değerlendiren k_{cat}/K_m oranı kullanılır.
- k_{cat}/K_m , enzimin substratla karşılaştığında onu ürüne dönüştürmedeki genel katalitik etkinliğini yansıtır.
- Aynı enzimin farklı substratları için k_{cat}/K_m değerlerinin karşılaştırılması, enzimin farklı substratlara yönelik katalitik tercihlerini değerlendirmeyi sağlar.





Difüzyon Kontrollü Katalitik Sınır

- Çok etkili bazı enzimlerde k_{cat}/K_m , yaklaşık 10^8 – 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ düzeyindeki difüzyon kontrollü sınıra yaklaşır.
- Bu durumda enzimin substratla karşılaşması katalitik süreç için önemli bir sınırlayıcı faktör hâline gelir.
- Bu düzeye ulaşan enzimler katalitik açıdan neredeyse kusursuz olarak değerlendirilebilir.
- Difüzyon kontrollü sınıra yaklaşan enzimlere ilişkin örnekler yandaki tabloda sunulmaktadır.

k_{cat}/K_m Oranı Difüzyon Kontrollü Sınıra Yakın Olan Enzimler ($10^8 - 10^9 M^{-1} s^{-1}$)				
Enzim	Substrat	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($M^{-1}s^{-1}$)
Asetilkolinesteraz	Asetilkolin	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Karbonik anhidraz	CO ₂	1×10^6	1.2×10^{-2}	8.3×10^7
	HCO ₃ ⁻	4×10^5	2.6×10^{-2}	1.5×10^7
Katalaz	H ₂ O ₂	4×10^7	1.1×10^0	4×10^7
Krotonaz	Krotonil-KoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumaraz	Fumarat	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malat	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β -Laktamaz	Benzilpenisilin	2.0×10^3	2×10^{-5}	1×10^8





İki veya Daha Fazla Substratlı Reaksiyonlar

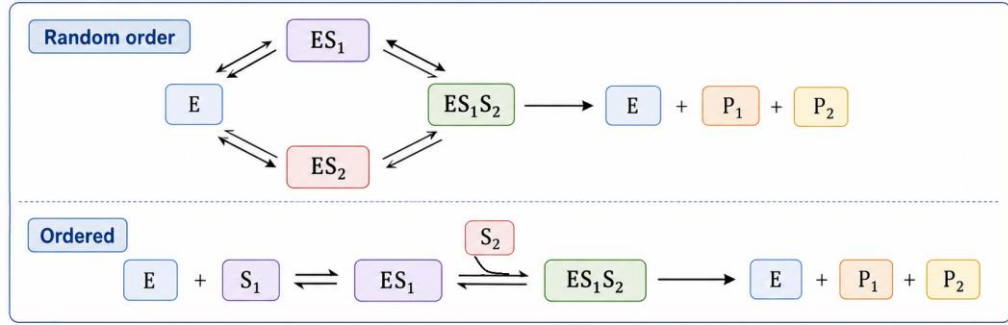
- Birçok enzimatik reaksiyonda enzime iki veya daha fazla farklı substrat bağlanır ve reaksiyona katılır.
- Örneğin hekzokinaz reaksiyonunda ATP ve glukoz substrat, ADP ve glukoz 6-fosfat ise ürün olarak yer alır.
- İki substratlı reaksiyonlar da Michaelis–Menten yaklaşımıyla incelenebilir ve her substrat için karakteristik bir K_m değeri tanımlanabilir.
- Bu reaksiyonlar, substratların bağlanma ve ürünlerin ayrılma sırasına göre farklı mekanizmalar izleyebilir.



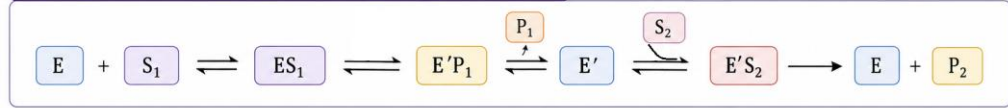
İki Substratlı Reaksiyon Mekanizmaları

- Bazı reaksiyonlarda her iki substrat da enzime bağlanarak üçlü kompleks oluşturur.
- Üçlü kompleks oluşumunda substratlar rastgele sırayla veya belirli bir sıra izleyerek bağlanabilir.
- Diğer mekanizmalarda ilk substrat ürüne dönüştürülüp ayrıldıktan sonra ikinci substrat bağlanır ve üçlü kompleks oluşmaz.
- Bu temel iki substratlı reaksiyon mekanizmaları yandaki figürde gösterilmektedir.

(a) Enzyme reaction involving a ternary complex



(b) Enzyme reaction in which no ternary complex is formed

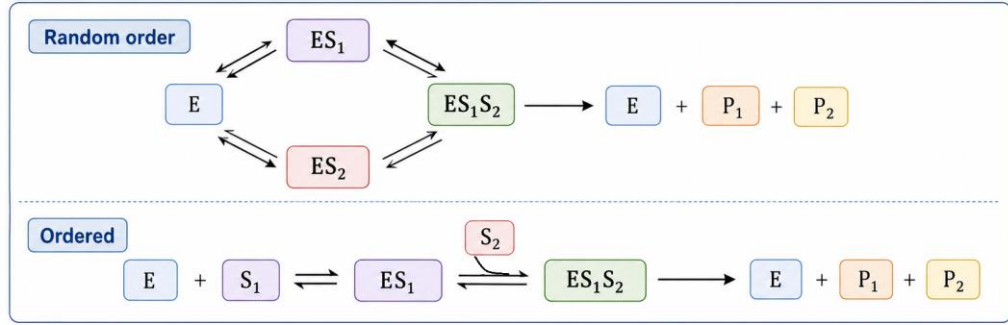




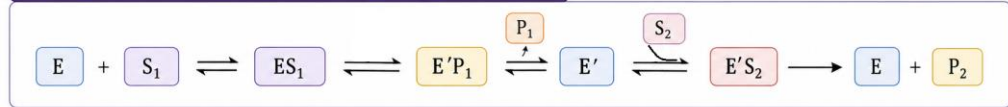
Ping-Pong Mekanizması

- Üçlü kompleksin oluşmadığı mekanizmada ilk substrat bağlanır, ürüne dönüştürülür ve ikinci substrat bağlanmadan önce ayrılır.
- Bu sırada enzimin geçici olarak değiştirilmiş bir formu meydana gelebilir.
- İkinci substrat daha sonra bu değiştirilmiş enzime bağlanır ve ikinci ürün oluşurken enzim başlangıç durumuna geri döner.
- Bu mekanizma ping-pong veya çift yer değiştirme mekanizması olarak adlandırılır ve Figür b'de gösterilmektedir.

(a) Enzyme reaction involving a ternary complex



(b) Enzyme reaction in which no ternary complex is formed

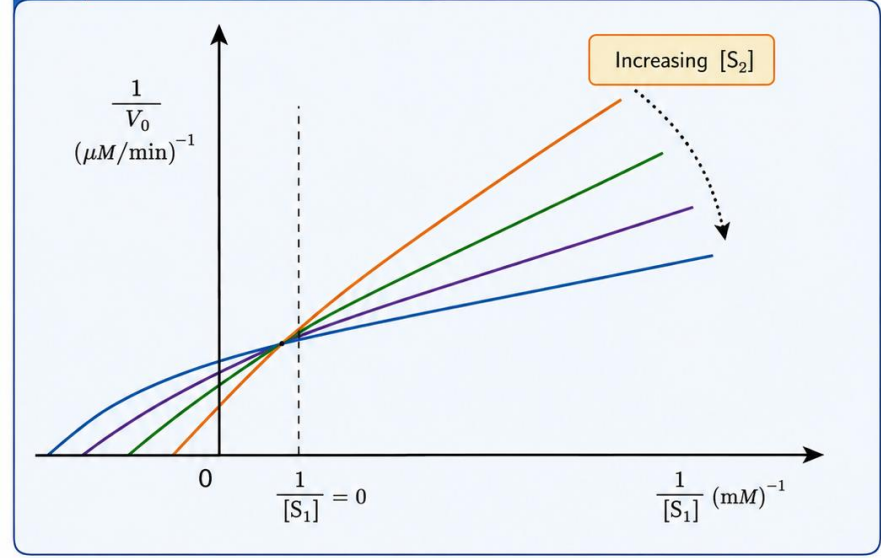




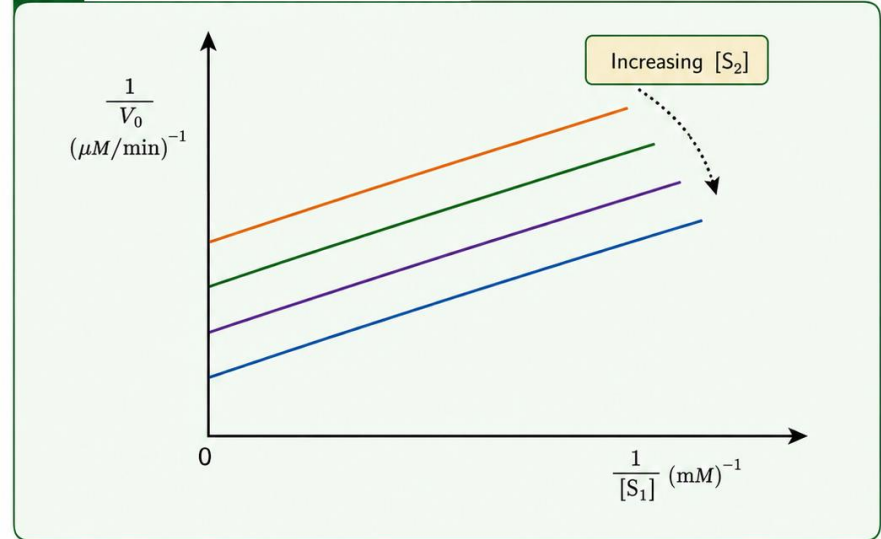
İki Substratlı Reaksiyonların Kinetik Ayrımı

- Kararlı durum kinetiği, iki substratlı enzimlerin izlediği reaksiyon mekanizmalarının birbirinden ayrılmasına yardımcı olabilir.
- Bir substratın farklı sabit derişimlerinde diğer substrat değıştirilerek çift ters grafikler oluşturulabilir.
- Üçlü kompleks oluşan reaksiyonlarda elde edilen doğrular kesişme eğilimi gösterir.
- Ping-pong mekanizmasında ise doğrular paralel seyreder; bu iki davranış yandaki figürde karşılaştırılmaktadır.

(a)



(b)





Ön Kararlı Durum Kinetiği

- Kararlı durum kinetiği önemli bilgiler sağlasa da karmaşık enzim mekanizmalarının tüm ayrıntılarını her zaman ortaya çıkaramaz.
- Ön kararlı durum kinetiği, enzim ve substratın karıştırılmasından hemen sonraki çok kısa zaman aralığındaki reaksiyonları inceler.
- Bu dönem genellikle milisaniyeler sürdüğünden çok hızlı karıştırma ve örnekleme teknikleri gerektirir.
- Yaklaşım, çok basamaklı reaksiyonlarda tek tek basamakların hızlarının doğrudan incelenmesine olanak sağlayabilir.





Enzim İnhibisyonunun Önemi

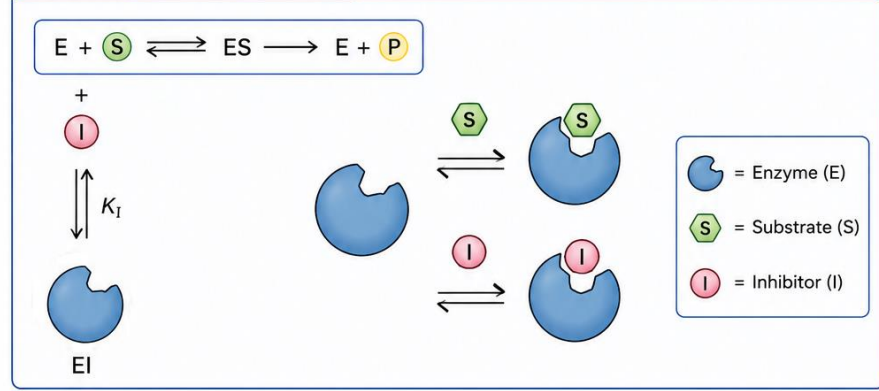
- Enzim inhibitörleri katalizi engelleyen, yavaşlatan veya tamamen durduran moleküllerdir.
- Enzim inhibitörlerinin incelenmesi, enzimlerin reaksiyon mekanizmalarının anlaşılmasında önemli bilgiler sağlar.
- Aspirinin prostaglandin sentezinin ilk basamağında görev alan enzimi inhibe etmesi, inhibitörlerin biyolojik etkilerine bir örnektir.
- Enzim inhibitörleri genel olarak geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz olmak üzere iki ana grupta incelenir.



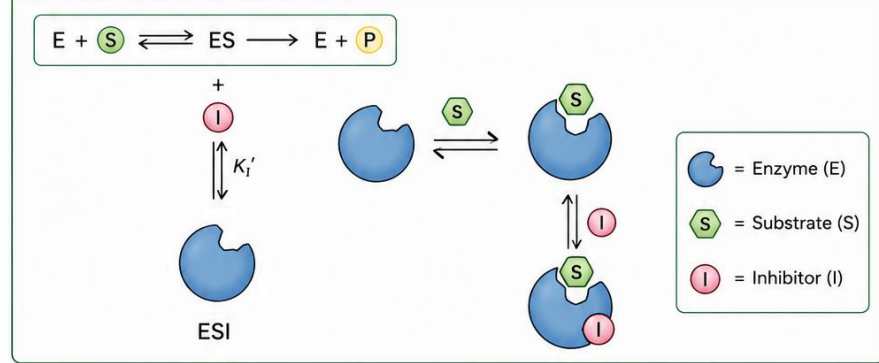
Geri Dönüşümlü İnhibisyon Türleri

- Geri dönüşümlü inhibisyonun başlıca biçimleri kompetitif, kompetitif olmayan ve karma inhibisyon olarak sınıflandırılır.
- Kompetitif inhibitör enzimin serbest formuna, kompetitif olmayan inhibitör ise yalnızca ES kompleksine bağlanır.
- Karma inhibitör hem serbest enzime hem de ES kompleksine bağlanabilir.
- Bu üç geri dönüşümlü inhibisyon mekanizmasının bağlanma modelleri yandaki figürde gösterilmektedir.

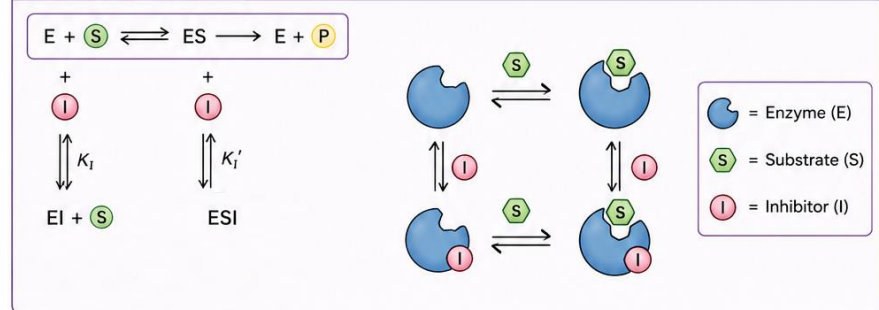
(a) Competitive inhibition



(b) Uncompetitive inhibition



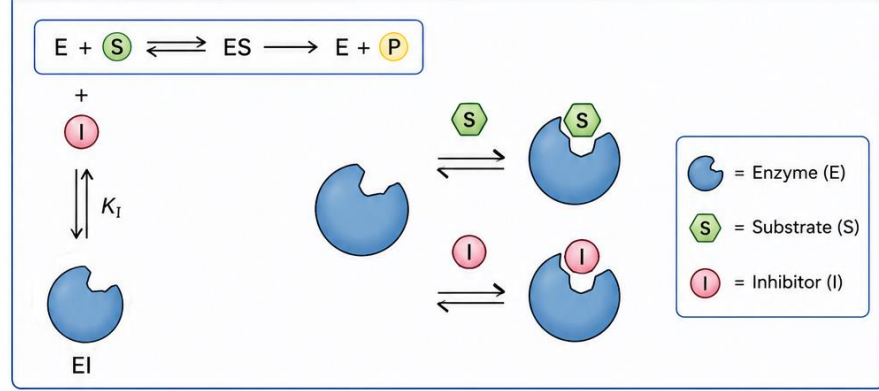
(c) Mixed inhibition



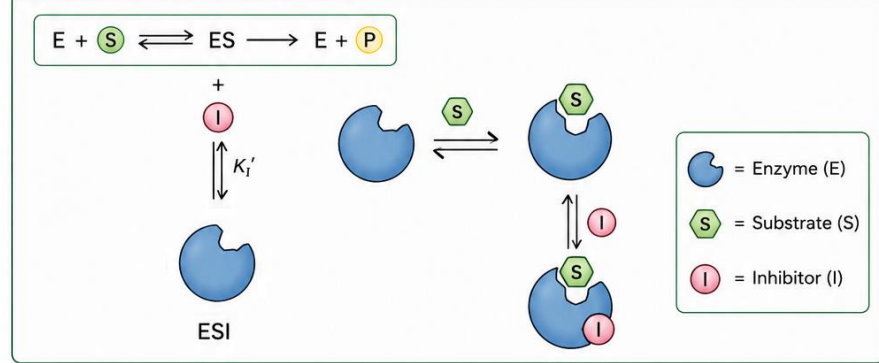
Kompetitif İnhibisyon

- Kompetitif inhibitör, enzimin aktif bölgesine bağlanmak için substratla rekabet eder.
- İnhibitör aktif bölgeyi işgal ettiğinde substratın bağlanması engellenir ancak katalitik ürün oluşmaz.
- Substrat ve inhibitör arasındaki yapısal benzerlik, kompetitif inhibisyonda sık karşılaşılan bir özelliktir.
- Substrat derişiminin artırılması, inhibitörün enzime bağlanma olasılığını azaltarak inhibisyonun etkisini azaltabilir.

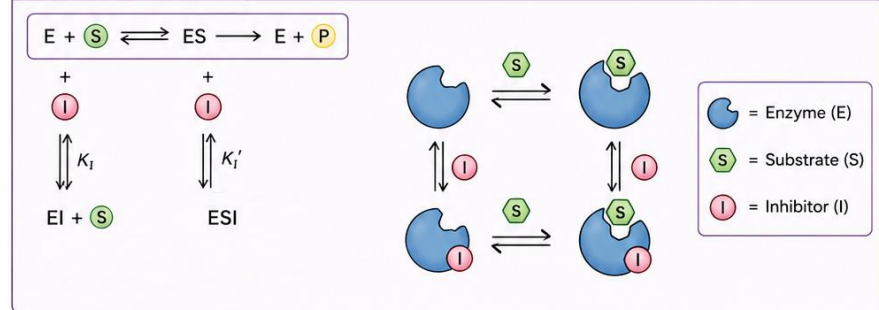
(a) Competitive inhibition



(b) Uncompetitive inhibition



(c) Mixed inhibition





Kompetitif İnhibisyonda K_m ve V_{max}

- Kompetitif inhibitör varlığında Michaelis–Menten denklemindeki substrat terimi inhibitör etkisini içeren αK_m ile birlikte değerlendirilir.
- Bu inhibisyon türünde V_{max} değişmez, ancak gözlenen veya görünür K_m değeri αK_m 'ye yükselir.
- Dolayısıyla aynı başlangıç hızına ulaşmak için daha yüksek substrat derişimi gerekir.
- Kompetitif inhibisyonun V_{max} ve görünür K_m üzerindeki etkileri yandaki tabloda özetlenmektedir.

	Tersinir İnhibitörlerin Görünür V_{max} ve Görünür K_m Üzerindeki Etkileri	
İnhibitör tipi	Görünür V_{max}	Görünür K_m
Yok	V_{max}	K_m
Kompetitif	V_{max}	αK_m
Kompetitif olmayan	V_{max}/α'	K_m/α'
Karışık	V_{max}/α'	$\alpha K_m/\alpha'$





Kompetitif İnhibisyona Klinik Bir Örnek

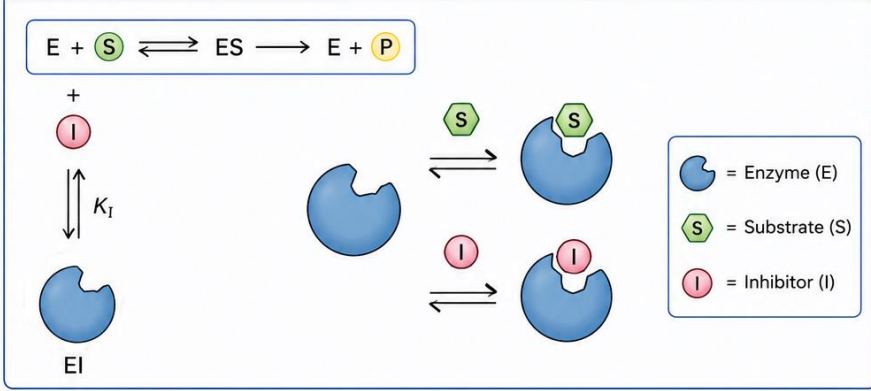
- Metanol zehirlenmesinde karaciğerdeki alkol dehidrogenaz metanolü dokular için zararlı olan formaldehite dönüştürür.
- Etanol, alkol dehidrogenaz için metanole karşı kompetitif bir inhibitör gibi davranabilir.
- Etanolün uygulanması metanolün formaldehite dönüşümünü yavaşlatarak metanolün atılması için zaman sağlar.
- Bu örnek, kompetitif inhibisyonun biyolojik ve klinik önemini göstermektedir.



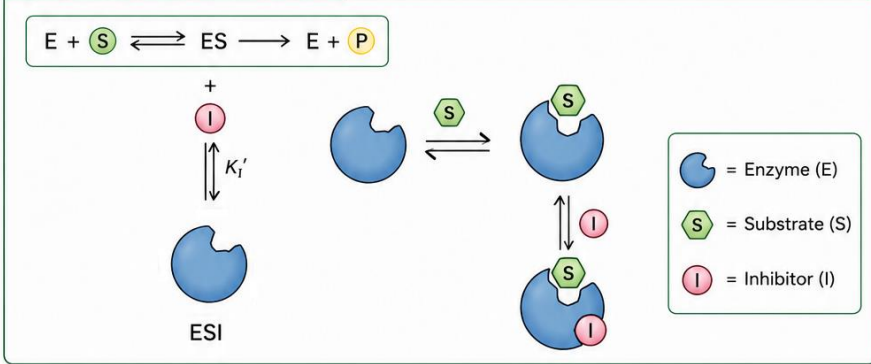
Kompetitif Olmayan İnhibisyon

- Kompetitif olmayan inhibitör, serbest enzime değil yalnızca ES kompleksine bağlanır.
- İnhibitörün bağlanması ESI kompleksini oluşturarak katalitik süreci değiştirir.
- Bu inhibisyon türünde hem görünür $V_{\max}$ hem de görünür K_m azalır.
- Kompetitif olmayan inhibisyonun bağlanma modeli yandaki figürde gösterilmektedir.

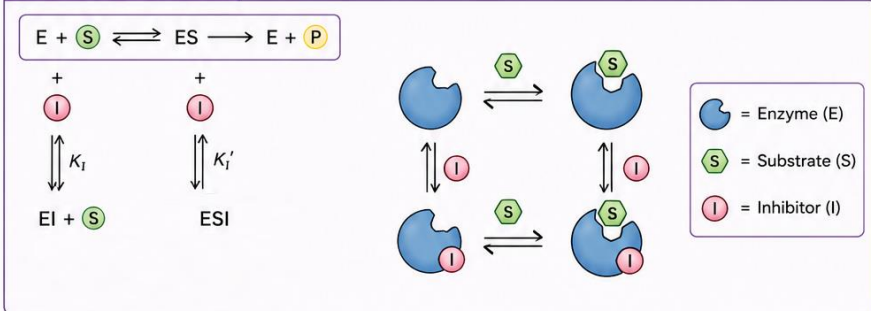
(a) Competitive inhibition



(b) Uncompetitive inhibition



(c) Mixed inhibition

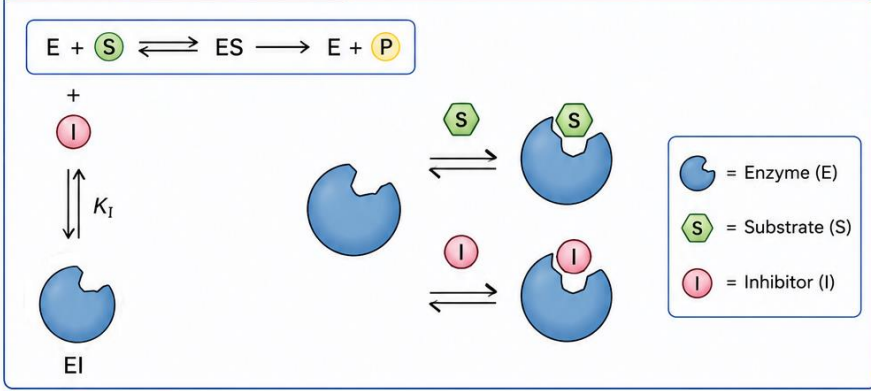




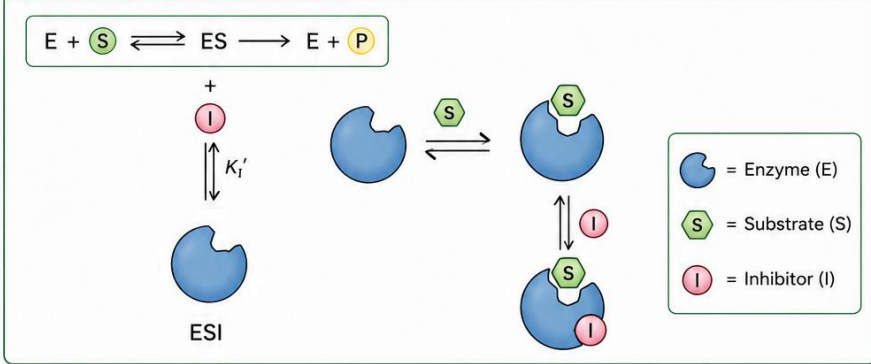
Karma İnhibisyon

- Karma inhibitör, substratın aktif bölgesinden farklı bir bölgeye bağlanır ve hem E hem de ES ile etkileşebilir.
- Karma inhibisyonunda görünür V_{max} azalırken görünür K_m inhibitörün E ve ES'ye bağlanma özelliklerine göre değişebilir.
- İnhibitör E ve ES'ye eşit derecede bağlandığında özel bir durum olan kompetitif olmayan inhibisyon ortaya çıkar.
- Kompetitif olmayan inhibisyonunda V_{max} azalırken K_m değişmeden kalır.

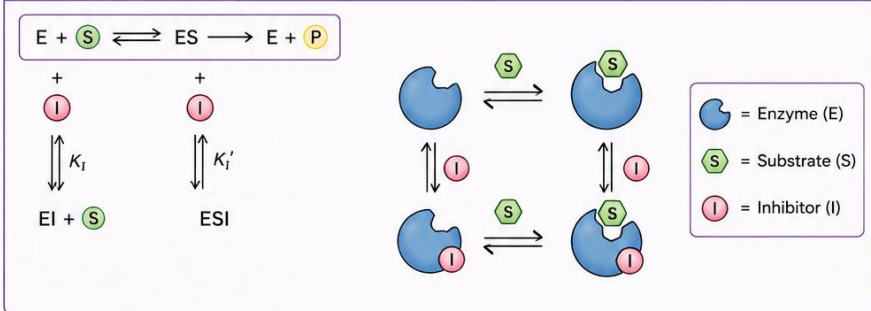
(a) Competitive inhibition



(b) Uncompetitive inhibition



(c) Mixed inhibition





Geri Dönüşümlü İnhibitörlerin Kinetik Etkileri

- Yandaki tablo, kompetitif, kompetitif olmayan ve karma inhibisyonun görünür $V_{\max}$ ve K_m üzerindeki etkilerini karşılaştırmaktadır.
- Kompetitif inhibisyonda $V_{\max}$ değişmezken görünür K_m artar.
- Kompetitif olmayan inhibisyonda hem görünür $V_{\max}$ hem de görünür K_m azalır.
- Karma inhibisyonda $V_{\max}$ azalır; K_m ise inhibitörün serbest enzim ve ES kompleksine bağlanma özelliklerine bağlıdır.

	Tersinir İnhibitörlerin Görünür $V_{\max}$ ve Görünür K_m Üzerindeki Etkileri	
İnhibitör tipi	Görünür $V_{\max}$	Görünür K_m
Yok	$V_{\max}$	K_m
Kompetitif	$V_{\max}$	αK_m
Kompetitif olmayan	$V_{\max}/\alpha'$	K_m/α'
Karışık	$V_{\max}/\alpha'$	$\alpha K_m/\alpha'$





Geri Dönüşümsüz İnhibisyon

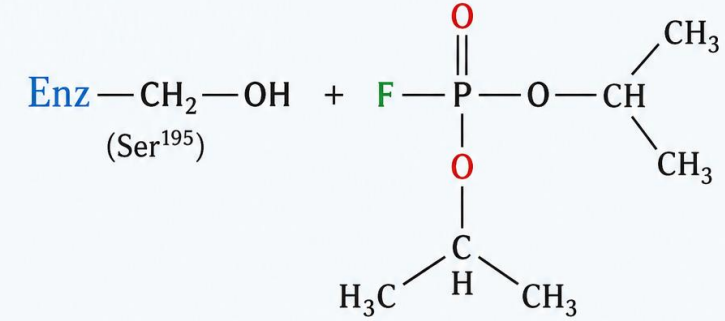
- Geri dönüşümsüz inhibitörler enzimdeki bir fonksiyonel grupla kovalent bağ oluşturarak veya çok kararlı kovalent olmayan etkileşim kurarak enzimi etkisizleştirir.
- Bu inhibitörler reaksiyon mekanizmalarının araştırılmasında önemli araçlar olarak kullanılabilir.
- Aktif bölgedeki kritik amino asit kalıntıları, enzimin inhibitörle reaksiyonundan sonra belirlenebilir.
- Bu yaklaşım, belirli amino asitlerin katalitik mekanizmadaki rollerinin anlaşılmasına yardımcı olur.



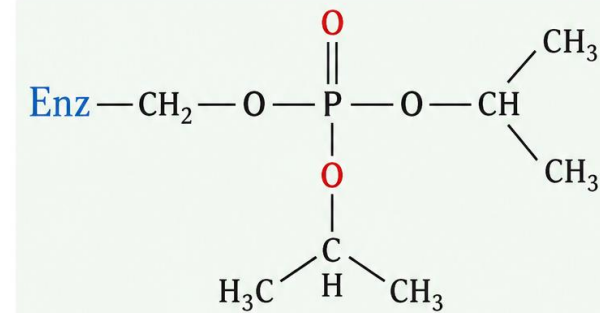


Kimotripsin ve Geri Dönüşümsüz İnhibisyon

- Diizopropilflorofosfat (DIFP), kimotripsinin aktif bölgesindeki belirli bir serin kalıntısıyla reaksiyona girerek enzimi geri dönüşümsüz biçimde inhibe eder.
- Kimotripsinin DIFP ile reaksiyonu sonucunda Ser¹⁹⁵ kalıntısı kovalent olarak değiştirilir.
- Bu bulgu, Ser¹⁹⁵'in kimotripsinin aktif bölgesindeki temel amino asitlerden biri olduğunu göstermiştir.
- DIFP'nin kimotripsin üzerindeki geri dönüşümsüz etkisi yandaki figürde gösterilmektedir.



DIFP

F⁻ + H⁺



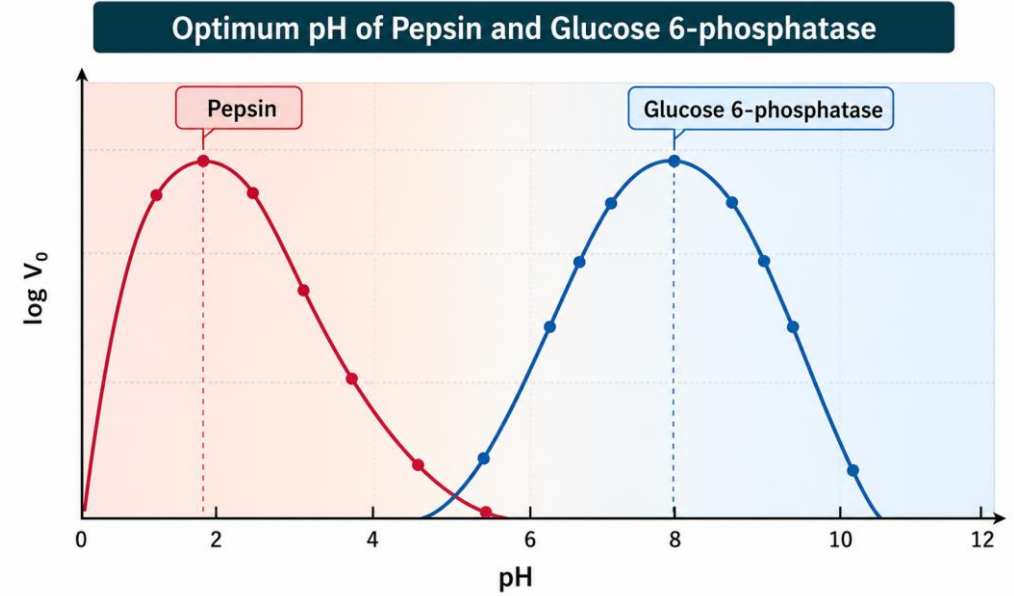
İntihar İnhibitörleri

- İntihar inhibitörleri, enzimin aktif bölgesine bağlanana kadar nispeten tepkisiz olan özel geri dönüşümsüz inhibitörlerdir.
- Enzim normal katalitik reaksiyonunun ilk basamaklarını gerçekleştirdiğinde inhibitör kimyasal olarak daha reaktif bir forma dönüşür.
- Oluşan reaktif bileşik enzime geri dönüşümsüz biçimde bağlanarak onu etkisizleştirir.
- Bu bileşikler normal enzimatik mekanizmayı kullanarak enzimi inhibe ettikleri için mekanizma temelli inhibitörler olarak da adlandırılır.



Enzim Aktivitesi pH'ya Bağlıdır

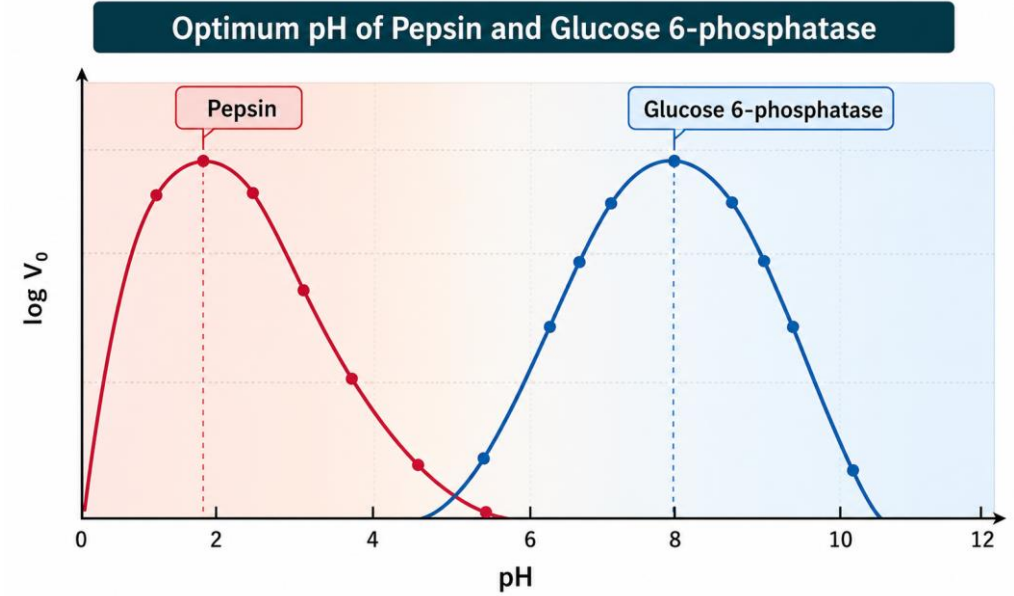
- Enzimler genellikle aktivitelerinin maksimum olduğu karakteristik bir optimum pH veya pH aralığına sahiptir.
- Optimum değerin üzerindeki veya altındaki pH koşullarında enzim aktivitesi azalır.
- Bunun temelinde, protein yapısının ve katalizde görev alan amino asit yan zincirlerinin iyonlaşma durumlarının pH'dan etkilenmesi bulunabilir.
- Pepsin ve glukoz 6-fosfatazın farklı pH–aktivite profilleri yandaki figürde gösterilmektedir.





Enzimlerin Farklı pH Optimumları

- Yandaki figürde pepsinin yaklaşık pH 1.6 civarında en yüksek aktiviteyi gösterdiği görülmektedir.
- Pepsinin düşük pH optimumu, bu enzimin midedeki asidik çalışma ortamıyla ilişkilidir.
- Glukoz 6-fosfataz ise yaklaşık pH 7.8 civarında optimum aktivite gösterir.
- Bu enzimin görev yaptığı hepatosit sitozolünün pH'sı yaklaşık 7.2'dir.





pH Enzim Aktivitesini Nasıl Değiştirir?

- pH değişimleri, enzimin yapısını koruyan iyonlaşmış amino asit yan zincirlerinin durumunu değiştirebilir.
- Örneğin bir histidin kalıntısından proton uzaklaştırılması, aktif konformasyonu kararlı tutan iyonik etkileşimi ortadan kaldırabilir.
- pH duyarlılığı aynı zamanda substrattaki bir grubun iyonlaşmasından da kaynaklanabilir.
- Bu nedenle enzim aktivitesindeki pH bağımlılığı hem enzim hem de substrat üzerindeki iyonlaşabilir gruplarla ilişkili olabilir.





Aktif Bölgedeki pK_a Değerleri

- Enzim aktivitesinin pH'ya bağlı değişimi, katalizde görev alan amino asit yan zincirlerinin türü hakkında ipuçları sağlayabilir.
- Yaklaşık pH 7 civarındaki aktivite değişimi, örneğin bir histidin kalıntısının iyonlaşmasına işaret edebilir.
- Proteinlerin sıkı paketlenmiş ortamında amino asit yan zincirlerinin pK_a değerleri serbest amino asitlerdeki değerlerinden önemli ölçüde farklılaşabilir.
- Bu değişimler, proteindeki yakın yüklerin ve yerel elektrostatik çevrenin amino asitlerin iyonlaşma davranışını etkileyebildiğini gösterir.



İZLE



Enzimatik Reaksiyon Mekanizmalarını Anlamak

- Bir enzimin ayrıntılı etki mekanizmasını çözmek için substratlar, ürünler, kofaktörler ve düzenleyiciler tanımlanmalıdır.
- Ayrıca reaksiyon ara ürünlerinin yapısı ve sırası ile enzim–ara ürün etkileşimleri bilinmelidir.
- Ara ürünlerin ve geçiş durumlarının enerjileri de mekanizmanın anlaşılmasında önem taşır.

Bi Dünya Biyoloji

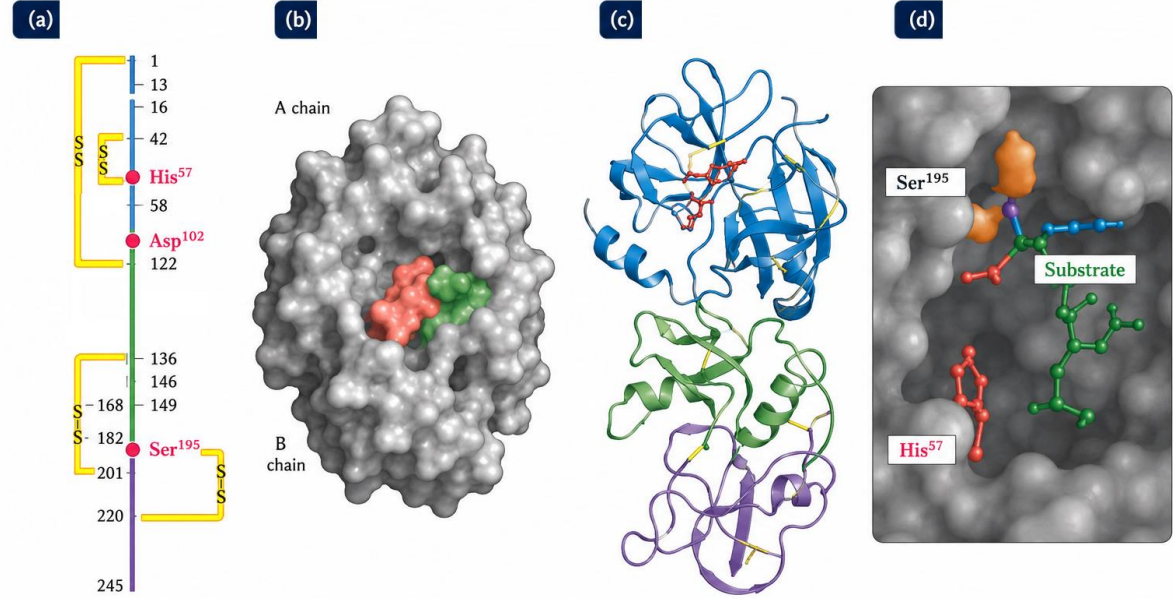


Bektaş Tepe
gezimania_tr



Kimotripsin ve Peptit Bağlarının Hidrolizi

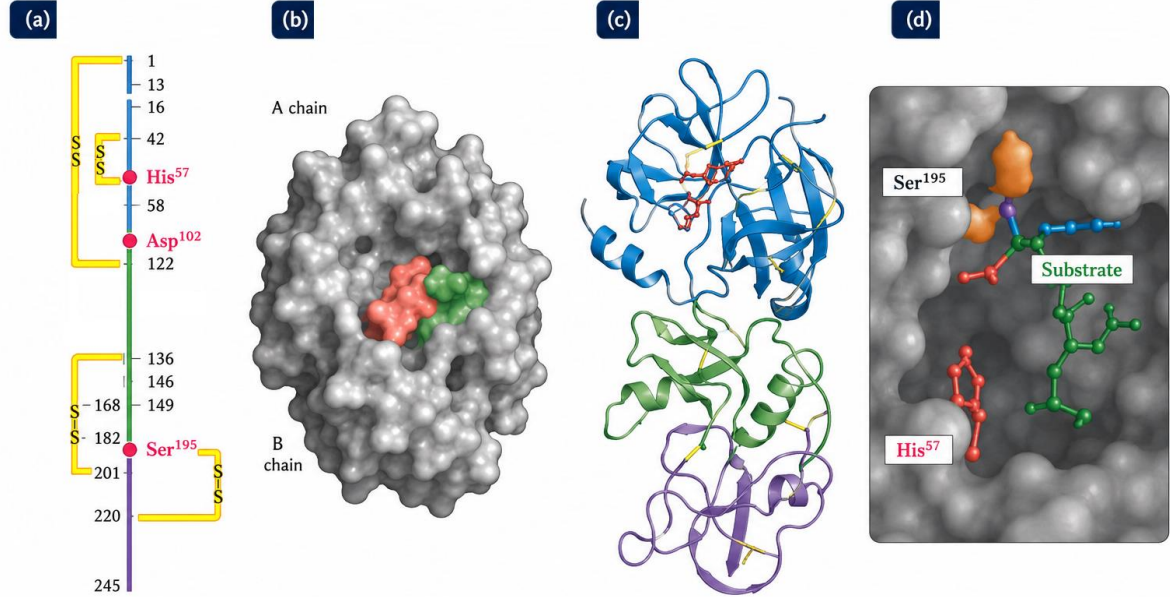
- Kimotripsin, peptit bağlarının hidrolitik parçalanmasını katalizleyen bir serin proteazdır.
- Enzim özellikle Trp, Phe ve Tyr gibi aromatik amino asitlerin yanındaki peptit bağlarına özgüllük gösterir.
- Kimotripsin üç polipeptit zincirinden oluşur ve zincirler disülfid bağlarıyla birbirine bağlanmıştır.
- Enzimin üç boyutlu yapısı ve aktif bölgesindeki katalitik kalıntılar yandaki figürde gösterilmektedir.





Kimotripsinin Aktif Bölgesi

- Kimotripsinin aktif bölgesinde Ser¹⁹⁵, His⁵⁷ ve Asp¹⁰² kataliz açısından kritik öneme sahiptir.
- Bu üç amino asit, proteinin birincil yapısında birbirinden uzak olmasına rağmen üç boyutlu yapıda yan yana gelir.
- Aromatik substrat yan zinciri aktif bölgedeki hidrofobik cebe yerleşir.
- Aktif bölgenin ayrıntılı düzenlenmesi ve substratın bağlanma biçimi yandaki figürde gösterilmektedir.





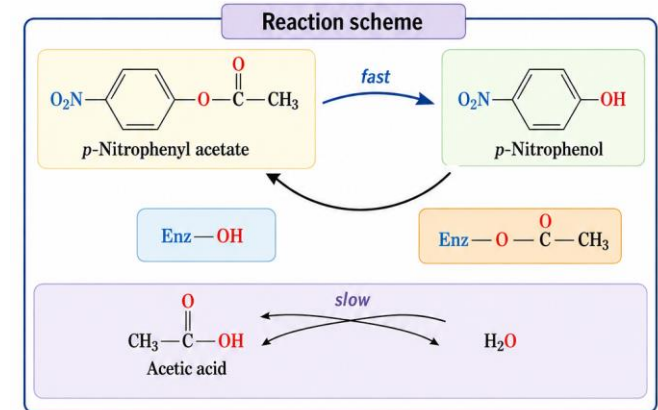
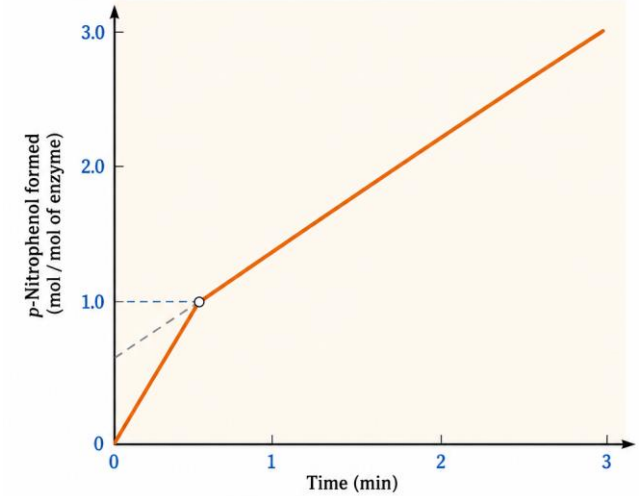
Kimotripsin Reaksiyonunun İki Fazı

- Kimotripsin peptit bağlarının hidrolizini en az 10^9 kat hızlandırabilir.
- Reaksiyon doğrudan su saldırısıyla gerçekleşmez; önce geçici bir kovalent açıl–enzim ara ürünü oluşur.
- Açılasyon fazında peptit bağı kırılır ve peptidin karbonil karbonu ile enzim arasında ester bağı oluşur.
- Deaçilasyon fazında bu ester hidroliz edilir ve serbest enzim yeniden oluşur.



Açıl–Enzim Ara Ürününün Kinetik Kanıtı

- Kimotripsinin bazı küçük esterlerinin hidrolizinde başlangıçta hızlı bir ürün oluşumu, ardından daha yavaş bir faz görülür.
- Bu hızlı başlangıç fazı, her enzim molekülü başına yaklaşık bir ürün molekülünün hızla oluşmasına karşılık gelir.
- Daha yavaş ikinci faz, açıl–enzim ara ürününün hidroliz hızını yansıtır.
- Bu hızlı başlangıç fazı ve reaksiyonun iki kinetik fazı yandaki figürde gösterilmektedir.

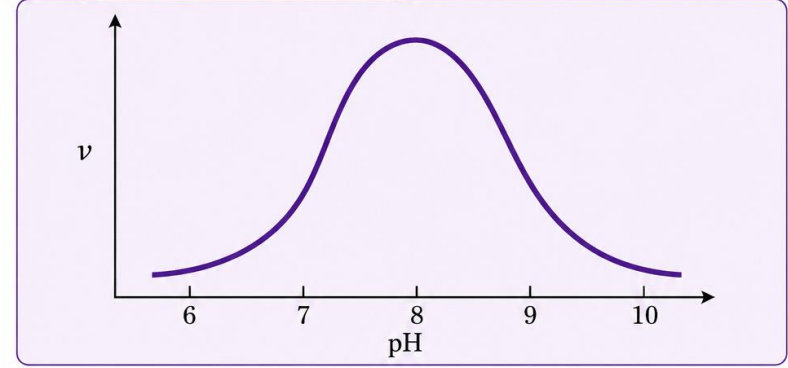




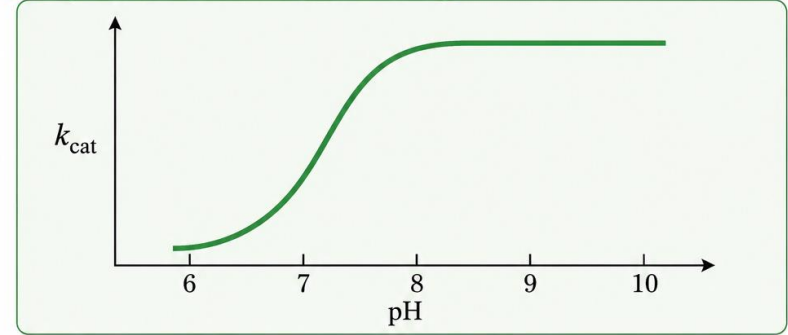
Kimotripsin Aktivitesinin pH'ya Bağımlılığı

- Kimotripsinin reaksiyon hızı pH'ya bağlıdır ve bu bağımlılık farklı kinetik parametrelerde farklı biçimde ortaya çıkar.
- Düşük pH'da k_{cat} değerindeki azalma, His⁵⁷ kalıntısının protonlanmasıyla ilişkilidir.
- Daha yüksek pH'da $1/K_m$ değerindeki azalma ise Ile¹⁶'nın amino grubunun proton kaybetmesiyle ilişkilidir.
- Bu pH bağımlılıkları yandaki figürde V_o , k_{cat} ve $1/K_m$ üzerinden gösterilmektedir.

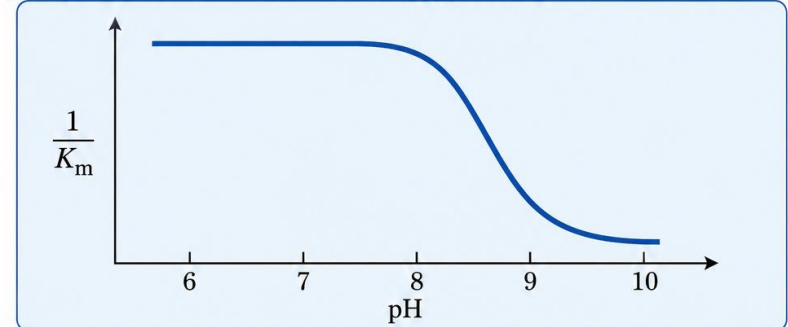
A

Enzyme activity (v) vs pH

B

Catalytic constant (k_{cat}) vs pH

C

Inverse Michaelis constant ($1/K_m$) vs pH



Kimotripsinde Katalitik Üçlü

- Ser¹⁹⁵, His⁵⁷ ve Asp¹⁰² birlikte katalitik üçlü olarak adlandırılan bir hidrojen bağı ağı oluşturur.
- His⁵⁷ ile Asp¹⁰² arasındaki etkileşim, His⁵⁷'nin proton alıcı özelliğini güçlendirir.
- His⁵⁷ böylece Ser¹⁹⁵'in hidroksil grubundan proton alarak serin oksijenini daha güçlü bir nükleofil hâline getirir.
- Bu düzenleme, peptit bağının karbonil karbonuna yapılacak nükleofilik saldırıyı kolaylaştırır.





Oksi-anyon Boşluğu ve Geçiş Durumu

- Ser¹⁹⁵ substratın karbonil karbonuna saldırdığında kısa ömürlü tetrahedral bir ara ürün oluşur.
- Bu ara üründe karbonil oksijeni negatif yük kazanır ve enzimin oksi-anyon boşluğu içine yerleşir.
- Oksi-anyon boşluğundaki hidrojen bağları negatif yükü kararlı hâle getirir.
- Böylece geçiş durumuna ulaşmak için gereken enerji azaltılarak kataliz kolaylaştırılır.

İZLE



Kimotripsin Mekanizmasının Açılasyon Fazı

- İlk basamakta His⁵⁷, Ser¹⁹⁵'ten proton alır ve oluşan alkoksit iyonu substratın karbonil karbonuna saldırır.
- Bu saldırı oksi-anyon boşluğunda kararlı hâle getirilen tetrahedral bir ara ürün oluşturur.
- Ara ürün çöktüğünde peptit bağı kırılır ve amino uçtaki ürün ayrılır.

Bi Dünya Biyoloji



Bektaş Tepe
gezimania_tr



Kimotripsin Mekanizmasının Deaçilasyon Fazı

- Deaçilasyon fazında bir su molekülü aktif bölgeye girer ve His⁵⁷ tarafından de-protonlanır.
- Oluşan hidroksit iyonu açıl–enzim ara ürününün karbonil karbonuna nükleofilik saldırı yapar.
- İkinci bir tetrahedral ara ürün oluşur ve oksi-anyon boşluğu tarafından kararlı hâle getirilir.
- Ara ürünün çökmesiyle ikinci ürün serbest bırakılır ve aktif Ser¹⁹⁵ yeniden oluşturulur.





Kimotripsin Mekanizmasında Katalitik İlkeler

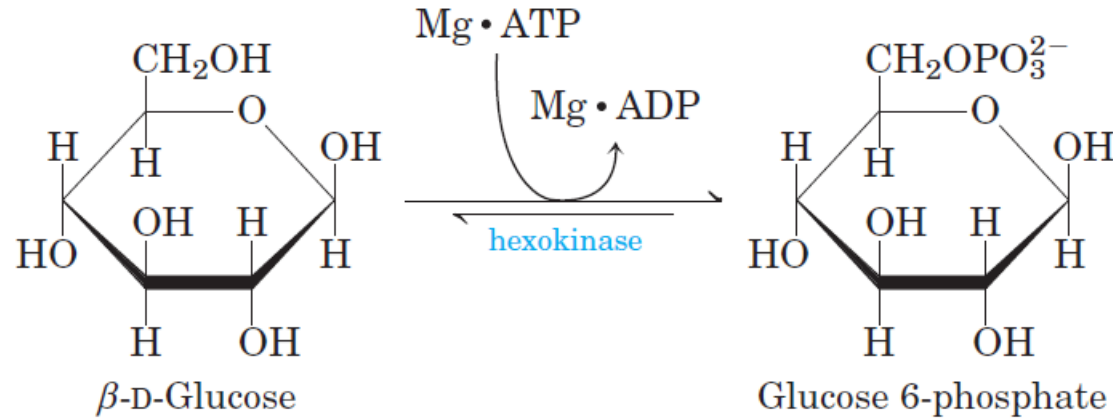
- Kimotripsin mekanizması kovalent kataliz, genel asit–baz katalizi ve geçiş durumunun kararlı hâle getirilmesini birlikte kullanır.
- Ser¹⁹⁵ geçici kovalent bağ oluştururken His⁵⁷ proton transferlerine aracılık eder.
- Oksi-anyon boşluğu, tetrahedral ara ürünlerde gelişen negatif yükü kararlı hâle getirir.
- Böylece tek bir reaksiyon mekanizmasında birden fazla katalitik strateji birlikte görev yapar.





Hekzokinaz Reaksiyonu

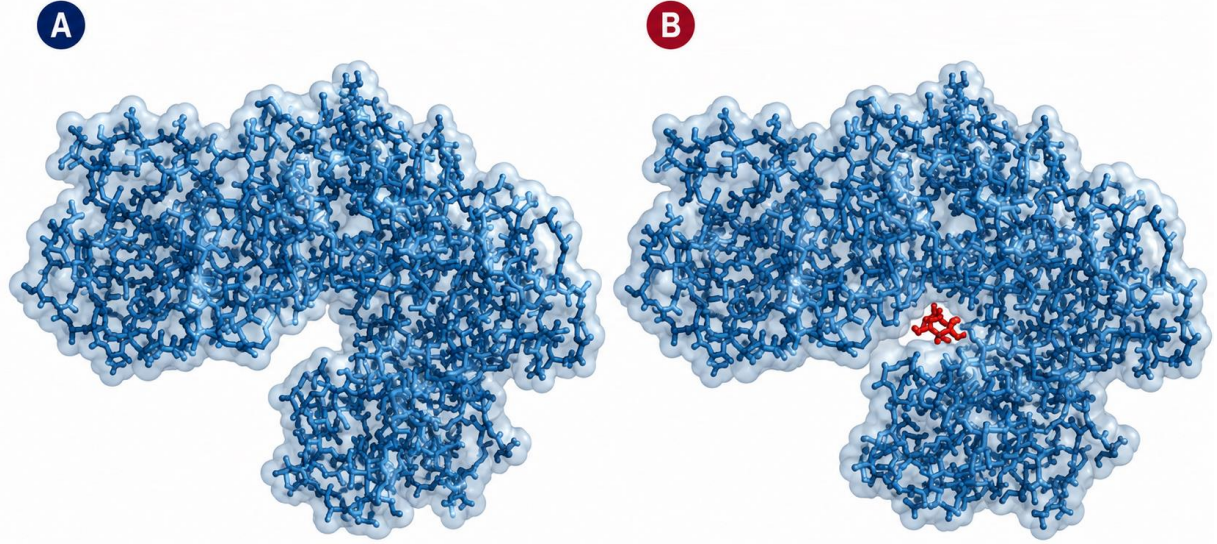
- Maya heksokinazı, ATP'den glukozu fosforil grubu aktarılmasını katalizleyen iki substratlı bir enzimdir.
- ATP ve ADP, enzime genellikle Mg^{2+} kompleksleri hâlinde bağlanır.
- ATP'nin γ -fosforil grubu glukozun C-6 hidroksil grubuna aktarılır.
- Reaksiyon sonucunda glukoz 6-fosfat oluşur.





Hekzokinazda İndüklenmiş Uyum

- Glukoz bağlandığında heksokinaz önemli bir konformasyon değişikliğine uğrar.
- Enzimin iki bölümü birbirine yaklaşarak aktif bölgeyi kapatır ve katalitik grupları uygun konuma getirir.
- Glukoz bulunmadığında bazı aktif bölge kalıntıları doğru konumda değildir ve enzim katalitik olarak uygun konformasyonda bulunmaz.
- Glukoza bağlı konformasyon değişikliği yandaki figürde gösterilmektedir.





Hekzokinazın Su ile Reaksiyonu Nasıl Önlenir?

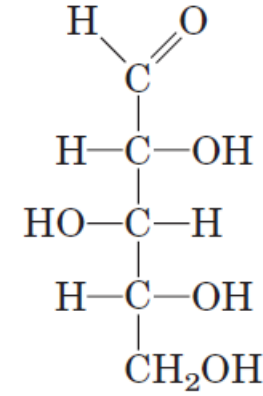
- Su, glukozdaki hidroksil grubuna kimyasal açıdan benzer nükleofilik özellik gösterebilir.
- Buna rağmen hekzokinaz normalde ATP'nin su tarafından hidrolizini belirgin biçimde katalizlemez.
- Glukoz bağlanması, enzimi kapalı ve katalitik olarak aktif konformasyona geçirerek suyun uygun şekilde reaksiyona katılmasını engeller.
- Bu durum, substrat özgüllüğünün yalnızca bağlanmaya değil sonraki katalitik basamaklara da bağlı olduğunu gösterir.



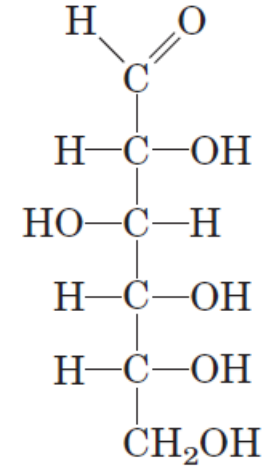


Ksiloz ve Hekzokinazın Konformasyonel Aktivasyonu

- Ksiloz glukoza benzeyen beş karbonlu bir şekerdir ve hekzokinaza bağlanabilir.
- Ksiloz bağlanması enzimin aktif konformasyona geçmesini sağlayabilir ancak uygun fosforil grup alıcısı değildir.
- Bu nedenle ksiloz varlığında ATP hidrolizi belirgin biçimde artabilir.
- Bu gözlem, indüklenmiş uyumun katalitik özgüllükteki rolünü destekler.



Xylose



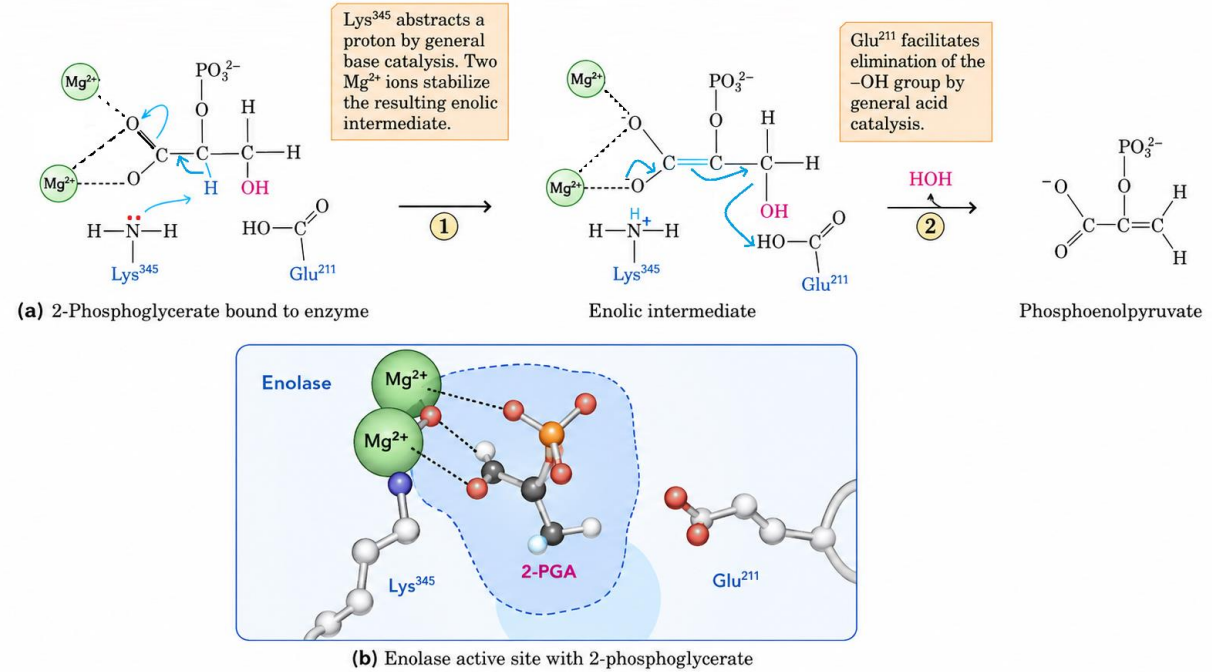
Glucose





Enolaz ve Metal İyonu Katalizi

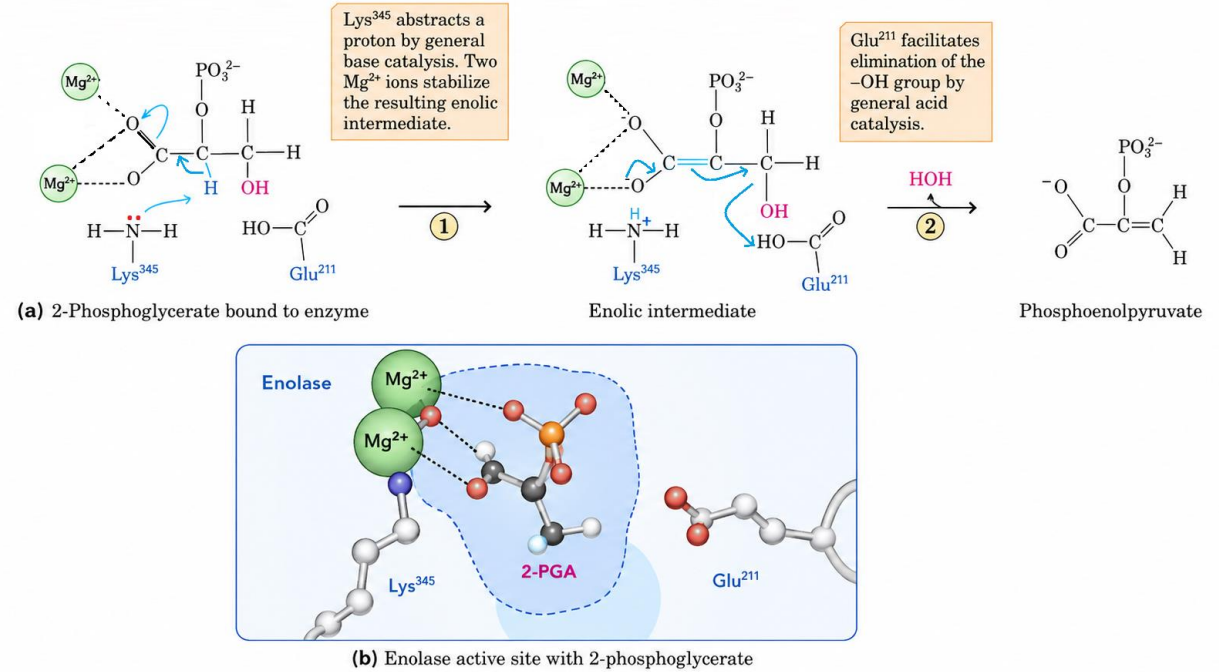
- Enolaz, glikolizde 2-fosfoglisaratın fosfoenolpirüvata geri dönüşümlü dehidrasyonunu katalizler.
- Maya enolazı iki alt birimli bir enzimdir ve reaksiyonunda metal iyonları önemli rol oynar.
- Mekanizma genel asit–baz katalizi, elektrostatik kararlılaştırma ve geçiş durumunun kararlılaştırılmasını birlikte içerir.
- Enolaz reaksiyonunun iki temel basamağı yandaki figürde gösterilmektedir.





Enolaz Mekanizmasının İlk Basamağı

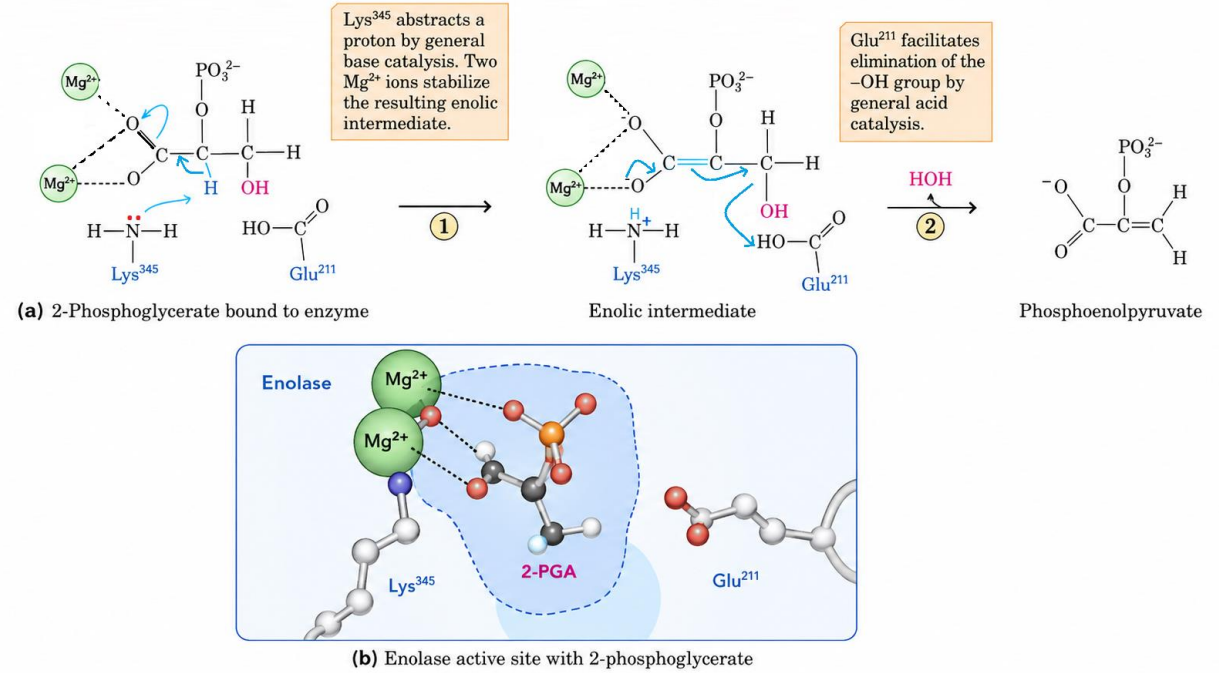
- İlk basamakta Lys^{345} genel baz görevi görerek 2-fosfoglisaratın C-2 karbonundan proton uzaklaştırır.
- Böylece negatif yüklü bir enolat ara ürünü oluşur.
- Enzime bağlı iki Mg^{2+} iyonu bu negatif yüklü ara ürünün kararlı hâle getirilmesine katkıda bulunur.
- Metal iyonları aynı zamanda substratın aktif bölgedeki doğru konumlandırılmasını destekler.





Enolaz Mekanizmasının İkinci Basamağı

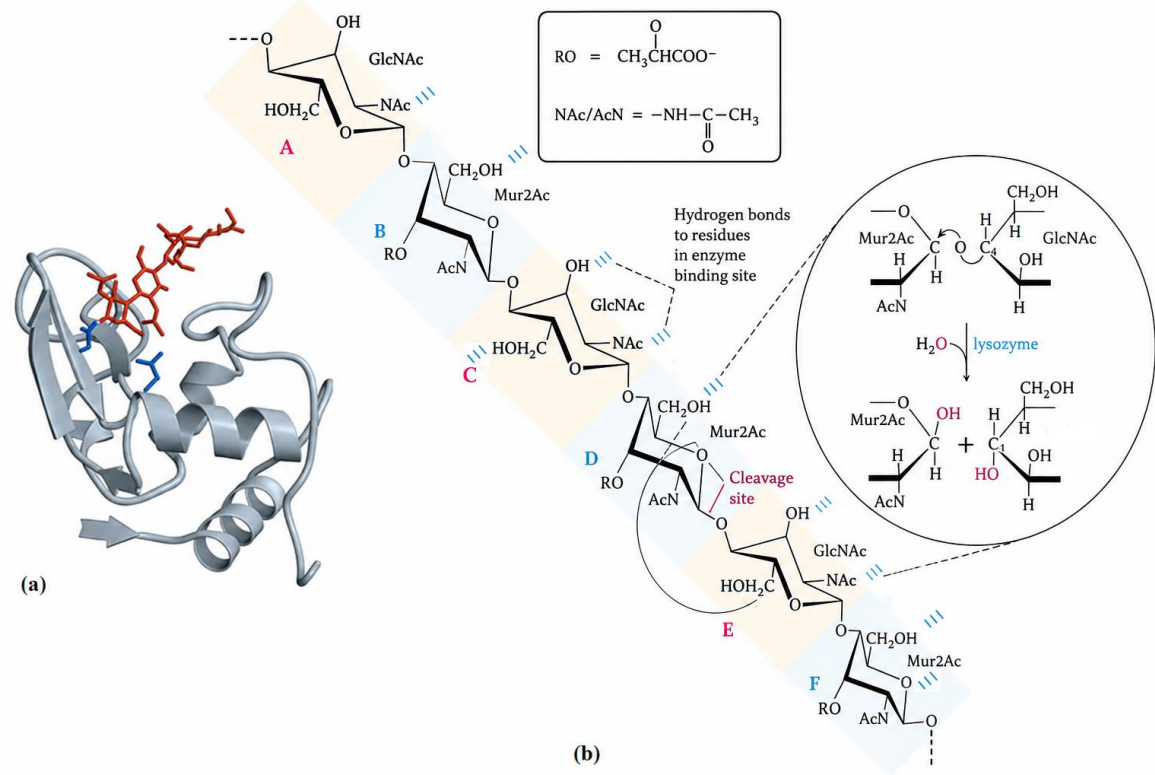
- İkinci basamakta Glu²¹¹ genel asit görevi görerek hidroksil grubunun uzaklaştırılmasını kolaylaştırır.
- Reaksiyon sonunda fosfoenolpirüvat oluşur.
- Aktif bölgedeki hidrojen bağları ve diğer etkileşimler enolat ara ürününü ve geçiş durumunu destekler.
- Lys³⁴⁵, Glu²¹¹ ve iki Mg²⁺ iyonunun düzenlenmesi yandaki figürde gösterilmektedir.





Lizozim ve Antibakteriyel Etkisi

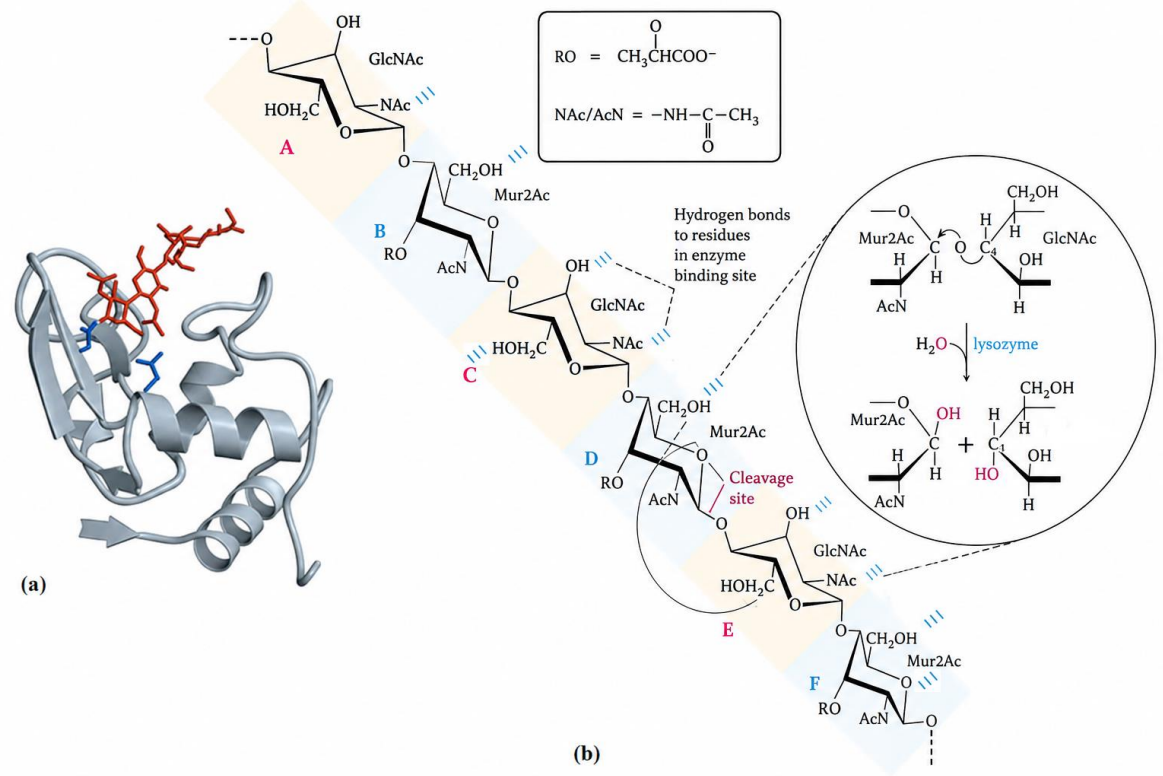
- Lizozim gözyaşı ve yumurta akında bulunan doğal antibakteriyel bir proteindir.
- Tavuk yumurta akı lizozimi 129 amino asitlik tek bir polipeptit zincirinden oluşur.
- Lizozim yapısında dört disülfid bağı bulunur ve aktif bölge uzun bir yarık biçimindedir.
- Enzimin üç boyutlu yapısı ve peptidoglikan substratıyla etkileşimi yandaki figürde gösterilmektedir.





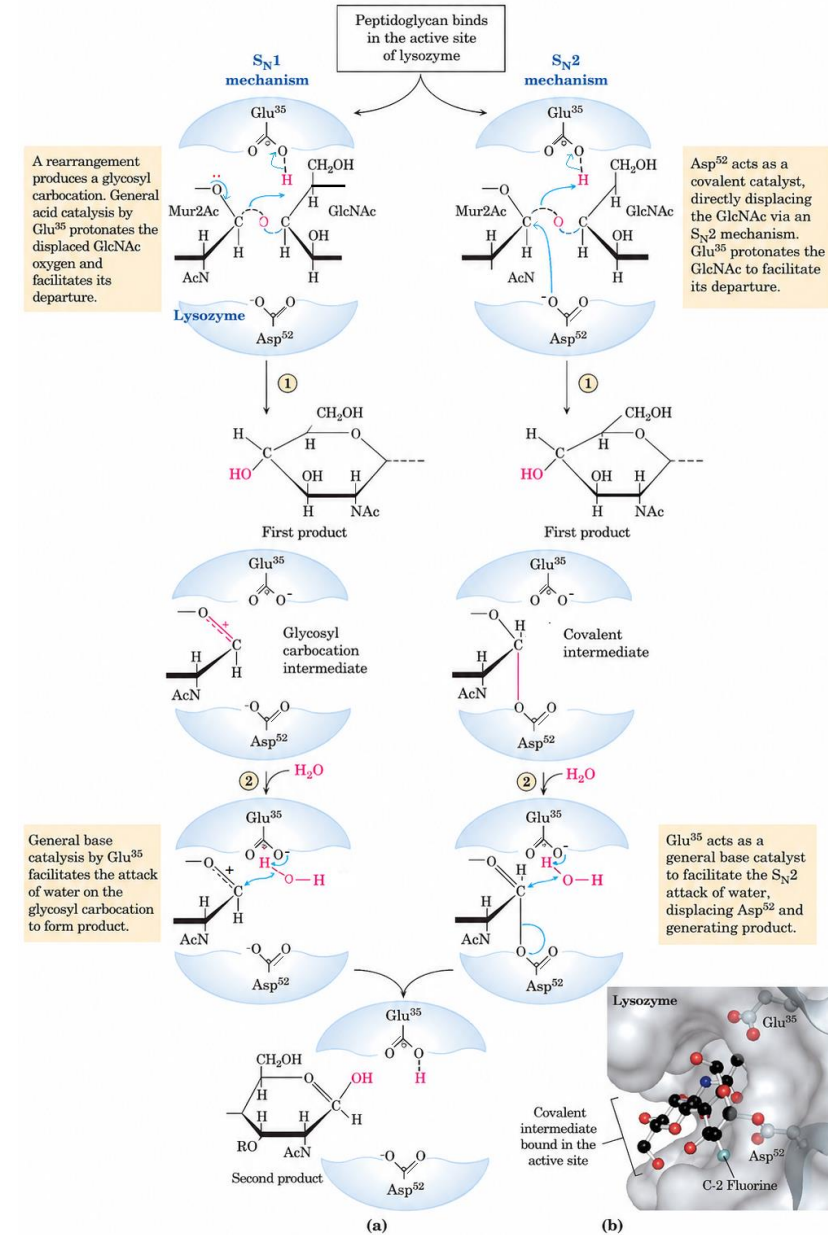
Lizozimin Substratı Peptidoglikan

- Lizozimin substratı birçok bakterinin hücre duvarında bulunan peptidoglikandır.
- Lizozim, N-asetilmuramik asit ile N-asetilglukozamin arasındaki $\beta(1 \rightarrow 4)$ glikozidik bağı hidroliz eder.
- Aktif bölgedeki yarıқта altı şeker kalıntısının bağlanabildiği A–F olarak adlandırılan bölgeler bulunur.
- Kesilen bağ, D bölgesindeki Mur2Ac ile E bölgesindeki GlcNAc arasında yer alır.



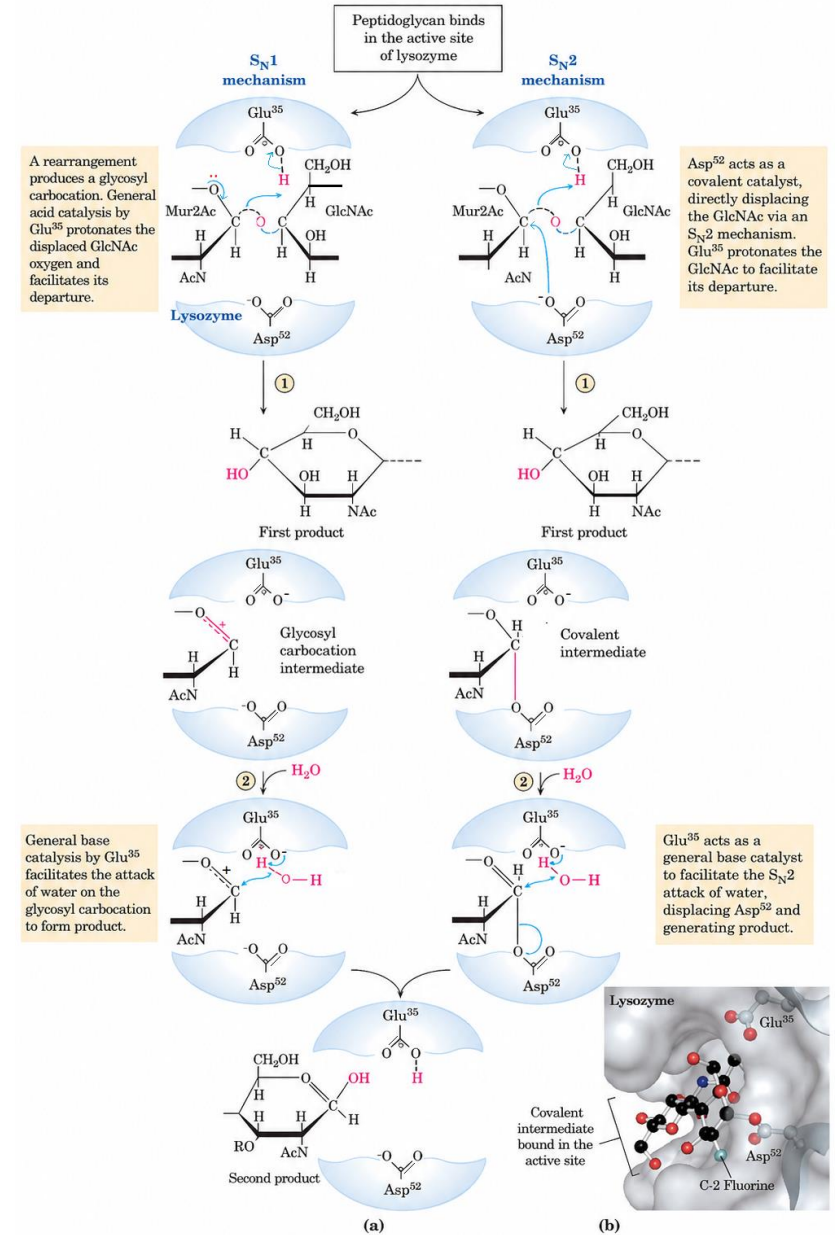
Lizozimin Katalitik Amino Asitleri

- Lizozim mekanizmasında Glu³⁵ ve Asp⁵² temel katalitik amino asitlerdir.
- Glu³⁵ proton aktarımında genel asit–baz katalizine katkı sağlar.
- Asp⁵² ise reaksiyon mekanizmasında negatif yüklü veya kovalent ara yapıların kararlılaştırılmasına katılır.
- Bu amino asitlerin substrata göre konumları yandaki figürde gösterilmektedir.



Lizozim İçin Önerilen İki Mekanizma

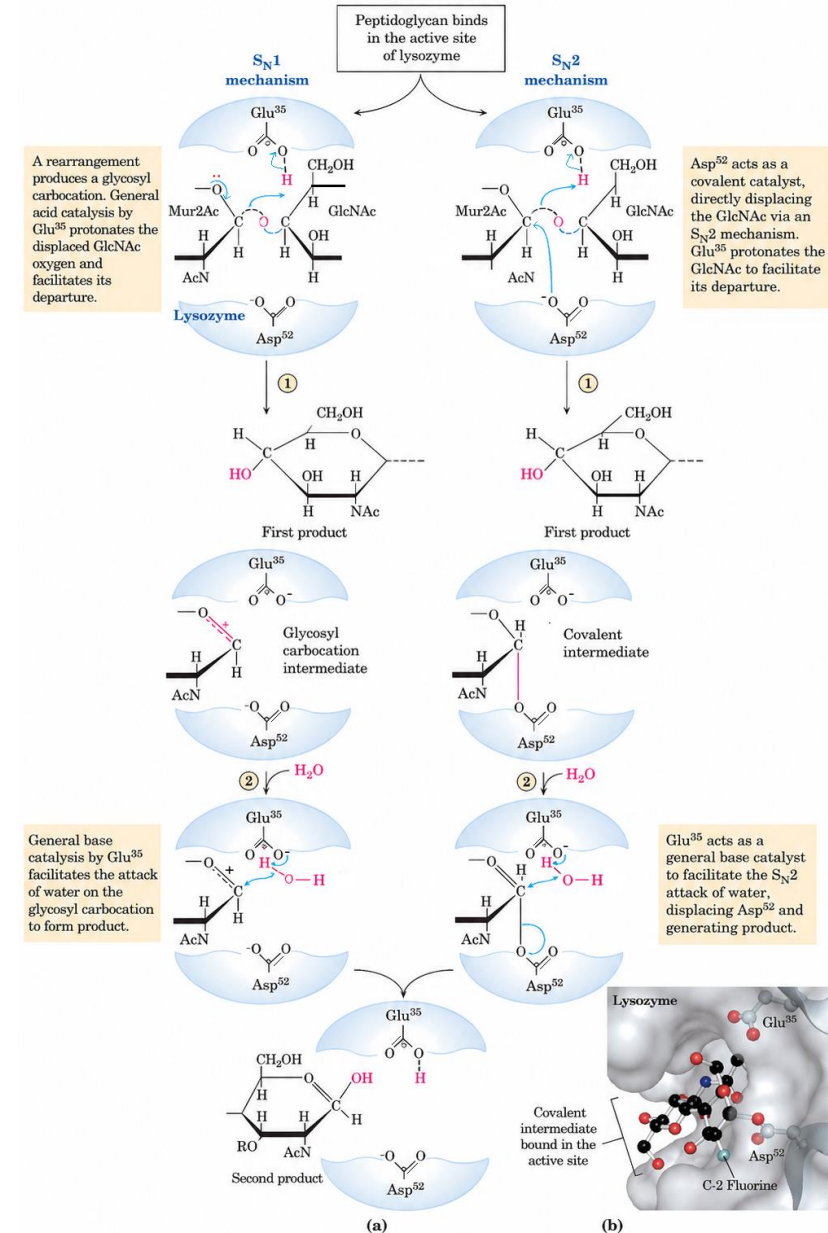
- Lizozim reaksiyonunun ayrıntılı mekanizması için kimyasal olarak makul iki yol önerilmiştir.
- İlk yol, glikozil karbokasyon karakterli bir ara ürün içeren S_N1 tipi Phillips mekanizmasıdır.
- İkinci yol ise Asp^{52} ile substrat arasında kovalent ara ürün oluşturan iki aşamalı S_N2 tipi mekanizmadır.
- Bu iki alternatif mekanizma yandaki figürde karşılaştırılmaktadır.





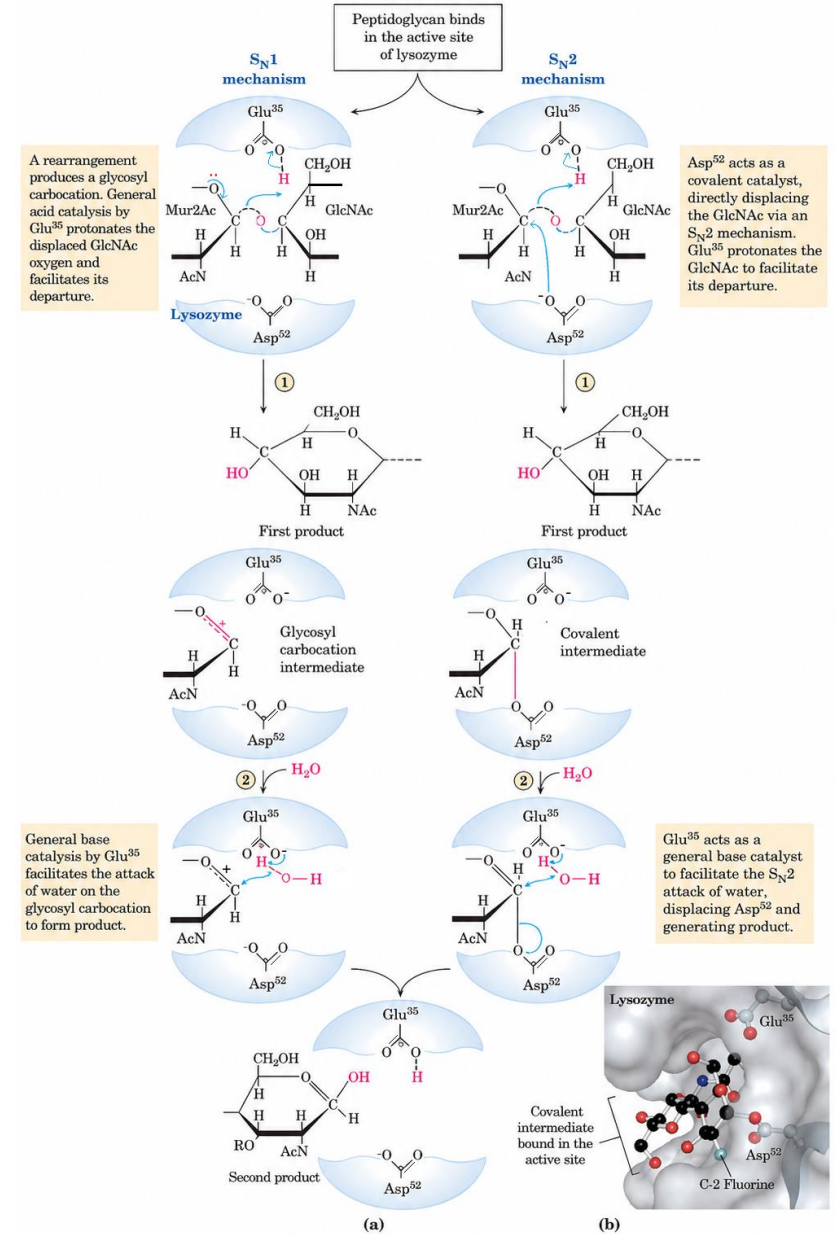
Phillips Mekanizması

- Phillips mekanizmasında Glu^{35} ayrılan GlcNAc grubuna proton vererek glikozidik bağın kırılmasını kolaylaştırır.
- Bağın kopmasıyla glikozil karbokasyon karakterli bir ara ürün oluşur.
- Ara ürün Asp^{52} 'nin negatif yükü ve komşu oksijen atomlarının rezonans etkileriyle kararlı hâle getirilebilir.
- Ardından su ara ürüne saldırarak hidroliz ürününü oluşturur.



Lizozimde S_N2 Mekanizması

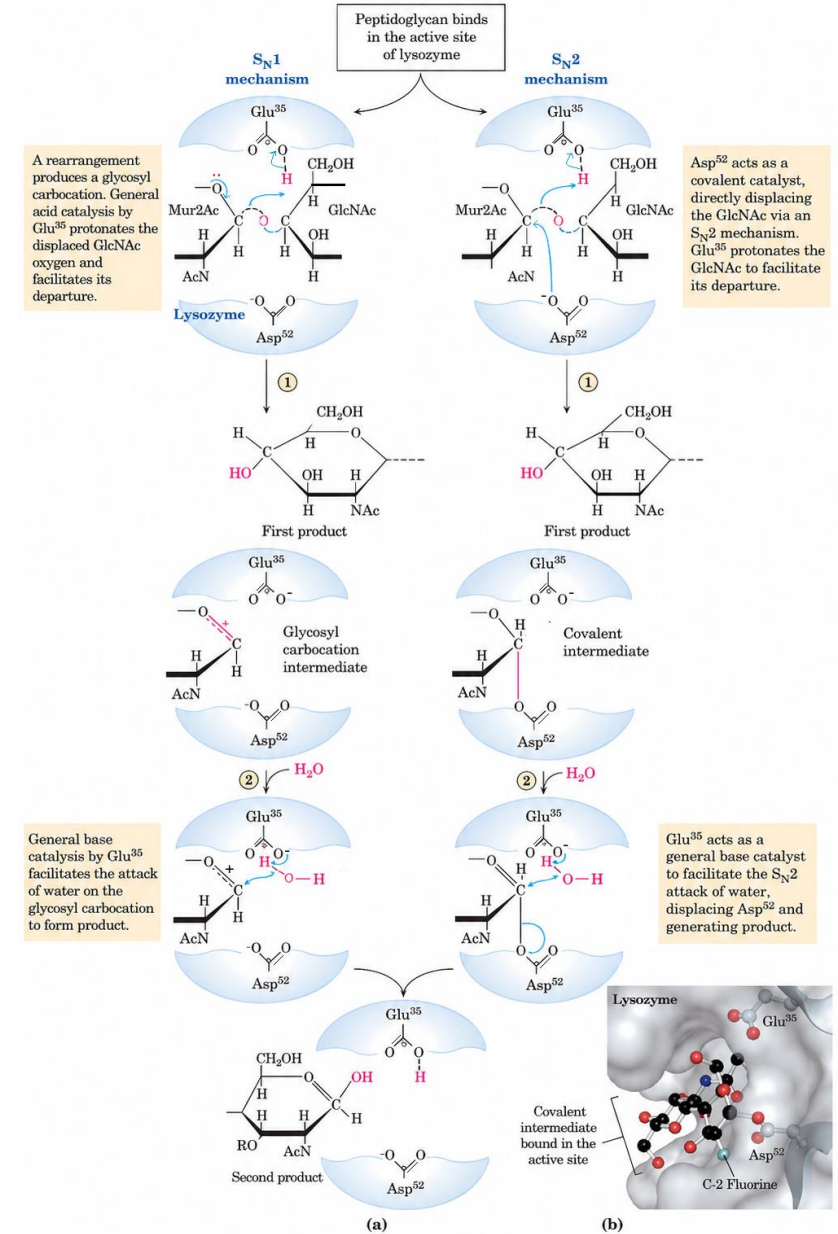
- Alternatif S_N2 mekanizmasında Asp^{52} , Mur2Ac'ın C-1 karbonuna doğrudan nükleofilik saldırı yapar.
- İlk basamakta Glu^{35} ayrılan GlcNAc grubuna proton verir ve kovalent enzim-substrat ara ürünü oluşur.
- İkinci basamakta su kovalent ara ürüne saldırarak Asp^{52} 'nin enzime yeniden kazandırılmasını sağlar.
- Bu mekanizmada iki ardışık yer değiştirme sonucunda ürünün stereokimyası korunur.





Lizozim Mekanizmasının DeneySEL Çözümü

- Lizozim mekanizmasının ayrıntıları uzun süre deneysel olarak tartışmalı kalmıştır.
- Daha sonraki çalışmalar, reaksiyon sırasında kısa ömürlü kovalent ara ürünün doğrudan gözlenmesini sağlamıştır.
- Kütle spektrometrisi ve x-ışını kristalografisiyle elde edilen bulgular S_N2 tipi mekanizmayı desteklemiştir.
- Kovalent ara ürünün aktif bölgedeki yapısal gösterimi Figür b'de sunulmaktadır.





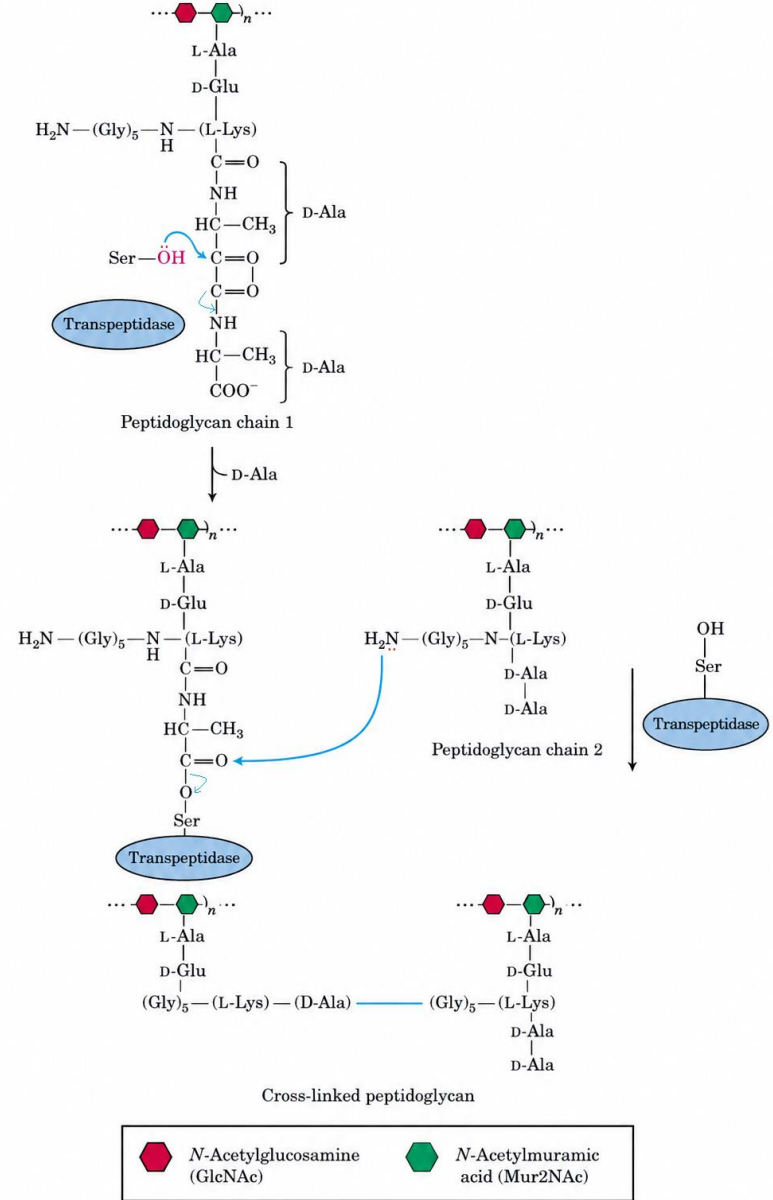
Enzim Mekanizmalarının Tıbbi Önemi

- Enzim mekanizmalarının anlaşılması yalnızca temel biyokimya açısından değil ilaç geliştirme açısından da önemlidir.
- Penisilin ve türevleri ile HIV proteaz inhibitörleri, enzim mekanizmalarından yararlanılarak açıklanabilen önemli ilaç örnekleridir.
- Penisilinler belirli bir bakteriyel enzimi geri dönüşümsüz biçimde inhibe eder.
- HIV proteaz inhibitörleri ise viral proteazın aktif bölgesine sıkı biçimde bağlanarak enzim aktivitesini baskılar.



Transpeptidaz ve Bakteri Hücre Duvarı

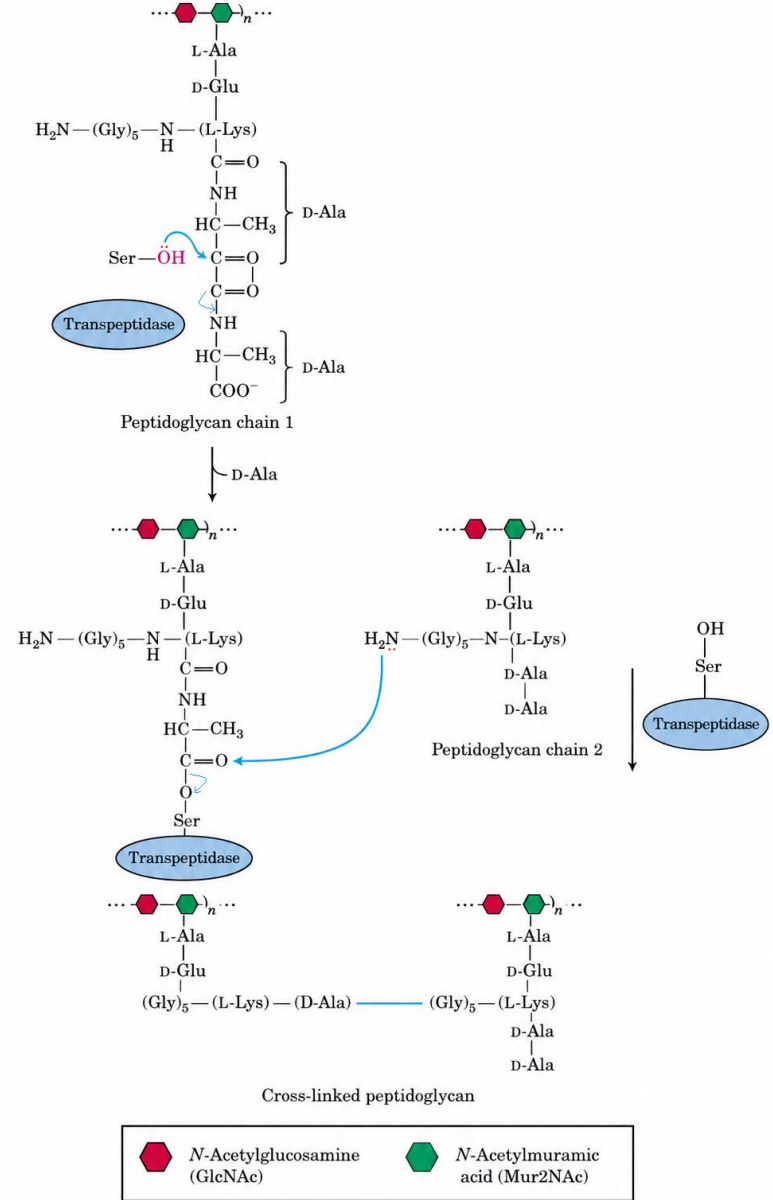
- Bakteriyel hücre duvarının dayanıklılığı, peptidoglikan zincirleri arasındaki çapraz bağlarla sağlanır.
- Bu çapraz bağların oluşumunu transpeptidaz enzimi katalizler.
- Reaksiyonda enzimin aktif bölgesindeki serin kalıntısı peptit bağının karbonil karbonuna saldırır ve geçici kovalent ara ürün oluşturur.
- Transpeptidaz reaksiyonunun mekanizması yandaki figürde gösterilmektedir.





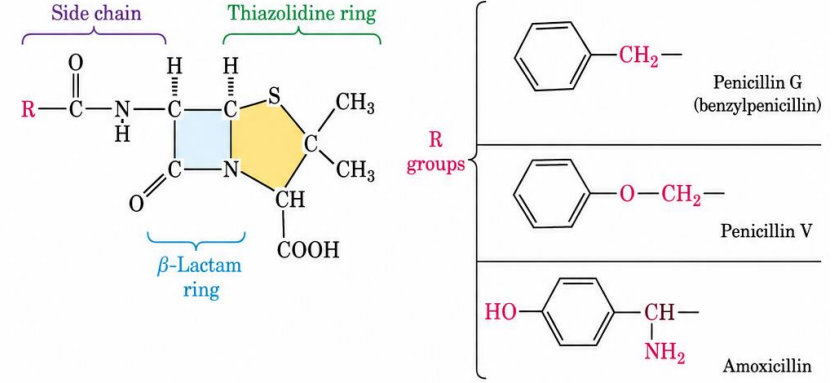
Transpeptidaz Reaksiyonunun Basamakları

- Transpeptidaz ilk olarak bir peptidoglikan zincirindeki D-Ala–D-Ala bölgesine bağlanır.
- Aktif bölgedeki Ser kalıntısı karbonil karbonuna saldırırken terminal D-Ala ayrılır.
- Enzim ile substrat arasında kovalent açıl–enzim ara ürünü oluşur.
- İkinci peptidoglikan zincirinin amino grubu ara ürüne saldırarak çapraz bağı oluşturur ve enzim serbestleşir.

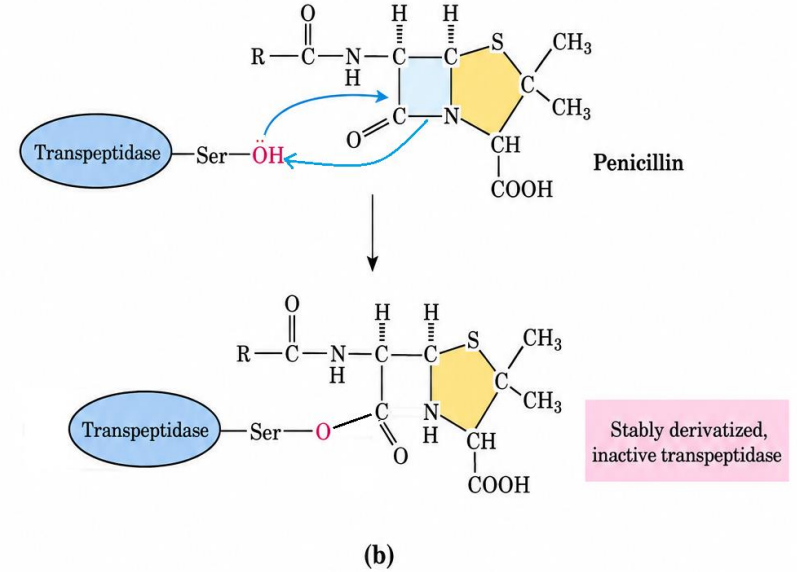


Penisilinlerin Yapısal Özelliği

- Penisilinler ortak bir çekirdek yapı taşır ve bu yapıda karakteristik bir β -laktam halkası bulunur.
- Penisilin G, penisilin V ve amoksisilin gibi türevler farklı yan gruplara sahiptir.
- β -Laktam halkasının gerilimli yapısı, molekülün transpeptidazın aktif bölgesiyle reaksiyona girmesini kolaylaştırır.
- Penisilinlerin genel yapısı ve farklı örnekleri Figür a'da gösterilmektedir.



(a) General structure of penicillins

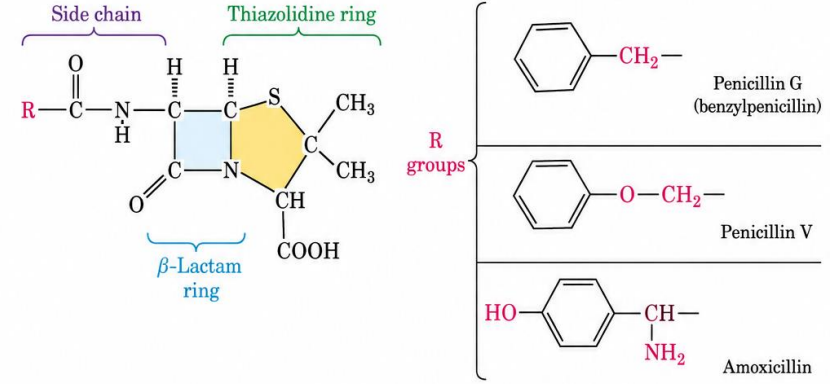


(b)

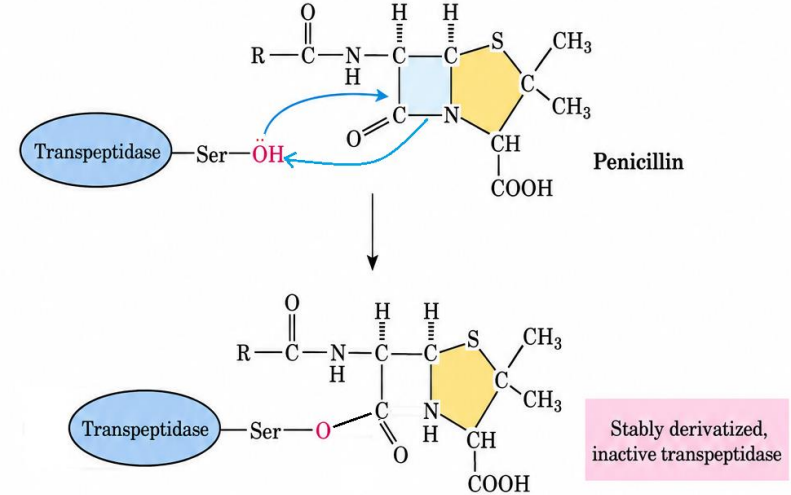


Penisilin Transpeptidazı Nasıl İnhibe Eder?

- Penisilin, transpeptidazın aktif bölgesindeki Ser kalıntısıyla reaksiyona girer.
- Ser kalıntısının β -laktam karboniline saldırmasıyla kovalent bir enzim–penisilin kompleksi oluşur.
- Bu kompleks çok kararlıdır ve enzim normal katalitik döngüsüne geri dönemez.
- Transpeptidazın penisilin tarafından geri dönüşümsüz inhibisyonu Figür b'de gösterilmektedir.



(a) General structure of penicillins



(b)





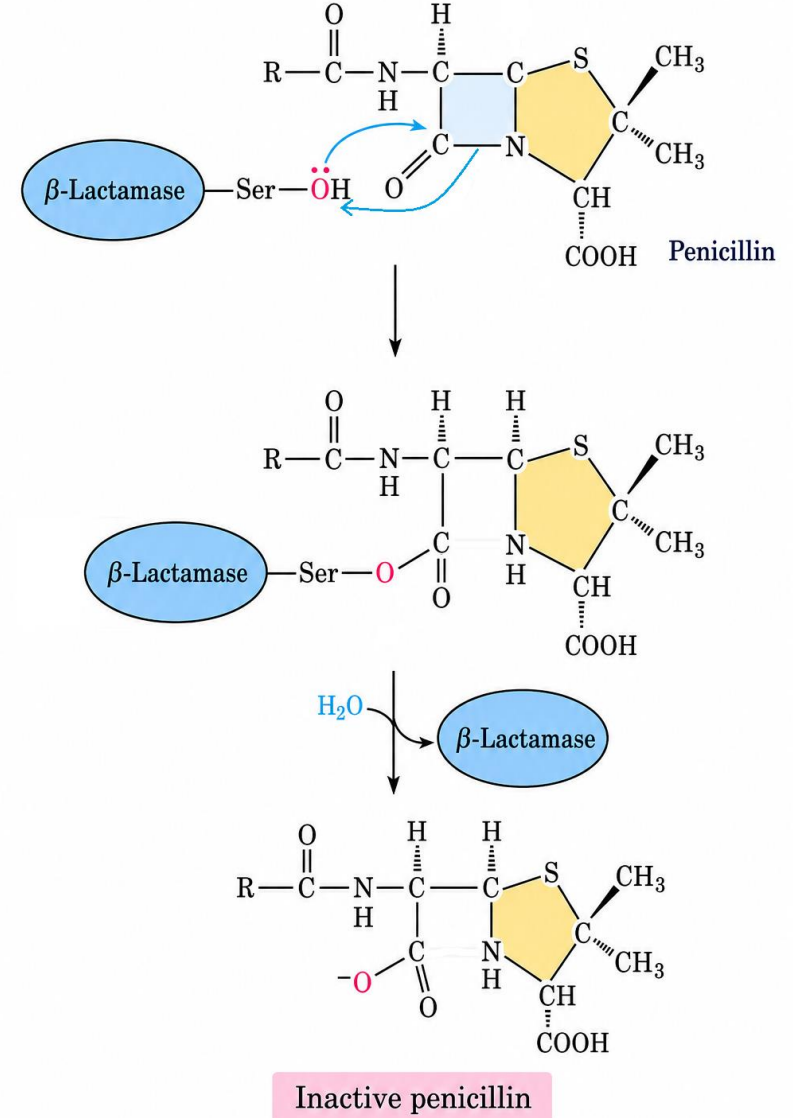
Penisilinlerin Antibakteriyel Etkisi

- Transpeptidazın inhibisyonu peptidoglikan zincirleri arasındaki çapraz bağların oluşmasını engeller.
- Hücre duvarı yeterince güçlenemediği için bakteriler ozmotik basınç altında daha kırılgan hâle gelir.
- Böylece penisilinler bakteriyel hücre duvarı sentezini hedefleyen etkili antibiyotikler olarak işlev görür.
- Penisilinlerin etkisi, enzim mekanizmasının bilinmesinin ilaç etki mekanizmasını açıklamadaki önemini gösterir.



β -Laktamazlar ve Antibiyotik Direnci

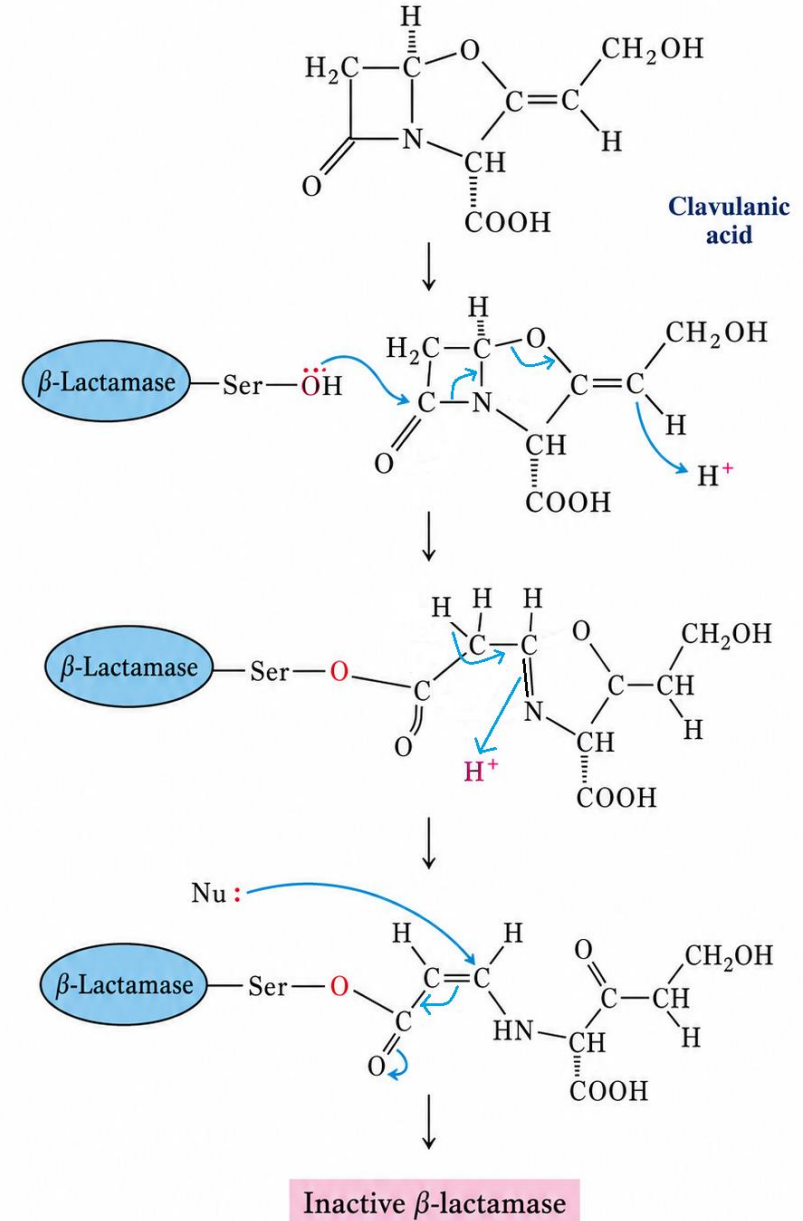
- Bazı bakteriler β -laktamaz enzimleri üreterek β -laktam antibiyotikleri hidroliz eder ve etkisiz hâle getirir.
- β -Laktamazların genleri bakteriyel popülasyonlarda hızla yayılabilir.
- Bu durum bakterilerin penisilin ve benzeri antibiyotiklere direnç geliştirmesine katkıda bulunur.
- β -Laktamazın penisilini hidroliz ederek etkisizleştirmesi yandaki figürde gösterilmektedir.





Klavulanik Asit ve β -Laktamaz İnhibisyonu

- Klavulanik asit, β -laktamazların geri dönüşümsüz mekanizma temelli inhibitörlerinden biridir.
- Molekül β -laktamaza substrat gibi bağlanır ve aktif bölgedeki Ser kalıntısıyla kovalent ara ürün oluşturur.
- Daha sonra yeniden düzenlenen ara ürün enzimi geri dönüşümsüz biçimde etkisizleştirir.
- Klavulanik asidin β -laktamaz üzerindeki inhibitör mekanizması yandaki figürde gösterilmektedir.





HIV Yaşam Döngüsünde Proteazın Rolü

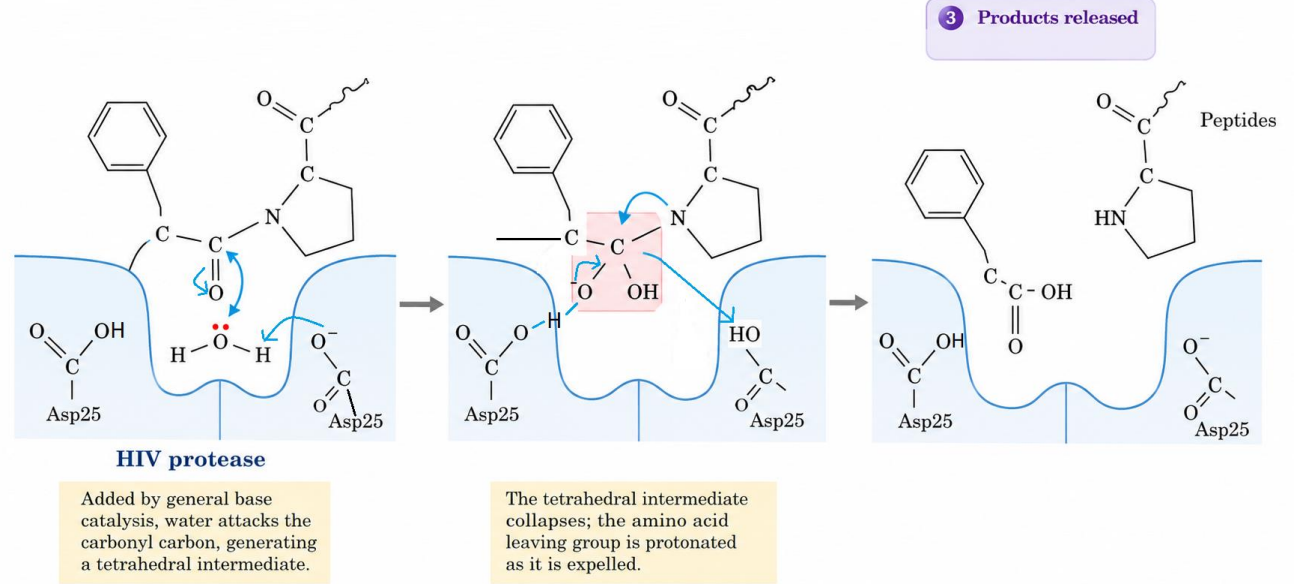
- HIV, RNA genomu taşıyan bir retrovirüstür ve yaşam döngüsünde revers transkriptaz, integras ve proteaz temel enzimler arasında yer alır.
- Viral RNA'dan sentezlenen DNA konak hücre genomuna entegre edilebilir.
- Yeni viral proteinlerin önemli bir bölümü başlangıçta büyük poli-proteinler hâlinde sentezlenir.
- HIV proteaz bu poliproteinleri keserek işlevsel viral proteinlerin oluşmasını sağlar.





HIV Proteaz Mekanizması

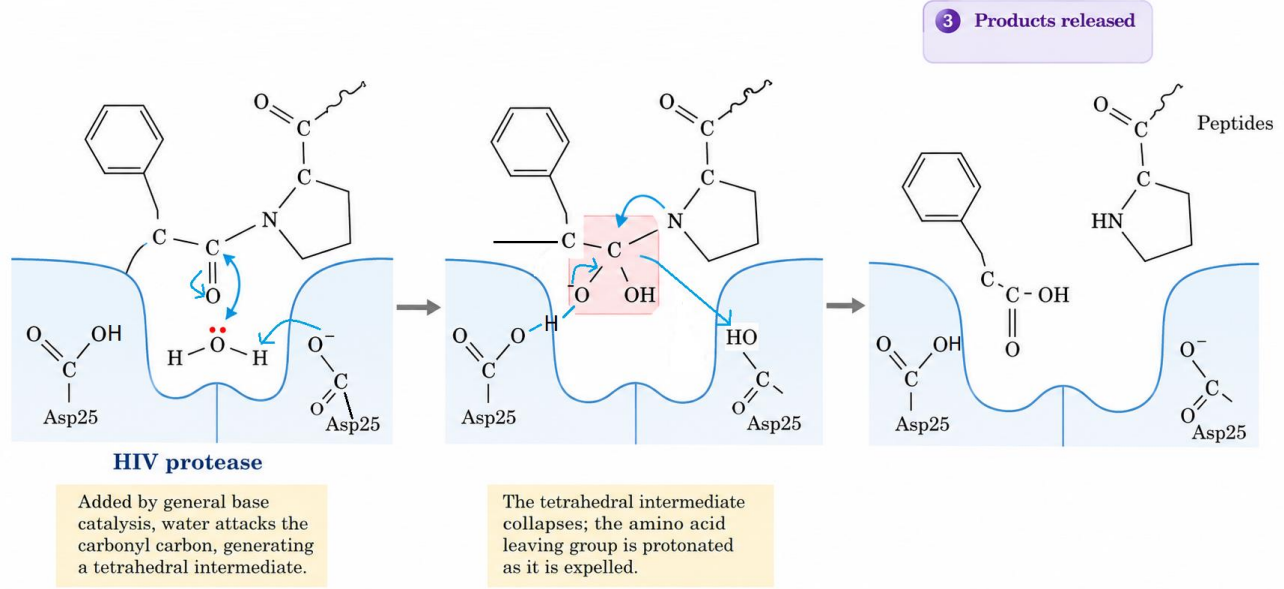
- HIV proteaz bir aspartil proteazdır ve aktif bölgesinde iki Asp kalıntısı bulunur.
- Bu kalıntılar, peptit bağının hidrolizi için su molekülünün etkinleştirilmesine katkıda bulunur.
- Su karbonil karbonuna saldırarak tetrahedral bir ara ürün oluşturur ve peptit bağı daha sonra kırılır.





HIV Proteazda Geçiş Durumu

- HIV proteaz reaksiyonunda oluşan tetrahedral ara ürün, reaksiyonun geçiş durumuna yapısal ve enerjik açıdan benzerdir.
- Etkili inhibitörler bu geçiş durumunun özelliklerini taklit edecek şekilde tasarlanabilir.
- Böyle moleküller enzimin aktif bölgesine çok sıkı bağlanarak normal substratın katalizini engeller.
- Bu yaklaşım, geçiş durumunun kararlılaştırılması ilkesinin ilaç geliştirmede kullanılabileceğini gösterir.

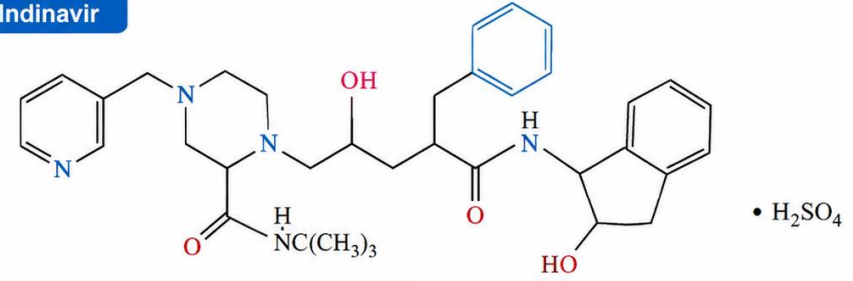




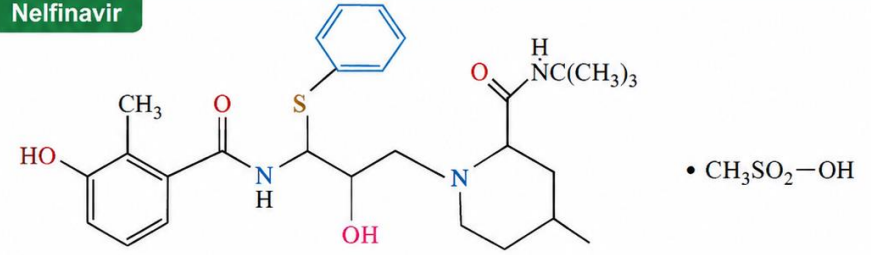
HIV Proteaz İnhibitörleri

- HIV proteaz inhibitörleri enzime non-kovalent olarak bağlanır ve aktif bölgedeki katalitik süreci engeller.
- Bu inhibitörlerin çoğunda tetrahedral geçiş durumundaki oksijeni taklit eden bir hidroksil grubu bulunur.
- Hidrofobik gruplar ise proteazın aktif bölgesindeki aromatik yan zincir bağlanma ceplerine uyum sağlar.
- İndinavir, nelfinavir, lopinavir ve saquinavir yapıları yandaki figürde gösterilmektedir.

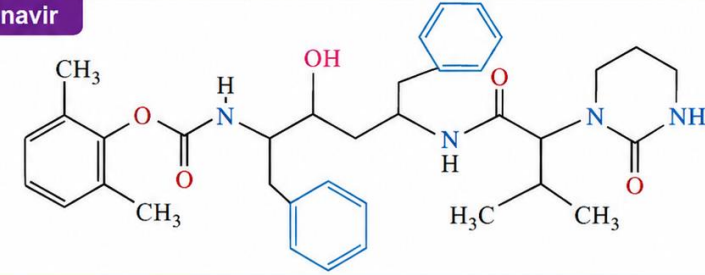
Indinavir



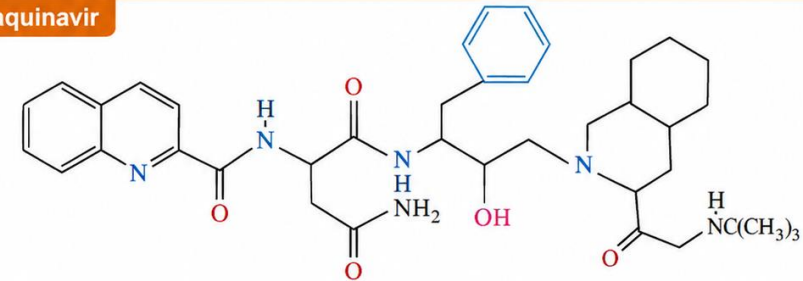
Nelfinavir



Lopinavir



Saquinavir





Enzim Mekanizmalarından İlaç Tasarımına

- Penisilinler, transpeptidazın normal reaksiyon mekanizmasını kullanarak enzimi geri dönüşümsüz biçimde etkisizleştirir.
- Klavulanik asit benzer biçimde β -laktamazı mekanizma temelli olarak inhibe eder.
- HIV proteaz inhibitörleri ise geçiş durumunu taklit ederek aktif bölgeye yüksek bağlanma gücü gösterir.
- Bu örnekler, enzim mekanizmalarının ayrıntılı anlaşılmasının rasyonel ilaç geliştirme açısından doğrudan değer taşıdığını göstermektedir.





Metabolik Yollarda Düzenleyici Enzimler

- Hücresel metabolizmada enzimler ardışık yollar hâlinde çalışır ve bir enzimin ürünü sonraki enzimin substratı olur.
- Birçok metabolik yolda bazı enzimler diğerlerinden çok daha büyük düzenleyici etkiye sahiptir.
- Bu enzimlerin katalitik aktiviteleri hücrenin gereksinimlerine göre artırılabilir veya azaltılabilir.
- Düzenleyici enzimler böylece metabolik yolun genel hızının ayarlanmasına katkıda bulunur.





Düzenleyici Enzimlerin Metabolik Önemi

- Çok basamaklı metabolik sistemlerde ilk enzimin düzenleyici olması sık görülen bir durumdur.
- Bu düzenleme, gereksiz son ürün sentezini önleyerek enerji ve metabolitlerin boşa harcanmasını sınırlar.
- Bazı düzenleyici enzimler yolun farklı noktalarında görev alarak metabolik akışın daha ince biçimde ayarlanmasını sağlar.
- Düzenleme mekanizmaları hücresel koşullara hızlı veya daha uzun süreli yanıtlar oluşturabilir.





Düzenleyici Enzimlerin Başlıca Kontrol Yolları

- Allosterik enzimler, allosterik modülatör veya efektör adı verilen küçük moleküllerin geri dönüşümlü ve non-kovalent bağlanmasıyla düzenlenir.
- Bazı enzimler fosforilasyon gibi geri dönüşümlü kovalent modifikasyonlarla kontrol edilir.
- Diğer bazı enzimler ise proteolitik parçalanmayla etkinleştirilir ve bu değişiklik geri dönüşümsüzdür.
- Bu düzenleme biçimleri sindirim, kan pıhtılaşması, hormon etkisi ve görme gibi fizyolojik süreçlerde önem taşır.





Allosterik Enzimlerde Konformasyonel Değişim

- Allosterik proteinler, modölatörlerin bağlanmasıyla farklı konformasyonlar arasında geçiş yapabilir.
- Düzenleyici enzimlerde bu değişim daha aktif ve daha az aktif enzim formlarının birbirine dönüşmesini sağlar.
- Allosterik modölatörler inhibitör veya aktivatör olarak görev yapabilir.
- Modölatörün bağlanması aktif bölgenin katalitik özelliklerini dolaylı olarak değiştirebilir.





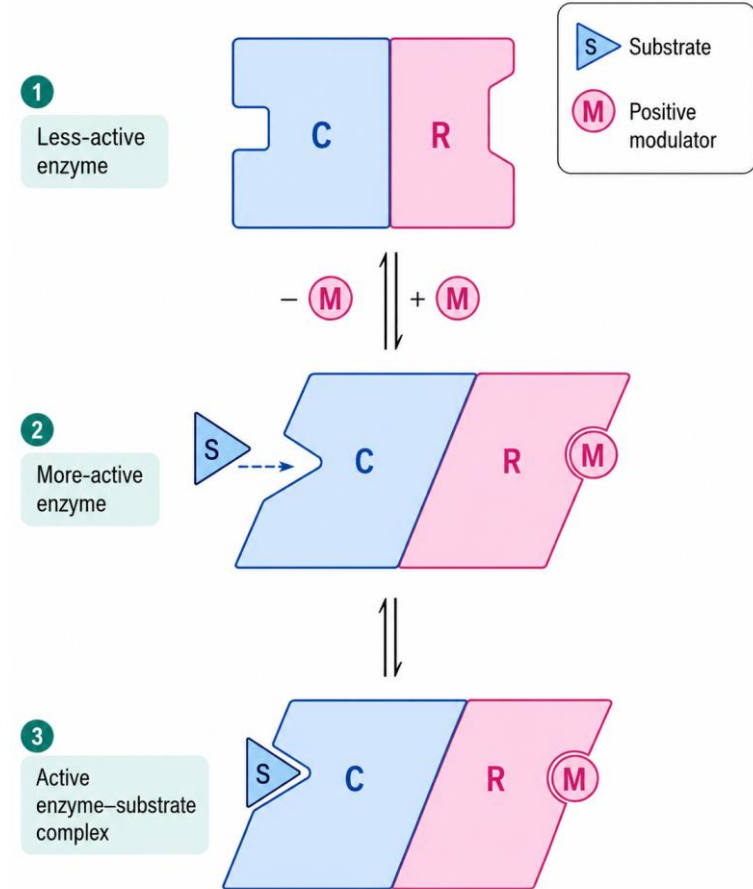
Homotropik ve Heterotropik Modölatörler

- Substratın kendisi düzenleyici etki oluştuyorsa bu molekül homotropik modölatör olarak adlandırılır.
- Düzenleyici molekül substrattan farklıysa heterotropik modölatör olarak tanımlanır.
- Heterotropik modölatörler enzimin farklı bir düzenleyici bölgesine bağlanarak katalitik aktiviteyi değiştirebilir.
- Allosterik modölatörlerin kompetitif ve karma inhibitörlerle karıştırılmaması gerekir.



Allosterik Enzimlerde Alt Birimler Arası İletişim

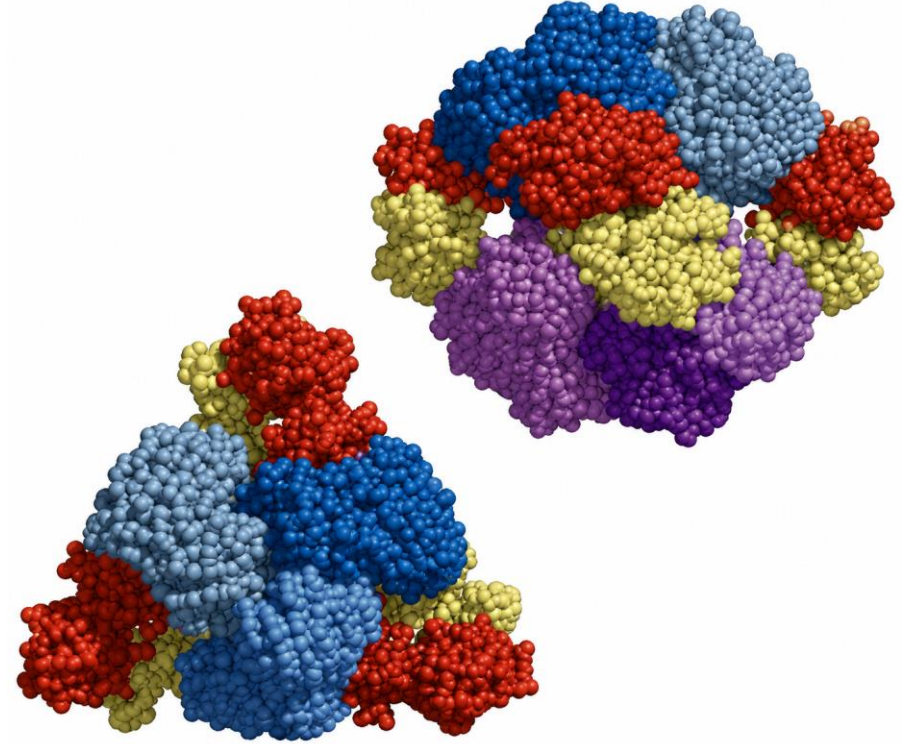
- Bazı allosterik enzimlerde katalitik bölge ve düzenleyici bölge farklı alt birimlerde bulunur.
- Düzenleyici alt birime modülatör bağlanması, katalitik alt birime konformasyonel bir değişim olarak iletilir.
- Bu değişim enzimin substrata olan ilgisini ve katalitik aktivitesini etkileyebilir.
- Allosterik alt birimler arasındaki bu etkileşim yandaki figürde gösterilmektedir.





Aspartat Transkarbamoilazın Yapısı

- Aspartat transkarbamoilaz, karmaşık yapıya sahip iyi incelenmiş allosterik enzimlerden biridir.
- Enzim toplam 12 polipeptit zincirinden oluşur ve katalitik ile düzenleyici alt birimler içerir.
- Düzenleyici alt birimlere bağlanan modülatörler enzimin kuaterner yapısında belirgin değişikliklere yol açar.
- Enzimin üç boyutlu düzenlenmesi yandaki figürde gösterilmektedir.





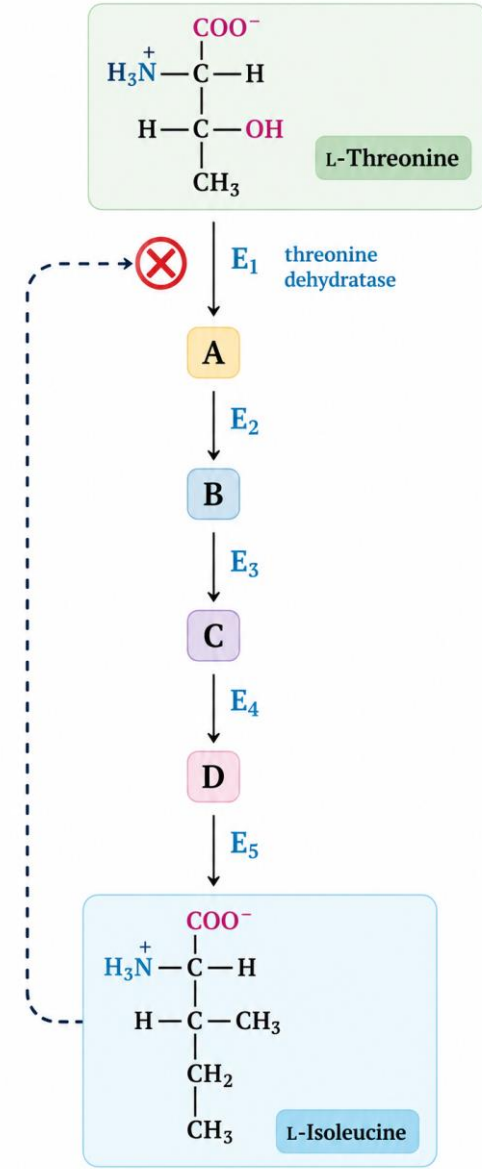
Geri Besleme İnhibisyonu

- Bazı metabolik yollarda son ürünün derişimi yükseldiğinde yolun erken basamaklarından biri inhibe edilir.
- Bu düzenleme biçimi geri besleme inhibisyonu olarak adlandırılır.
- Son ürünün birikmesi kendi sentez yolunu yavaşlatarak gereksiz üretimi sınırlar.
- Böylece metabolik ürün miktarı hücrenin gereksinimleriyle daha uyumlu hâle gelir.



İzolösün Sentezinde Geri Besleme İnhibisyonu

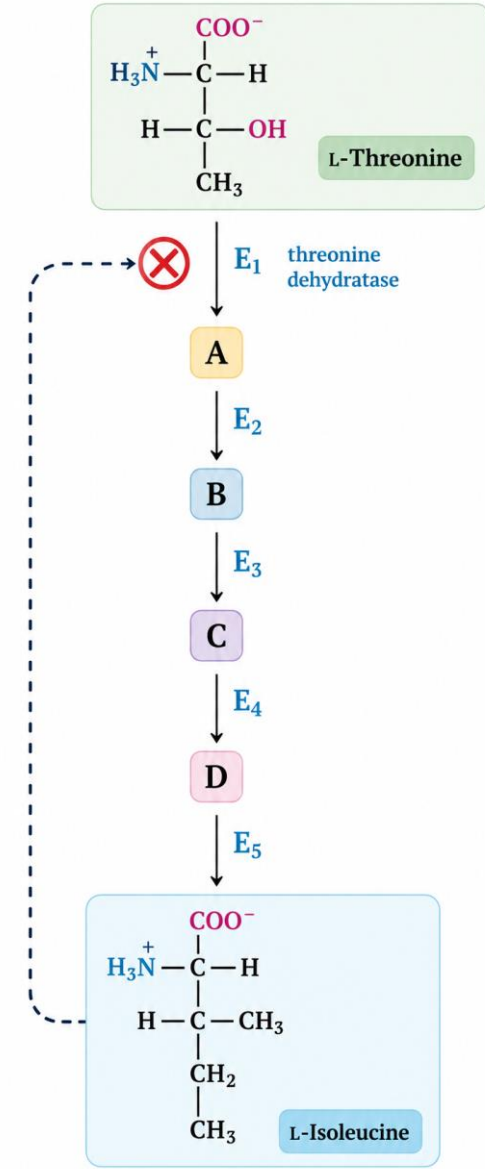
- Treoninin izolösine dönüşümü beş enzimli bir reaksiyon dizisiyle gerçekleşir.
- Yolun ilk enzimi olan treonin dehidrataz, son ürün olan izolösün tarafından allosterik olarak inhibe edilir.
- İzolösün aktif bölge yerine enzimin başka bir düzenleyici bölgesine bağlanır.
- Bu geri besleme mekanizması yandaki figürde gösterilmektedir.





Geri Besleme İnhibisyonunun Özellikleri

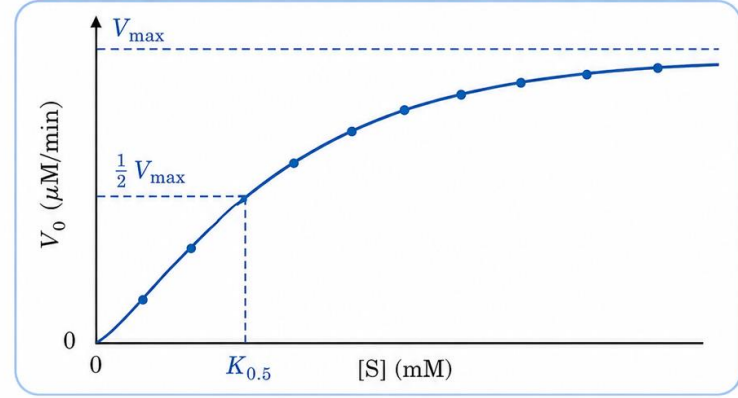
- İzolösünün treonin dehidrataza bağlanması non-kovalent ve geri dönüşümlüdür.
- Hücre içindeki izolösün derişimi azaldığında inhibisyon ortadan kalkar ve reaksiyon hızı yeniden artar.
- Bu özellik, metabolik yolun hücresel gereksinimlere hızlı biçimde yanıt vermesini sağlar.
- Düzenleme yolun tamamını değil, belirli bir kontrol basamağını hedef alır.



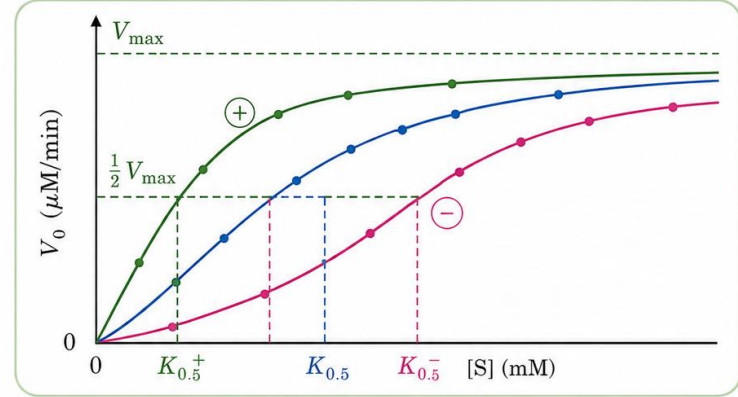
Allosterik Enzimlerin Kinetiği

- Allosterik enzimler çoğunlukla Michaelis–Menten kinetiğinden farklı hız–substrat ilişkileri gösterir.
- Bu enzimlerde V_0 –[S] grafiği sıklıkla hiperbolik değil sigmoidal biçimdedir.
- Bu nedenle substrat derişiminin yarı maksimum hıza ulaştığı değer K_m yerine genellikle $K_{0.5}$ veya $[S]_{0.5}$ ile ifade edilir.
- Allosterik enzimlere ait tipik kinetik davranışlar yandaki figürde gösterilmektedir.

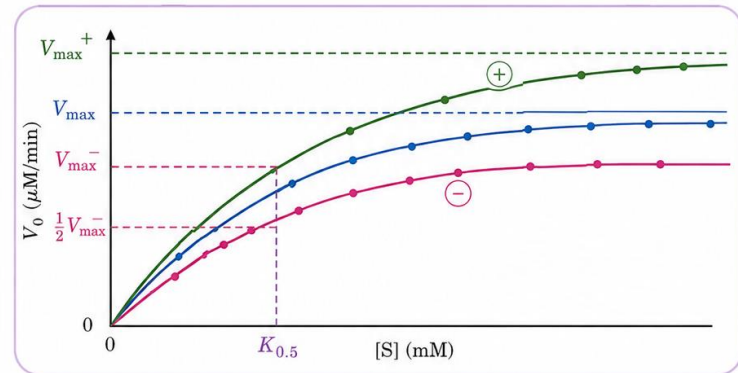
A



B



C

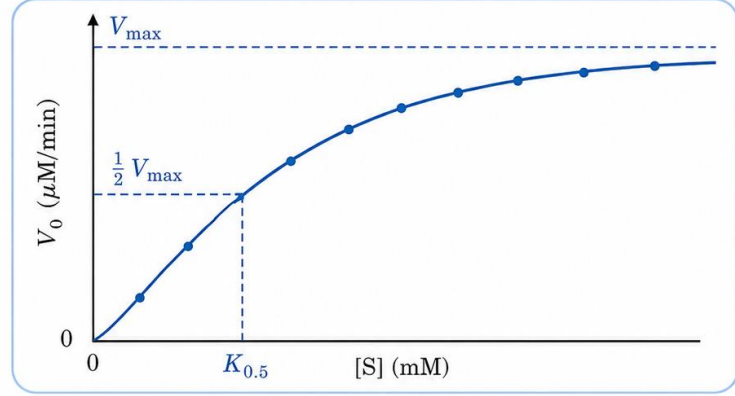




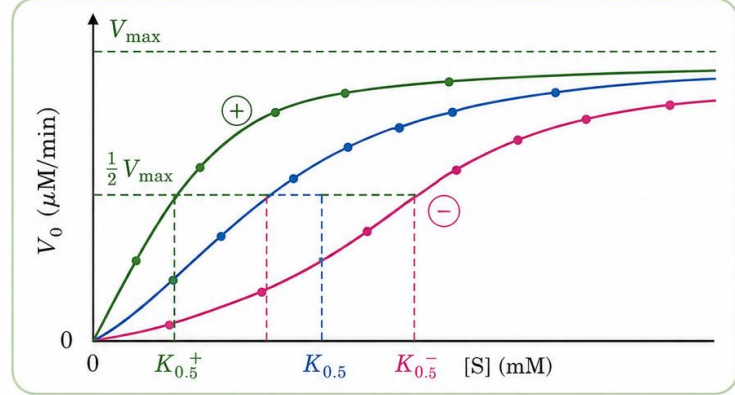
Kooperativite ve Sigmoidal Kinetik

- Homotropik allosterik enzimlerde substrat bağlanması çoğu zaman alt birimler arasında kooperativite oluşturur.
- Bir substrat molekülünün bağlanması diğer alt birimlerin substrata olan ilgisini değiştirebilir.
- Bu kooperatif etkileşimler sigmoidal hız–substrat eğrisinin ortaya çıkmasına katkıda bulunur.
- Sigmoidal kinetik, dar bir substrat derişimi aralığında aktivitede büyük değişiklikler oluşturabilir.

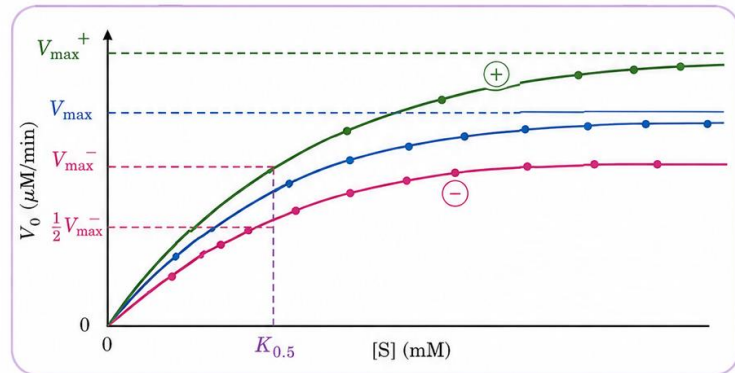
A



B



C

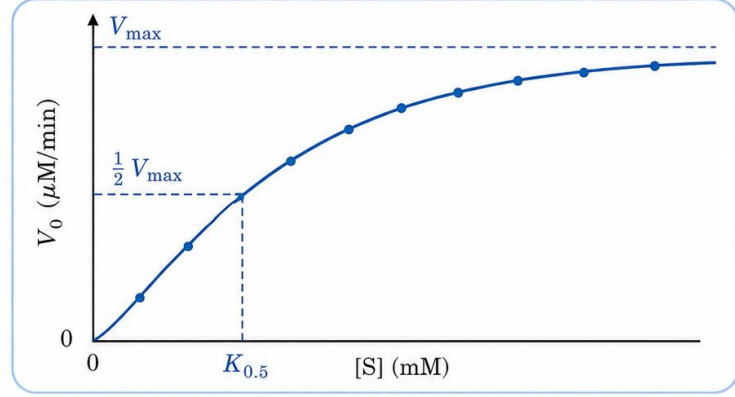




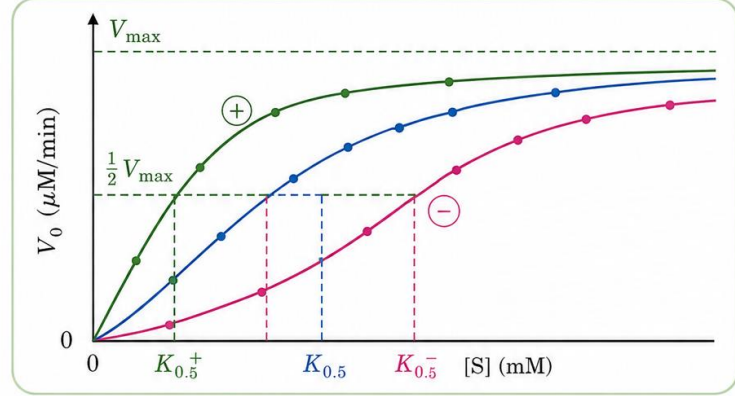
Allosterik Modölatörlerin Kinetik Etkileri

- Heterotropik aktivatörler bazı enzimlerde $K_{0.5}$ değerini düşürerek substrata verilen yanıtı artırabilir.
- Bazı aktivatörler ise $K_{0.5}$ üzerinde az etki gösterirken $V_{\max}$ değerini artırabilir.
- Negatif modölatörler $K_{0.5}$ değerini yükseltebilir veya $V_{\max}$ değerini düşürebilir.
- Bu farklı kinetik etkiler yandaki figürde karşılaştırılmaktadır.

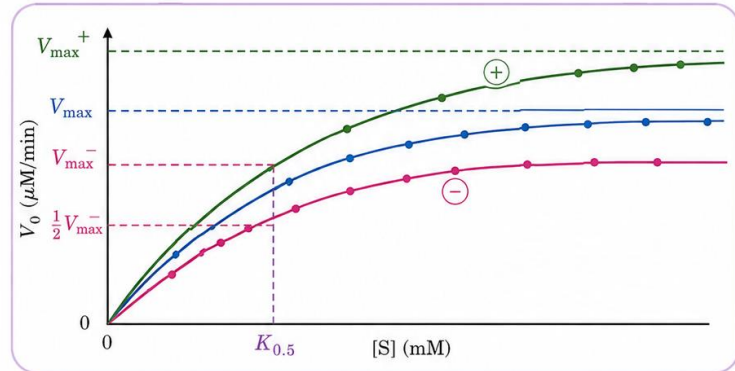
A



B



C



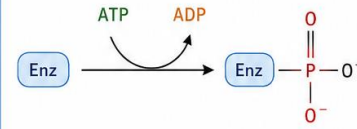


Geri Dönüşümlü Kovalent Modifikasyon

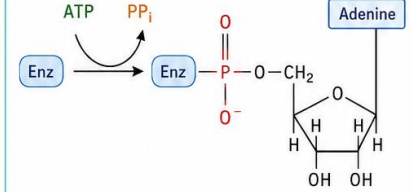
- Bazı düzenleyici enzimlerin aktivitesi, belirli amino asit kalıntılarının geri dönüşümlü kovalent olarak değiştirilmesiyle kontrol edilir.
- Proteinlerde yüzlerce farklı kovalent modifikasyon türü tanımlanmıştır.
- Fosforilasyon, asetilasyon, adenilasyon, metilasyon, ubikitinasyon ve ADP-ribozilasyon bunlara örnektir.
- Başlıca enzim modifikasyonları yandaki figürde gösterilmektedir.

COVALENT MODIFICATION OF TARGET RESIDUES

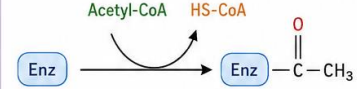
1 PHOSPHORYLATION (Tyr, Ser, Thr, His)



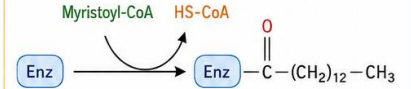
2 ADENYLYLATION (Tyr)



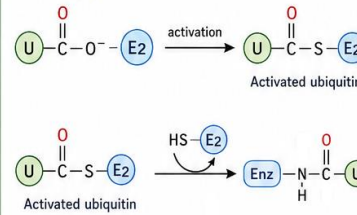
3 ACETYLATION (Lys, α-amino (amino terminus))



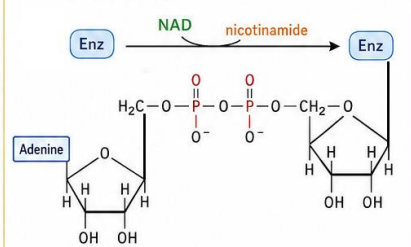
4 MYRISTOYLATION (α-amino (amino terminus))



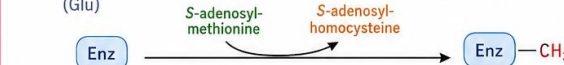
5 UBIQUITINATION (Lys)



6 ADP-RIBOSYLATION (Arg, Gln, Cys, diphthamide-a modified His)



7 METHYLATION (Glu)



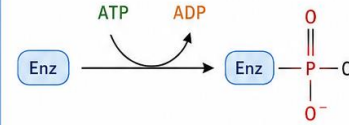


Kovalent Modifikasyonların İşlevsel Sonuçları

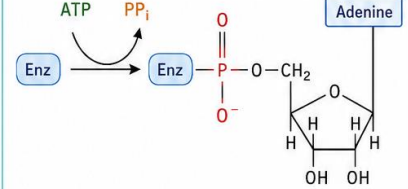
- Modifikasyonlar amino asit yan zincirlerinin yükünü, hacmini veya kimyasal özelliklerini değiştirebilir.
- Bu değişiklikler enzimin konformasyonunu, proteinlerle etkileşimini veya hücresel konumunu etkileyebilir.
- Bazı modifikasyonlar proteinlerin membranlarla ilişkilendirilmesini veya proteolitik yıkıma yönlendirilmesini sağlar.
- Bu nedenle kovalent modifikasyonlar yalnızca aktiviteyi değil proteinin genel hücresel davranışını da değiştirebilir.

COVALENT MODIFICATION OF TARGET RESIDUES

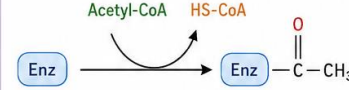
1 PHOSPHORYLATION (Tyr, Ser, Thr, His)



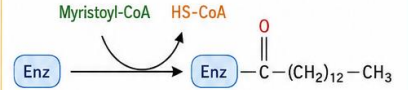
2 ADENYLYLATION (Tyr)



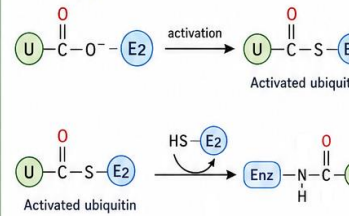
3 ACETYLATION (Lys, α-amino (amino terminus))



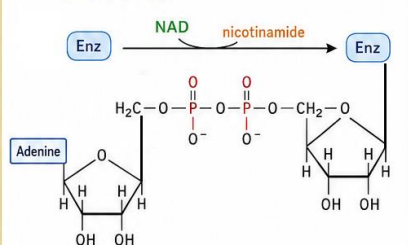
4 MYRISTOYLATION (α-amino (amino terminus))



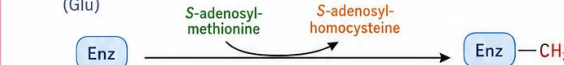
5 UBIQUITINATION (Lys)



6 ADP-RIBOSYLATION (Arg, Gln, Cys, diphthamide-a modified His)



7 METHYLATION (Glu)



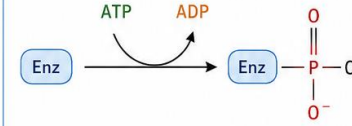


Ubikitinasyon ve ADP-Ribozilasyon

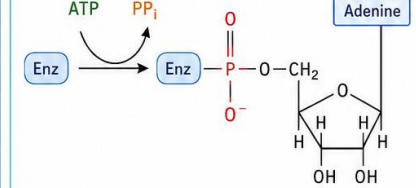
- Ubikitinasyon birçok ökaryotik proteinde görülür ve bazı proteinleri proteolitik yıkıma yönlendirebilir.
- Ubikitinasyon ayrıca protein işlevlerinin düzenlenmesine de katkıda bulunabilir.
- ADP-ribozilasyon, nikotinamide adenin dinükleotid kökenli ADP-riboz grubunun proteine aktarılmasını içerir.
- Difteri toksini ve kolera toksini gibi bazı toksinler hedef proteinleri ADP-ribozilasyon yoluyla etkiler.

COVALENT MODIFICATION OF TARGET RESIDUES

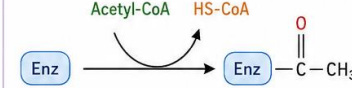
1 PHOSPHORYLATION (Tyr, Ser, Thr, His)



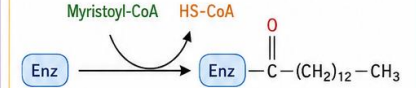
2 ADENYLYLATION (Tyr)



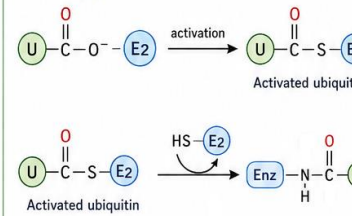
3 ACETYLATION (Lys, α-amino (amino terminus))



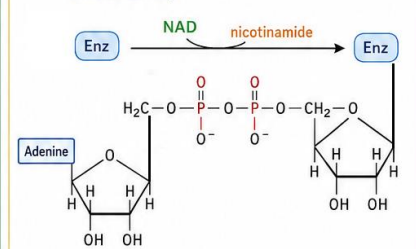
4 MYRISTOYLATION (α-amino (amino terminus))



5 UBIQUITINATION (Lys)



6 ADP-RIBOSYLATION (Arg, Gln, Cys, diphthamide-a modified His)



7 METHYLATION (Glu)



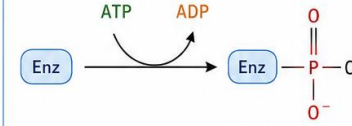


Fosforilasyonun Düzenleyici Önemi

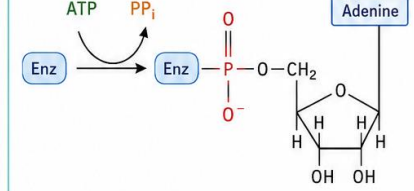
- Fosforilasyon, enzim düzenlenmesinde en yaygın ve önemli kovalent modifikasyonlardan biridir.
- Protein kinazlar ATP'den fosforil grubunu Ser, Thr veya Tyr gibi amino asitlere aktarır.
- Protein fosfatazlar ise fosforil grubunu hidrolitik olarak uzaklaştırır.
- Fosforilasyon ve defosforilasyonun geri dönüşümlü olması, enzim aktivitesinin dinamik biçimde kontrol edilmesini sağlar.

COVALENT MODIFICATION OF TARGET RESIDUES

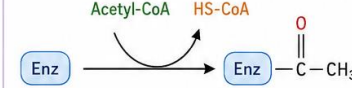
1 PHOSPHORYLATION (Tyr, Ser, Thr, His)



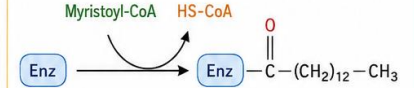
2 ADENYLYLATION (Tyr)



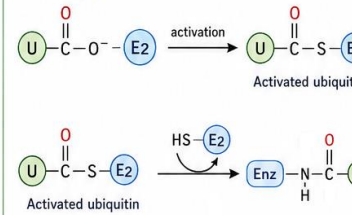
3 ACETYLATION (Lys, α-amino (amino terminus))



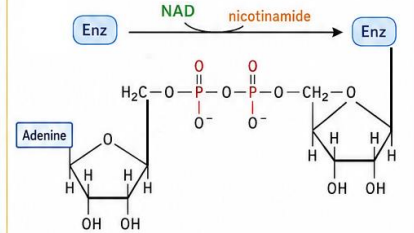
4 MYRISTOYLATION (α-amino (amino terminus))



5 UBIQUITINATION (Lys)



6 ADP-RIBOSYLATION (Arg, Gln, Cys, diphthamide-a modified His)



7 METHYLATION (Glu)





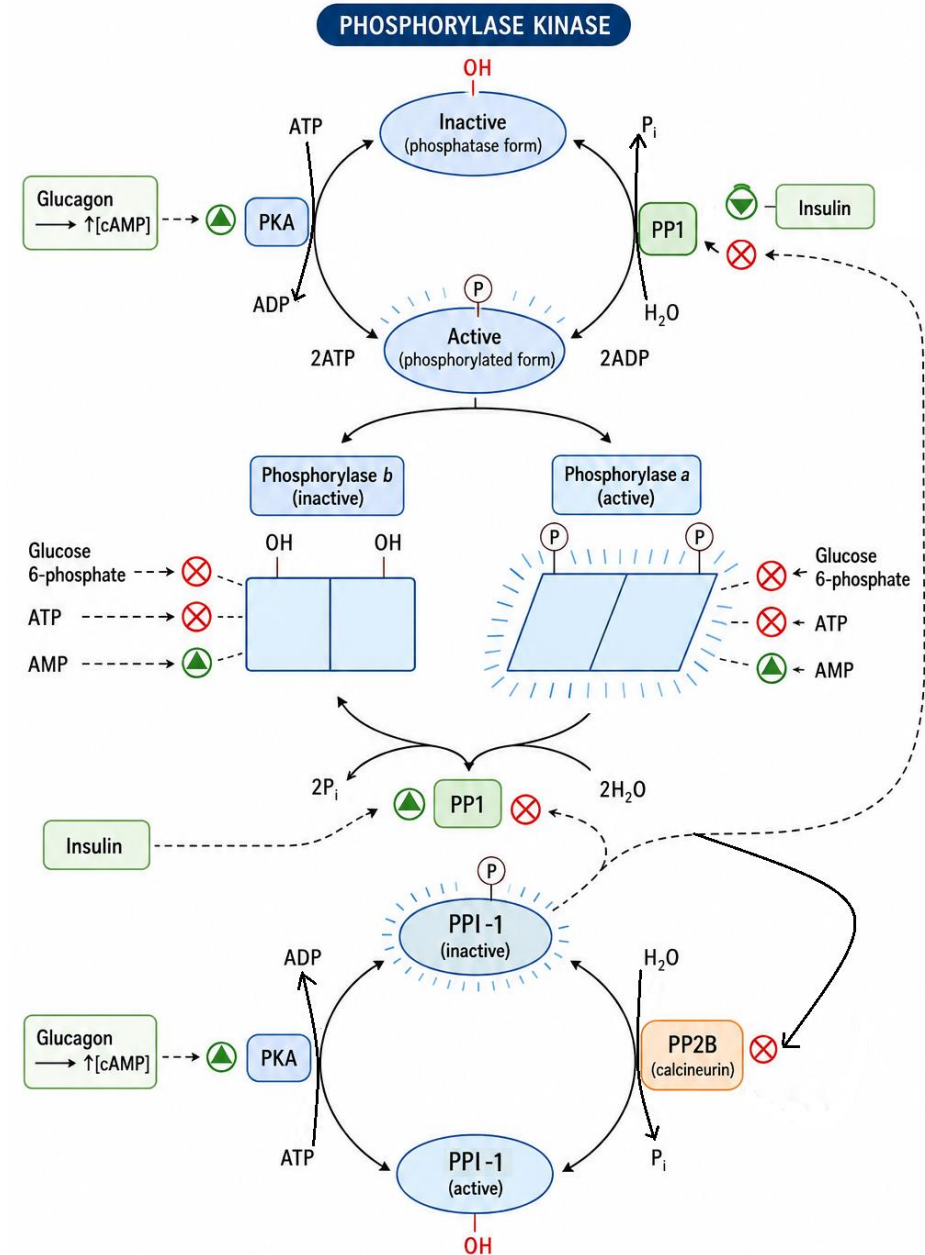
Fosforilasyon Protein Yapısını Nasıl Değiştirir?

- Fosforil grup nötr bir amino asit yan zincirine hacimli ve negatif yüklü bir grup ekler.
- Bu değişiklik hidrojen bağları ve elektrostatik etkileşimler üzerinde belirgin etkiler oluşturabilir.
- Fosforilasyon enzimin üç boyutlu yapısını, substrat bağlanmasını ve katalitik aktivitesini değiştirebilir.
- Bu nedenle tek bir fosforilasyon olayı bile güçlü bir düzenleyici sonuç oluşturabilir.



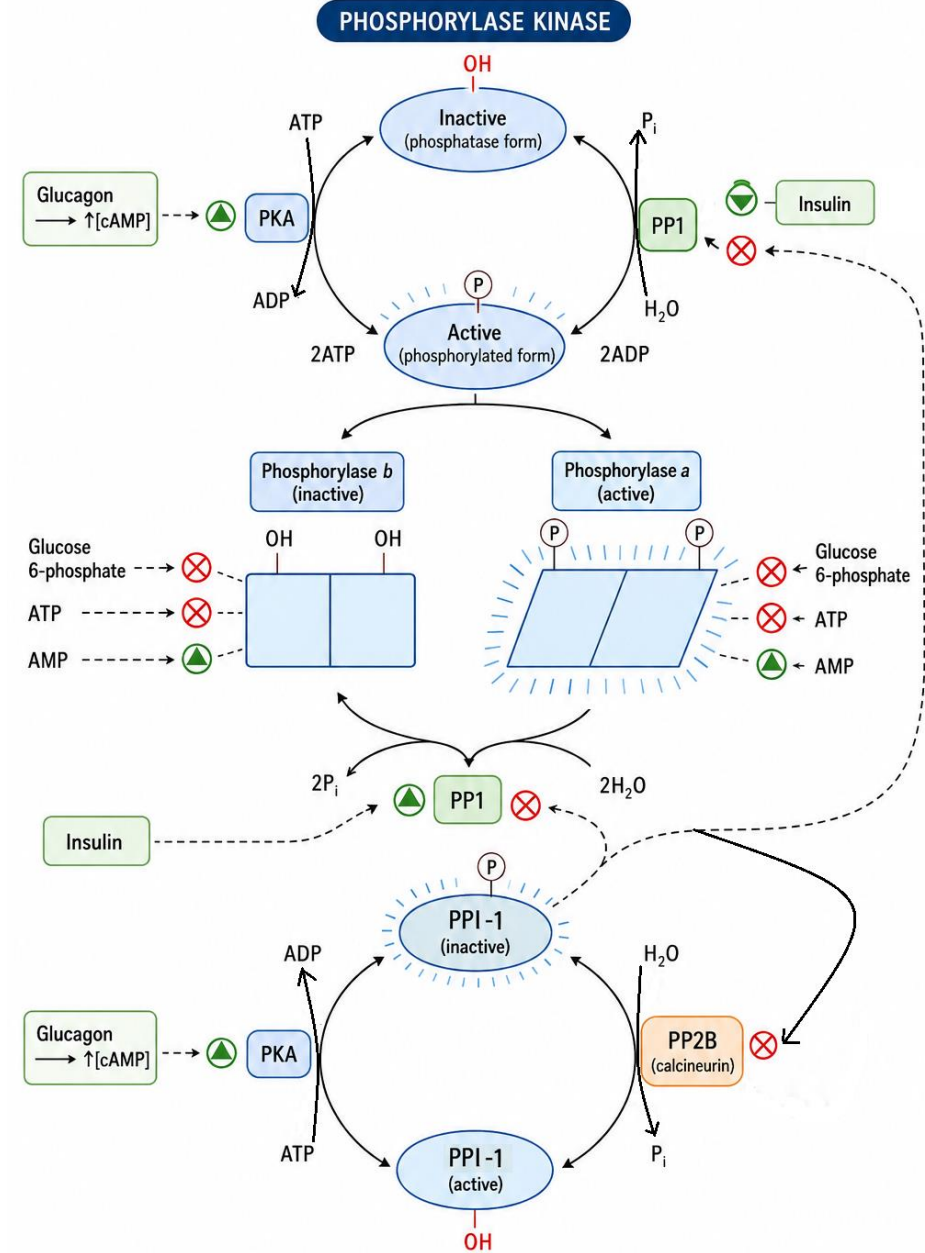
Glikojen Fosforilazın İki Formu

- Glikojen fosforilaz, glikojenin parçalanmasında görev yapan önemli bir düzenleyici enzimdir.
- Enzim daha aktif fosforilaz a ve daha az aktif fosforilaz b olmak üzere iki formda bulunur.
- Fosforilaz b'nin belirli Ser kalıntılarının fosforillenmesi, enzimi fosforilaz a formuna dönüştürür.
- Bu dönüşüm ve ilgili düzenleme mekanizmaları yandaki figürde gösterilmektedir.



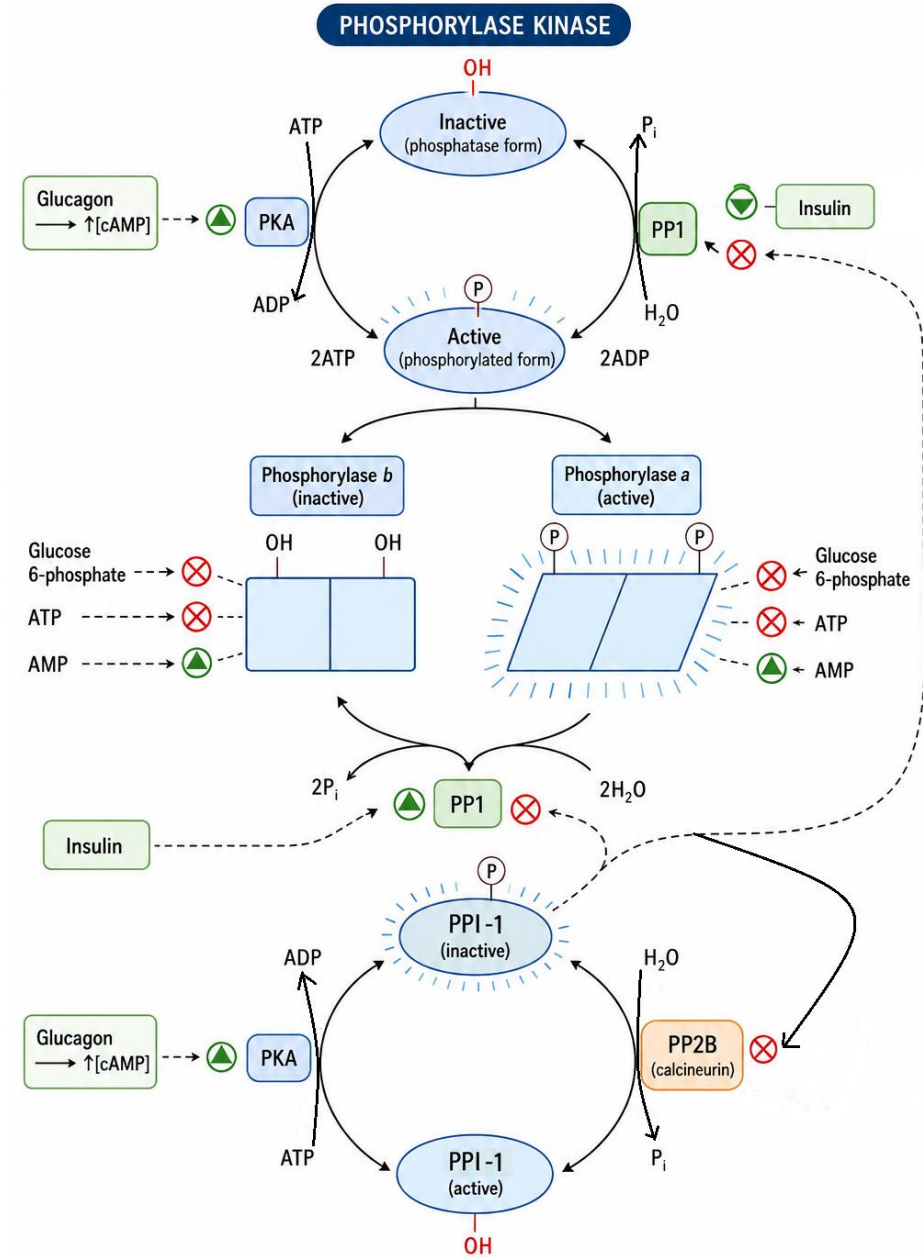
Fosforilaz Kinaz ve Fosfoprotein Fosfataz

- Fosforilaz kinaz, ATP kullanarak fosforilaz b'yi fosforilaz a'ya dönüştürür.
- Fosfoprotein fosfataz 1 (PP1), fosforil gruplarını uzaklaştırarak fosforilaz a'yı yeniden fosforilaz b'ye dönüştürür.
- Böylece aynı enzim iki karşıt enzim sistemi tarafından geri dönüşümlü olarak düzenlenir.
- Bu düzenleme sistemi yandaki figürde ayrıntılı olarak gösterilmektedir.



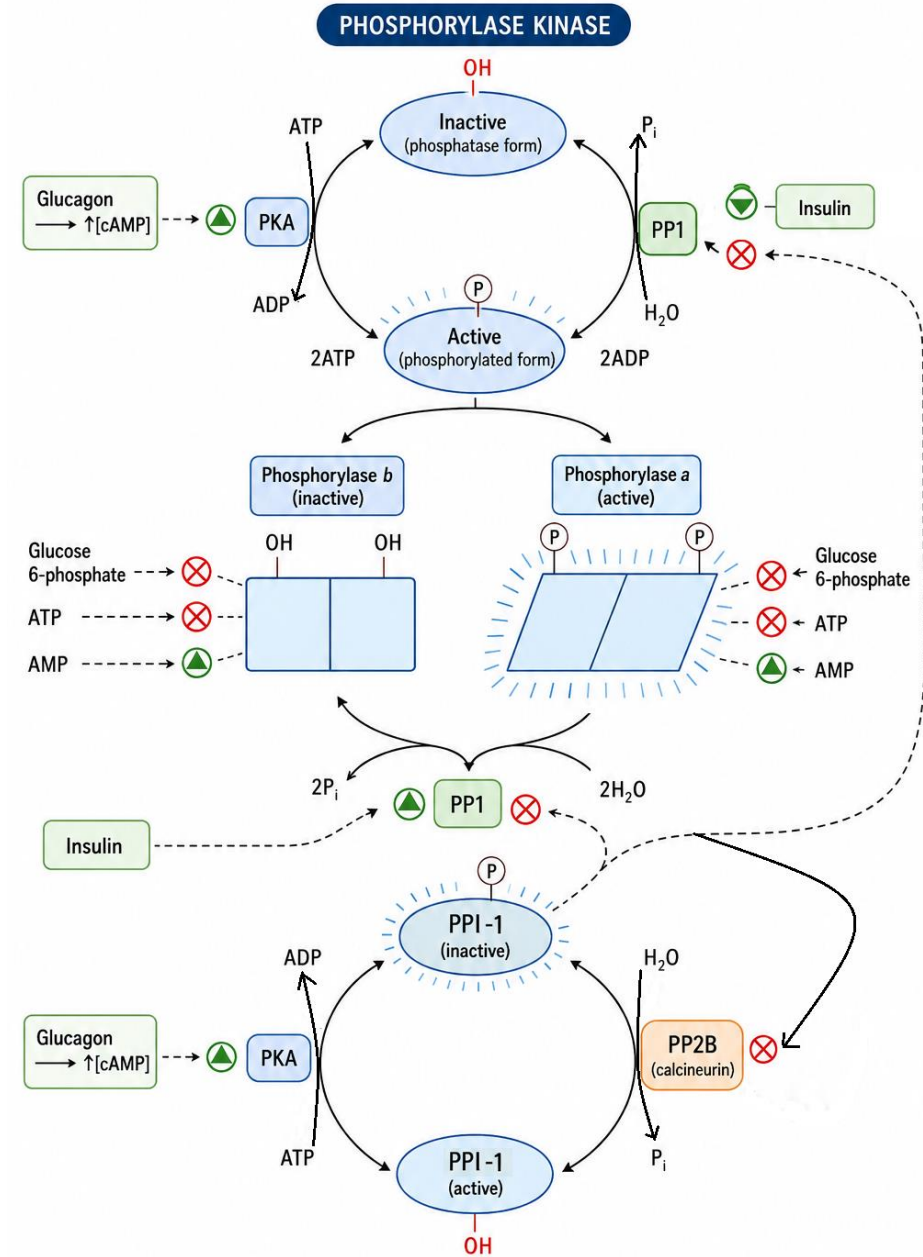
Glikojen Fosforilazda Allosterik Kontrol

- Glikojen fosforilaz yalnızca fosforilasyonla değil allosterik modölatörlerle de düzenlenir.
- AMP fosforilaz b için aktivatör görevi görürken glukoz 6-fosfat ve ATP inhibitör etki gösterebilir.
- Fosforilaz a ise karaciğerde glukoz tarafından inhibe edilebilir.
- Bu nedenle glikojen fosforilazın kontrolünde kovalent ve allosterik mekanizmalar birlikte görev yapar.



Hormonal Sinyaller ve Glikojen Fosforilaz

- Glukagon ve epinefrin, hücresel sinyal yolları aracılığıyla glikojen fosforilazın aktivitesini etkileyebilir.
- Bu hormonların etkisi cAMP ve protein kinaz A üzerinden fosforilasyon olaylarının düzenlenmesine bağlanır.
- İnsülin ise fosfataz sistemleri üzerinden karşıt yönde etkiler oluşturabilir.
- Hormonlar, kinazlar, fosfatazlar ve allosterik modülatörler arasındaki ilişkiler yandaki figürde gösterilmektedir.





Birden Fazla Fosforilasyonla İnce Ayar

- Bazı düzenleyici proteinler birden fazla Ser, Thr veya Tyr kalıntısından fosforillenebilir.
- Farklı protein kinazlar aynı proteinin farklı bölgelerini hedefleyebilir.
- Bir proteinin çok sayıda fosforilasyon bölgesine sahip olması, aktivitenin basit bir açık–kapalı yanıtından daha hassas biçimde ayarlanmasını sağlar.
- Bu çoklu kontrol ilkesi glikojen sentaz örneğinde açık biçimde görülür.





Protein Kinazların Tanıma Dizileri

- Protein kinazlar hedef proteinlerde belirli amino asit dizilerini tanıyarak fosforilasyon bölgelerini seçebilir.
- Bu diziler konsensus diziler olarak adlandırılır ve farklı kinazlarda farklı özellikler gösterir.
- Bazı kinazlar bazik amino asitlerden zengin bölgeleri tercih ederken bazıları farklı komşu dizileri tanır.





Fosforilasyon Özgüllüğü

- Bir amino asidin uygun konsensus dizisinde bulunması, fosforillenmesi için önemli ancak tek başına yeterli olmayabilir.
- Proteinlerin üç boyutlu yapısı hedef kalıntının kinaza erişilebilirliğini etkiler.
- Bazı kinazların aktivitesi, hedef proteindeki başka bölgelerin önceden fosforillenmesine bağlı olabilir.
- Bu özellikler protein fosforilasyonunun yüksek düzeyde seçici olmasını sağlar.

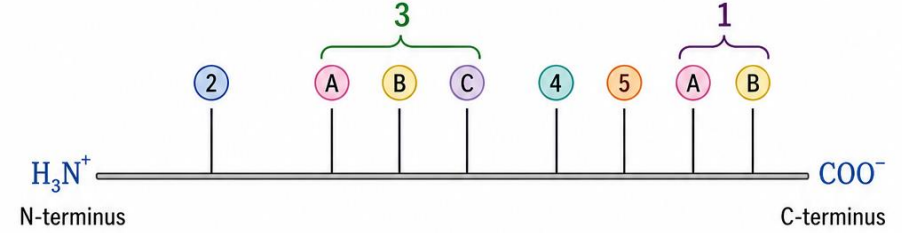




Glikojen Sentazın Çoklu Fosforilasyonu

- Glikojen sentaz, en az dokuz farklı Ser kalıntısından fosforillenebilen çoklu düzenlemeye sahip bir enzimdir.
- Farklı protein kinazlar enzimin farklı fosforilasyon bölgelerini hedef alabilir.
- Bu fosforilasyonların bazıları enzimi inhibe ederken bazıları diğer bölgelerin fosforillenmesini etkileyebilir.
- Glikojen sentazın çoklu fosforilasyon düzeni yandaki figürde gösterilmektedir.

PHOSPHORYLATION SITES ON GLYCOGEN SYNTHASE



KINASE	PHOSPHORYLATION SITE(S) ON SYNTHASE	DEGREE OF SYNTHASE INACTIVATION
Protein kinase A	1A 1B 2 4	+
Protein kinase G	1A 1B 2	+
Protein kinase C	1A	+
Ca ²⁺ /calmodulin kinase	1B 2	+
Phosphorylase b kinase	2	+
Casein kinase I	At least nine sites	++++
Casein kinase II	5	0
Glycogen synthase kinase 3	3A 3B 3C	+++
Glycogen synthase kinase 4	2	+

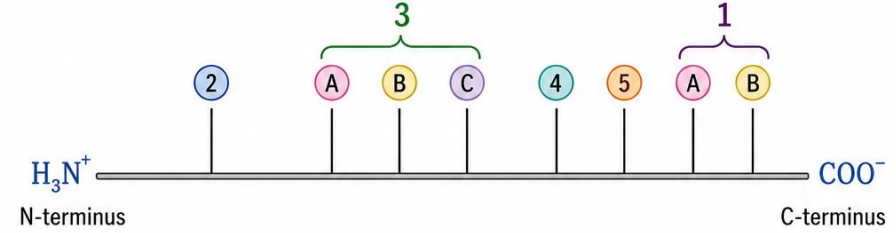




Çoklu Fosforilasyonun Düzenleyici Avantajı

- Çok sayıda fosforilasyon bölgesi, enzimin farklı hücresel sinyallere farklı düzeylerde yanıt vermesini sağlar.
- Düzenleme böylece yalnızca aktif veya inaktif iki durumla sınırlı kalmaz.
- Farklı fosforilasyon kombinasyonları enzimin aktivitesinde kademeli değişiklikler oluşturabilir.
- Yandaki figür, glikojen sentazın bu çok katmanlı düzenleme biçimini göstermektedir.

PHOSPHORYLATION SITES ON GLYCOGEN SYNTHASE



KINASE	PHOSPHORYLATION SITE(S) ON SYNTHASE	DEGREE OF SYNTHASE INACTIVATION
Protein kinase A	1A 1B 2 4	+
Protein kinase G	1A 1B 2	+
Protein kinase C	1A	+
Ca ²⁺ /calmodulin kinase	1B 2	+
Phosphorylase b kinase	2	+
Casein kinase I	At least nine sites	++++
Casein kinase II	5	0
Glycogen synthase kinase 3	3A 3B 3C	+++
Glycogen synthase kinase 4	2	+



Fosfoprotein Fosfatazların Rolü

- Protein fosforilasyonu ancak fosforil gruplarını uzaklaştıran fosfatazların varlığıyla etkili bir geri dönüşümlü kontrol mekanizması oluşturur.
- Fosfoprotein fosfatazlar Ser, Thr veya Tyr kalıntılarındaki fosfat gruplarını hidroliz eder.
- Bu enzimler genellikle protein kinazlardan daha geniş substrat özgüllüğüne sahiptir.
- Kinazlar ile fosfatazların karşılıklı çalışması, hücrel fosforilasyon durumunun dinamik olarak düzenlenmesini sağlar.





Proteolitik Aktivasyon ve Zimojenler

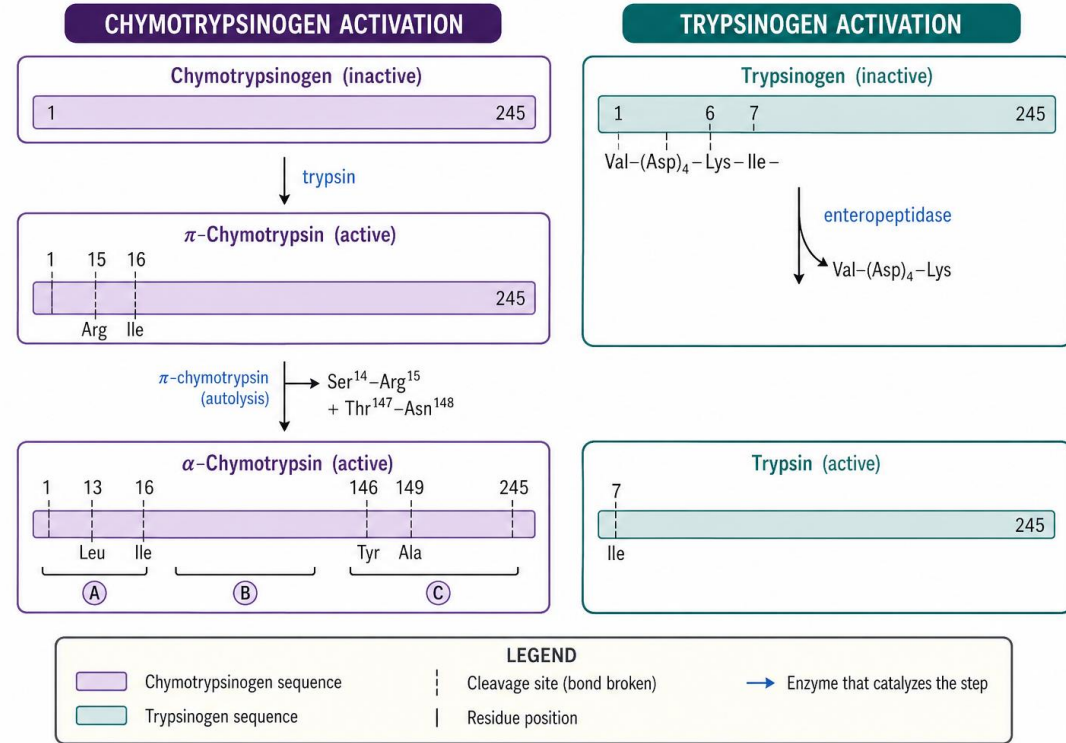
- Bazı enzimler başlangıçta zimojen adı verilen inaktif öncül proteinler olarak sentezlenir.
- Belirli peptit bağlarının proteolitik olarak kesilmesi, enzimin aktif konformasyona geçmesini sağlar.
- Bu tür aktivasyon genellikle geri dönüşümsüzdür.
- Sindirim proteazlarının önemli bir bölümü bu mekanizmayla etkinleştirilir.





Kimotripsinojenin Aktivasyonu

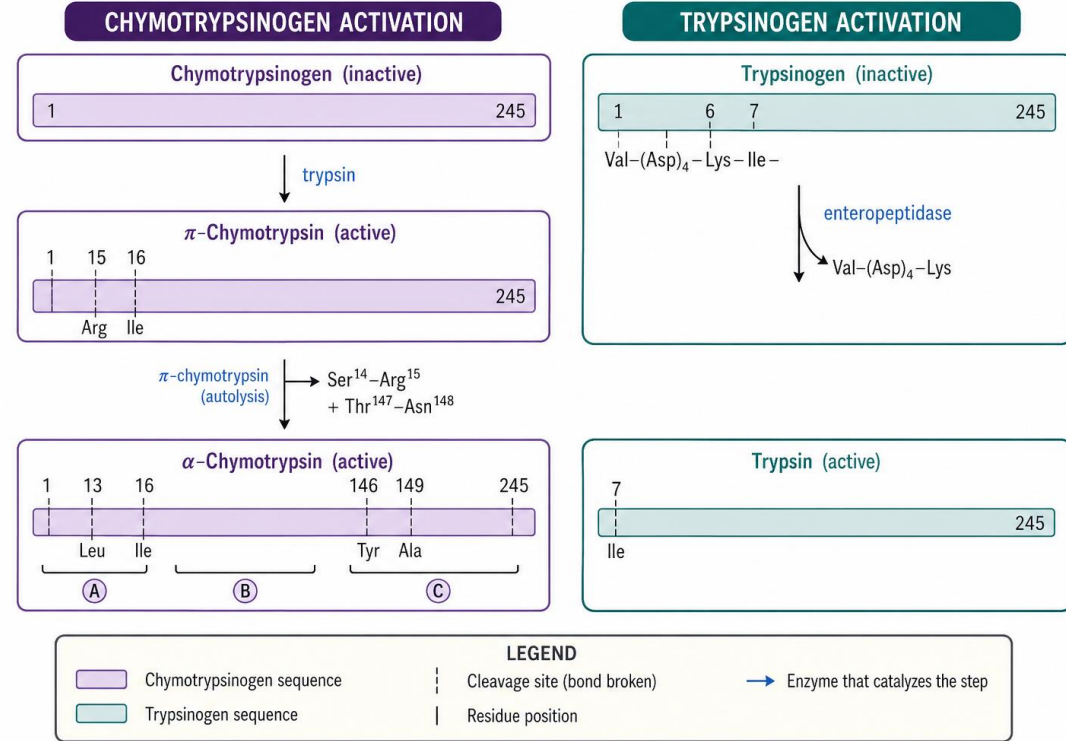
- Kimotripsin başlangıçta inaktif öncül olan kimotripsinojen şeklinde sentezlenir.
- Tripsinin belirli bir peptit bağı kırmasıyla önce aktif ara form oluşur.
- Daha sonraki otokatalitik kesilmeler sonucunda aktif α -kimotripsin meydana gelir.
- Kimotripsinojenin proteolitik aktivasyon basamakları yandaki figürde gösterilmektedir.





Tripsinojenin Aktivasyonu

- Tripsin de başlangıçta inaktif tripsinojen biçiminde sentezlenir.
- Enteropeptidaz, tripsinojenin N-terminal bölgesindeki özgül bir peptit bağını keser.
- Bu proteolitik kesilme aktif tripsinin oluşmasını sağlar.
- Tripsinojenin aktivasyonu yandaki figürde kimotripsinojen aktivasyonu ile birlikte gösterilmektedir.





Proteazların İnhibitörlerle Kontrolü

- Proteolitik aktivasyon geri dönüşümsüz olduğundan aktif proteazların kontrolü için ek mekanizmalara ihtiyaç vardır.
- Bazı inhibitör proteinler proteazların aktif bölgelerine çok sıkı bağlanarak aktivitelerini baskılar.
- Pankreatik tripsin inhibitörü tripsine bağlanarak enzimin kontrolsüz aktivitesini sınırlar.
- Böylece proteolitik enzimlerin yanlış yerde veya yanlış zamanda etkinleşmesi önlenabilir.





α_1 -Antiproteinaz ve Elastaz Kontrolü

- α_1 -Antiproteinaz, özellikle nötrofillerden salınan elastazın kontrolünde önemli bir proteaz inhibitörüdür.
- Elastaz aktivitesinin yeterince kontrol edilememesi akciğer dokusunda hasara yol açabilir.
- α_1 -Antiproteinaz eksikliği veya işlev kaybı amfizem gelişimiyle ilişkilendirilebilir.
- Sigara dumanına maruz kalma da bu inhibitör proteinin işlevini olumsuz etkileyebilir.





Proteolitik Olarak Aktive Edilen Diğer Proteinler

- Proteolitik aktivasyon yalnızca sindirim enzimleriyle sınırlı değildir.
- Kollajen gibi bazı proteinler öncül proproteinler olarak sentezlenir ve daha sonra kesilerek olgunlaştırılır.
- Kan pıhtılaşması da çok sayıda proteolitik aktivasyon basamağından oluşan karmaşık bir sistemdir.
- Fibrinojenin fibrine dönüşümü ve protrombinin trombine aktivasyonu bu sürece örnektir.





Bir Enzimde Birden Fazla Düzenleme Mekanizması

- Bazı düzenleyici enzimler aynı anda birden fazla kontrol mekanizmasına tabi olabilir.
- Glikojen fosforilaz hem kovalent modifikasyon hem de allosterik modölatörlerle düzenlenir.
- Ayrıca bu düzenleyici sistem hormonların etkisi altında çalışan kinaz ve fosfatazlarla bağlantılıdır.
- Bu çok katmanlı kontrol, metabolik akışın farklı fizyolojik koşullara uyarlanmasını sağlar.





Düzenleyici Enzimlerin Metabolik Ağlardaki Konumu

- Karmaşık düzenleyici enzimler çoğunlukla metabolik yolların önemli kavşak noktalarında bulunur.
- Aspartat transkarbamoilaz nükleotid metabolizmasında, glikojen sentaz ve glikojen fosforilaz ise karbonhidrat metabolizmasında önemli örneklerdir.
- Bu enzimler allosterik düzenleme, kovalent modifikasyon ve diğer proteinlerle etkileşim gibi farklı mekanizmalarla kontrol edilebilir.
- Bu çeşitlilik hücresel metabolizmanın farklı gereksinimlere hassas biçimde yanıt vermesine olanak sağlar.





Enzim Düzenlenmesinin Biyolojik Anlamı

- Hücreler metabolik kaynaklarını gereksinimlerine göre kullanmak zorundadır ve bu süreç katalizin sıkı biçimde düzenlenmesini gerektirir.
- Besinler bol olduğunda hücreler enerji ve metabolit depolayabilir, kıt olduğunda ise mevcut kaynakları daha dikkatli kullanır.
- Düzenleyici enzimler metabolik reaksiyonların ne zaman ve hangi hızda gerçekleşeceğini belirlemede temel rol oynar.
- Enzimatik katalizin kontrolü, hücresel metabolizmanın bütünlüğünü ve yaşamın düzenli biçimde sürdürülmesini mümkün kılar.



Teşekkür ederim

Prof. Dr. Bektaş TEPE

