

ENZİMLER

- Enzimler Nasıl Çalışır
- Enzim Kinetiği



Yaşamın iki temel koşulu

1. kendini kopyalayabilmesi

2. kimyasal reaksiyonları verimli ve seçici bir şekilde katalizleyebilmesi

Örnek: canlı sistemlerin çevreden gelen enerjiyi kullanması:

Oksijen varlığında sükrözün CO_2 ' ve H_2O 'a dönüşmesi (eksergonik bir rxn) sırasında ortaya çıkan serbest enerji, düşünme, hareket etme, görme, koku alma gibi işleri



Bir torba şeker, CO_2 ve H_2O 'ya belirgin bir dönüşüm olmadan yıllarca rafta kalabilir.

- bu kimyasal süreç de termodinamik olarak elverişlidir, fakat çok yavaştır!
- şeker bir canlı tarafından tüketildiğinde saniyeler içinde kimyasal enerjiye dönüşür.

Fark katalizdir.

Kataliz olmadan şeker oksidasyonu gibi reaksiyonlar yaşamı destekleyecek bir zaman ölçeğinde meydana gelemez.

Enzimler,

- sentetik veya inorganik katalizörlerden daha yüksek katalitik aktiviteye sahiptirler.
- yüksek substrat spesifitesine sahiptirler
- sulu çözeltilerde, ılıman sıcaklık ve pH koşullarında işlev görürler.
- biyokimyasal süreçlerin merkezinde yer alırlar ve birlikte çalışarak metabolik yolları oluştururlar
- Besinlerle alınan **moleküllerin parçalanması, saklanması, enerjiye dönüştürülmesi** ve **öncül moleküllerden makromoleküllerin oluşturulması**nda görev alırlar.
- **Düzenleyici enzimler** sayesinde yaşamı sürdürmek için gerekli birçok aktivite arasındaki uyumlu etkileşim metabolik yollar ile yüksek düzeyde koordine edilmiştir.



Bazı hastalıklarda, özellikle kalıtsal genetik bozukluklarda bir veya daha fazla enzimin tamamen yokluğu veya eksikliği veya aşırı aktivitesi sözkonusudur



Enzimler sadece tıpta değil, kimya, gıda, tarım, biyoteknoloji vb endüstrislerde önemli pratik araçlardır.

- Biyolojik kataliz ilk kez 1700'lü yılların sonlarında farkedilmiştir:
Etin mide salgıları ile sindirimi üzerine yapılan çalışmalar
- 1800'lü yıllarda nişastanın tükürük ve çeşitli bitki ekstraktları ile şekere dönüştürülmesi farkedilmiştir.
- 1850'lerde Louis Pasteur, şekerin mayalar tarafından alkole fermentasyonunun katalizlendiği keşfetmiştir.
- 1897'de Eduard Buchner maya ekstraktlarının şekerini alkole fermente ederek fermentasyonun gerçekleştiğini gösterdi.
- Frederick W. Kühne bu moleküllere ENZİM adını verdi

- 1926'da James Sumner ilk kez üreaz enzimini saflaştırdı ve kristalize etti ve tüm enzimlerin protein yapıda olduğu sonucuna vardı.
- 1930'larda John Northrop ve Moses Kunitz pepsin, tripsin gibi sindirim enzimleri izole etti bunların protein yapıda olduğunu söyledi.

Böylece enzimlerin protein yapıda olduğu geniş bir kabul gördü.

- J. B. S. Haldane enzim ve substrat arasındaki zayıf bağ etkileşimlerinin katalitik aktivitede rolü olacağını öngördü
- Yirminci yüzyılın ikinci yarısından bu yana enzimler üzerine yoğun araştırmalar yapılmaya devam edilmektedir.

- Küçük bir grup katalitik aktiviteye sahip RNA molekülleri dışında Enzimler Protein yapıdadır

Enzim Katalitik aktivitesi;

- Doğal protein konformasyonunun bütünlüğüne bağlıdır.
- Bir enzim denatüre edilmişse veya alt birimlerine ayrıştırıldığında katalitik aktivite kaybolur.
- Bir enzim amino asitlere ayrılırsa katalitik aktivitesi yok olur

- Birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül protein yapısı
- enzimlerinin katalitik aktiviteleri için gereklidir

- Enzimlerin moleküler ağırlıkları yaklaşık 12.000 - 1 milyon Dalton arasındadır.
- Bazı enzimler sadece amino asit yapıdadır
- Bazı enzimler kofaktör denen yapılara ihtiyaç duyarlar

Kofaktör: iorganik iyonlar

TABLE 6-1 Some Inorganic Elements That Serve as Cofactors for Enzymes

Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase, catalase, peroxidase
K^{+}	Pyruvate kinase
Mg^{2+}	Hexokinase, glucose 6-phosphatase, pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase, ribonucleotide reductase
Mo	Dinitrogenase
Ni^{2+}	Urease
Se	Glutathione peroxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase, alcohol dehydrogenase, carboxypeptidases A and B

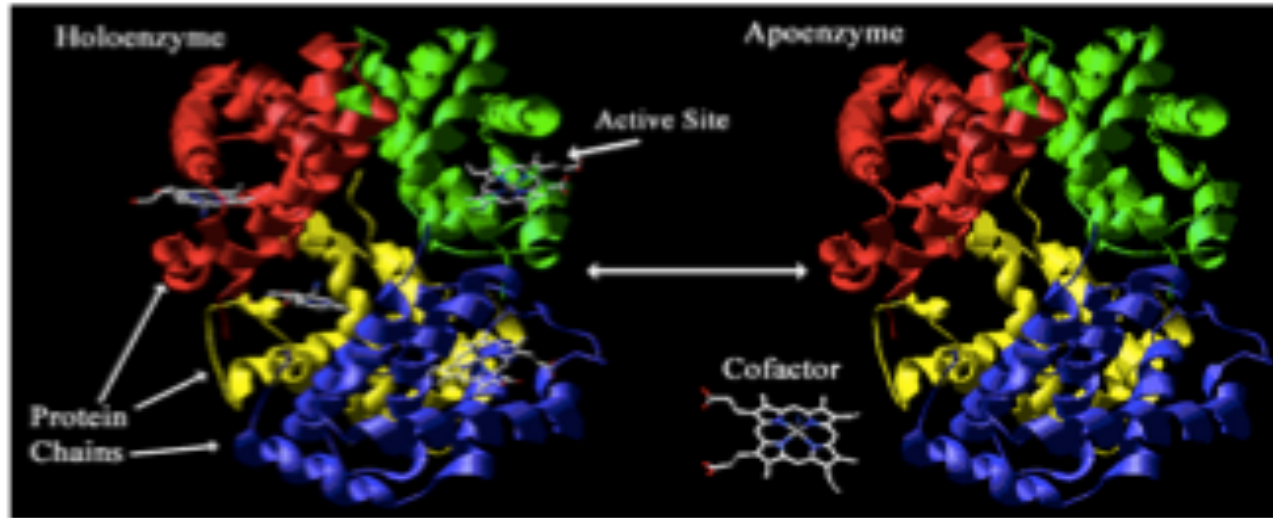
Bazı enzimler koenzim denen yapılara ihtiyaç duyarlar

Koenzim: organik veya metalloorganik moleküller

TABLE 6-2 Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

<i>Coenzyme</i>	<i>Examples of chemical groups transferred</i>	<i>Dietary precursor in mammals</i>
Biotin	CO ₂	Biotin
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid and other compounds
5'-Deoxyadenosylcobalamin (coenzyme B ₁₂)	H atoms and alkyl groups	Vitamin B ₁₂
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
Lipoate	Electrons and acyl groups	Not required in diet
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion (:H ⁻)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B ₆)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B ₁)

PROTEİN YAPISININ GENEL ÖZELLİKLERİ



Enzimler söz konusu olduğunda;

Protein kısmı: **apoenzyme**.
Kofactor/Koenzim: **prosthetic groups**.

The complete enzyme (apoprotein + cofactor) is termed the **holoenzyme**.

Bazı proteinler farklı kimyasal gruplar içerebilir

Basit Proteinler: sadece amino asitlerden oluşur

Konjuge Proteinler: amino asitlerle beraber farklı kimyasal komponentler içerirler.
lipoproteinler, glikoproteinler, metalloproteinler....

proteinin amino asit olmayan kısmına **prostetik grup** adı verilir.



Bazı enzim proteinleri, fosforilasyon, glikozilasyon gibi işlemler yoluyla kovalent olarak değiştirilir.

Bu değişikliklerin birçoğu, enzim aktivitesinin düzenlenmesinde rol oynar



ENZİMLERİN ADLANDIRILMASI

- Enzimlerin çoğu etkinliklerini tanımlayan bir ifadeye " az" eki eklenerek adlandırılmıştır.

Örnek: **Üreaz** ----üre hidrolizini katalizler

DNA polimeraz nükleotidlerin polimerizasyonunu katalizleyerek DNA oluşturur.

- Bazı enzimler belirli bir katalizlenen reaksiyon bilinmeden önce, geniş bir işlevi temsil eden isimleriyle adlandırılmıştır.

Örnek: besinlerin sindiriminde etkili olduğu bilinen bir enzim **pepsin** olarak adlandırılmıştır. Yunanca "pepsis," yani "sindirim," kelimesinden gelir

lizozim bakteri hücre duvarlarını eritme yeteneği nedeniyle adlandırılmıştır.

- Bazı enzimler kaynaklarına göre adlandırılmıştır:

Örnek **trypsin**, kısmen Yunanca "wear down" anlamına gelen "tryein" kelimesinden türetilmiştir ve pankreas dokusunun gliserinle ovulmasıyla elde edilmiştir.

- Bazı durumlarda aynı enzimin iki veya daha fazla adı olabilir
- Bazı durumlarda farklı enzimler aynı adı taşıyabilir.

Bu tür belirsizliklerden ve yeni keşfedilen enzim sayısının artmasından dolayı, biyokimyacılar uluslararası bir anlaşma ile enzimleri adlandırma ve sınıflandırma sistemi benimsemiştir.

Bu sistem, enzimleri katalize edilen reaksiyon türüne göre 6 sınıfa böler
Enzimler katalizledikleri reaksiyonlara göre sınıflandırılırlar

TABLE 6–3 International Classification of Enzymes

No.	Class	Type of reaction catalyzed
1	Oxidoreductases	Transfer of electrons (hydride ions or H atoms)
2	Transferases	Group transfer reactions
3	Hydrolases	Hydrolysis reactions (transfer of functional groups to water)
4	Lyases	Addition of groups to double bonds, or formation of double bonds by removal of groups
5	Isomerases	Transfer of groups within molecules to yield isomeric forms
6	Ligases	Formation of C—C, C—S, C—O, and C—N bonds by condensation reactions coupled to ATP cleavage

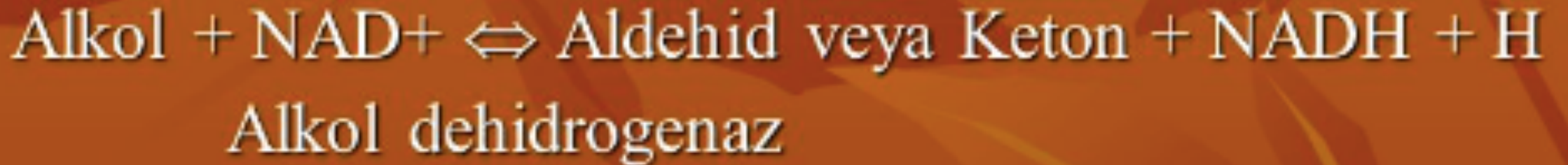
1. Oksidoredüktazlar :

Redoks tepkimelerini katalizleyen enzimlerdir.

Dehidrojenazlar (redüktazlar): Elektron akseptörü olarak NAD(P)+ kullanırlar

Oksidazlar: Elektron akseptörü olarak moleküler oksijen kullanırlar

Dehidrojenazlar: Elektron akseptörü olarak NAD(P)+ kullananlar



2. Transferazlar :

Moleküllerden C,N,P taşıyan grupların transferini katalizler.

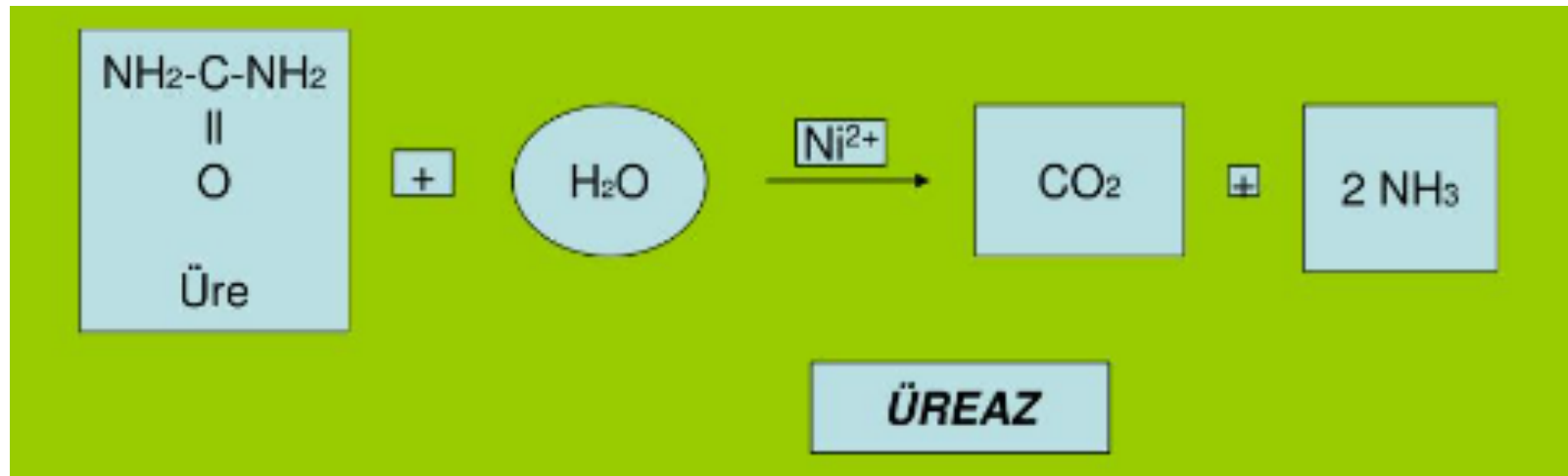
Genel Kofaktörleri tetrahidrofolat (THF), Metilkobalamin (B12), Piri doksalFosfat (PLP).



3. Hidrolazlar :

Hidroliz tepkimeleri yani bağlara su ekleyerek bağ kırılması olayını katalizleyen enzimlerdir.

C-C, C-P, C-S, C-N gibi bağlara H₂O ekleyerek yıkımı katalizlerler.



4. Liyazlar (Sentazlar):

C-C, C-O, C-S, C- N arasındaki bağların yıkılmasını veya oluşmasını katalizleyen enzimlerdir.

Bağ kırılması redoks ve hidroliz dışı bir mekanizmayla gerçekleşir.

5. İzomerazlar :

Bir molekül içindeki değişiklikleri katalizerler

optik veya geometrik izomerlerin rasemizasyonunu katalizleyen enzimlerdir.

Örn: Mutazlar, İntramoleküler grup transferi reaksiyonlarını katalize ederler

6. Ligazlar (Sentetazlar):

Yüksek enerjili fosfatların hidrolizi (ATP, ADP gibi) ile birlikte yürüyen,

C-C, C-O, C-S, ve C-N

arasında kovalent bağ oluşturmayı sağlayan tepkimeleri katalizler.

Her enzime dört bölümden oluşan bir sınıflandırma numarası ve reaksiyonu tanımlayan sistemli bir ad atanır.

Örnek



Resmi sistemli adı :ATP-glukoz fosfotransferaz'dır (Gayriresmi adı: hexokinaz)
ATP'den glukozu bir fosforil grubu transferini katalize ettiğini gösterir.

Enzim Komisyonu numarası (E.C. numarası) ise 2.7.1.1'dir.

İlk numara (2)----- sınıf adı (transferaz);

İkinci numara (7)-----alt sınıf (fosfotransferaz);

üçüncü numara (1)----- hidroksil grubu alıcı olan fosfotransferazı gösterir;

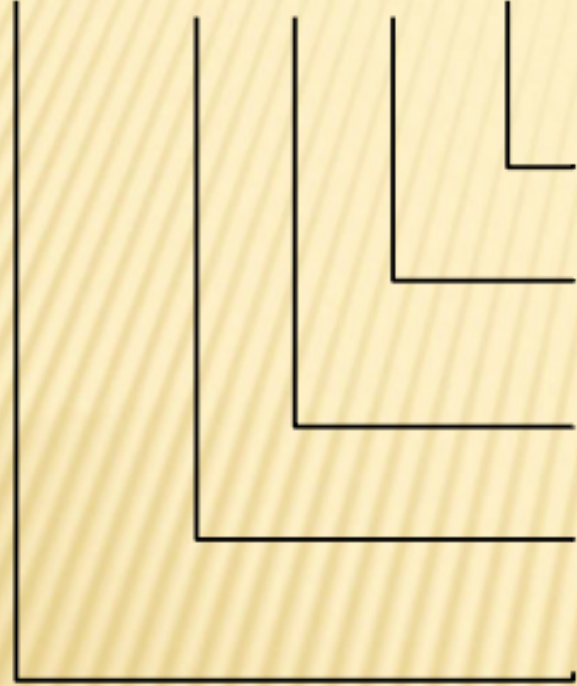
dördüncü numara (1)----- fosforil grubu alıcı olan D-glukozu gösterir.

Birçok enzim için daha yaygın olarak kullanılan gayriresmi bir isim bulunur;

Binlerce bilinen enzimin tam bir listesi ve açıklaması Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği'nin (www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme) isimlendirme Komitesi tarafından tutulur. B

Sistemik adlandırma

EC 3. 1. 2. 3 *Süksinil CoA hidrolaz*



Enzimin kendine özgü sıra numarası

Alt-alt sınıfı: Tioester bağlarını hidroliz eder

Alt sınıfı: Ester bağlarını hidroliz eder

Enzim sınıfı: Hidrolaz

Enzimatik kod

ENZİMLER NASIL ÇALIŞIR

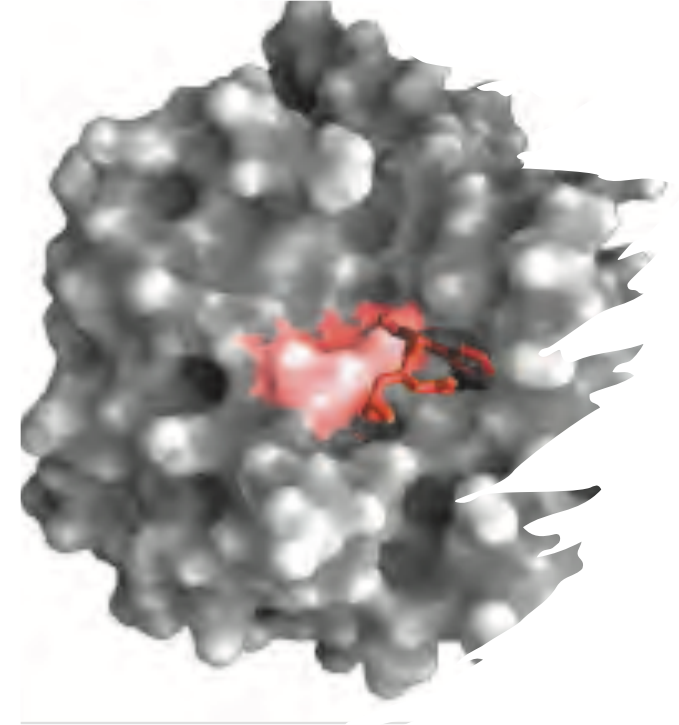
Çoğu biyolojik molekül, hücre içi pH, ılımlı sıcaklık ve sulu ortamda oldukça kararludur.

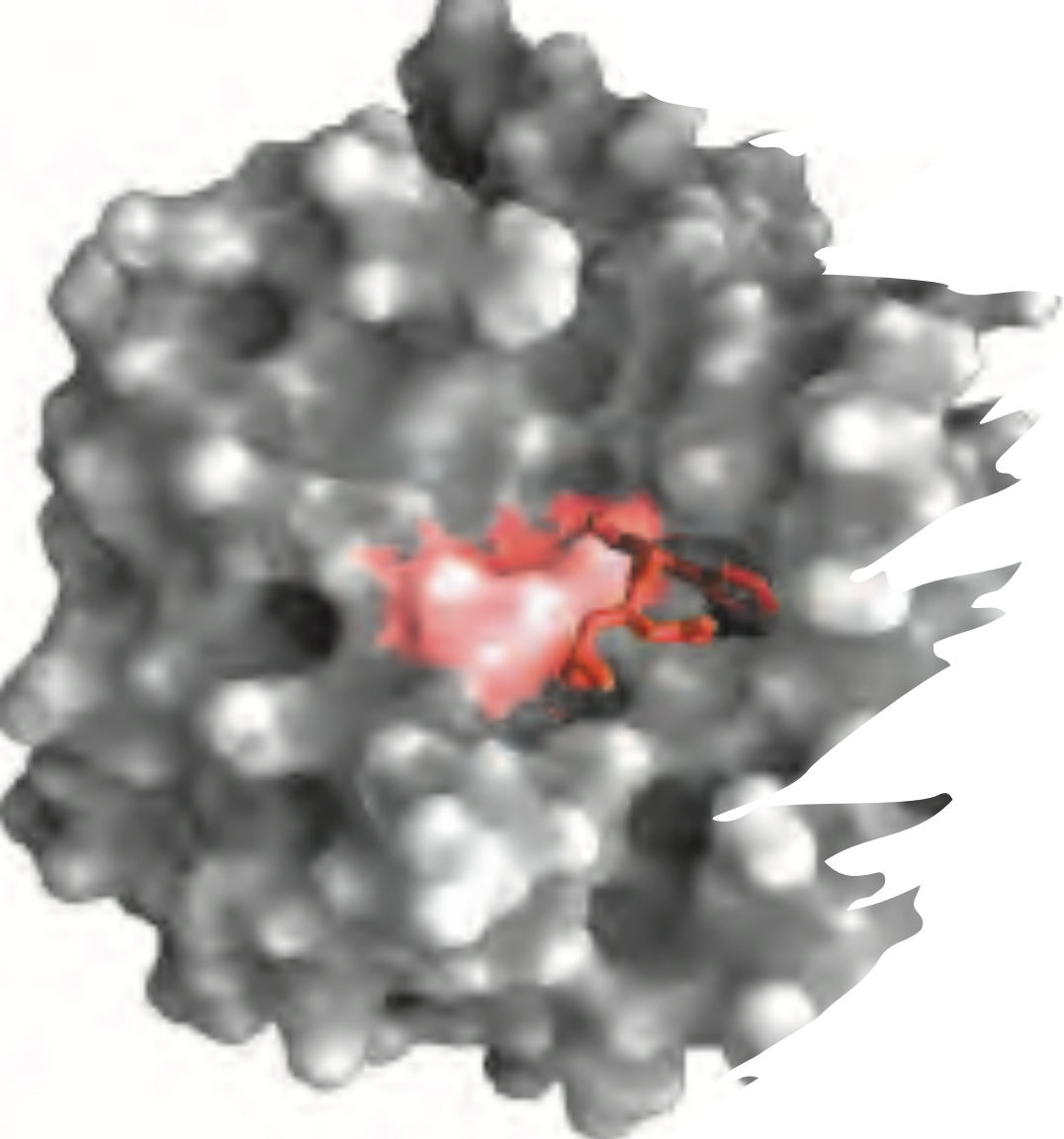
Gıdanın sindirilmesi, sinir sinyali gönderme veya bir kasın kasılması için gereken reaksiyonlar, kataliz olmadan yaşam için kullanışlı bir hızda gerçekleşmez.

Enzimler belirli bir reaksiyonun daha hızlı gerçekleşebileceği özel bir ortam sağlayarak bu sorunları aşar.

Bir enzim tarafından katalize edilen bir reaksiyonun ayırt edici özelliği, enzim üzerindeki **aktif bölge olarak adlandırılan bir cepte meydana** gelmesidir.

- Aktif bölgede bağlanan ve enzim tarafından etkilenen molekül, substrat olarak adlandırılır.
- Aktif bölgenin yüzeyi, substratı bağlayan ve kimyasal dönüşümünü katalize eden amino asit kalıntılarıyla kaplıdır.
- Aktif bölge, substratı tamamen çözeltiden izole ederek onu korur.





The enzyme chymotrypsin, with bound substrate in red (PDB ID 7GCH). Some key active-site amino acid residues appear as a red splotch on the enzyme surface.

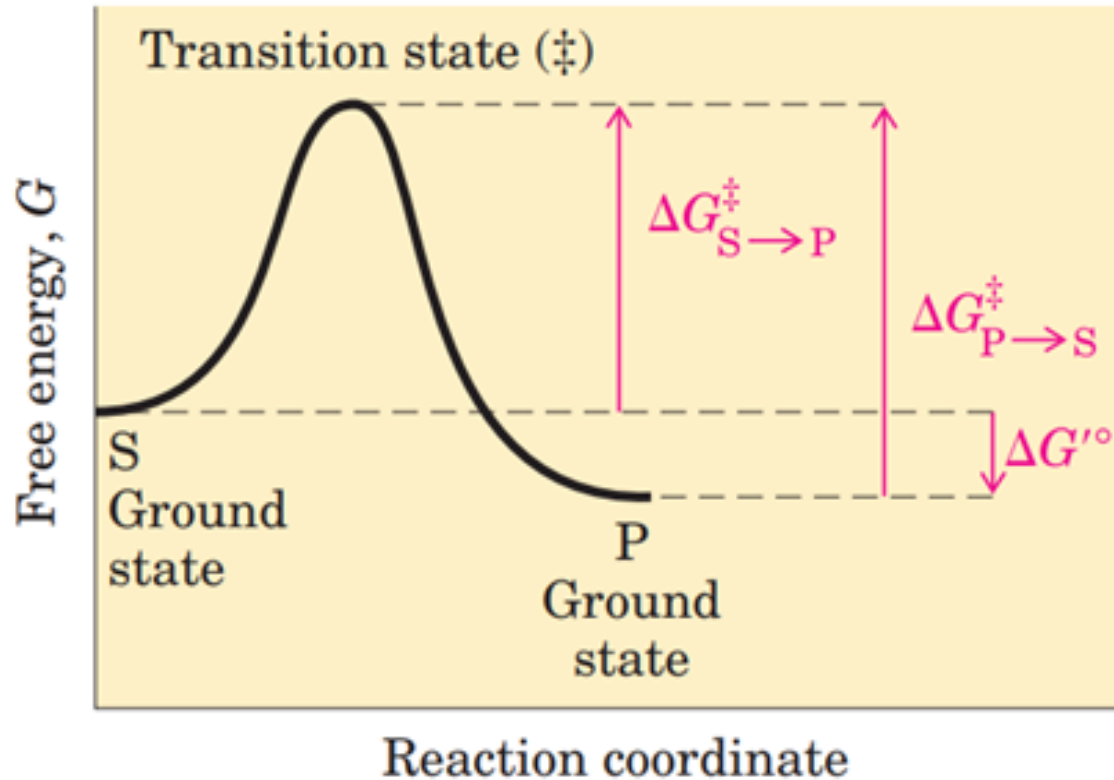
Enzim-substrat kompleksi,

- 1880 yılında Charles-Adolphe Wurtz tarafından ilk kez önerilmiştir
- Enzimlerin işlevi için merkezi bir öneme sahiptir.
- Enzim tarafından katalizlenen reaksiyonların kinetik davranışını tanımlayan matematiksel işlemlerin başlangıç noktasıdır
- Enzimatik rxn mekanizmalarının teorik açıklamalarının başlangıç noktasıdır."

Basit bir enzimatik reaksiyon için;



E: enzim, S: substrat, P: ürün,
ES: Enzim-Substrat geçici kompleks,
EP: Enzim-Ürün geçici kompleksi



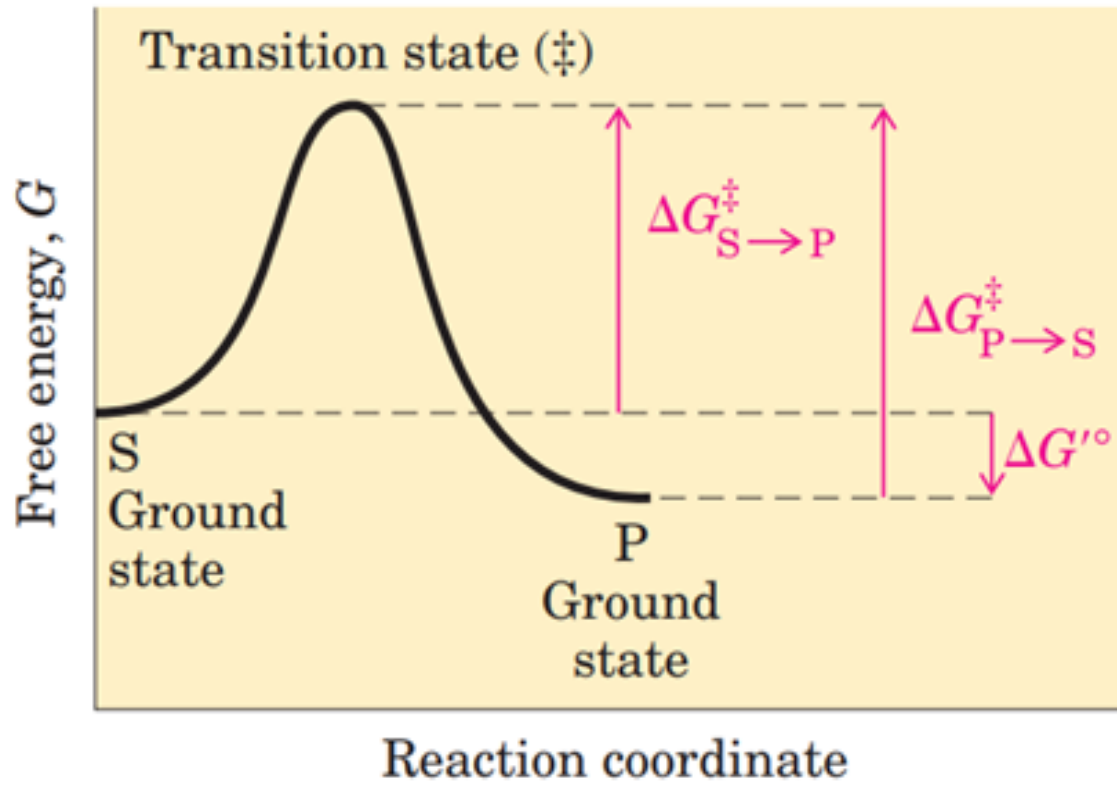
- Enzimler reaksiyon hızını arttırırlar
- Enzimler reaksiyon dengesini etkilemezler.

S $\rightleftharpoons$ P şeklindeki bir rxn sırasındaki enerji değişimleri şekilde gösterilmiştir.

Biyolojik sistemlerde enerji, serbest enerji **G** olarak tanımlanır.

Reaksiyon koordinat diyagramında,
Y= sistemin serbest enerjisi , reaksiyon
boyunca serbest enerji değişimi

X= reaksiyonun ilerlemesi boyunca (S $\rightarrow$ P) kimyasal değişimler
(e.g., bond breakage or formation)



İleri veya ters reaksiyonun başlangıç noktasında, belirli koşullar altında ortalama bir molekülün (S veya P) sistemin serbest enerjisine katkısı '**temel durum**' olarak adlandırılır."

Standart koşullar altında (298 K; kısmi basıncı 1 atm veya 101.3 kPa; 1 M konsantrasyon) reaksiyonlardaki serbest enerji değişliği "G" olarak ifade edilir ve, bu da standart serbest enerji değişliğidir.

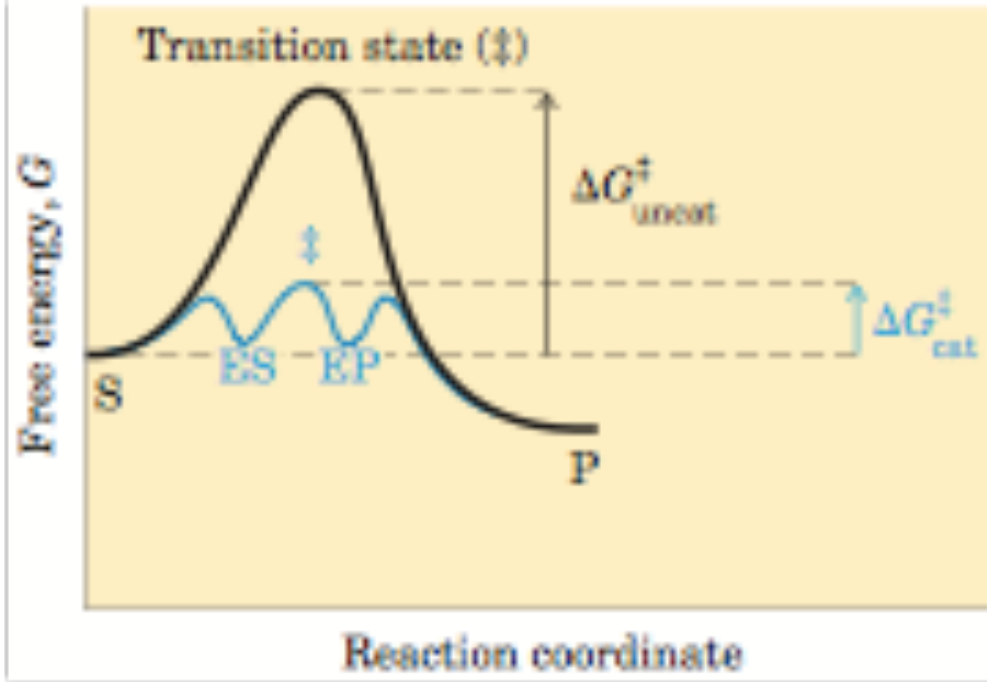
Şekilde Ürünün temel durumu serbest enerjisi, Substratın temel durumu serbest enerjisinden düşüktür.

Dolayısıyla reaksiyonun "G" değeri (-)'dir.

Reaksiyon dengesi ürünlere doğru ilerler.

(S ve P arasındaki denge, temel durumlarının serbest enerjilerindeki farkı yansıtır."

Dengenin pozisyonu ve yönü herhangi bir katalizörden etkilenmez



Reaksiyonun elverişli olması , S ve P dönüşümünün algılanabilir bir hızda gerçekleşeceği anlamına gelmez.

Reaksiyonun hızı S ve P arasındaki **enerji bariyerine** bağlıdır.



tepkime gruplarının hizalanması,
geçici kararsız yüklerin oluşturulması,
bağ düzenlemeleri ve tepkimenin her iki yönde ilerlemesi için
gerekli enerji

Temel durum ve geçiş durumu arasındaki enerji seviyesi farkı, **aktivasyon enerjisi** $\Delta G^{\ddagger}$ olarak tanımlanır.

Moleküller reaksiyona girebilmek için bu engeli aşmaları ve bu nedenle daha yüksek bir enerji seviyesine çıkarılmaları gerekir.

Bu enerji tepe noktasına **geçiş durumu** denir.



- ES ve EP gibi reaksiyon araürünleri ile karıştırılamamalıdır.
- Bağ kopması, bağ oluşumu ve yük değişimi gibi olayların gerçekleştiği geçici bir moleküler andır.

Enzimlerle katalizlenen reaksiyonların hızı ve dengesi termodinamik olarak açıklanabilir.

- Reaksiyon dengesi, reaksiyonun standart serbest enerji değişimiyle bağlantılıdır,
- Reaksiyon hızı, aktivasyon enerjisi ($\Delta G^\ddagger$) ile bağlantılıdır.

$S \rightleftharpoons P$ RXN u için denge

Denge sabiti K_{eq} (K) (K'_{eq}) (K') ile tanımlanır

$$K'_{eq} = \frac{[P]}{[S]}$$

$$\Delta G'^{\circ} = -RT \ln K'_{eq}$$

R is the gas constant, 8.315 J/mol K, and *T* is the absolute temperature, 298 K (25 C)

- Serbest Enerji Değişimi büyük ve negatif bir değer olması elverişli bir reaksiyon dengesini yansıtır;
- Ancak reaksiyonun hızlı bir oranda ilerleyeceği anlamına gelmez.
- Herhangi bir reaksiyonun hızı, reaktantın (veya reaktanların) konsantrasyonu ve bir hız sabiti (k) ile belirlenir.

- unimoleküler (tek moleküllü) bir reaksiyon

$S \rightleftharpoons P$ için,

V = reaksiyonun hızı (velocity), = birim zamanda reaksiyona giren S miktarını temsil eder - bir hız denklemi ile ifade edilir:

$$V = k[S]$$

- Reaksiyonda hız yalnızca S konsantrasyonuna bağlı ise

$$V=k[S]$$

Buna birinci dereceden reaksiyon denir.

k =hız sabiti : belirli koşullar altında (pH, sıcaklık vb.) reaksiyonun olasılığını yansıtan bir orantı sabitidir.

Burada k birinci dereceden bir hız sabitidir (birimi s^{-1})

$$k= 0,03 \text{ s}^{-1} \Rightarrow$$

mevcut substratın %3'ünün 1 saniyede ürüne dönüştürüleceği şekilde yorumlanabilir.

- Bir reaksiyon hızı, iki farklı bileşiğin konsantrasyonuna bağlıysa veya reaksiyon aynı bileşiğin iki molekülü arasındaysa,

$$V = k[S1][S2]$$

Reaksiyon ikinci dereceden reaksiyondur

k ikinci dereceden bir hız sabitidir (birimi $M^{-1} \times s^{-1}$)

- Geçiş durumu teorisinden, hız sabitinin büyüklüğünü aktivasyon enerjisine bağlayan bir ifade türetebiliriz:

$$k = \frac{\mathbf{k}T}{h} e^{-\Delta G^{\ddagger}/RT}$$

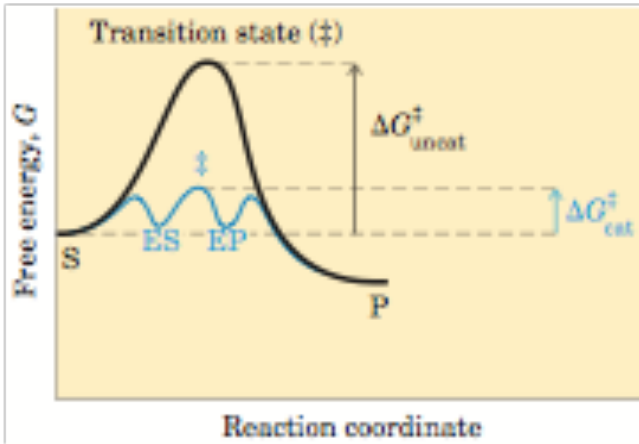
k-->Boltzmann sabitidir

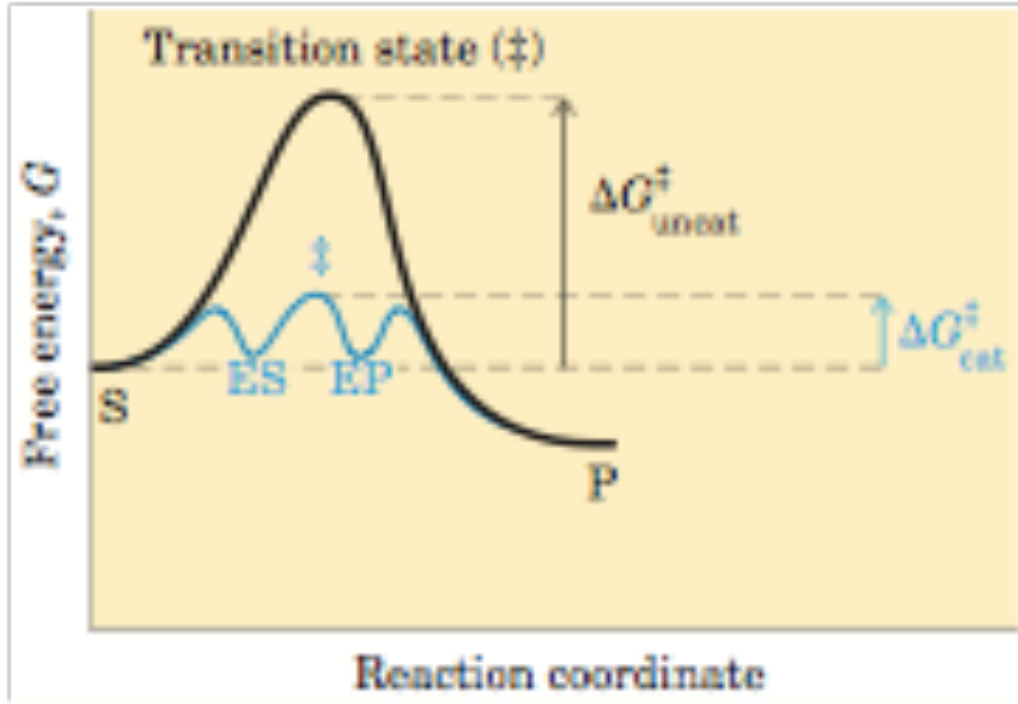
h -->Planck sabitidir.

Burada önemli olan nokta hız sabiti (k) ile aktivasyon enerjisi $\Delta G^{\ddagger}$ arasındaki ilişkinin ters ve üstel olmasıdır.

Basitleştirilmiş bir ifadeyle,

daha düşük bir aktivasyon enerjisi daha hızlı bir reaksiyon hızı anlamına gelir





Reaction coordinate diagram comparing enzyme- catalyzed and uncatalyzed reaction

Aktivasyon Enerjisi Yükseldikçe Reaksiyon hızı yavaşlar

Reaksiyon hızları, sıcaklığı yükselterek, böylece enerji bariyerini aşacak yeterli enerjiye sahip molekül sayısını artırarak arttırılabilir.

Alternatif olarak, bir katalizör ekleyerek aktivasyon enerjisi düşürülebilir

Enzimler , aktivasyon enerjisini düşürerek reaksiyon hızını artırırılar.

- Enzimler bu hız artışlarını nasıl gerçekleştirmektedir?
- Reaksiyonlardaki aktivasyon enerjilerinin düşürülmesinin enerji kaynağı nedir?

1. Enzim katalizli reaksiyon sırasında kovalent bağlar yeniden düzenlenir.

---Enzimlerdeki fonksiyonel gruplar (amino asit yan izncirleri , metal iyonları ve koenzimer) substrat ile geçici bir kovalent bağ kurarak substratı reaksiyon için aktive edebilir

---Bir grup geçici olarak substrattan enzime transfer edilebilir

Enzimlerle substratlar arasındaki kovalent etkileşimler, aktivasyon enerjisini düşürerek (ve böylece reaksiyonu hızlandırarak) alternatif, düşük enerjili bir reaksiyon yolu sağlar.

2. **Aktivasyon enerjisini düşürmek için gereken enerjinin büyük bir kısmı, substrat ile enzim arasındaki zayıf, kovalent olmayan etkileşimlerden elde edilir.**

ES kompleksinde, substrat ve enzim arasındaki etkileşim, protein yapısını stabilize eden **hidrojen bağları, hidrofobik ve iyonik etkileşimler** de dahil olmak üzere aynı kuvvetler aracılığıyla gerçekleşir.

ES kompleksi içinde her nonkovalent etkileşim oluşurken bir miktar serbest enerji salınır.

Enzim-substrat etkileşiminden elde edilen bu enerjiye **bağlama enerjisi** denir,

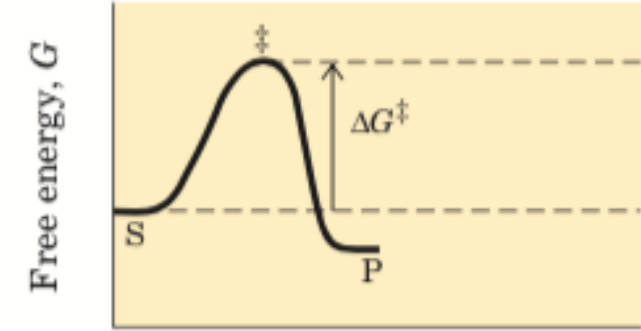
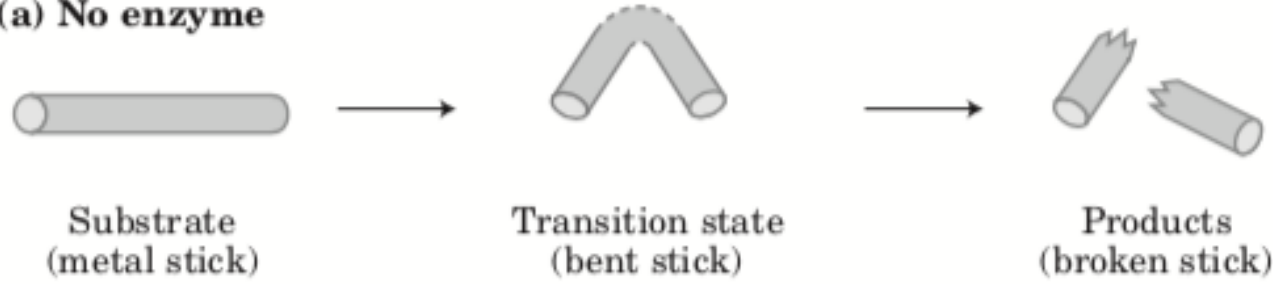
Bağlama enerjisi

- **ES stabilitesini sağlar**
- **Enzimlerin reaksiyonların aktivasyon enerjilerini düşürmek için kullandığı serbest enerjinin önemli bir kaynağıdır.**

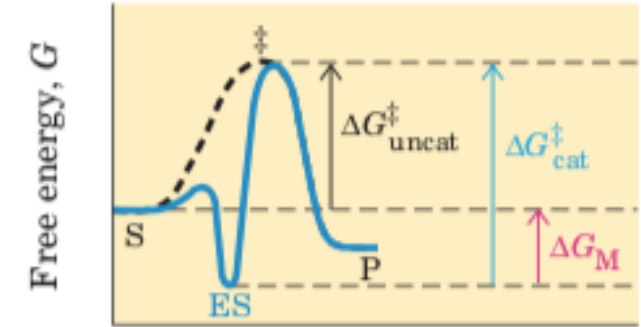
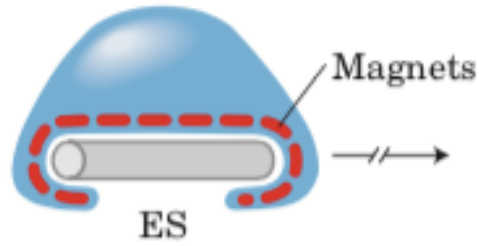
ENZİM SPESİFİTESİ

- Emil Fischer 1894 yılında enzimlerin substratlarıyla yapısal olarak birbirini tamamlayan ilişkisini anahtar kilit örneği ile açıklamıştır.
- iki biyolojik molekül arasındaki özel etkileşimin, birbirini tamamlayan şekillere sahip moleküler yüzeyler aracılığıyla gerçekleştiği düşüncesi biyokimyanın gelişimini büyük ölçüde etkilemiştir.
- **Ancak, "kilit ve anahtar" hipotezi enzimatik katalize uygulandığında yanıltıcı olabilir.**
- Bir enzim, tamamen substratına uyumlu ise, çok zayıf bir enzim olacaktır

(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



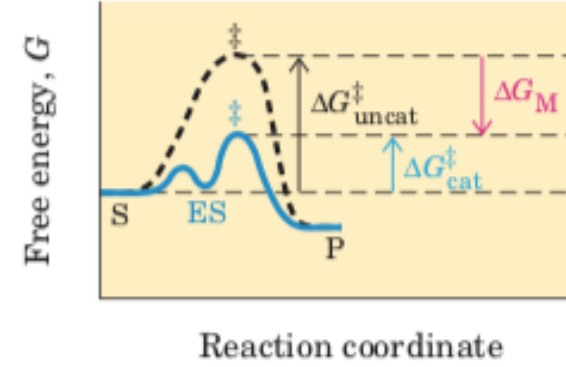
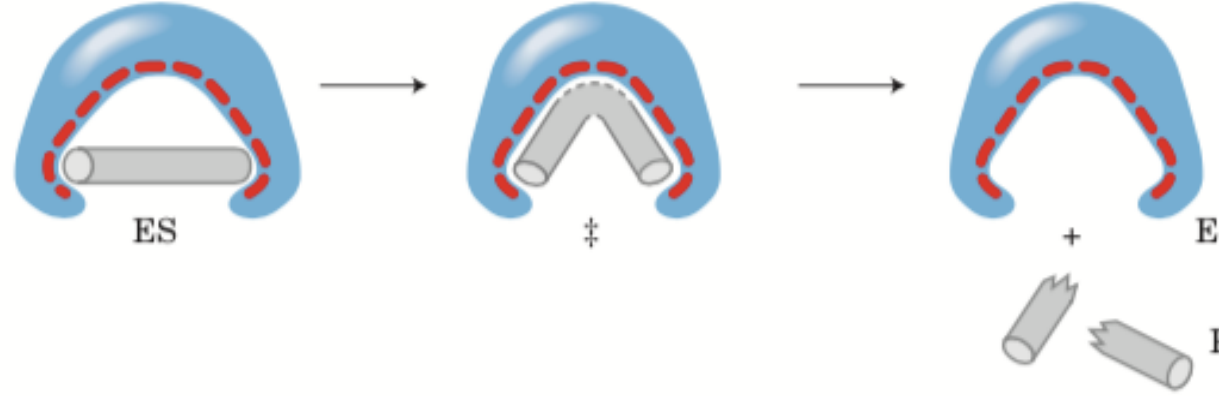
Substrata tamamen uyumlu bir enzim;

Çubuk, reaksiyonun geçiş durumuna ulaşmak için bükülmelidir

Ancak buarada enzim reaksiyonu başlatmak yerine substratı stabilize etmiştir.

Bu tür bir ES çubuğun hakeret edip kırılmayacağı bir enerji çukuru oluşturmuştur.

(c) Enzyme complementary to transition state



Modern kataliz kavramı ilk kez Michael Polanyi (1921) ve Haldane (1930) tarafından öne sürülmüştür.

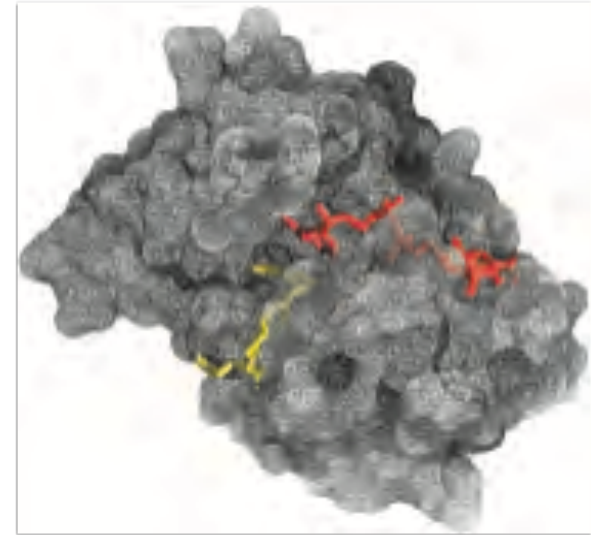
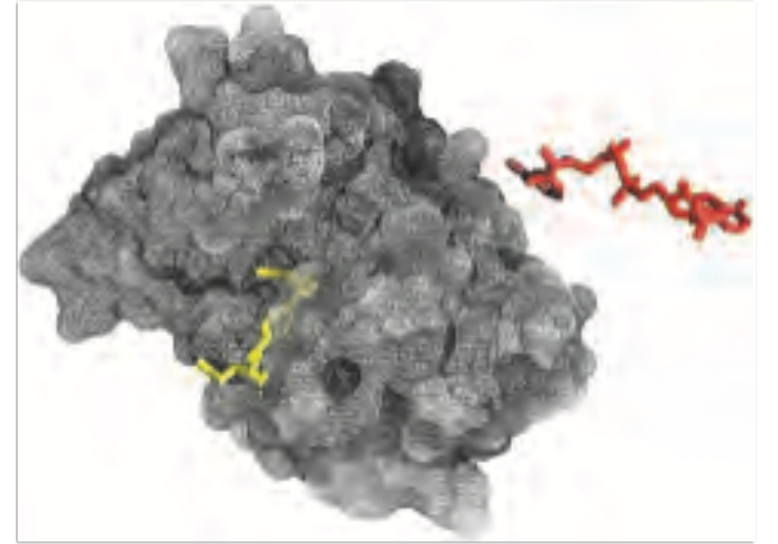
1946 yılında Linus Pauling tarafından detaylandırılmıştır

- Reaksiyonları katalize etmek için, bir enzimin reaksiyon geçiş durumunda substratla tamamlayıcı nitelikte olması gerekir.
- Substratın geçiş durumuna ulaşmak için gereken serbest enerji artışına uğraması gerekir.
- Bu gerekli olan serbest enerjideki artış, enzim ile substrat arasında oluşan bağlanma enerjisi tarafından sağlanır

Temel prensip:

- Enzim ve substrat arasındaki zayıf bağlanma etkileşimleri, enzimatik kataliz için önemli bir itici güç sağlamaktadır.
- Bu zayıf etkileşimlere katılan substrat üzerindeki gruplar, kırılan veya değişen bağlardan belli bir mesafede olabilir.
- Yalnızca geçiş durumunda oluşan zayıf etkileşimler, katalize birincil katkıyı sağlayanlardır.

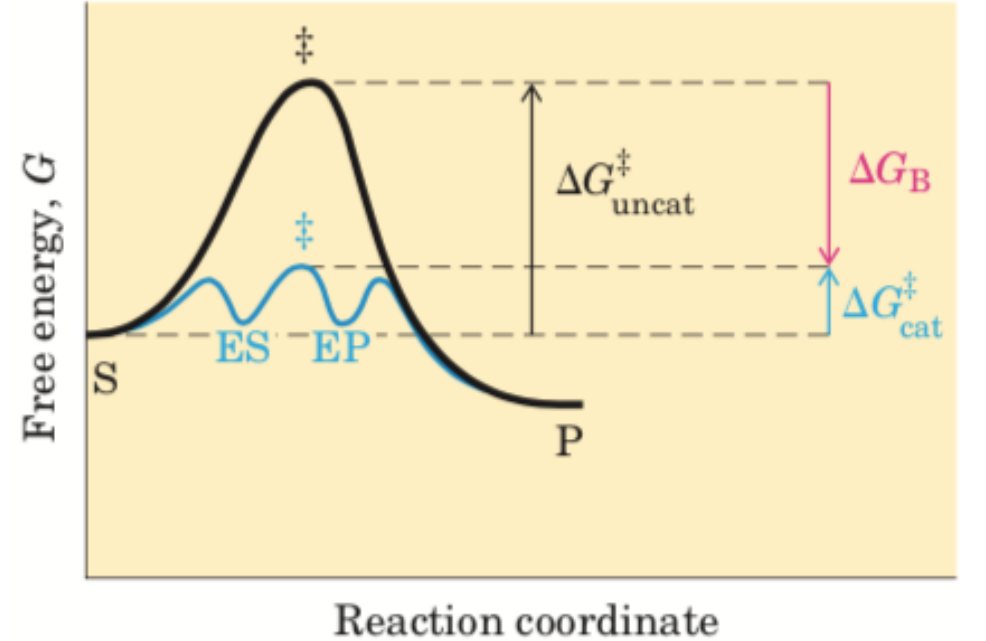
- Katalizi harekete geçirmek için çoklu zayıf etkileşimlerin gerekliliği, enzimlerin (ve bazı koenzimlerin) bu kadar büyük olmasının bir nedenidir.
- Bir enzim, **iyonik, hidrojen bağı ve diğer etkileşimler için fonksiyonel gruplar sağlamalı** ve ayrıca bu grupları, geçiş durumunda bağlanma enerjisinin optimize edileceği şekilde hassas bir şekilde konumlandırmalıdır.
- Yeterli bir enzim substrat bağlanmasında, substratın sudan etkili bir şekilde uzaklaştırıldığı bir boşluğa (aktif bölge) yerleştirilmesi gerekir

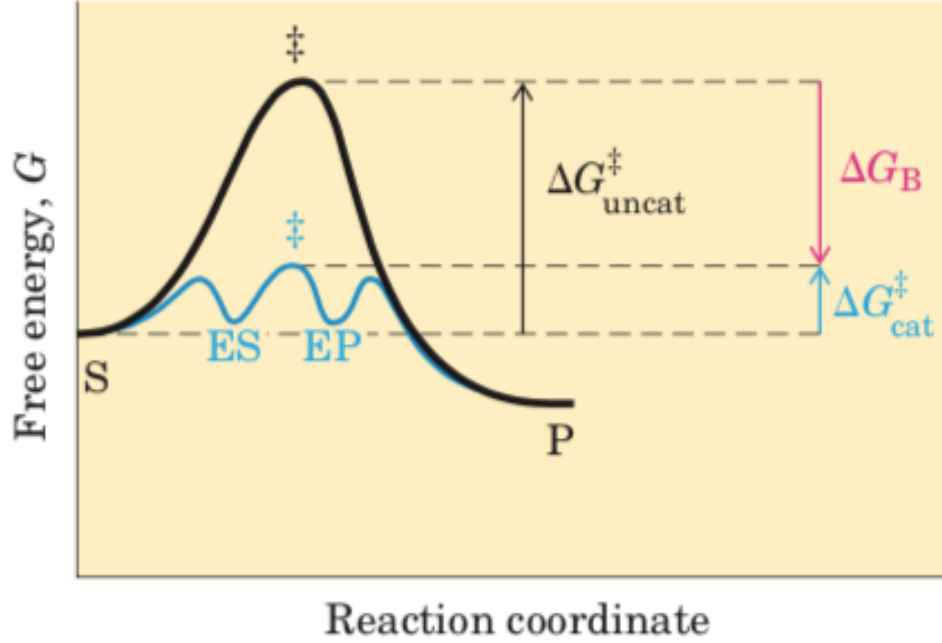


Bağlanma Enerjisi Reaksiyonun Spesifitesine ve Katalizine Katkıda Bulunur

Hücrelerde yaygın olarak bulunan koşullar altında birinci dereceden bir reaksiyonu **on kat hızlandırmak için** (aktivasyon enerjisinin) $\Delta G^\ddagger$ 'nin yaklaşık 5,7 kJ/mol kadar düşürülmesi gerekir

Tek bir nonkovalanet etkileşimin oluşumundan elde edilen enerji genellikle 4 ila 30 kJ/mol olarak heplanabilir





Tek bir nonkovalanet etkileşimin oluşumundan elde edilen enerji genellikle **4 ila 30 kJ/mol** olarak heaplanabilir

Bu tür etkileşimlerin bir kısmından elde edilen toplam enerji, birçok enzim için gözlemlenen büyük orandaki hız artışı için gereken aktivasyon enerjisini 60 ila 100 kJ/mol kadar düşürmek için yeterlidir.

Kataliz için enerji sağlayan bağlanma enerjisi,

aynı zamanda bir enzime spesifitesini,

yani bir substrat ile rakip molekül arasında ayırım yapabilme yeteneğini de verir.

kataliz ve spesifite (özgüllük) aynı olgudan kaynaklanır.

Örneğin

substrat, enzim üzerindeki belirli bir Glu kalıntısıyla hidrojen bağı oluşturan bir hidroksil grubuna sahipse,

bu belirli pozisyonda bir hidroksil grubu bulunmayan herhangi bir molekül, enzim için daha zayıf bir substrat olacaktır.

Ekstra fonksiyonel gruba sahip herhangi bir molekül, enzimin cep veya bağlanma bölgesine özel bir etkileşime sahip olmadığından enzimin dışında tutulması muhtemeldir.

Genel olarak özgüllük, enzim ile onun spesifik substratı arasında çok sayıda zayıf etkileşimin oluşmasından kaynaklanır.

Örneğin,

trioz fosfat izomeraz (glikolitik enzim) gliseraldehit 3 fosfat ve dihidroksiaseton fosfatın dönüşümünü katalize eder

Bu reaksiyon,

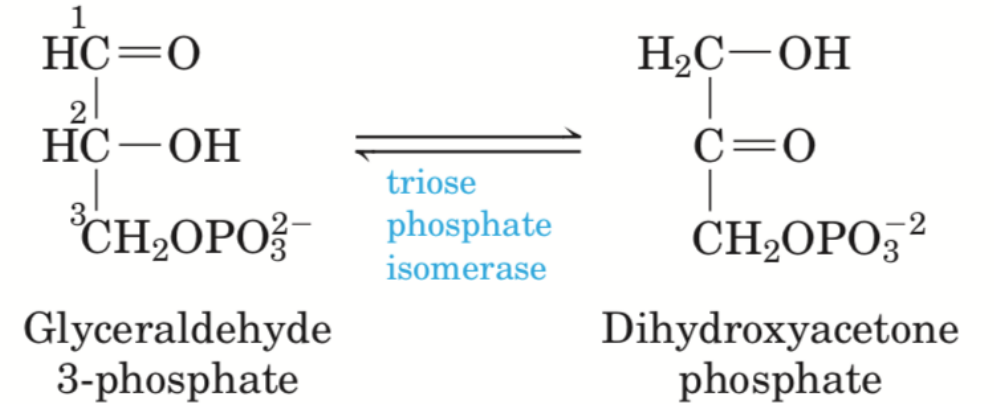
karbon 1 ve 2 üzerindeki karbonil ve hidroksil gruplarını yeniden düzenler.

Enzimatik hızlanmanın %80'inden fazlasının,

karbon 3'deki fosfat grubunu içeren enzim-substrat etkileşimlerinden kaynaklandığı görülmüştür

substrat olarak gliseraldehit 3fosfat ve gliseraldehit (3. pozisyonda fosfat grubu yok) ile enzim katalizli reaksiyonların dikkatli bir şekilde karşılaştırılması ile belirlenmiştir.

Her katalitik rxn için enzimin rxn hızına ve/veya özgüllüğüne katkısını ölçmek mümkün olmayabilir.



Reaksiyon bariyeri olan aktivasyon enerjisinin aşılmasına katkıda bulunan belirgin fiziksel ve termodinamik faktörler olarak :

(1) çözelti içindeki iki molekülün hareket özgürlüğünün azalması (entropide bir azalma)

(2) sulu çözeltiler oluşan çözünme kabuğu biyomoleküllerin çoğunu çevreleyen ve stabilize etmeye yardımcı olur

Enzim-substrat etkileşimleri, substrat ve su arasındaki hidrojen bağlarının çoğunun veya tamamının yerini alır.

(3) birçok reaksiyonda meydana gelmesi gereken substratların bozulması

Reaksiyon geçiş durumunda oluşan zayıf etkileşimler ile substratın bozulması termodinamik olarak telafi edilir ve substrat rxn gider.

(4) enzim üzerindeki katalitik fonksiyonel grupların uygun şekilde hizalanması

substrat bağlandığında enzimin kendisi genellikle substratla çok sayıda zayıf etkileşim neden olduğu konformasyon değişikliğine uğrar.

Daniel Koshland tarafından 1958'de INDUCED FIT uyarılmış uyum mekanizması önerilmiştir.

Uyarılmış uyum, enzim üzerindeki spesifik fonksiyonel grupları reaksiyonu katalize etmek için uygun pozisyona getirilmesini açıklar

Konformasyonel değişiklik aynı zamanda geçiş durumunda ek zayıf bağlanma etkileşimlerinin oluşmasına da izin verir.

Yeni enzim konformasyonu gelişmiş katalitik özelliklere sahiptir.

https://www.google.com/search?q=induced+fit+model&sca_esv=590835004&tbm=vid&sxsrf=AM9HkKkmyK-d402n1yFIQxXEJ701ulhERw:1702545086256&source=lnms&sa=X&ved=2ahUKEwis8dHYyo6DAxVbcfEDHUnFAyEQ_AUoAnoECAMQBA&biw=1360&bih=641&dpr=1#fpstate=ive&vld=cid:0426d34d,vid:r_S-J3TWDfs,st:0

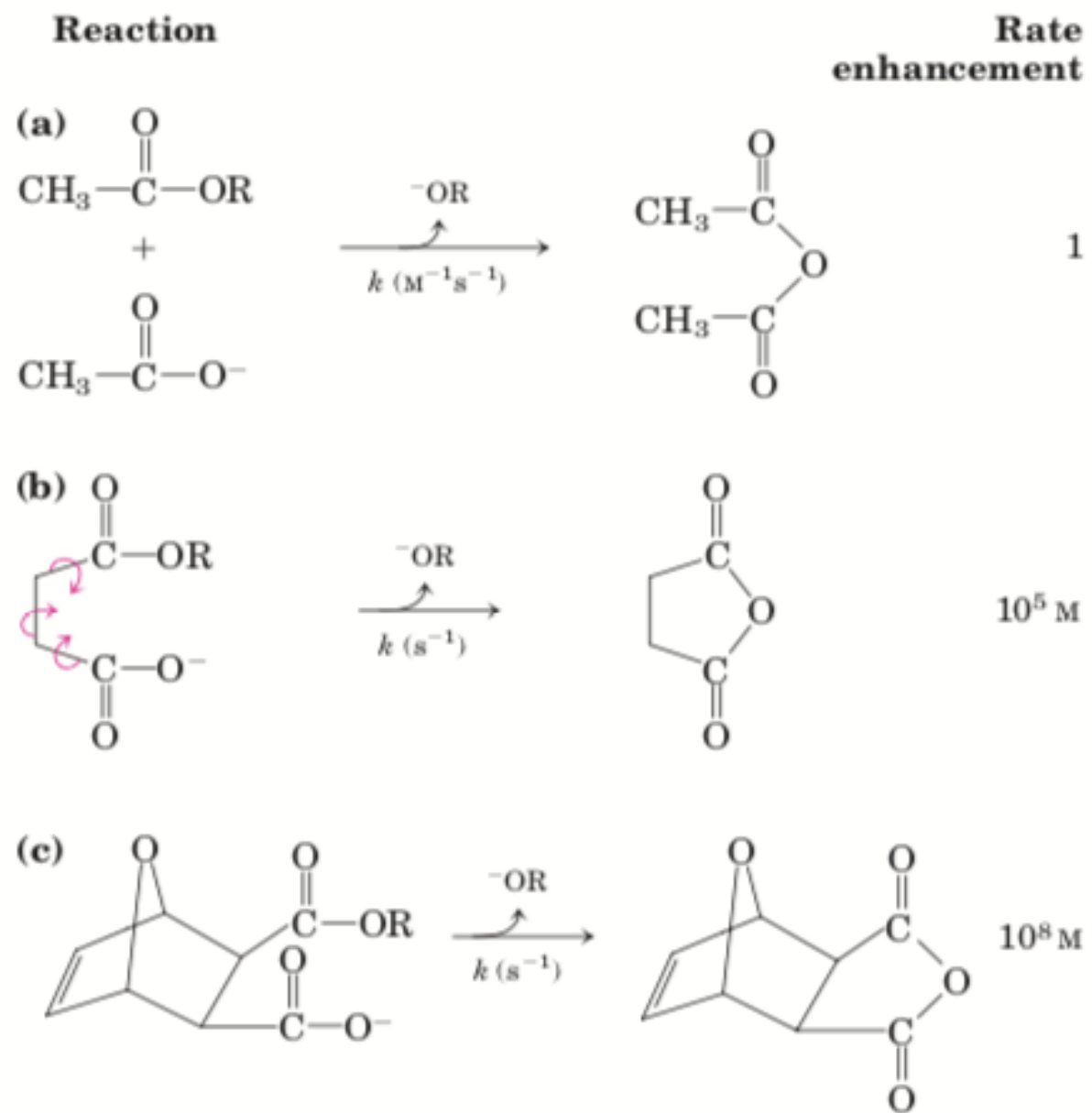


FIGURE 6-7 Rate enhancement by entropy reduction. Shown here

- Belirli Katalitik Gruplar Katalizlemeye Katkıda Bulunur

Çoğu enzimde,

ES kompleksini oluşturmak için kullanılan bağlanma enerjisi, genel katalitik mekanizmaya katkıda bulunan birçok faktörden yalnızca biridir.

Bir substrat bir enzime bağlandığında, uygun şekilde konumlandırılmış katalitik fonksiyonel gruplar,

1. **genel asit-baz katalizi,**
2. **kovalent kataliz**
3. **metal iyon katalizi**

gibi temel mekanizmalarla bağların bölünmesine ve oluşumuna yardımcı olur.

Bunlar bağlanma enerjisine dayalı mekanizmalardan farklıdır çünkü genellikle bir substratla geçici kovalent etkileşimi veya bir substrata veya substrattan grup transferini içerirler.

Genel Asit-Baz Katalizi

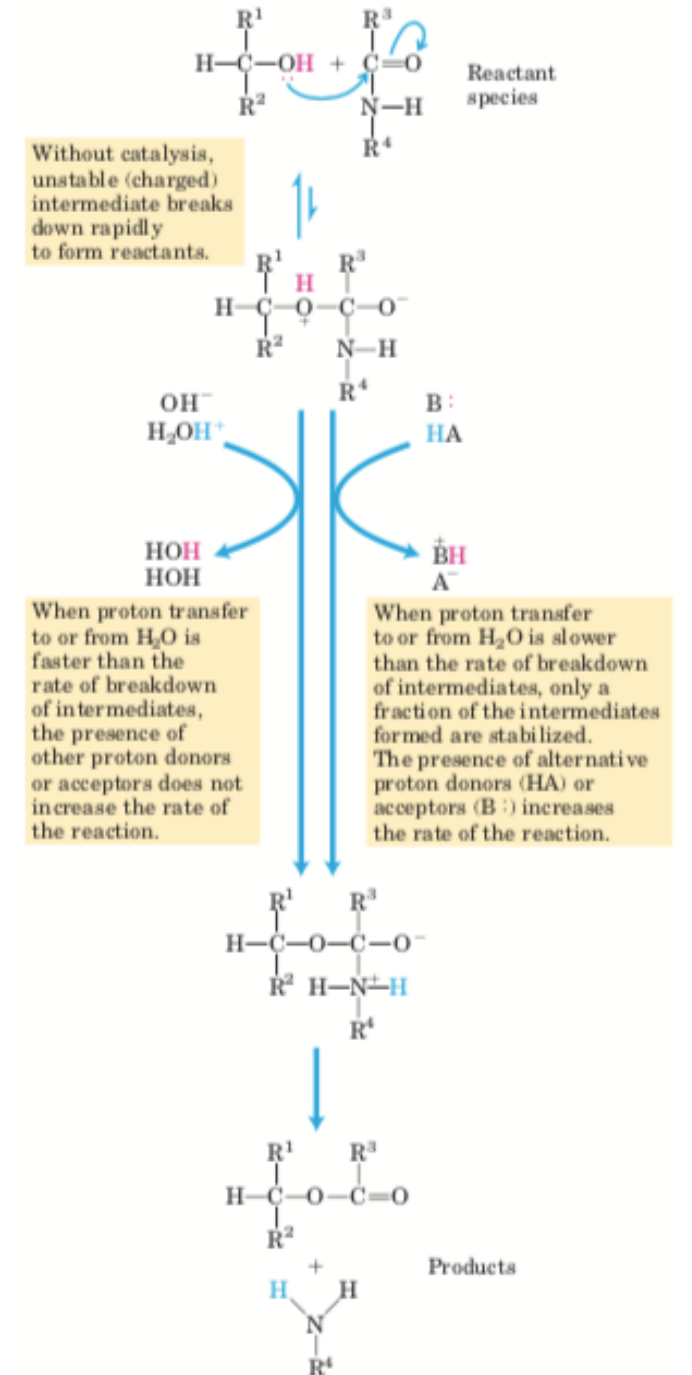
Biyokimyasal reaksiyonların çoğunda proton transferleri ya suyun bileşenlerini ya da diğer proton donörlerini ya da alıcılarını kapsayabilir.

Yalnızca suda bulunan H^+ , (H_3O^+) veya OH^- iyonlarını kullanan katalize **spesifik asit-baz katalizi** denir.

Amit –peptit- bağının kırılması esnasında kararsız ara bileşikten proton alıcısı ve amine proton sağlayıcı yoksa tepkime tekrar tepkenlere geri döner

- Uygun Donor Akseptör varlığında açilasyon ve amit bağı kırımı gerçekleşir,

- pek çok durumda su D ya da A dan biri olarak davranır



Genel Asit-Baz Katalizi

Çoğu durumda su yeterli değildir.

Genel asit-baz katalizi terimi, diğer molekül sınıflarının aracılık ettiği proton transferlerini ifade eder.

Enzimlerin aktif bölgelerinde aminoasit yan zincirlerinin iyonlaşabilen fonksiyonel grupları ve prostetik gruplar, asitler veya bazlar gibi davranarak (proton alıcısı ya da vericisi olarak) katalize katkıda bulunur.

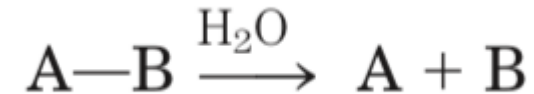
- Bu sayede 10000 kata kadar hız arttırmaları gerçekleştirilmektedir
- pH ve pKa ilişkisine göre Donor ya da A kseptör olarak davranabilir

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$\text{R}-\text{COOH}$	$\text{R}-\text{COO}^-$
Lys, Arg	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\underset{\text{H}}{\text{N}^+}}$	$\text{R}-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$
Cys	$\text{R}-\text{SH}$	$\text{R}-\text{S}^-$
His	$\text{R}-\text{C}=\text{CH}-\text{N}^+\text{H}$ $\text{HN}-\text{C}=\text{H}$	$\text{R}-\text{C}=\text{CH}-\text{N}$ $\text{HN}-\text{C}=\text{H}$
Ser	$\text{R}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{O}^-$
Tyr	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}^-$

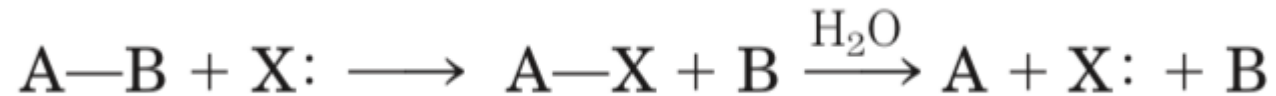
FIGURE 6-9 Amino acids in general acid-base catalysis. Many

Kovalent Kataliz

- Kovalent katalizde enzim ile substrat arasında geçici bir kovalent bağ oluşur.
- A ve B grupları arasındaki bir bağın hidroliz aşağıdaki gibidir:



Kovalent bir katalizörün (X nükleofilik grubuna sahip bir enzim) varlığında



E-S arasında geçici bir kovalent bağ oluşur

Aktivasyon enerjisinin düşürüldüğü yeni bir rxn yolu oluşturulur, rxn hızlanır

Serbest enzim sonunda salınmalıdır

- amino asit yan zincirleri
- bazı enzim kofaktörlerinin fonksiyonel grupları,

substratlarla kovalent bağların oluşumunda nükleofiller olarak görev yapabilir.

- Enzim ve substrat arasında oluşan kovalent bağ, genellikle belirli bir grup veya koenzime özgü bir şekilde, bir substratı daha sonraki reaksiyonlar için aktive edebilir.

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$\text{R}-\text{COOH}$	$\text{R}-\text{COO}^-$
Lys, Arg	$\text{R}-\overset{\text{H}}{\overset{+}{\text{N}}}\text{H}$	$\text{R}-\ddot{\text{N}}\text{H}_2$
Cys	$\text{R}-\text{SH}$	$\text{R}-\text{S}^-$
His	$\text{R}-\text{C}=\text{CH}$ $\text{HN}-\text{C}=\text{NH}^+$	$\text{R}-\text{C}=\text{CH}$ $\text{HN}-\text{C}=\text{N}:$
Ser	$\text{R}-\text{OH}$	$\text{R}-\text{O}^-$
Tyr	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{OH}$	$\text{R}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{O}^-$

Metal İyon Katalizi

- Metaller,
enzime sıkı bir şekilde bağlı olarak
substratla birlikte çözeltiden alınarak çeşitli şekillerde katalize katılabilir.
- Enzime bağlı bir metal ile bir substrat arasındaki iyonik etkileşimler,
substratın reaksiyon için yönlendirilmesine veya reaksiyon geçiş
durumlarının stabilize edilmesine yardımcı olabilir.
- Bilinen enzimlerin neredeyse üçte biri katalitik aktivite için bir veya daha
fazla metal iyonuna ihtiyaç duyar.

- Çoğu enzim, hız artışını sağlamak için çeşitli katalitik stratejilerin bir kombinasyonunu kullanır.
- Hem kovalent kataliz hem de genel asit- baz katalizinin kullanımına iyi bir örnek, kimotripsin tarafından katalize edilen reaksiyondur.
- İlk adım, enzim üzerindeki bir Ser kalıntısı ile substratın bir kısmı arasında kovalent bir bağın oluşmasıyla birlikte bir peptid bağının bölünmesidir;
- reaksiyon, enzim üzerindeki diğer grupların genel baz kataliziyle güçlendirilir

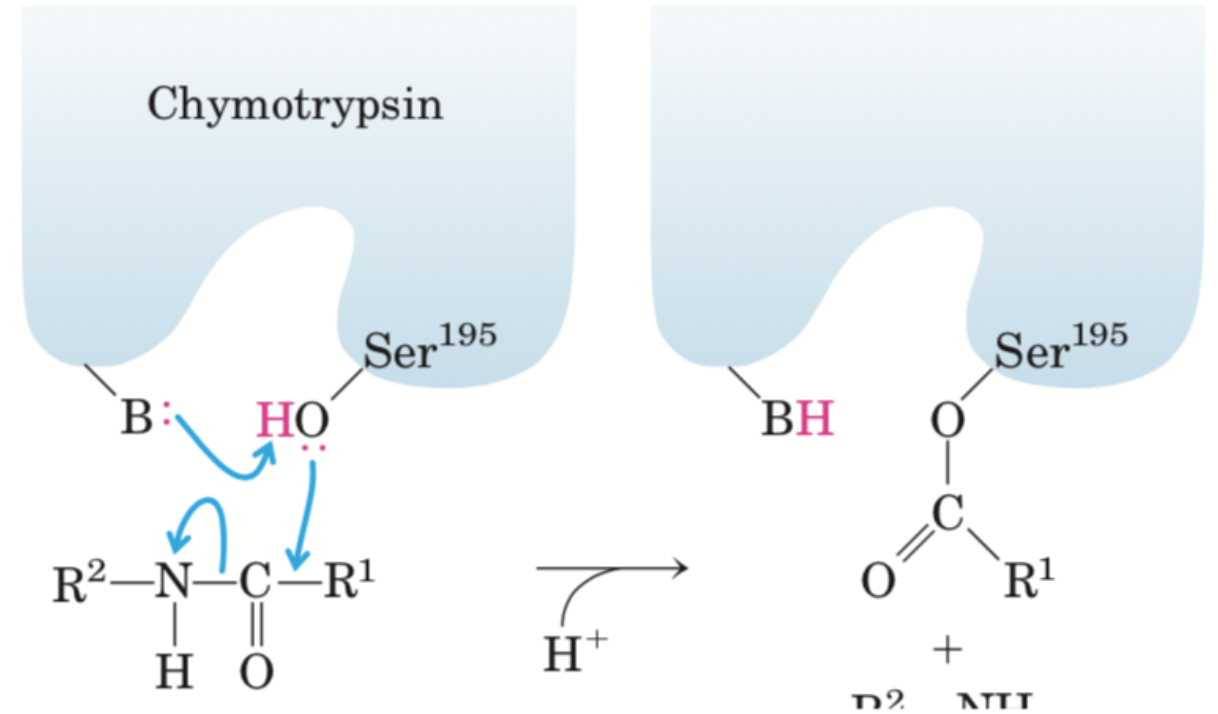


FIGURE 6-10 Covalent and general acid-base catalysis. The first step in the reaction catalyzed by chymotrypsin is the acylation step. The

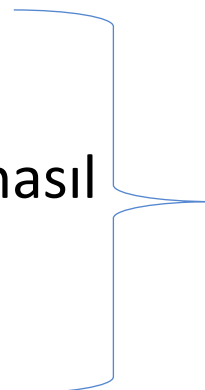
Enzim Kinetiği

Saflaştırılmış enzimlerin etki mekanizmasını incelemek için genellikle çeşitli yaklaşımlar kullanılır.

- **Proteinin üç boyutlu yapısına ilişkin bilgi,**
- **klasik protein kimyası ve**
- **Bir protein mühendisliği yöntemi olan bölgeye yönelik mutajenez**
- her bir amino asidin enzimin yapı ve fonksiyonuna olan etkisinin anlaşılmasına yardımcı olan yaklaşımlardır.

Bununla birlikte, enzim katalizli bir reaksiyonun mekanizmasını incelemeye yönelik temel yaklaşım:

- Reaksiyonun hızının ölçülmesi ve
- Deneysel parametrelerdeki değişikliklere yanıt olarak reaksiyonun nasıl değiştiğini inceleyen disiplindir



**ENZİM
KİNETİĞİ**

Substrat Konsantrasyonu Enzim Katalizli Reaksiyonların Hızını Etkiler

Enzim tarafından katalize edilen reaksiyonların hızını etkileyen anahtar faktör substrat konsantrasyonudur [S].

Bununla birlikte, substrat konsantrasyonunun etkilerinin incelenmesi, substrat ürüne dönüştürülürken [S]'nin değişmesi gerçeği nedeniyle karmaşık hale gelir.

Kinetik deneylerde basitleştirici bir yaklaşım, (V_o) başlangıç hızını (initial Velocity) ölçmektir.

V_o [S]'nin bir fonksiyonu olarak incelenebilir.

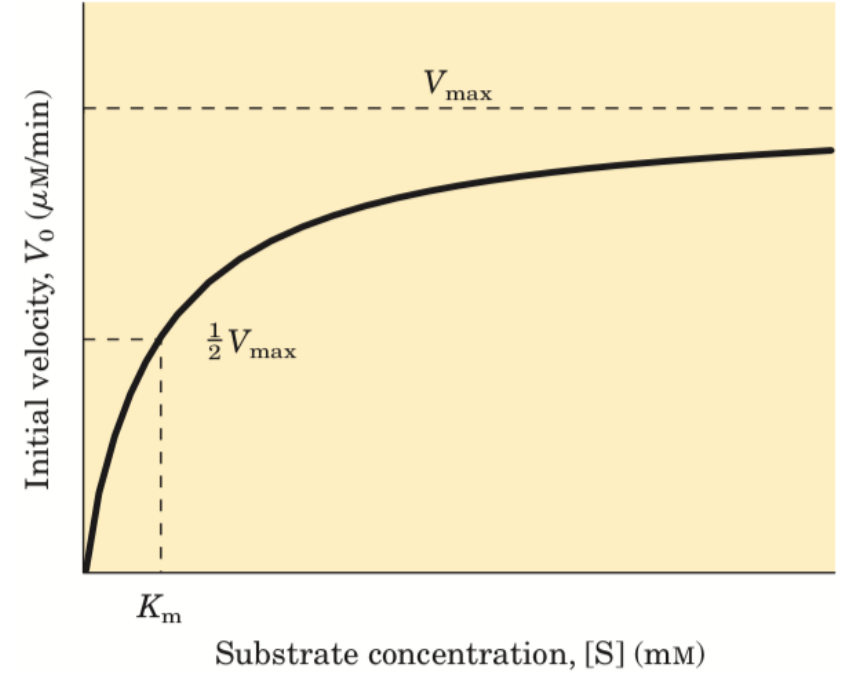


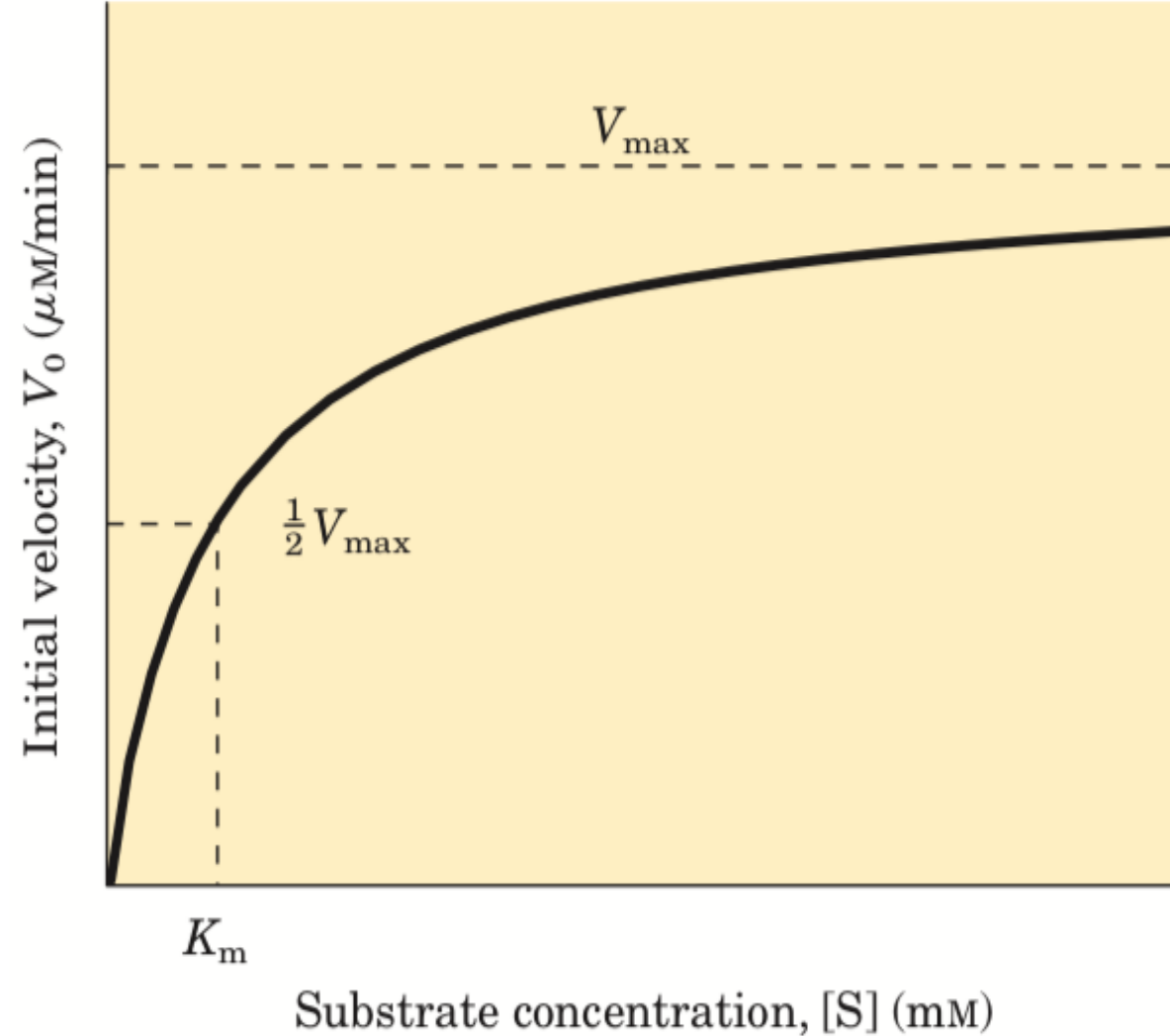
FIGURE 6-11 Effect of substrate concentration on the initial velocity of an enzyme-catalyzed reaction. V_{max} is extrapolated from the

Substrat Konsantrasyonu Enzim Katalizli Reaksiyonların Hızını Etkiler

V_o [S]'nin bir fonksiyonu olarak incelenebilir.

Enzim konsantrasyonu sabit tutulduğunda [S] değişiminin V_o üzerindeki etkisi yandaki şekilde gösterilmektedir.

- Nispeten **düşük substrat konsantrasyonlarında**; [S]'deki artışla V_o , neredeyse **doğrusal olarak artar**.
- **Daha yüksek substrat konsantrasyonlarında**, [S]'deki artışlara yanıt olarak V_o giderek daha **küçük miktarlarda artar**.
- Son olarak, [S] arttıkça V_o 'daki artışların yok olacak kadar küçük olduğu bir noktaya ulaşılır.
- Bu plato maksimum hıza (V_{max}) yakındır.



- Tipik bir enzim için substrat konsantrasyonu arttıkça V_o (V_i), maksimum Hız (V_{max}) değerine ulaşana kadar artar .

- Substrat konsantrasyonundaki daha fazla artış V_o 'yi daha fazla arttırmazsa, enzimin substrat ile "**doymuş**" olduğu söylenir.
- Aktivite substrat konsantrasyon uilişkisi hiperbolik bir eğri oluşturmaktadır.

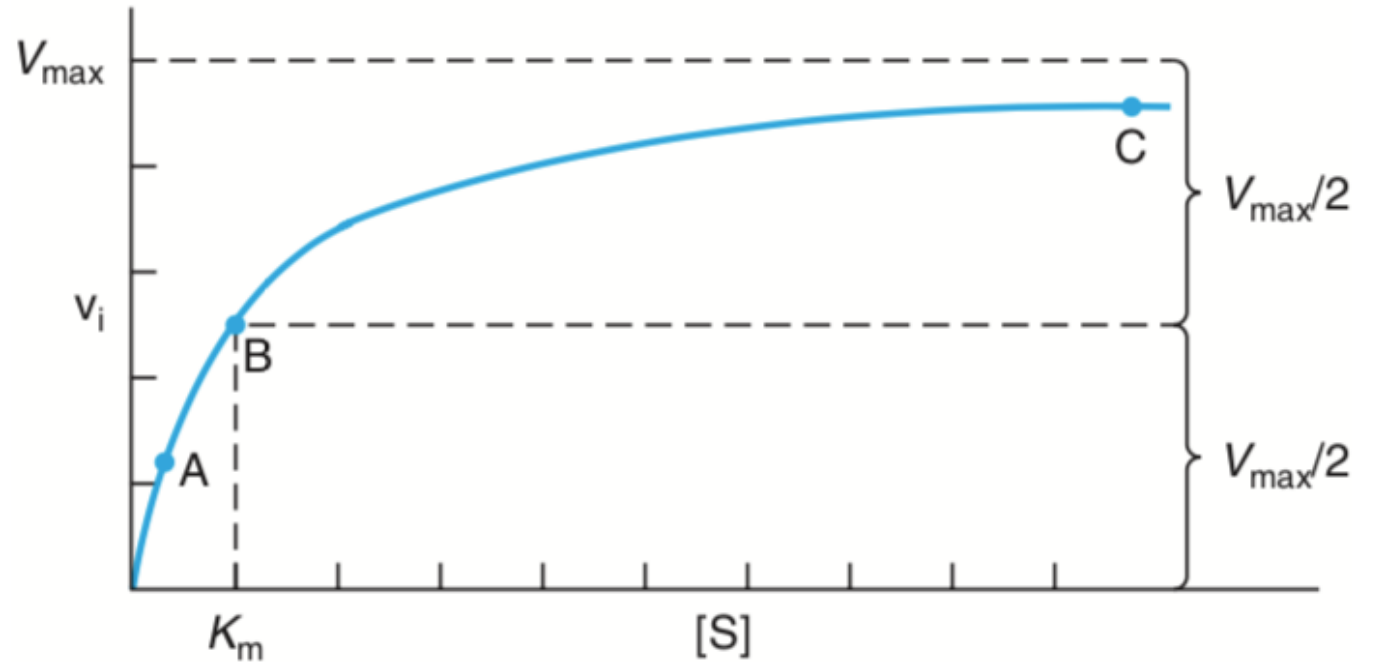
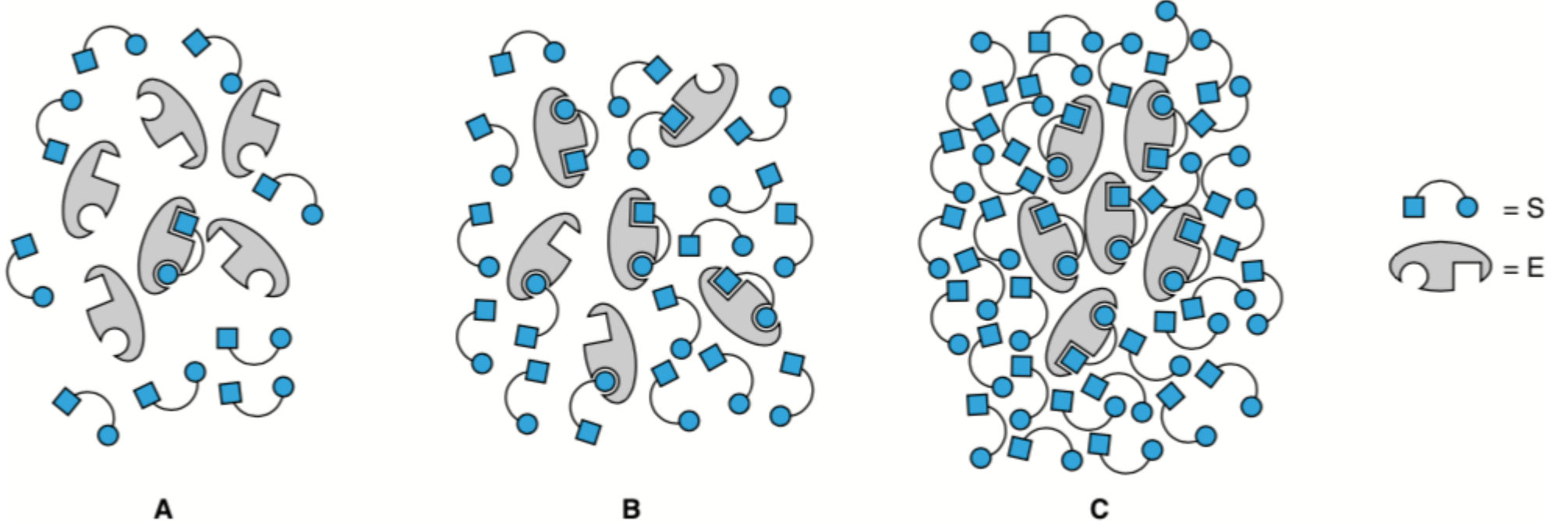


Figure 8–3. Effect of substrate concentration on the initial velocity of an enzyme-catalyzed reaction.

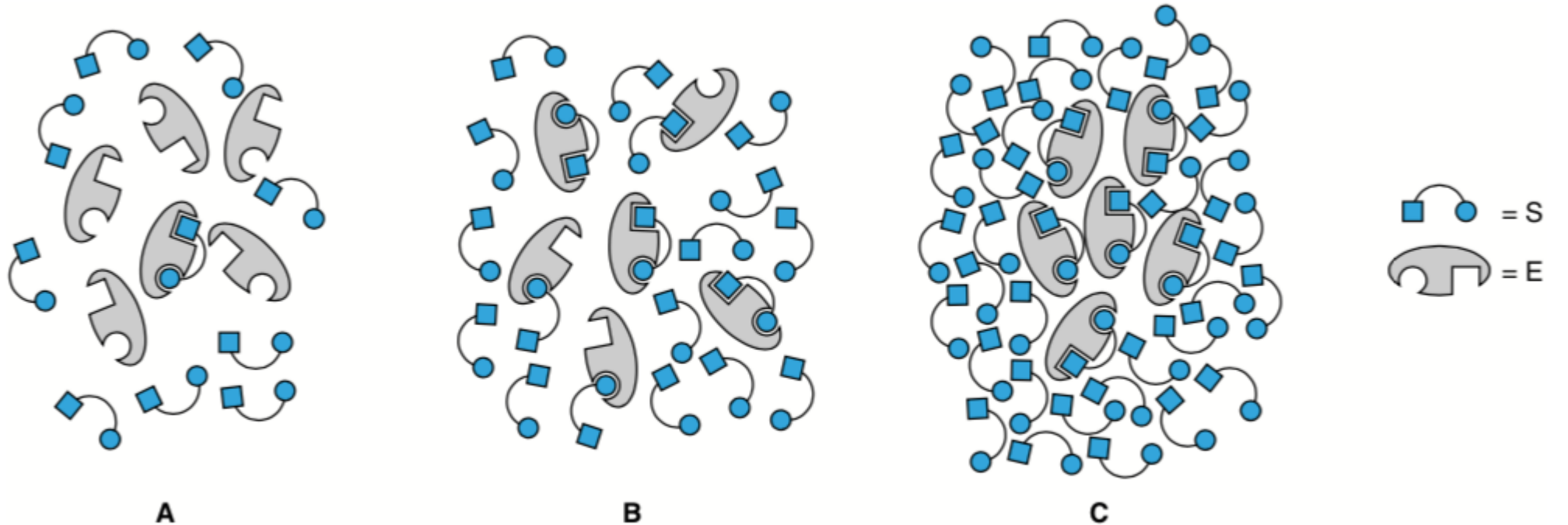
Herhangi bir anda yalnızca enzimle bir ES kompleksi oluşturmuş olan substrat molekülleri ürüne dönüştürülebilir.

Enzim-substrat kompleksinin oluşumu için denge sabiti sonsuz derecede büyük değildir. Bu nedenle substrat fazla miktarda mevcut olsa bile (Şekil A ve B noktaları), enzimin yalnızca bir kısmı bir ES kompleksi oluşturabilir. Dolayısıyla A veya B durumlarında $[S]$ 'nin arttırılması veya azaltılması, V_i 'de karşılık gelen bir değişiklikle birlikte ES komplekslerinin sayısını da arttıracak veya azaltacaktır.



C durumunda, esas olarak enzimin tamamı ES kompleksi oluşturmuştur. ES'yi oluşturacak serbest enzim kalmadığından, [S]'deki daha fazla artış reaksiyon hızını arttıramaz.

Bu doyum koşulları altında V_i yalnızca serbest enzimin daha fazla substratla birleşecek şekilde salınma hızına bağlıdır ve dolayısıyla bununla sınırlıdır.



Michaelis-Menten Denklemi

- Leonor Michaelis- Maud Menten (1913) denklemi , reaksiyon hızı V_i ile substrat konsantrasyonu $[S]$ arasındaki ilişkiyi matematiksel terimlerle göstermektedir.

$$V_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

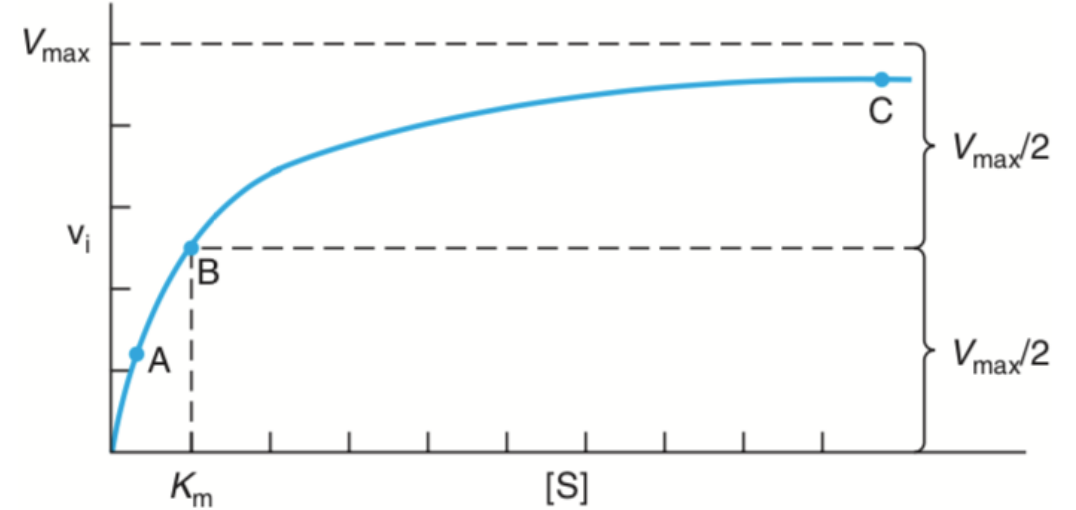


Figure 8–3. Effect of substrate concentration on the initial velocity of an enzyme-catalyzed reaction.

Michaelis sabiti **K_m**, V_i'nin belirli bir enzim konsantrasyonunda elde edilebilecek **maksimum hızın (V_{max}/2) yarısını veren substrat konsantrasyonudur.**

$$V_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

K_m bu nedenle substrat konsantrasyonunun birimine sahiptir.

Başlangıç reaksiyon hızının [S] ve K_m'ye bağımlılığı, Michaelis-Menten denkleminin üç koşul altında değerlendirilmesiyle gösterilebilir.

(1) **[S] < K_m ise (A);**

$$K_m + [S] \approx K_m$$

K_m + [S]'nin K_m ile değiştirilmesiyle denklem şu şekilde yazılabilir:

$$V_1 = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad V_1 \approx \frac{V_{\max}[S]}{K_m} \approx \left(\frac{V_{\max}}{K_m} \right) [S]$$



A

V_{max} ve K_m'nin her ikisi de sabit olduğundan oranları sabittir.

[S], K_m'nin oldukça altında olduğunda $v_i \propto k[S]$ olur.

Bu nedenle başlangıç reaksiyon hızı [S] ile doğru orantılıdır.

(2) $[S] > K_m$ ise; C durumu

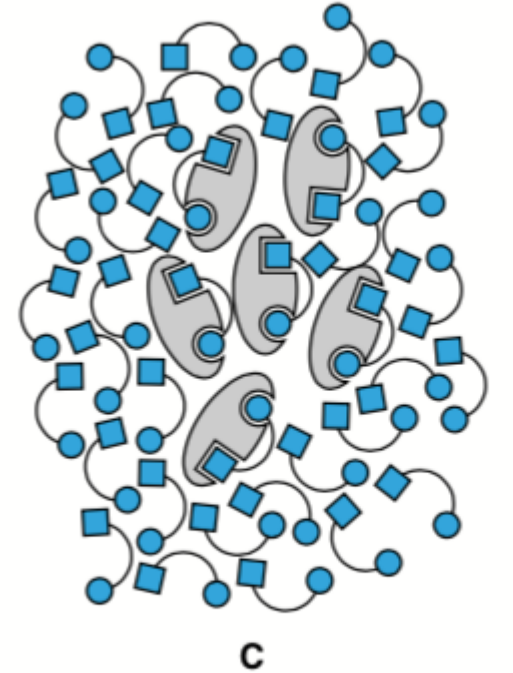
$K_m + [S]$ terimi esasen $[S]$ 'ye eşittir.

$K_m + [S]$ 'nin $[S]$ ile değiştirilmesi
değiştirilmesiyle denklem şu şekilde yazılabilir:

$$v_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]} \quad v_i \approx \frac{V_{\max}[S]}{[S]} \approx V_{\max}$$

$[S]$ K_m 'yi büyük ölçüde aştığında, reaksiyon hızı maksimumdur ($V_{\max}$) ve substrat konsantrasyonunda ki daha fazla artıştan etkilenmez.

$$v_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$



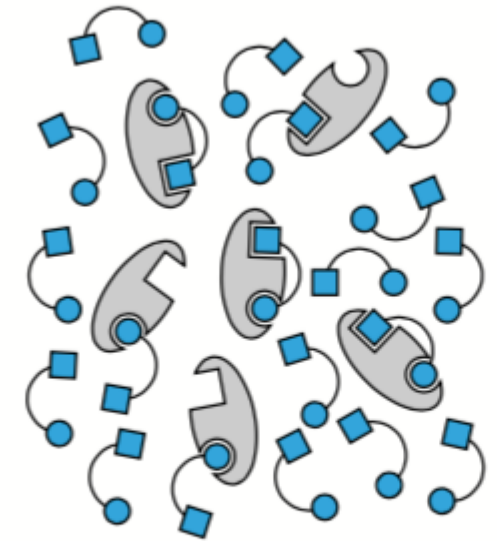
(3) $[S] = K_m$ olduğunda , B durumu

- $[S]$ K_m 'ye eşit olduğunda başlangıç hızı maksimum hızın yarısıdır

$$v_i = \frac{V_{\max}[S]}{K_m + [S]}$$

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

K_m deneysel olarak belirlenebilir ve maksimum hızın yarısını veren substrat konsantrasyonudur.



B

K_m ve V_{max}'ı Belirlemek İçin Michaelis-Menten Denkleminin Doğrusal Bir Formu Kullanılır

V_{max}'ın sayısal değerinin doğrudan ölçümü ve dolayısıyla K_m'nin hesaplanması, doyumluk koşullarını elde etmek için çoğunlukla pratik olmayan yüksek substrat konsantrasyonla gerektirir.

Michaelis-Menten denkleminin doğrusal bir formu olan **Lineweaver-Burk** denklemi bu zorluğun üstesinden gelir

$$\frac{1}{v_i} = \left(\frac{K_m}{V_{max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}}$$

V_{max} ve K_m'nin, substratın doyum konsantrasyonlarından daha düşük konsantrasyonlarda elde edilen başlangıç hız verilerinden tahmin edilmesine izin verir.

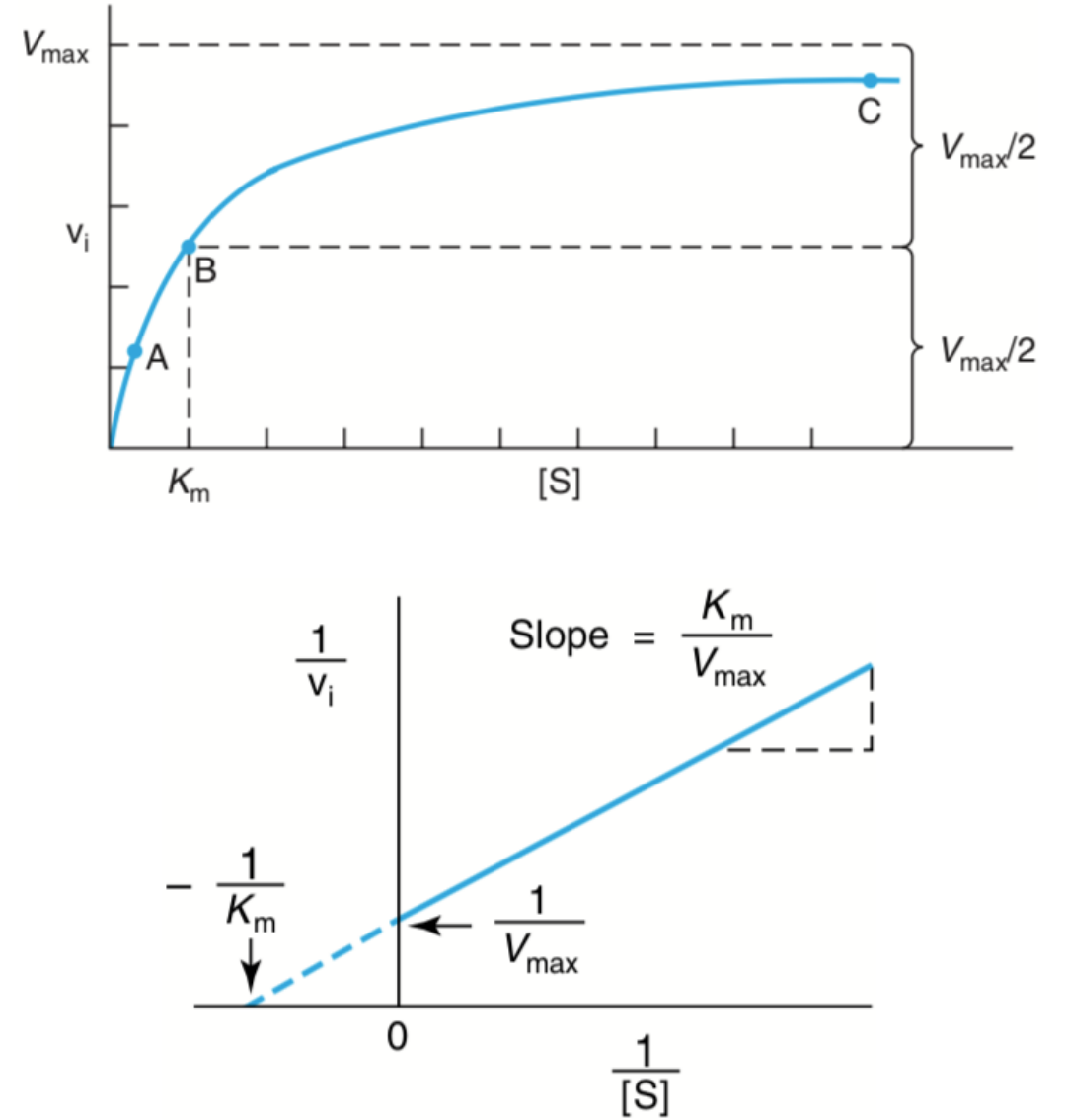


Figure 8-5. Double reciprocal or Lineweaver-Burk plot of 1/v_i versus 1/[S] used to evaluate K_m and V_{max}.