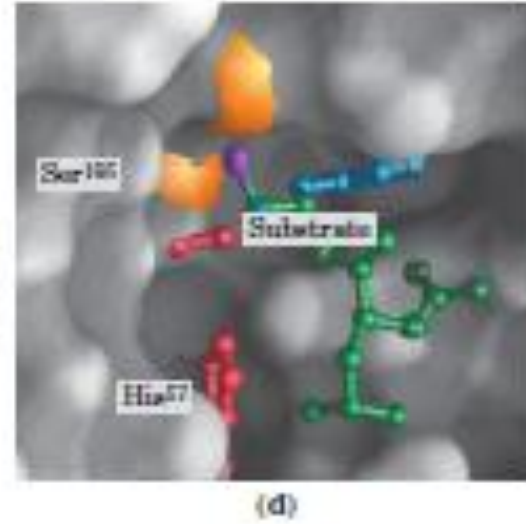
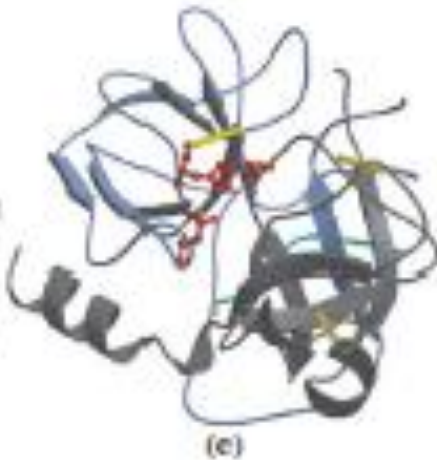
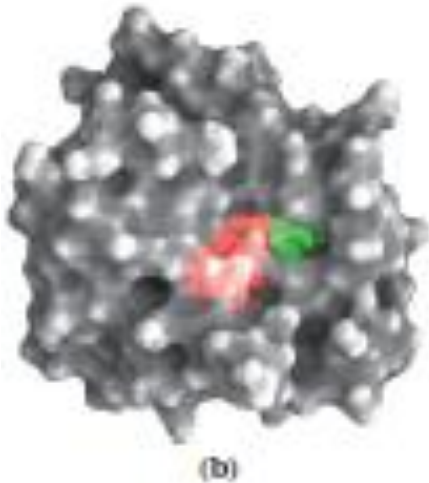


ENZİMLER

- Yaşamın devamı için iki temel koşuldan ilki organizmanın üremesi iken diğeri ise organizmadaki kimyasal tepkimeleri katalizleme özelliğidir.
- Şekerin oksijen varlığında CO₂ ve H₂O ya dönüşümü normalde ekzergonik bir süreçtir..
- Ancak enzim yoksa bir torba şekeri oksijen varlığında yıllarca saklayabilirsiniz
 - Termodinamik olarak istemli ancak kinetik limitasyona tabi bir süreç
 - Katalizsiz yaşamda tepkimeler uygun zaman aralığında meydana gelmez

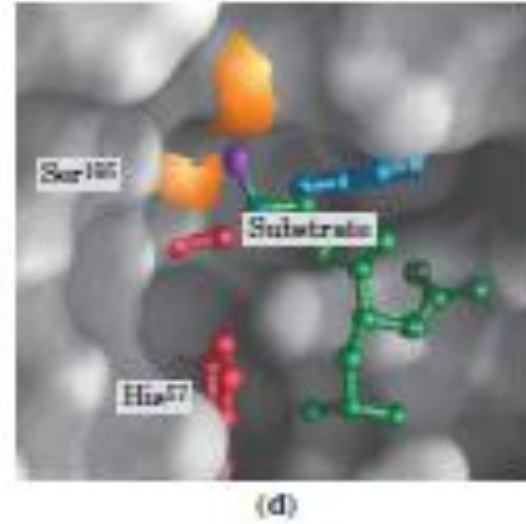
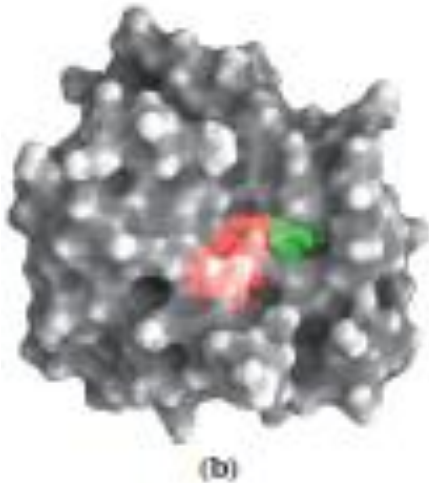
Protein sindiriminde görevli kemotripsin yapısı ve substratla etkileşimi



ENZİMLER

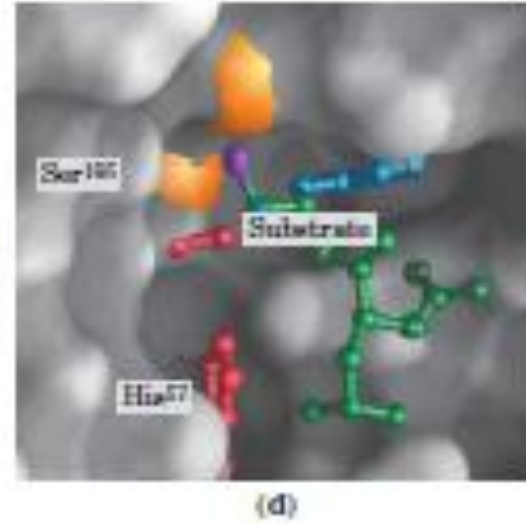
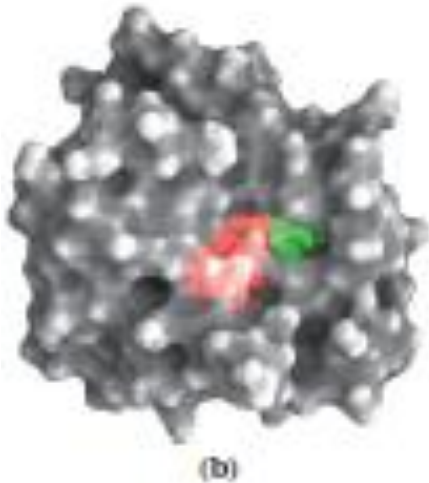
•Biyolojik sistemlerdeki katalizörler olan enzimler, pekçok durumda inorganik ya da sentetik katalizörlere kıyasla olağanüstü katalitik güce sahiptirler ve sentetiklere göre

- Yüksek özgüllük
- Müthiş hızlandırılmış reaksiyonlar
- Sıvı fazda iş görebilme gibi işlevlere sahip
- Sıvı faz neden önemli?
 - Hayat sıvı fazda
 - Sıvı fazda hız daha fazla



ENZİMLER

- Enzimlerin yokluğu ve eksik çalışması ve aşırı çalışması pekçok hastalığın temel nedenidir
 - Krabbe hastalığı myelin kaplamayı üreten enzim yetersiz, sinir iletim bozukluğu...
- Bu nedenlerden dolayı enzim seviyelerinin ölçümü hastalık tanısı açısından çok önemlidir
- Tıp alanı dışında, kimya mühendisliği, yiyecek ve ziraatte de önemli uygulamaları mevcuttur



ENZİMLER-Tarih

- İlk araştırmalar midenin salgılarıyla etin sindirimi üzerinde 1700 lerin sonlarında
- Ardından alkol üretiminde etkin fermentler çalışılmıştır
- 1926 da Samner üreaz kristalinin elde edilmesi tamamen protein yapıda olduğunu gösterilmesini ve uzun süre tüm enzimlerin protein yapıda olduğu kanısına yol açtı
- Bütün enzimler tamamen protein yapısında mıdır?
- Katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu hariç evet
- Doğal konformasyonları ve bunun sağlamlığı katalitik işlevde şart
 - Ne durumda bozuluyordu?
- Denatüre olduklarında ya da tamamen AA lerine parçalanırlarsa Katalitik aktivite kaybolur hidroliz
- 12 kDa ile 1000 kDa arasında moleköl ağırlığa sahip
- İşlevde kritik olan Kofaktör ve Koenzim?



James Sumner, 1887-1955

ENZİMLER

• Bazı enzimlerde AA kalıntıları işlev için yeterli iken bazıları bir yada birkaç metal iyonuna gereksinir. Bu iyonlar kofaktör olarak adlandırılır.

• Koenzimler ise yine enzimlere eşlik eden kompleks organik ya da metalloorganik moleküllerdir.

TABLE 6–1

Some Inorganic Ions That Serve as Cofactors for Enzymes

Ions	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

TABLE 6–2

Some Coenzymes That Serve as Transient Carriers of Specific Atoms or Functional Groups

Coenzyme	Examples of chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
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 ($:\text{H}^-$)	Nicotinic acid (niacin)
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B_6)
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamine (vitamin B_1)

ENZİMLERİN SINIFLANDIRMASI

• Pekçok enzim aktivitesini tarif eden kelimeye ya da substratın adına –az eki getirilerek isimlendirilir

- DNA polimeraz nükleotitlerin polimerleşerek DNA oluşturmasını
- Pepsin ya da tripsin gibi bazı enzimler herhangi birsey belirtmez
- Bazı durumlarda aynı enzima ait iki isim olabilir
 - Hem yıkım hem redoks içerenleri hidrolaz ve oksidoredüktaz olarak adlandırılabilir

- Yeni keşfedilen enzimlerin isimlerinde karışıklık olmaması için belli standartlar getirilmiştir
- Aşağıda belirtilen sınıflar baz alınarak isimler oluşturulmaktadır

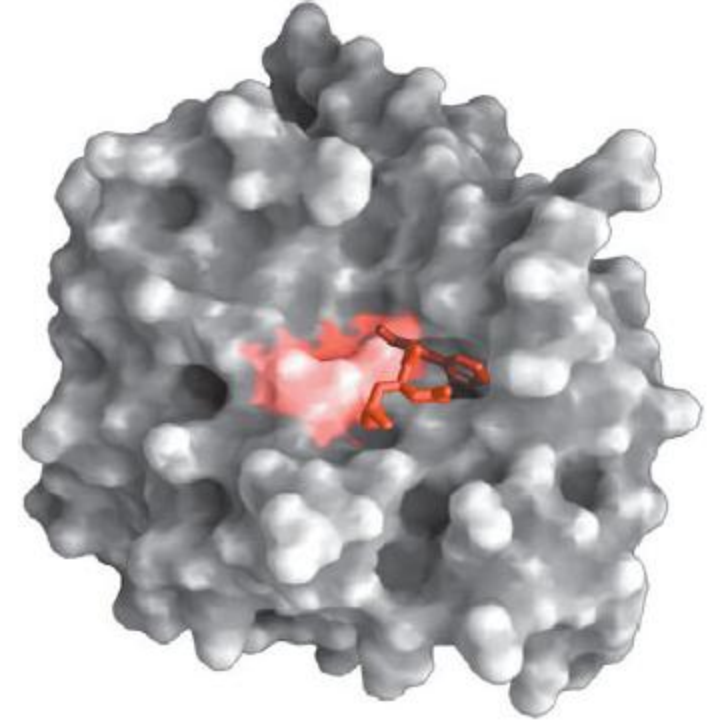
TABLE 6–3

International Classification of Enzymes

Class no.	Class name	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 cleavage of ATP or similar cofactor

ENZİMLERİN KİNETİĞİ

- Katalitik özellikleri incelemek için enzimlerin ne yaptığı ve nasıl yaptığı incelemek gerekir
 - Ne yaptığını anlamak için kinetik kavramları hatırlamamız gerekmektedir
 - Daha önce canlı sistemlerde zaman kısıtından dolayı katalizlenmenin şart olduğunu gördük
 - Örn sindirim, sinir uyarılarının gönderilmesi...
- Enzimle katalizlenen bir tepkimenin ayırıcı özelliği aktif –katalitik- yer denilen enzim üzerinde sınırlandırılmış bir bölge içinde meydana gelmesidir
 - İnorganik katalizörlerde aktif bölge kavramı genellikle yok tüm yüzeyde rks.
- Aktif bölge yüzeyi, yan grupları substrata bağlanan ve bunun kimyasal transformasyonunu katalizleyen AA kalıntılarından oluşur



Kimotripsin aktif yeri

ENZİMLERİN KİNETİĞİ



- ES ve EP enzimin substrat ve ürünle oluşturduğu geçiş kompleksleridir, sistemden izole edilebilirler

- Enzim girdiği gibi çıktığından denge $K'_{eq} = \frac{[P]}{[S]}$ $S \xrightleftharpoons{E} P$

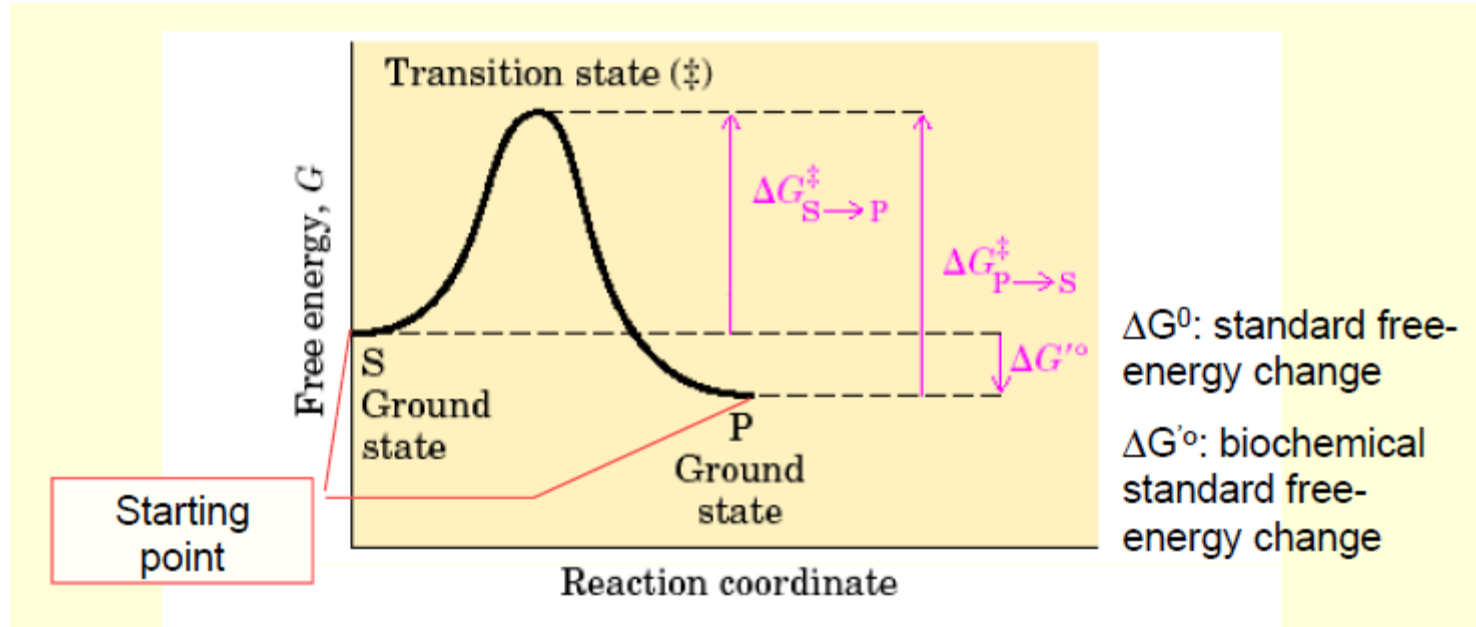
- Enzim (katalizörler) denge denkleminde yer almazlar

- Katalizörlerin işlevi tepkimeyi her iki yönde de hızlandırarak dengeye daha kısa sürede ulaşılmasını sağlamaktır.

- Sadece ileri yönde katalizlese denge sabitini büyüteceğinden denge eşitliğinde yer alırdı

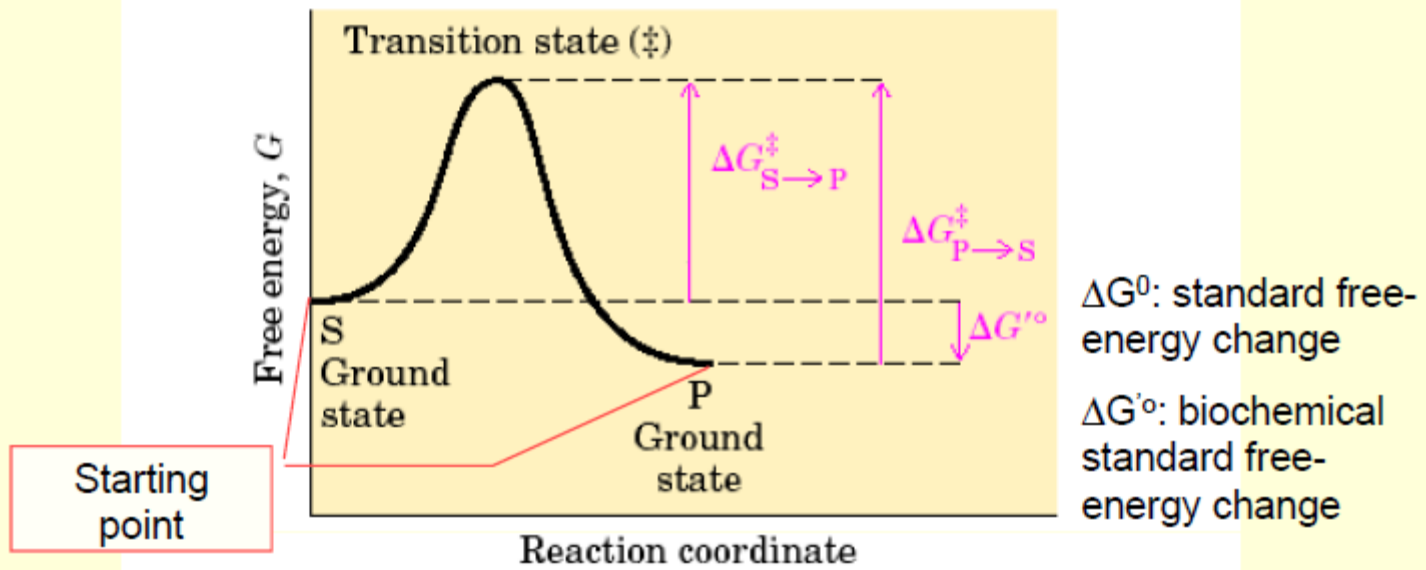
ENZİMLERİN KİNETİĞİ

- $S \leftrightarrow P$ dengesinde hem ileri hem de geri tepkimeler için başlama noktası, zemin durumu olarak adlandırılır



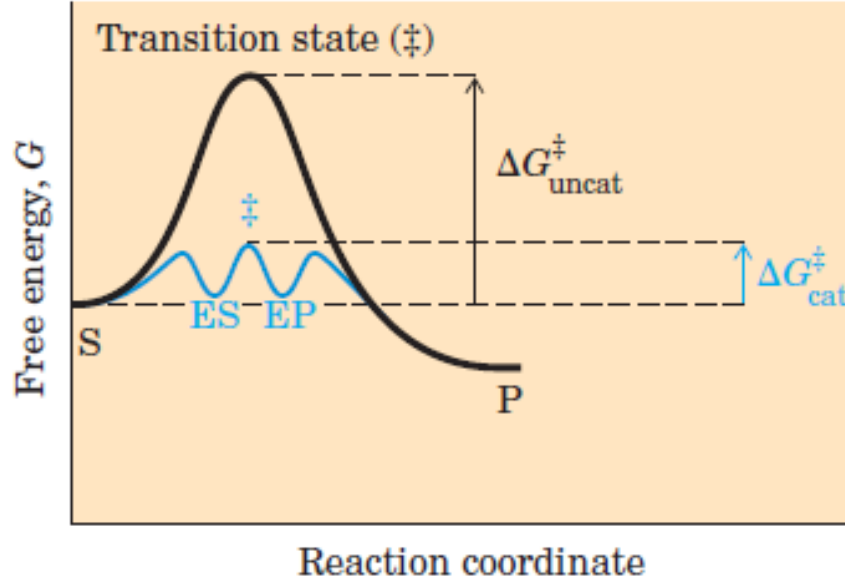
- Girdilerden ürünlere ve Ürünlerden girdilere olan aktivasyon enerjileri pozitif değerler
- Biyokimyasal standart serbest enerji farkı ($\Delta G'^{\circ}$) pH = 7 de standart durumlardaki (1 atm ve 298 K) serbest enerji farkıdır
- Substrattan ürün (P) oluşurken ki $\Delta G'^{\circ}$ negatif bir değere sahip
 - Denge, ürünleri tercih eder ancak ölçülebilecek bir hızda ürün oluşacağı anlamına gelir mi?

ENZİMLERİN KİNETİĞİ



- Geçiş durumu, enerji eğrisinin tepe noktası yani S veya P durumuna dönüşme olasılığının eşit olduğu bir noktadır
- Tepkimenin hızını
 - Zemin durumları ile geçiş durumu arasındaki serbest enerji farkı, yani aktivasyon enerjisi yansıtır.
 - Yüksek aktivasyon enerjisi yavaş tepkime anlamına gelir
 - Hızı belirleyen diğer faktör de sıcaklıktır. Bu durumda ne olur? aktivasyon enerjisi ?
 - Sıcaklık yeterli enerjiye sahip moleküllerin sayısını artırır

ENZİMLERİN KİNETİĞİ



- Katalizörler reaksiyon hızını sıcaklık gibi değil ancak aktivasyon enerjisini düşürerek arttırırlar
- Aktivasyon enerjisi hem $S \rightarrow P$ yönünde hem de $P \rightarrow S$ yönünde katalizlenmemiş tepkimeye göre düşürülmüştür.
- $S \leftarrow \rightarrow P$ tepkimesi enzimlerce katalizlendiğinde ES ve EP arabileşiklerdir ve diyagramdaki vadiler
- Birden fazla aşamada gerçekleşen reaksiyonlarda en yavaş (en yüksek aktivasyon enerjili) olan hız sınırlandırıcı basamaktır.
- Enzimler her tepkimeyi değil (kompleks makromoleküller alttaşlarına kendiliğinden ayrılıyadı yaşam varolmazdı, bunlarda aktivasyon enerjisi çok yüksek) sadece yaşam için gereklileri düşürür

ENZİMLERİN KİNETİĞİ

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

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

- Negatif standart serbest enerji farkları tercih edilen dengeyi (substratın tamamen ürüne döndüğü) gösterir ve azaldıkça denge sabiti büyür, tepkime hızı ?
- Hızlı olacağı anlamına gelmez

• $S \leftrightarrow P$ denge tepkimesinin hızı genel olarak

• $V = k [S]$, V tepkime hızı, >0 , birim zamanda harcanan S ya da oluşan P derişimi, k hız sabiti

• Bu şekilde ifade edilen tepkime S e göre
Ve toplamda birinci dereceden tepkimedir
Tepkime dereceleri kesirli sayılar bile olabilir

• Tepkimelerin hızı her zaman M/s ile ifade edilir
Bu durumda birinci dereceden tepkimenin hız
Sabitinin birimi s^{-1}

$V = k \cdot [S_1][S_2]$, toplamda kaçınıcı dereceden
Ve hız sabitinin birimi nedir?

TABLE 6-4	Relationship between K'_{eq} and $\Delta G'^{\circ}$
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

ENZİMLERİN KİNETİĞİ

- Katalizörler reaksiyon hızını sıcaklık gibi değil ancak aktivasyon enerjisini düşürerek arttırırlar
- O zaman hız sabiti ile aktivasyon enerjisi arasında bir ilinti bulunmalıdır
- Bu ilinti üssel dir ve aktivasyon enerjisi arttıkça hız sabiti azalmalıdır

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

• $k = A \cdot e^{-\Delta G^\ddagger/RT}$ arhenius denklemi genelleştirilmiş ifade, aslında A içinde geometrik konfigürasyon kolaylığı da gizli, T üssel daha etkin

- Daha düşük aktivasyon enerjisi,
→daha yüksek hız sabitleri
- Enzimler bu işi olağanüstü şekilde yerine getirirler ve büyük özgüllükle
- 100 katrilyon kata kadar hız arttırımı
- Yaptıkları iş aktivasyon enerjisini düşürmek
- Peki nasıl yapıyorlar?

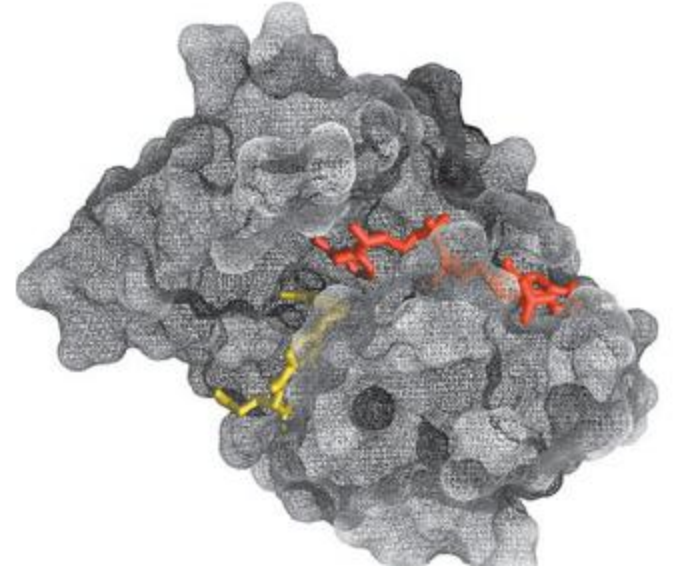
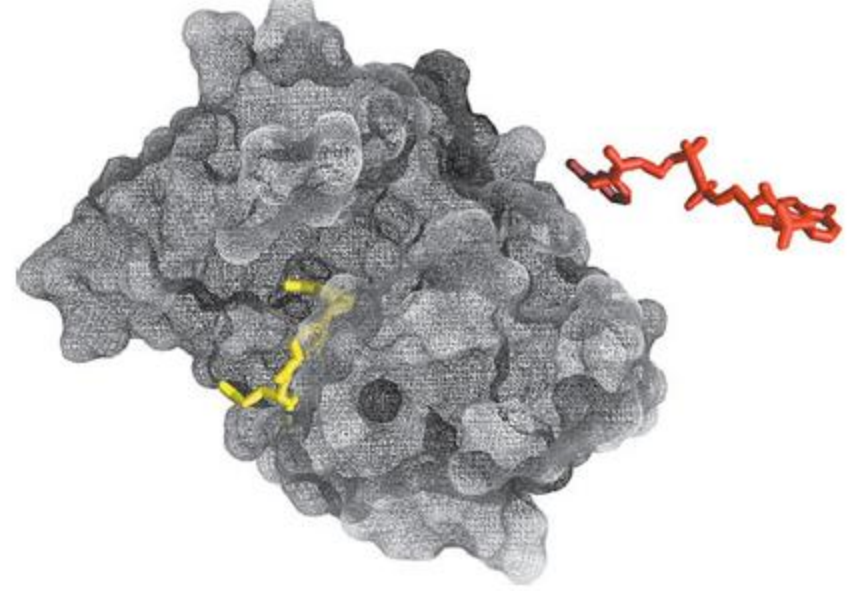
TABLE 6-5	Some Rate Enhancements Produced by Enzymes
Cyclophilin	10^5
Carbonic anhydrase	10^7
Triose phosphate isomerase	10^9
Carboxypeptidase A	10^{11}
Phosphoglucomutase	10^{12}
Succinyl-CoA transferase	10^{13}
Urease	10^{14}
Orotidine monophosphate decarboxylase	10^{17}

ENZİMLERİN KATALİTİK GÜCÜ

- Enzim kataliz tepkimeleri süresince kovalent bağlar yeniden düzenlenir
 - Bazı gruplar substrattan enzime geçici olarak aktarılabilir
 - Bunun aktivasyon enerji düşmesiyle ne alakası var?
 - Kurulan bağlar yıkılanlardan daha sağlamsa enerji (serbest enerji açığa çıkar), bu enerji aktivasyon bariyerini düşürebilir
- Temel etmen ise kovalent olmayan bağlardan kaynaklanır
- Enzimatik tepkimeleri enzimatik olmayan katalitik tepkimelerden (inorganik-sentetik) temel etmen bir ES kompleksinin oluşumudur
 - Bu komplekste enzim ile substrat arasında yapıyı sabitleyen hidrojen, hidrofobik-iyonik etkileşimler gibi bazı zayıf etkileşimler bulunur
 - Geçiş durumunda bu etkileşimler maksimum
 - Bunlardan kaynaklanan enerjiye bağlanma serbest enerjisi ΔG_B denir
 - Katalizin temel nedeni çoklu zayıf bağların oluşumu esnasında salınan bağlanma enerjisiyle aktivasyon enerjisinin ciddi şekilde düşmesidir.

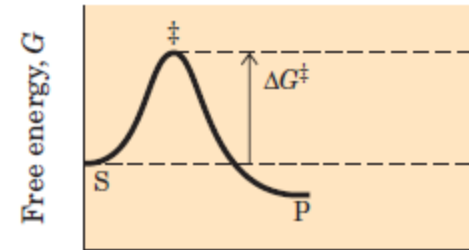
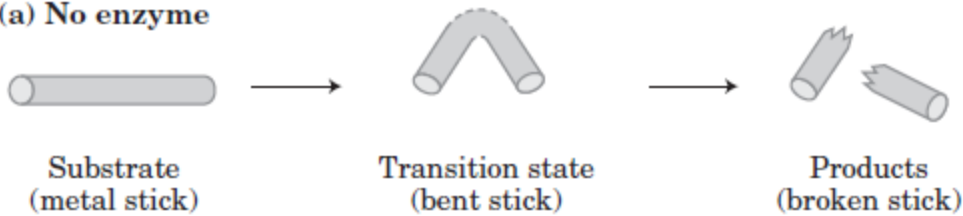
ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

- Enzim bir tepkime için aktivasyon enerjisini düşürmede bağlanma enerjisini nasıl kullanır?
- Bunu açıklayabilmek için liseden beri gördüğümüz anahtar-kilit modelini sorgulamamız gerekir
- Enzimatik katalizlere uygulandığında bu model yanıltıcı olabilir?

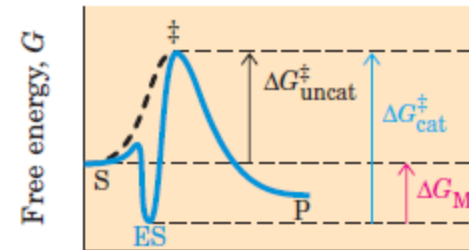
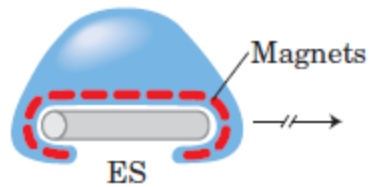


ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

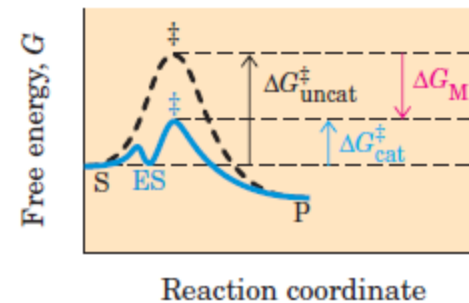
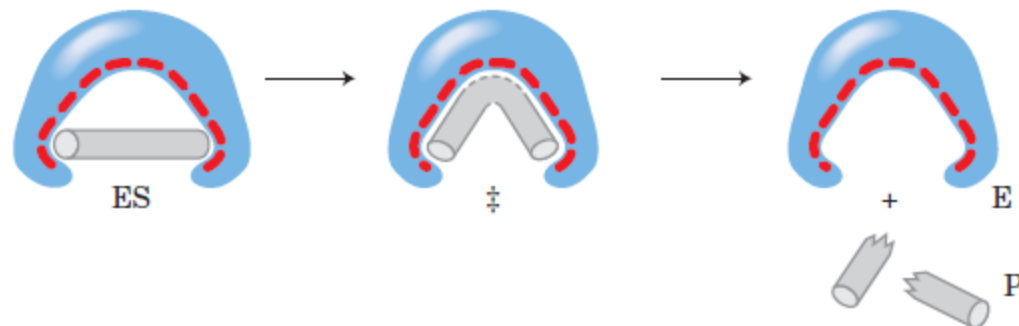
(a) No enzyme



(b) Enzyme complementary to substrate



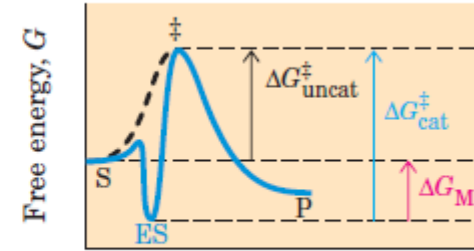
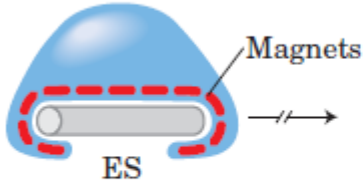
(c) Enzyme complementary to transition state



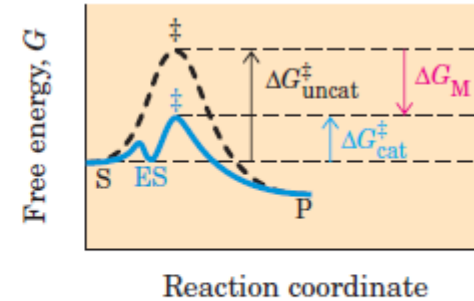
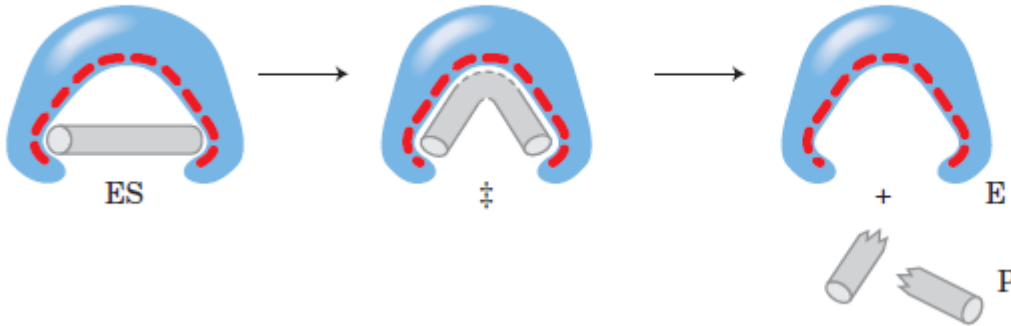
- Substrat çubuk, ürün kırılmış çubuk, geçiş hali ve aktivasyon enj

ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

(b) Enzyme complementary to substrate



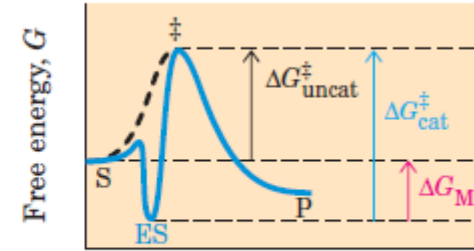
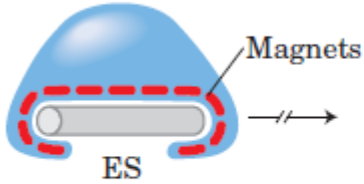
(c) Enzyme complementary to transition state



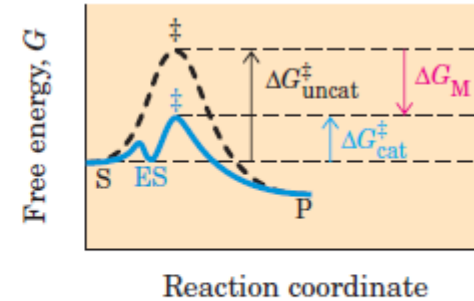
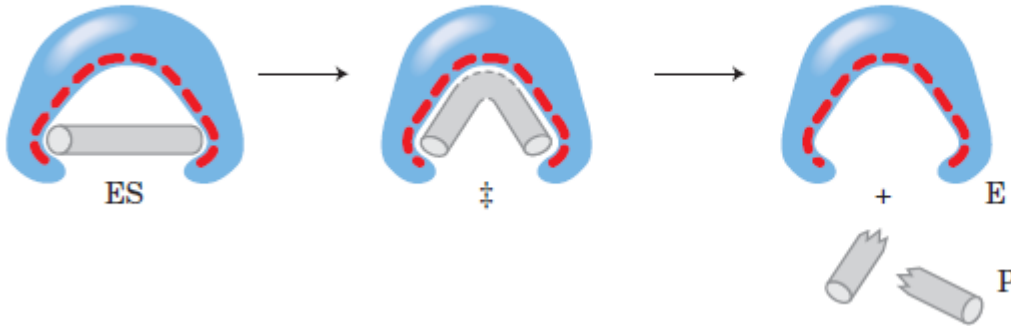
- Burdaki manyetik etkileşimler (gerçekteki zayıf etkileşimler) ES yi kararlı hale getirmek için (çukur) kullanılmıştır.
- Tepkime için çubuk bükülmelidir ancak kararlı hale gelmiş ES kompleksi çubuğu bükmek için gereken yüksek aktivasyon enerjisini sağlayamaz, kullanabileceği bütün kaynağı kararlı hale gelirken bitirmiştir.
- Aktivasyon enerjisi öncekine göre daha da artmıştır, neden?
- Tepkime gerçekleşmez (b)

ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

(b) Enzyme complementary to substrate



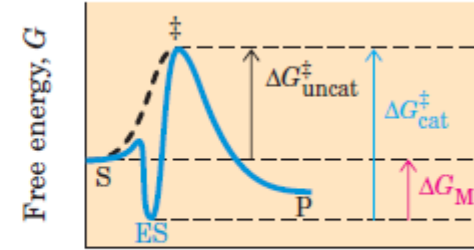
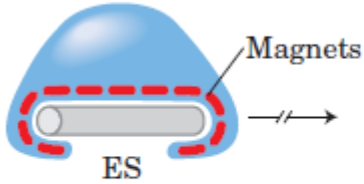
(c) Enzyme complementary to transition state



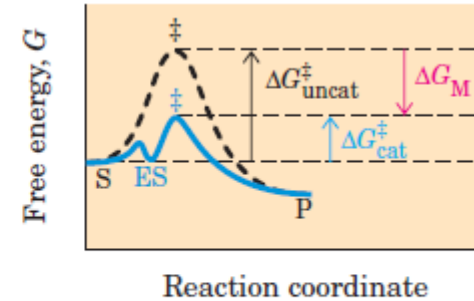
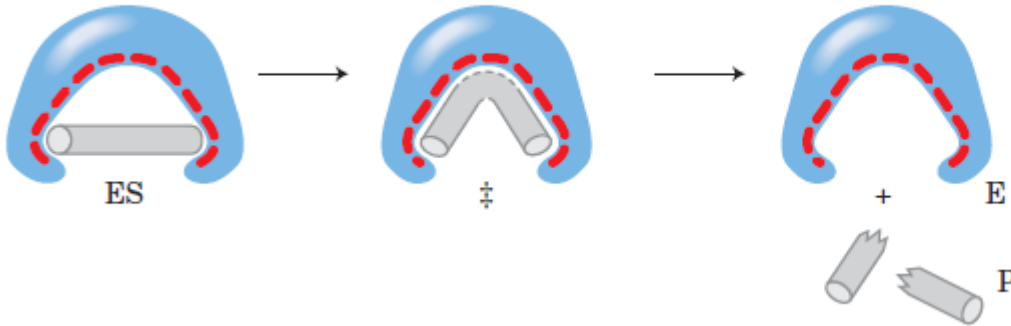
- Gerçekte ES kompleksinde yalnızca bazı zayıf etkileşimler oluşur
 - Entropideki kayıp serbest enerjiyi artırırken kısmen oluşan zayıf bağlar ES ara kompleksin oluşturur
- Manyetik (gerçekte zayıf) etkileşimlerin bağlanma enerjisi çubuğu eğmek için gereksinim duyulan serbest enerjideki artışı kısmen subvanse eder ve de bükülmenin tetiklenmesini sağlar
- Bu enerji ödemesi daha düşük net aktivasyon enerjisi ve daha hızlı tepkimeyi doğurur

ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

(b) Enzyme complementary to substrate



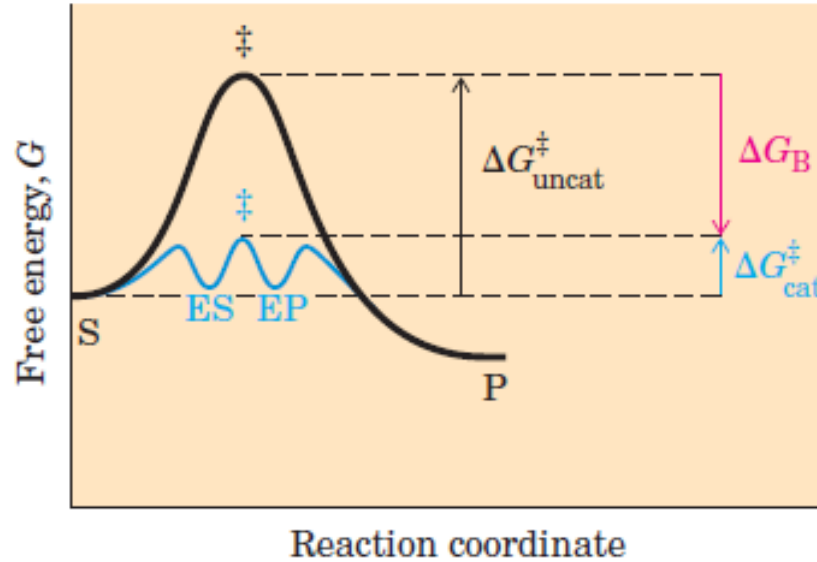
(c) Enzyme complementary to transition state



- Gerçek enzimatik tepkimelerde, ES kompleksinde bazı zayıf etkileşimler oluşur
- Ancak substrat ve enzim arasındaki bu gibi etkileşimlerin tam uyumu yalnızca substrat geçiş durumuna eriştiği zaman oluşur

ZAYIF ETKİLEŞİMLER GEÇİŞ DURUMUNDA OPT.

- Bu durumda salınan bağlanma enerjisi, (oluşan bağ → enerji çıkışı → negatif değerler) enerji tepesinin zirvesine ulaşmak için gerekli enerjiyi karşılamada kullanılır

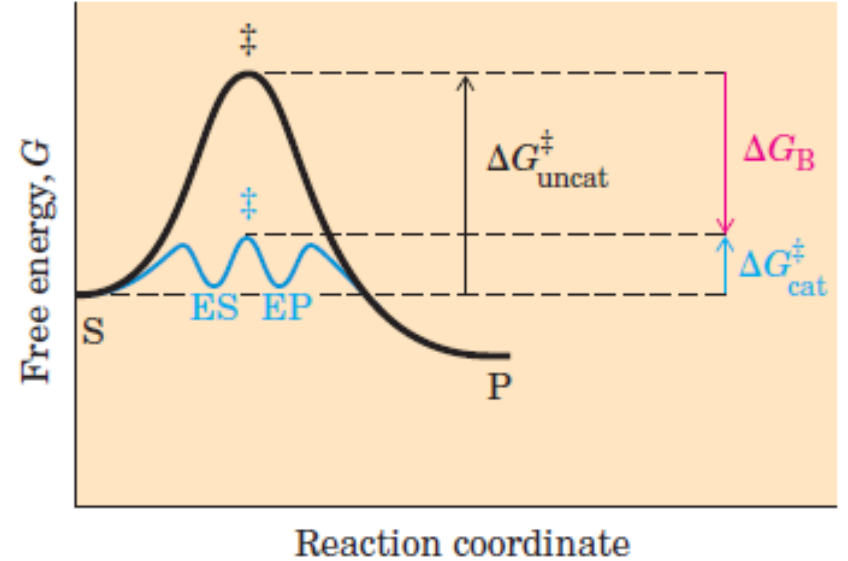


$$\Delta G_{\ddagger}^{\text{uncat}} + \Delta G_B = \Delta G_{\ddagger}^{\text{cat}}$$

- Bu durum, enzimlerin neden çoğu kez büyük olduklarının açıklamasıdır
 - Etkin kataliz için pekçok zayıf etkileşime gereksinim duyar, fonks. Grup, yüzey alanı → hacim artışı
 - Her bir zayıf etkileşimle 4-30 kJ/mol luk tasarruf sağladığı düşünülürse 100 katrilyon kat hız artışı için bunların belli bir kombinasyonu gerekli işi görecektir.

ÖZGÜLLÜK VE KATALİZ

- Bu iki kavram aynı olgudan meydana gelir!!
- Bir enzimin aktif yeri geçiş durumunda belli bir substratla çeşitli zayıf etkileşimler oluşturacak şekilde optimal olarak düzenlenmiş işlevsel gruplara sahipse enzim diğer bir moleküle aynı derecede etkileşimde olamayacaktır
- Ör: enzimdeki glu grubuyla etkileşecek özel OH grubuna sahip molekül etkileşecek , hidroksil olmayan!
- Özgüllüğün ve katalizin kaynağı da maksimum zayıf etkileşim sağlayan durum



BAĞLANMA ENERJİSİ NELERE HARCANIR?

- Pek çok durumda bağlanma enerjisi katalizin ana yada tek kaynağıdır

- **Entropi azalması:**

- İki substratın tepkimesini aktif bölgesinde katalizleyen bir enzim düşünelim

- bu bir enerji ödemesidir ancak hız bakımından istenen bir durumdur

- Bağlanma enerjisi substratları tepkimeye yönelik bir düzende tutar

- Bu katalize ana bir katılımdır çünkü

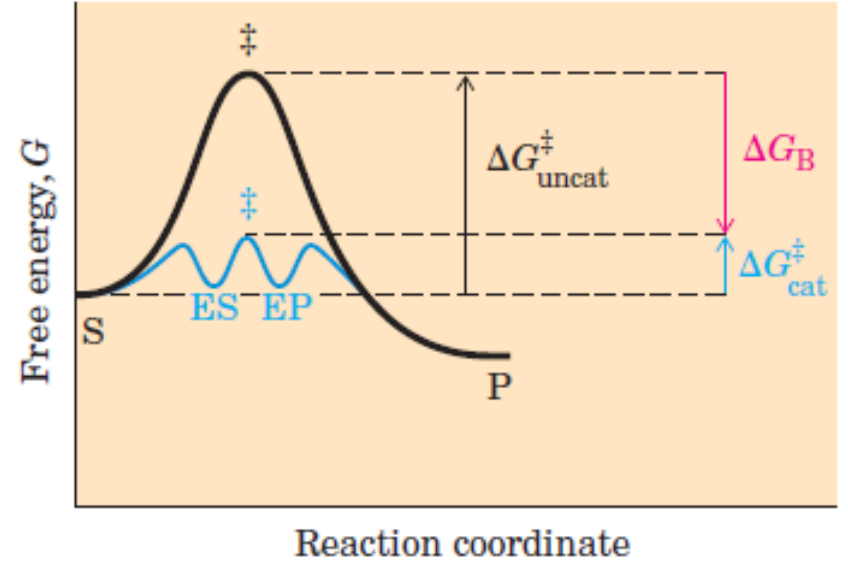
- çözültideki moleküller arasında ürün

- oluşturan çarpışma çok ender olabilir

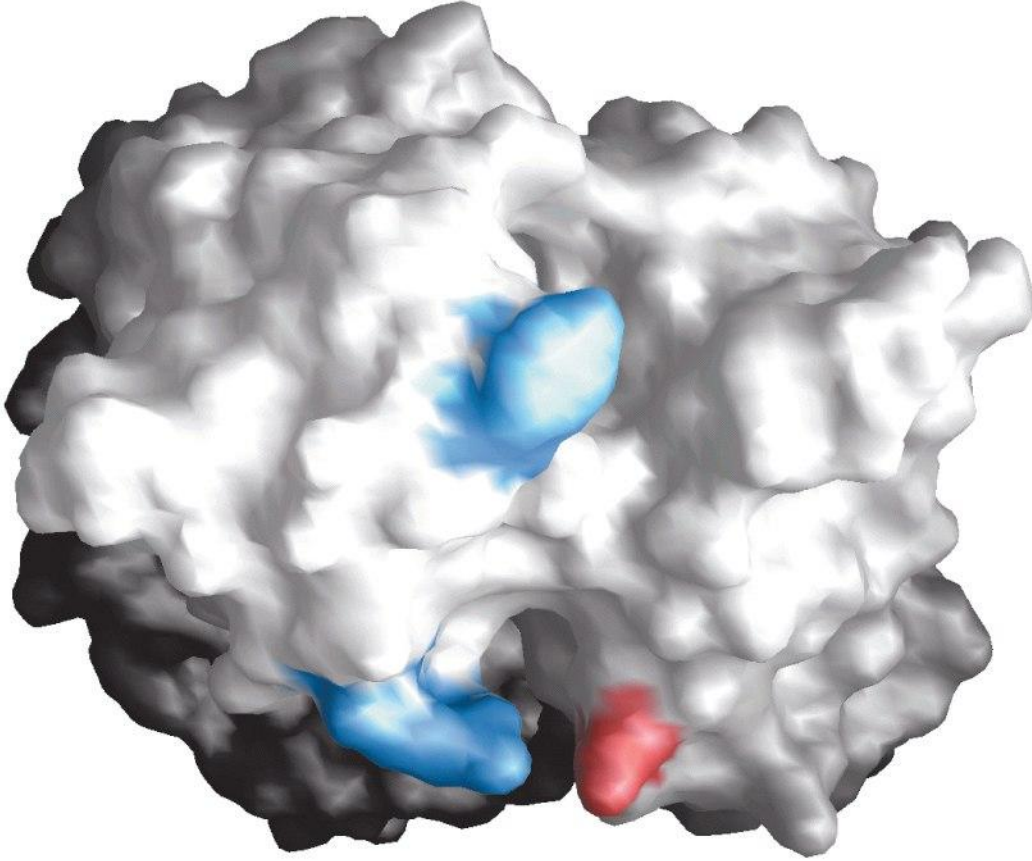
- **Hidrojen bağlarının bozunması:** E-S etkileşimleri

- substrat ve su arasındaki hidrojen bağlarının çoğunun ya da hepsinin yerini alabilir

- **İndüklenmiş uyum: ??**



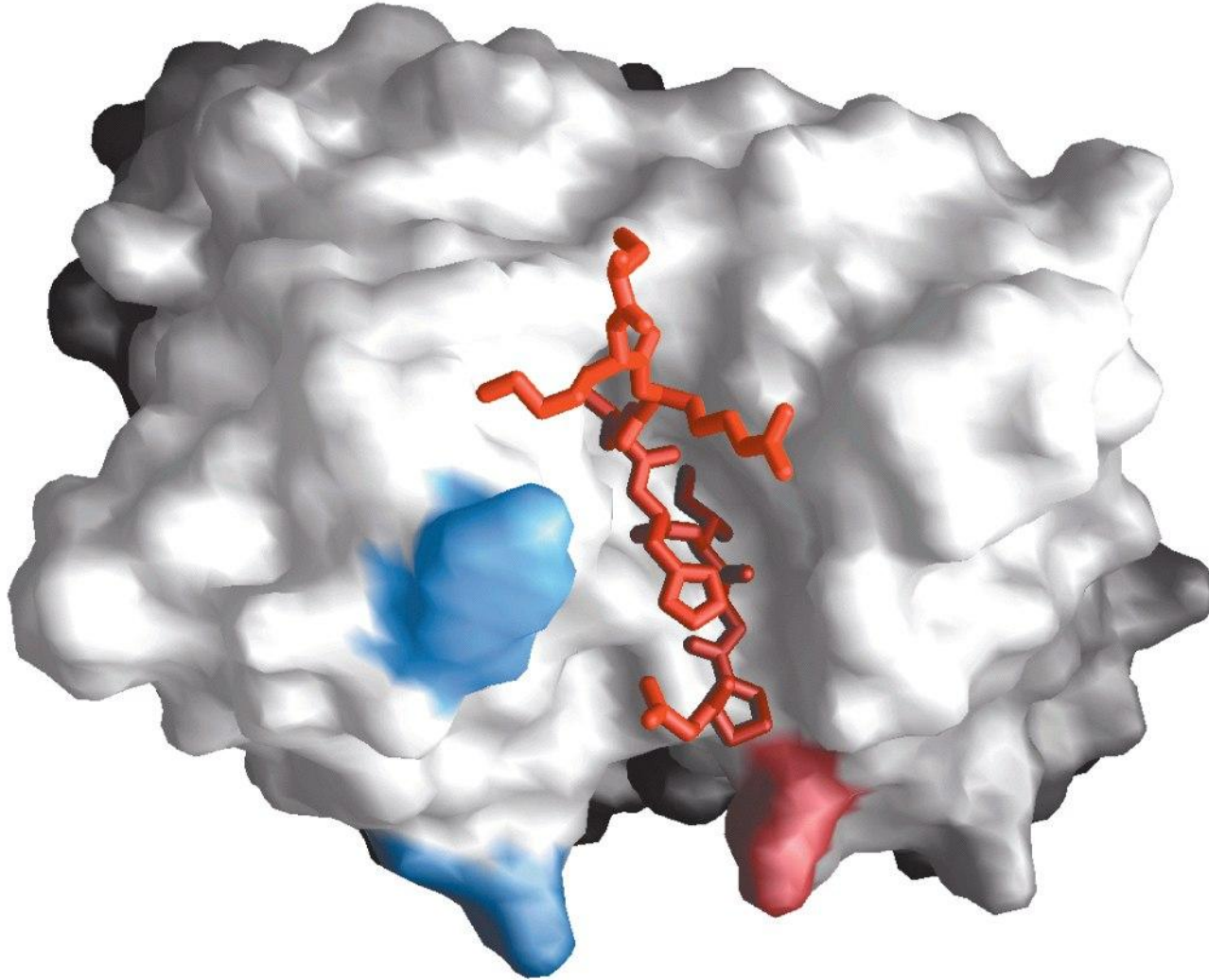
İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARILMIŞ UYUM



**Conformation
with no antigen
bound**

- Ligantın proteine bağlanması, proteinin konformasyonel değişiklikler geçirmesini tetikleyebilir. Buna P-L arasında uyarılmış uyum denir.

İMMÜNOGLOBULİNLER-ÖZGÜLLÜK, UYARILMIŞ UYUM



**Antigen
bound
(shown)**

BAĞLANMA ENERJİSİ NELERE HARCANIR?

• Pek çok durumda bağlanma enerjisi katalizin ana yada tek kaynağıdır

• Entropi azalması:

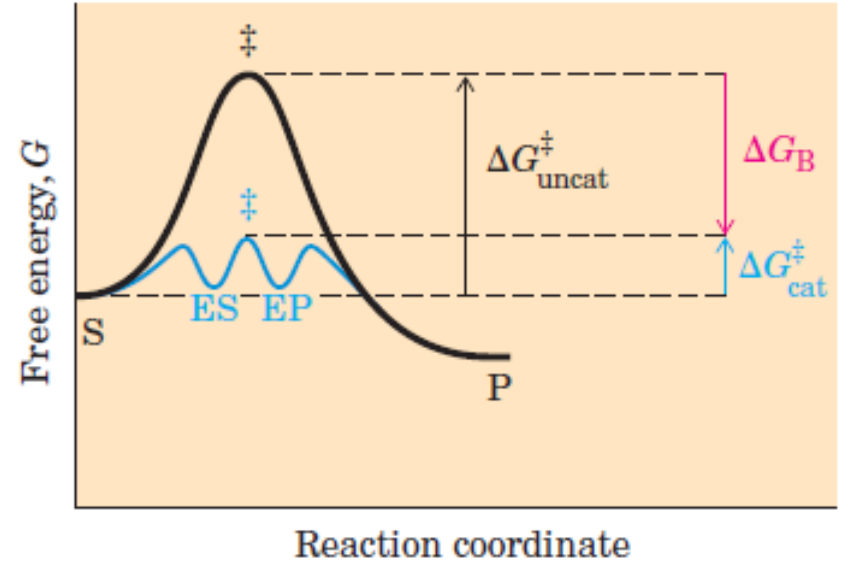
• İki substratın tepkimesini aktif bölgesinde katalizleyen bir enzim düşünelim
• bu bir enerji ödemesidir ancak hız bakımından istenen bir durumdur

• Bağlanma enerjisi substratları tepkimeye yönelik bir düzende tutar

• Bu katalize ana bir katılımdır çünkü çözeltideki moleküller arasında ürün oluşturan çarpışma çok ender olabilir

• **Hidrojen bağlarının bozunması:** E-S etkileşimleri substrat ve su arasındaki hidrojen bağlarının çoğunun ya da hepsinin yerini alabilir

• **İndüklenmiş uyum:** Enzim üzerindeki özgül işlevsel grupların tepkimeyi katalizlemek için tercih edilen pozisyona getirilmesine →



Bağlanma enerjisinin kaynağı bu değil mi?

Aynı anda devam eden kompleks etkileşim ve değişimler kümesi

ÖZGÜL KATALİTİK GRUPLAR VE KATALİZ

- Zayıf etkileşimler dışında, kovalent etkileşimler ve substrattan grup transferleri de katalize katkıda bulunabilir

- Enzim substratında bağlandığında uygun pozisyondaki katalitik gruplar

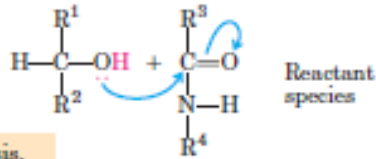
- Asit-baz katalizi

- Kovalent kataliz

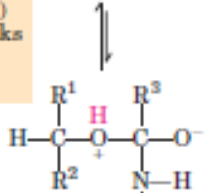
- Metal iyon katalizi içeren bir grup mekanizmayla bağ ayrılması ya da oluşumuna katkıda bulunabilir (% 30unda etkin)

- Mesela metal iyonları iyonik etkileşimler ile (M^{+2} elektron zenginlerini çeker) substratı tepkimeye yönlendirmeye, yüklü geçiş durumlarını sabitlemeye ve redoks tepkimelerine aracılık ederek (e^- alışveriş aracı) katalize yardım edebilir

GENEL ASİT-BAZ KATALİZİ

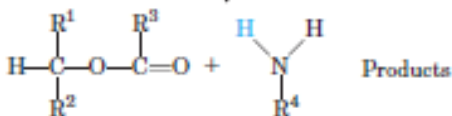
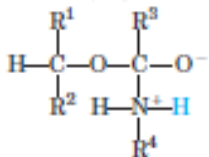


Without catalysis, unstable (charged) intermediate breaks down rapidly to form reactants.



When proton transfer to or from H_2O is faster than the rate of breakdown of intermediates, the presence of other proton donors or acceptors does not increase the rate of the reaction.

When proton transfer to or from H_2O is slower than the rate of breakdown of intermediates, only a fraction of the intermediates formed are stabilized. The presence of alternative proton donors (HA) or acceptors (B:) increases the rate of the reaction.



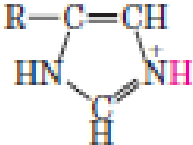
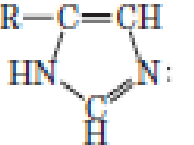
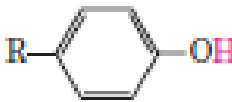
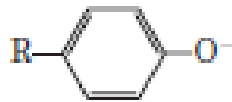
- Amit –peptit- bağının kırılması esnasında kararsız ara bileşikten proton alıcısı ve amine proton sağlayıcı yoksa tepkime tekrar tepkenlere geri döner

- Uygun D-A varlığında açilasyon ve amit bağı kırımı gerçekleşir,

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

GENEL ASİT-BAZ KATALİZİ

- Enzimlerin aktif yerinde, birkaç AA yan zinciri benzer olarak proton D-A gibi hareket ederler
- Bu sayede 10000 kata kadar hız arttırmaları gerçekleşebilmektedir
- pH ve pKa ilişkisine göre D ya da A olarak davranır

Amino acid residues	General acid form (proton donor)	General base form (proton acceptor)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{H}{\underset{H}{N^+}}$	$R-\ddot{N}H_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His		
Ser	$R-OH$	$R-O^-$
Tyr		

KOVALENT KATALİZ

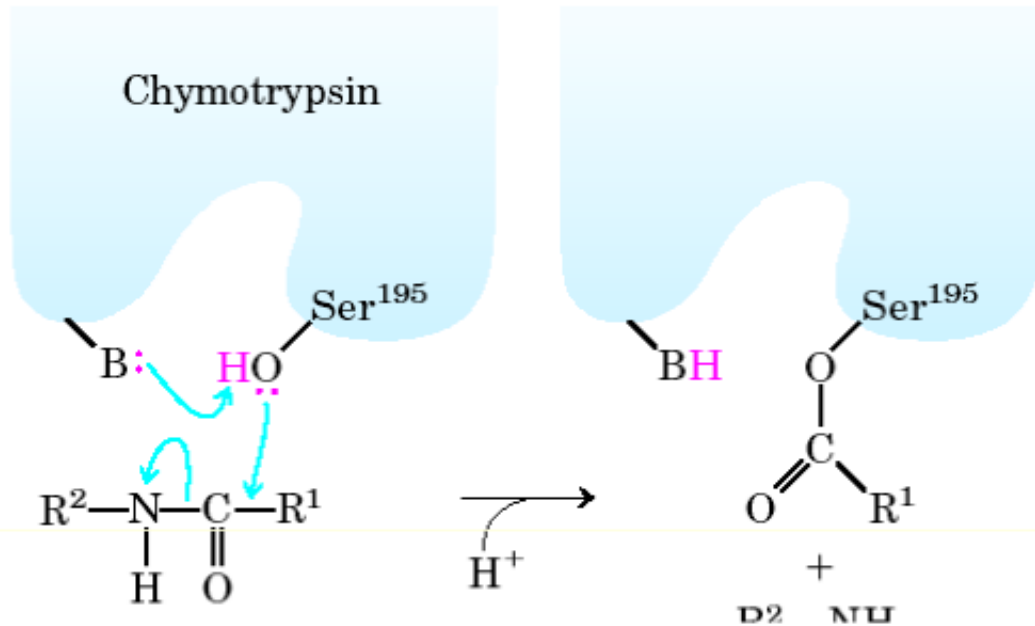


In the presence of a covalent catalyst (an enzyme with a nucleophilic group X:) the reaction becomes



- E-S arasında geçici bir kovalent bağ oluşur
- Kovalent kataliz olabilmesi için yeni yol katalizsiz yoldan (metal çubuğun katalizsiz bükülmesi örneği gibi) daha düşük aktivasyon enerjisine sahip yani yeni basamakların her ikisinde katalizsiz yoldan daha hızlı
 - Kovalent katalizde mevcut reaksiyonun aktivasyon enerjisini düşürme katkısı değil de alternatif bir yol çizme olarak düşünülebilir
- Serbest enzim sonunda salınmalı

KOVALENT KATALİZ



A-----B

Genel baz kataliziyle desteklenen kovalent kataliz

A-----X

+ B (R₂-NH₂)

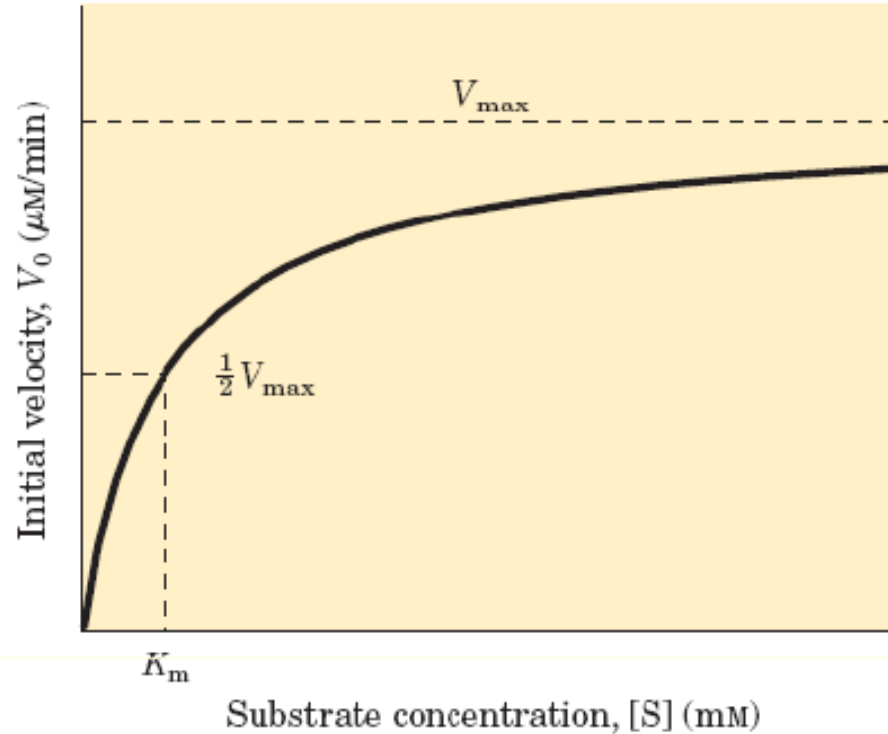
A-----XH⁺-----B

Gösterilmemiş ara komplek
Baz tarafından destekleniyor

Yine gösterilmemiş ama E en
son serbest kalmalı

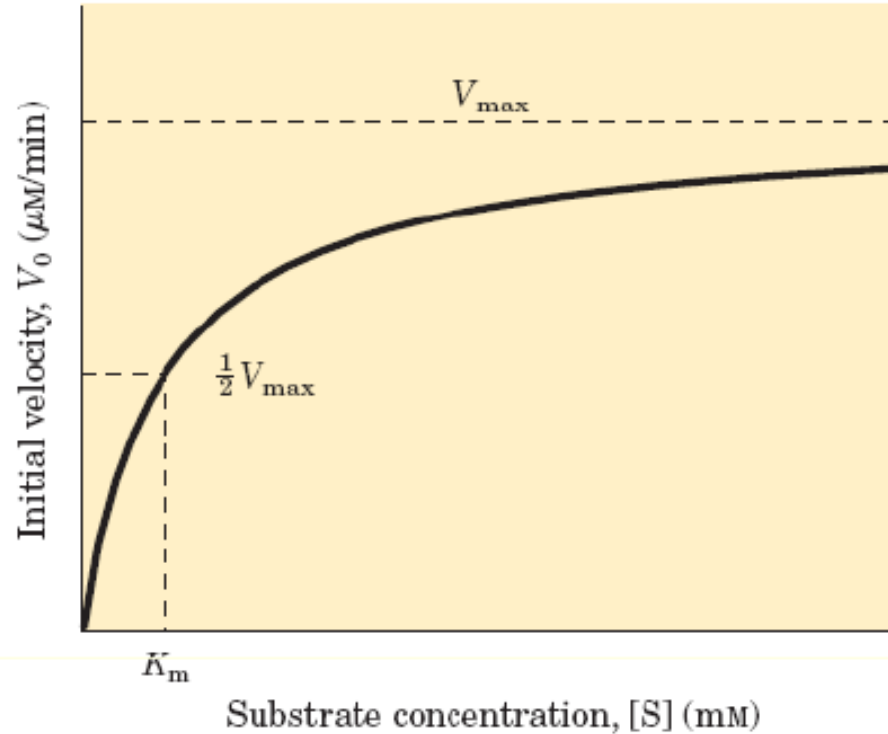
ENZİM KİNETİKLERİ

- Bir tepkimenin hızını etkileyen ana etmen nedir?
- Tipik olarak $E \ll S$ ise binlerce kat daha fazladır
- Enzim Kinetiği deneylerde temel yaklaşım substrat derişimine karşı ilk hız V_0 ölçmektir
- Substrat derişimi sabit değil?
- İlk hız ölçümü alınırken ki küçük zaman aralığında substrat derişimi sabit kabul edilebilir
- Tepkimenin başında tipik olarak $S \gg E$ dir



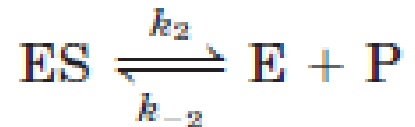
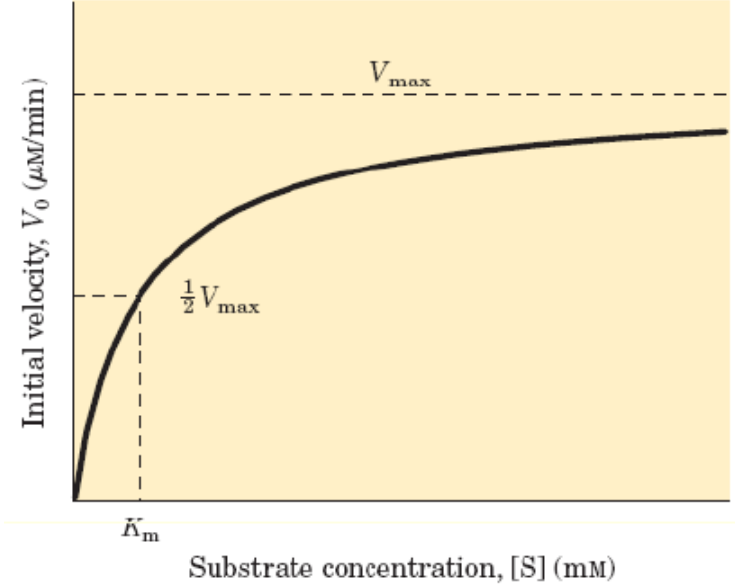
ENZİM KİNETİKLERİ

- Bu deneysel gözleme göre küçük S derişimlerinde ilk hız doğrusal artar
- S çok arttığında V_0 giderek daha az artar
- Sonlara doğru S deki artış ihmal edilebilecek artışa neden olur
- Bu plato benzeri bölge V_{\max} a yakınsar



ENZİM KİNETİKLERİ

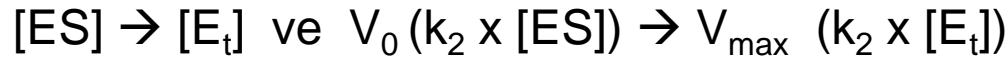
- Bunu açıklayabilmek için kinetik modeller ileri sürülmüş
- En populeri Michaelis-Menten
- Bu davranışı açıklamak için enzim substratıyla ES ara kompleksini oluşturmak durumundadır
- İlk aşama hızla, ikinci aşama daha yavaş yani hız belirleyici aşamadır.
- Çoğu durumda ürünlerin geri dönüşümü olası değildir yani $k_{-2} \ll k_2 \ll k_{-1}, k_{-1}$ yani aslında ikinci tepkime tek yönlü
- Tüm tepkime hızını yavaş basamağın hız yasası yani $k_2 * [ES]$



ENZİM KİNETİKLERİ

- $[E_t] = [ES] + [E]$
- Düşük S derişimlerinde enzimleri çoğu serbest E halindedir
- Hız S ile orantılıdır
- S derişimi arttıkça birinci dengeden ES derişimi artar yani toplam hız artar (hız $\sim [ES]$)

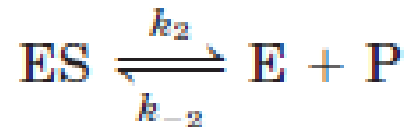
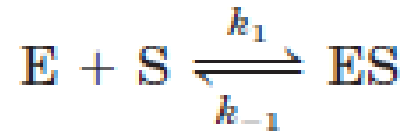
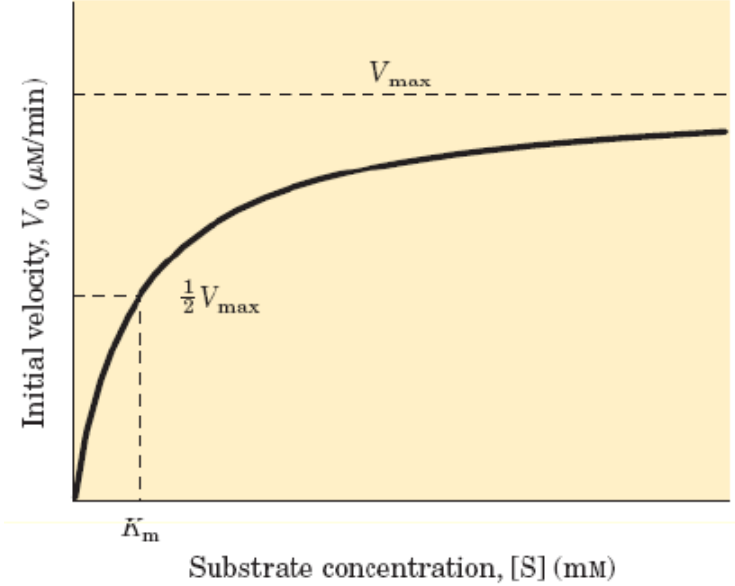
- Katalizlenen tepkimede maksimum ilk hız (V_{max}) Enzimin hepsi ES olarak bulunduęunda gözlemlenmektedir, serbest E yok



- Bu durumda enzim substratıyla tamamen doymuştur Daha fazla S nin hıza hiçbir etkisi yok -çünkü serbest E yok ,

- ES kompleksi parçalanıp P verdikten sonra enzim substratla tepkimeye girebilecek duruma gelir

Saturasyon etkisi enzim katalizinin karakteristięidir

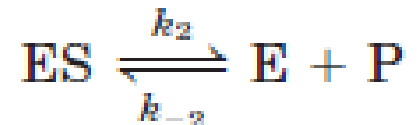
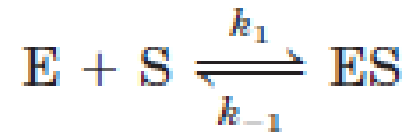
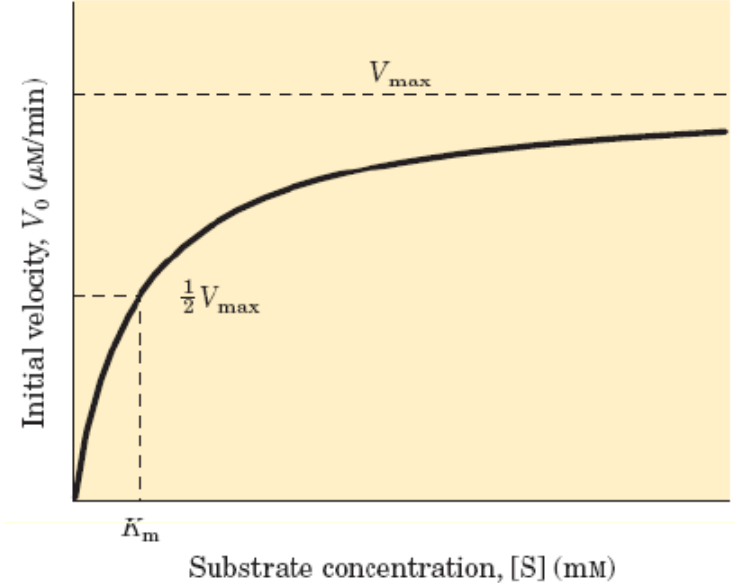


ENZİM KİNETİKLERİ

- M-M teorisiyle hızın substratla gösterdiği değişim son derece güzel şekilde açıklanabilmektedir

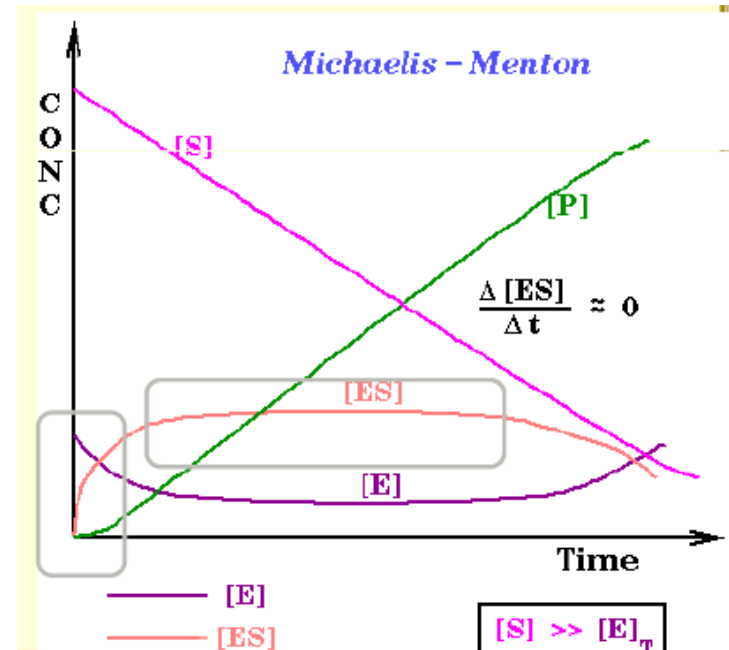
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

- Çok düşük ve çok yüksek S derişimleri için beklenen trendleri sağladığını görebiliyor muyuz?
- Burdaki bütün terimler deneysel olarak ölçülebilir
 - Normalde V_0 ile ES ilişkili ancak ES in deneysel ölçümü sorun arz ediyor
- V_{\max} burdaki grafikte biraz problemlidir ama alternatif gösterimler var



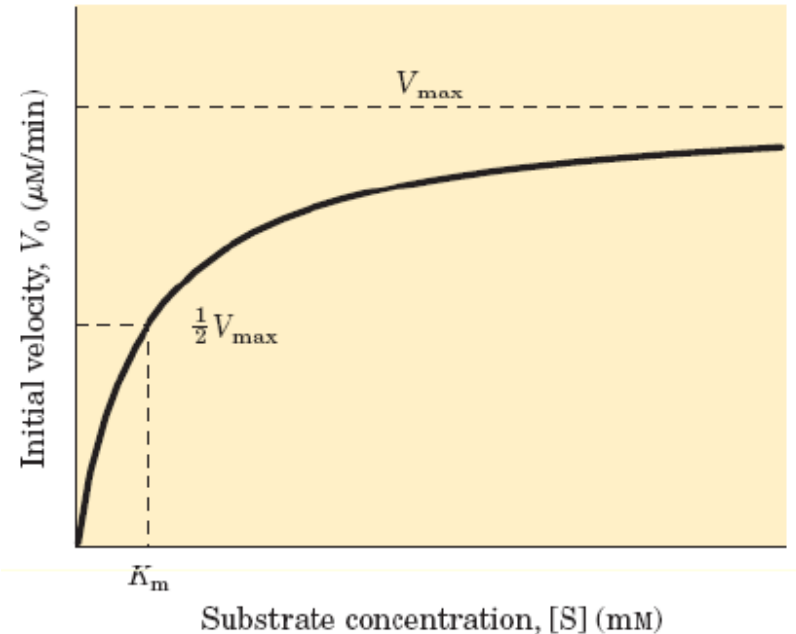
ENZİM KİNETİKLERİ – MM Çıkarılış

- Normalde ilk hız $\sim [ES]$ ancak bunun ölçümü problematik
- ES derişimi için alternatif tanımlar bulmak gerekir (Mesela hızı daha kolay ölçülebilir $[S]$ gibi ögeler üzerinden ifadelendirebilir miyiz?)
 - Bunu yapabilmek için durağan durum varsayımı kullanılır yani araürün konsantrasyonundaki değişim ihmal edilebilir
 - Aşağıdaki gerçek datada da ES in geniş bir zaman aralığında sabit derişimde
- Bu yaklaşım çok basamaklı enzimatik tepkime mekanizmalarının açıklığa kavuşturulmasında da başarıyla kullanılmaktadır (herbir araürün kompleksi için)
- $d([ES])/dt = 0$ yani yapım hızı = yıkım hızı



ENZİM KİNETİKLERİ

- M-M eşitliği pekçok enzimin kinetik davranışını açıklar
- Yani V_0 in S ye hiperbolik bağımlılık gösterdiği bütün enzimlerin M-M kinetiğine uyduğu söylenebilir ve K_m deneysel datadan biraz önceki gibi çekilebilir
- Burda V_{max} in tam güvenilirlikle sağlanması M-M biraz değiştirilerek olanaklıdır
 - Normalde artan konsantrasyon hızı çok oynatmıyorsa pratik olarak V_{max} a ulaşıldı denebilir
 - Tam hassaslıkla tayini için Lineweaver-Burk eq.



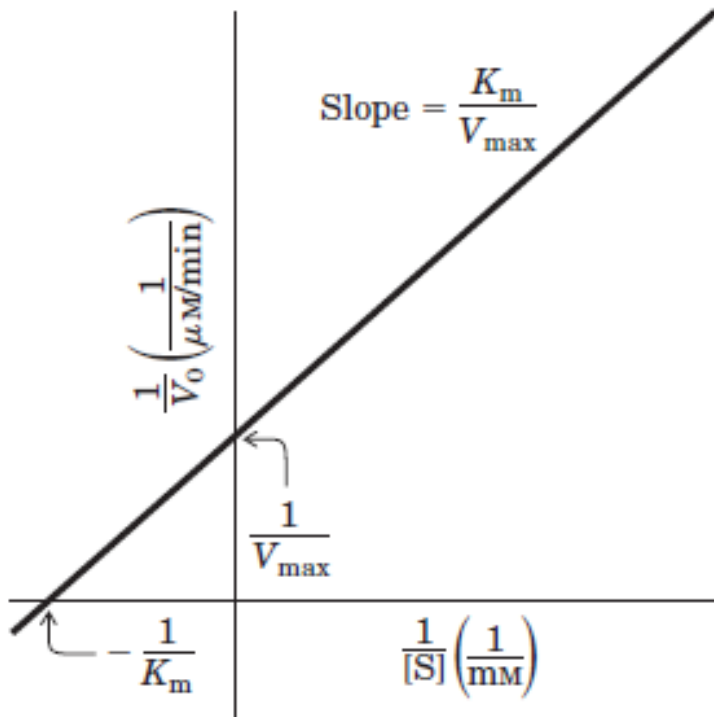
ENZİM KİNETİKLERİ-Çift ters grafik!

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m + [S]}{V_{\max} [S]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_m}{V_{\max} [S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

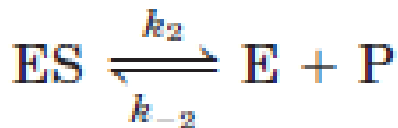
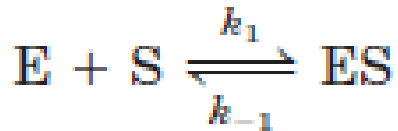
$$y = mx + n$$



- Herhangi ≥ 2 noktayla bu eğri çizilip y eksenini kestiği yer tayin edilir ve burası $1/V_{\max}$ hassaslıkla tayin edilebilir
- x eksenini kestiği yerden ya da eğimden K_m bulunabilir

ENZİM KİNETİKLERİ-K_m

- Bu teoriyle açıklanan tek substratlı enzimler dışında, çok basamaklı ya da birden fazla substratlı (inhibisyon durumları gibi) senaryolar da –durağan durum varsayımı ile açıklanabilmektedir yani araürün kompleksinin değişimi ihmal edilerek çözümlenebilmektedir
- Aynı enzim benzer yapıları farklı substratlar için farklı hız sabitlerine sahip olabilir
 - Bu durumda farklı K_m değerlerine sahip olması da normaldir
 - Enzimden enzime ve aynı enzim için substrattan substrata farklılık normal



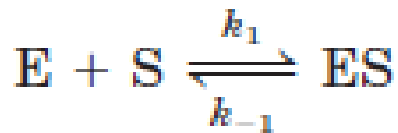
$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$

TABLE 6–6 K_m for Some Enzymes and Substrates

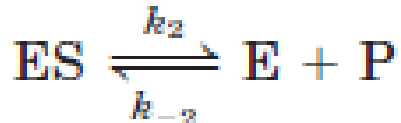
Enzyme	Substrate	K _m (mM)
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO ₃ ⁻	26
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β-Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

ENZİM KİNETİKLERİ- K_m

- K_m enzimin substrata olan ilgisinin ya da katalitik gücün ölçüsü olarak düşünülebilir mi?
- Birinci durum için ancak sadece kısıtlı bir takım senaryoda, ikinci durum için ise K_m indirekt olarak kullanılır (özgüllük sabiti k_{kat}/K_m)
- Normalde biz ilgili K_d ile tanımlamıştık ve nM ya da pM seviyeler çok yüksek ilgiyi belirtiyordu , ör Ab-An
- Böyle bir çıkarımı K_m için yapabilmek için $k_2 \ll k_{-1}$ diyebilmemiz gerekir ki $K_m \sim K_d$ olabilsin ve enzimin substrata olan ilgisini belirtsin



$$K_m = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1}$$



ENZİM KİNETİKLERİ- k_{kat}

- Hız kısıtlayıcı basamak tanımı enzimden enzime değişebilir
- Mesela ürünün oluştuğu oldukça yaygın olan $EP \rightarrow E + P$ tepkimesinde bu basamağın hız kısıtlayıcı olduğunu düşünelim



- Ürün oluşumunda hız kısıtlayıcı bu son basamak ise
 - Böyle bir tepkimede ürün oluşumunda k_3 ile k_1 ve k_2 yi kıyaslamamız gerekir , son basamak kısıtlayıcı ise k_3 en küçükleri demektir
- Önceki basamaklar hızlı, saturasyona yakın E nin tamamına yakını EP formunda
 - Serbest E hemen ES ye o da hemen EP ye dönüşüyor
- Böyle bir durumda tepkimi hızı= en yavaş basamağın hızı= $k_3 * [EP]$
- Yine böyle bir durumda maksimum hız= ?
- EP nin alabileceği maksimum değer?
- $V_{\text{max}} = k_3 * [E_t]$

ENZİM KİNETİKLERİ- k_{kat} (dönüşüm sayısı)

- Genel olarak şu ifadeyi söyleyebiliriz:
- Bir tepkimede değişik basamaklar varsa ve bir tanesi hız sınırlayıcı ise k_{kat} bu basamağın hız sabitine eşittir



- Bu durumlar için genel ilk hız ifadesi:

$$V_0 = \frac{k_{\text{cat}}[\text{E}_t][\text{S}]}{K_m + [\text{S}]}$$

- k_{kat} birinci derece hız sabiti ve birimi san^{-1}
- Basit MM çıkarımı için ve yukarıdaki senaryo için k_{kat} neye eşit? $V_0 - V_{\text{max}}$ ilişkisi ?

ENZİM KİNETİKLERİ- k_{kat}

- Bu katsayı ayrıca turnover (dönüşüm) sayısı olarak adlandırılır!
- Yani enzim substratıyla doyun hale geldiği zaman, $V \rightarrow V_{\text{max}}$, tek bir enzim molekülünde verilen birim zamanda ürüne dönüştürülen substrat molekülü sayısı
 - Daha öncesinde $k_{\text{kat}} * [E]$ değeri daha düşük
- Çünkü bu basamak ürüne dönüşümde belirleyici basamak

$$V_0 = \frac{k_{\text{cat}}[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

- İki enzim aynı k_{kat} sahipken katalitik güçleri farklı olabilir, nasıl açıklarız?
- Katalizsiz haldeki hız sabitleri farklı
- Katalitik etki için farklı bir öge kullanmalıyız

TABLE 6-7 Turnover Numbers, k_{cat} , of Some Enzymes		
Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})
Catalase	H_2O_2	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	14,000
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (an ATPase)	ATP	0.5

ENZİM KİNETİKLERİ - Özgüllük Sabiti

- Çeşitli enzimlerin katalitik etkilerinin veya farklı substratların aynı enzimle dönüşümünün karşılaştırılmasının en iyi yolu iki tepkime için k_{kat}/K_m oranının karşılaştırılması
- Bu orana özgüllük sabiti denir

$$V_0 = \frac{k_{\text{cat}}[E_t][S]}{K_m + [S]}$$

- $S \ll K_m$ olduğu pek çok durumda $V_0 = \text{özüllük sabiti} * [E][S]$ olarak ifade edilebilir
- Birimi ?

ENZİM KİNETİKLERİ - Özgüllük Sabiti

TABLE 6-8

Enzymes for Which k_{cat}/K_m Is Close to the Diffusion-Controlled Limit (10^8 to $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$)

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s^{-1})	K_m (M)	k_{cat}/K_m ($\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$)
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	1.4×10^4	9×10^{-5}	1.6×10^8
Carbonic anhydrase	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
Catalase	H_2O_2	4×10^7	1.1×10^0	4×10^7
Crotonase	Crotonyl-CoA	5.7×10^3	2×10^{-5}	2.8×10^8
Fumarase	Fumarate	8×10^2	5×10^{-6}	1.6×10^8
	Malate	9×10^2	2.5×10^{-5}	3.6×10^7
β -Lactamase	Benzylpenicillin	2.0×10^3	2×10^{-5}	1×10^8

•Yukarıda gösterilen enzimlerin k_{cat}/K_m değerleri bir sıvı çözeltide difüzyon kontrollü limite yakın değerlerdir $\sim 10^8$

•Diffüzyon kontrollü limit (10^8 - $10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$) E ve S buluştuğu an ürüne dönüştüğü durumu kapsar

•Gelen substratı çeviriyor, ürün oluşumunda bileşenlerin buluşma hızı belirleyici

•Doğru oriyantasyonda buluşma, aktivasyon enerjilerinin aşımı ikinci planda olacak kadar katalitik demenin başka bir yolu

•Katalizin nirvanası

ENZİM KİNETİKLERİ- > 1 substrat

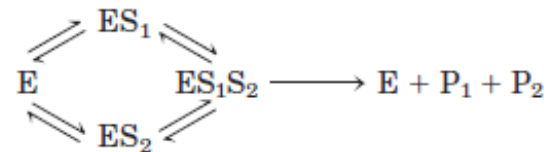
- Birçok enzimatik tepkime iki veya daha fazla substrat enzime bağlanır ve tepkimeye girer



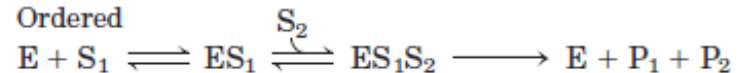
- Hekzokinazda iki substrat bağlanır
- Bunların hızı da M-M teorisiyle analiz edilebilir
- Farklı mekanizmalarla bu etkileşim açıklanabilir, pekçoğunda üçlü kompleks oluşumu var

(a) Enzyme reaction involving a ternary complex

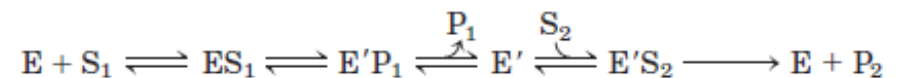
Random order



Ordered



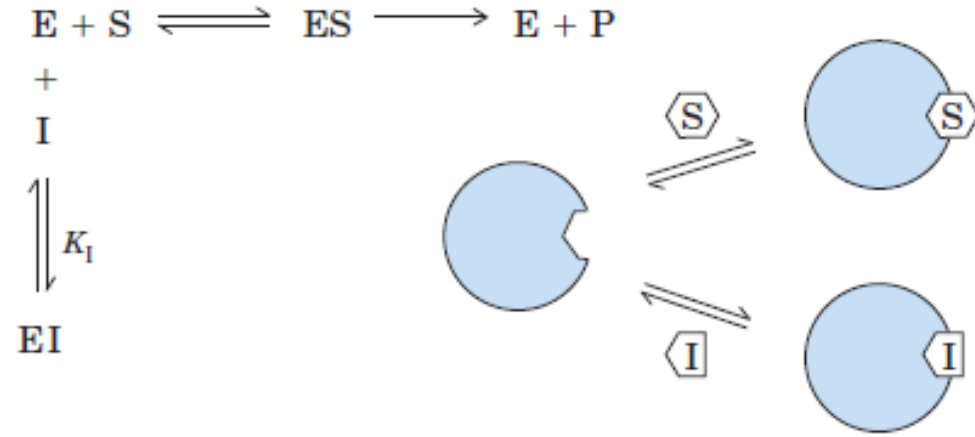
(b) Enzyme reaction in which no ternary complex is formed



ENZİM KİNETİKLERİ - İNHİBİSYON

- Enzim inhibitörleri enzimatik tepkimeleri yavaşlatarak ve durdurarak etkiyen moleküller
- Enzimatik süreçlerin çok hayati olduğunu görmüştük
- Bu gibi durumlarda inhibitörlerin yapımı farmakolojik olarak çok önemlidir
- Örneğin aspirin, ağrı sürecinde sorumlu moleküllerin üretimindeki enzimi inhibe eder
- İki genel sınıf inhibitör: geri dönüşümlü (reversibl) ve geri dönüşümsüz (irreversibl)
- Geri dönüşümlüde en yaygın yarışmalı, ayrıca yarışmasız ve karışık türleri de mevcut

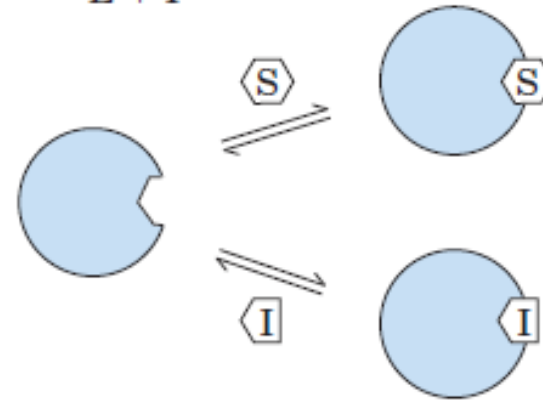
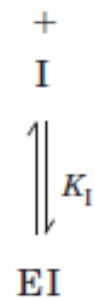
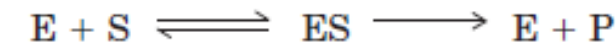
(a) Competitive inhibition



- Enzimin aktif bölgesi için savaş
- I, E yi serbest bırakmasa?
- Aynı cebe uyan işlevsel gruplara sahip olmalı
- I ve S nin yapısı bu tipte benzerdir
- Methanol zehirlenmesinde EtOH ile tedavi
- Alkol dehidrogenaz enzimi için EtOH inhibitör
- EtOH , zamanla tükenecek, o yüzden derişimi birkaç saat kan dolaşımında kalacak şekilde ayarlanır
- Bu sırada MeOH böbreklerden zararsız atılır
- Formaldehid yerine Asetaldehid zararsız

ENZİM KİNETİKLERİ - YARIŞMALI İNHİBİSYON

(a) Competitive inhibition



•İnhibitör varlığında M-M eşitliği:

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

Where

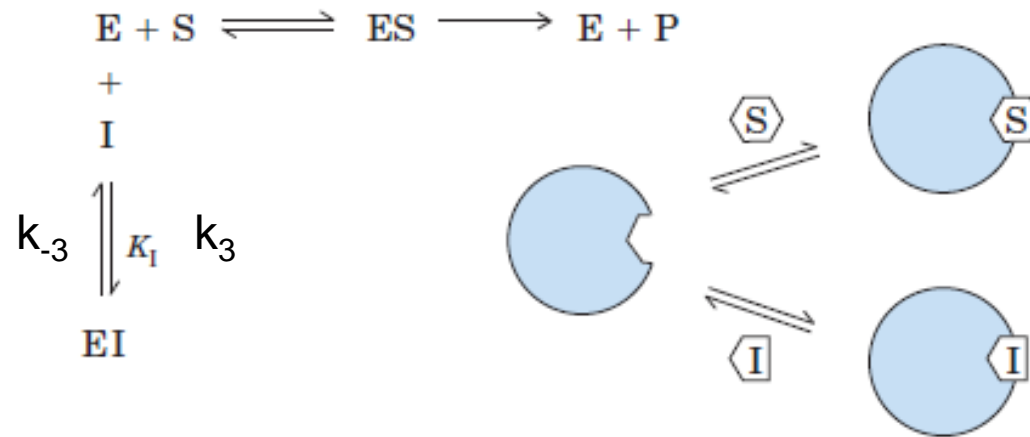
$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad \text{and} \quad K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

Enzimle I'nın K_d değeri K_I
 αK_m apparent –görünen- K_m ,

$< > K_m$?

ENZİM KİNETİKLERİ - YARIŞMALI İNHİBİSYON

(a) Competitive inhibition



- S derişimi çok arttırılarak ES oluşumu ve normal tepkime devam ettirilebilir
- Bu durumda inhibisyon yokmuş gibi V_{\max} değerine ulaşılır
- yani V_{\max} (yarışmalı inhibisyon) = V_{\max} sade substrat

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad \text{and} \quad K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

ENZİM KİNETİKLERİ - YARIŞMALI İNHİBİSYON

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + [S]}$$

$$\alpha = 1 + \frac{[I]}{K_I} \quad \text{and} \quad K_I = \frac{[E][I]}{[EI]}$$

$$\frac{1}{V_0} = \left(\frac{\alpha K_m}{V_{\max}} \right) \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{\max}}$$

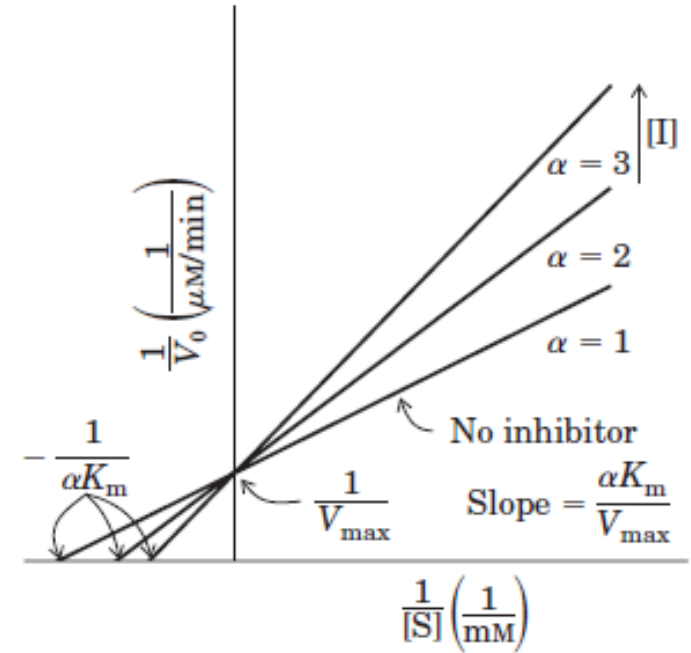


FIGURE 1 Competitive inhibition.

- Yüksek S lerde alpha değerinden bağımsız şekilde $V_0 = V_{\max}$, yani y eksenini aynı yerde keserler
- Alpha = 1 durumu inhibisyonsuz ve x eksenini kestiği nokta $-1 / K_m$
- I arttıkça alpha artar ve x eksenini kestiği nokta azalır
- Alpha arttıkça eğim artar (K_m ve V_{\max} sabit)
- $I = 0$ durumuna göre artan bildiğimiz I değeriyle eğim değişiminden alpha bulunur
 - I yı biliyoruz, K_I çekilir
- Bu iki durum yarışmalı inhibisyon için karakteristik çift ters grafikleri
- $V_{\max} / 2$ yi sağlayan S değeri inhibisyonsuz K_m iken inhibisyon varlığın artar mı azalır mı?

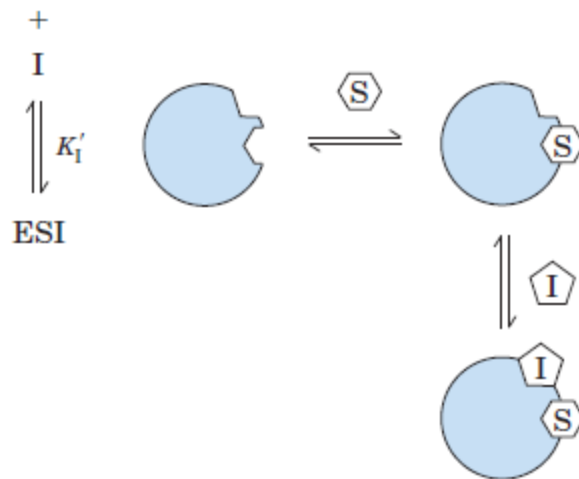
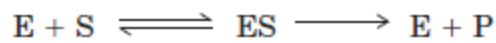


$$[S] = \alpha \cdot K_m$$

ENZİM KİNETİKLERİ - YARIŞMASIZ İNHİBİSYON

- I, E ye değil sadece ES e, aktif yerin dışında bir yere bağlanır

(b) Uncompetitive inhibition



$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + \alpha' [S]}$$

$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I} \quad \text{and} \quad K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

ENZİM KİNETİKLERİ - YARIŞMASIZ İNHİBİSYON

•Yarışmasız inhibisyonda yüksek S lerde bile inhibisyonsuz durumla aynı V_{\max} a ulaşamayız

- Ürün oluşumunu substrat bağlanmasından sonra etkiliyoruz
- $I = 0$ ise $\alpha' = 1$ ve $V_0 = V_{\max}$
- Diğer bütün durumlar da V_0 , V_{\max} / α' ı geçemez
- Eğim I ve α' den bağımsız, değişmez
- I değiştikçe y ve x eksenini kestiği yer kayar

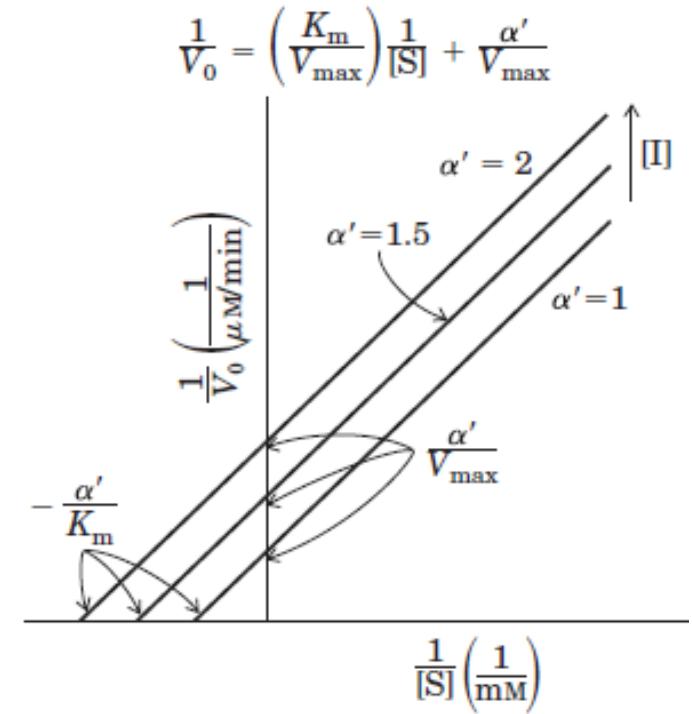


FIGURE 2 Uncompetitive inhibition.

$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{K_m + \alpha' [S]}$$

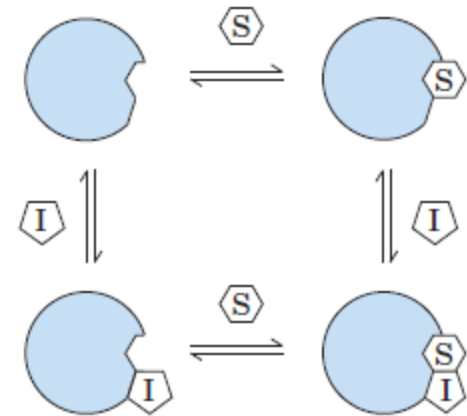
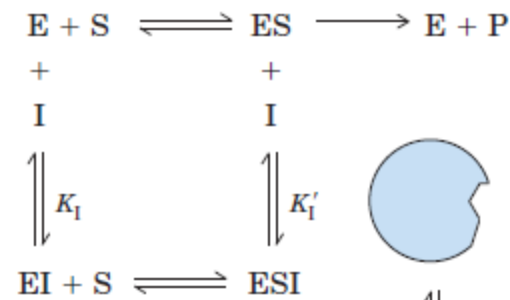
$$\alpha' = 1 + \frac{[I]}{K'_I} \quad \text{and} \quad K'_I = \frac{[ES][I]}{[ESI]}$$

ENZİM KİNETİKLERİ - KARIŞIK İNHİBİSYON

- I, aktif yerin dışında bir yere bağlanır, ancak bu bağlanma E de veya ES de olabilir
- Pratikte, yarışmasız ve karışık inhibisyon birden fazla substratlı enzimlerde gözlenir

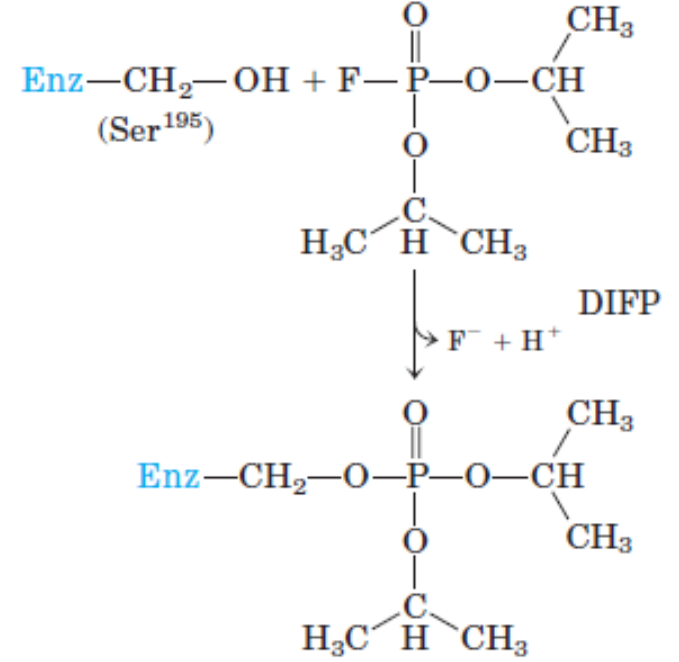
$$V_0 = \frac{V_{\max} [S]}{\alpha K_m + \alpha' [S]}$$

(c) Mixed inhibition



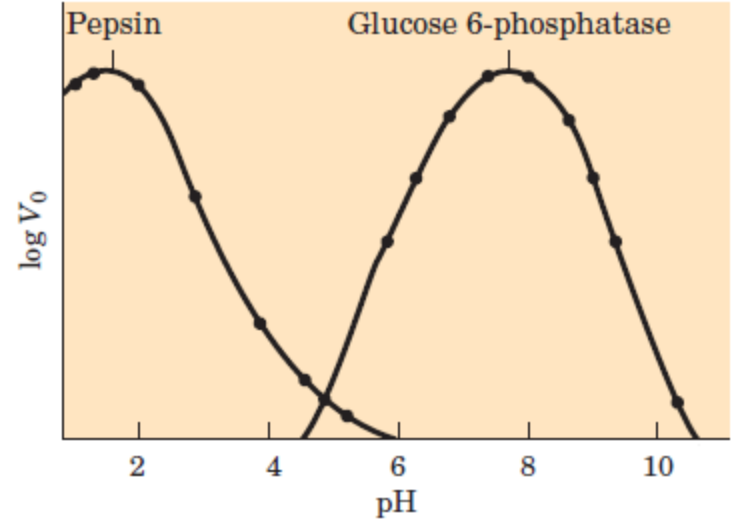
ENZİM KİNETİKLERİ - GERİ DÖNÜŞÜMSÜZ İNH.

- Geri dönüşümsüz inhibitörler, bir enzimle birleşen ve enzim aktivitesi için şart olan bir işlevsel grubu bozan bileşiklerdir
- Kovalent bağlanma yaygındır
- DIFP (diizopropilflorofosfat) kimotripsini geri dönüşümsüz bloklar
- İntihar inaktivitörleri bunların özel bir sınıfı
- Enzim cebine girer, birkaç basamak sonra reaktiviteleri artar
- Bu şekilde aynı AA kalıntısına sahip bütün yerler değil, sadece enzim aktif bölgesindeki kalıntıları bloke eder
 - Ör:Enzimde başka serinlerin bloke olması önlenir, geçiş durumuna gelmeyen enzimde intiharcının reaktivitesi yani etkisi düşük
 - Yan etkisiz ilaçların tasarımında kullanılıyor



ENZİM AKTİVİTESİ ve pH

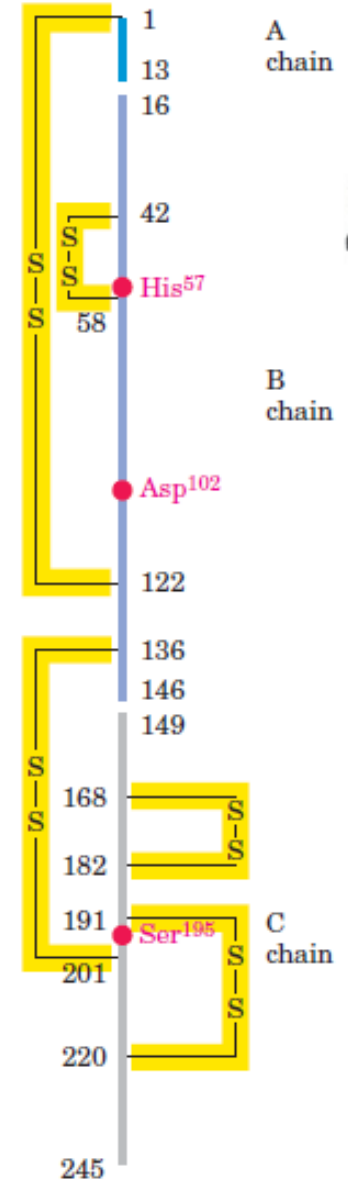
- Enzimler max aktivitede olduklara optimum pH a sahiptirler- bu değer normalde bulunduğu ortamın pH sına yakındır , pepsin midede
- Daha yüksek ve daha düşük pH larda aktivite düşer
- Aktif merkezdeki AA yan zincirleri belirli bir iyonizasyon durumundayken kritik işlevleri görebilirler
- Örneğin histidin kalıntısından bir proton uzaklaştırılması, enzim aktif konformasyonunun sabitlenmesi için gerekli bir iyonik etkileşimi ortadan kaldırabilir
- Sapmanın görüldüğü pH değerleri hangi grubun titre edildiği hakkında bilgi sağlar
 - pH 7 civarı ise sıklıkla histidin form değiştireyordur
- Dikkat edilmeli: birbirine yakın katlanmış AA yan zincirleri pKa değerlerini saptırabilir



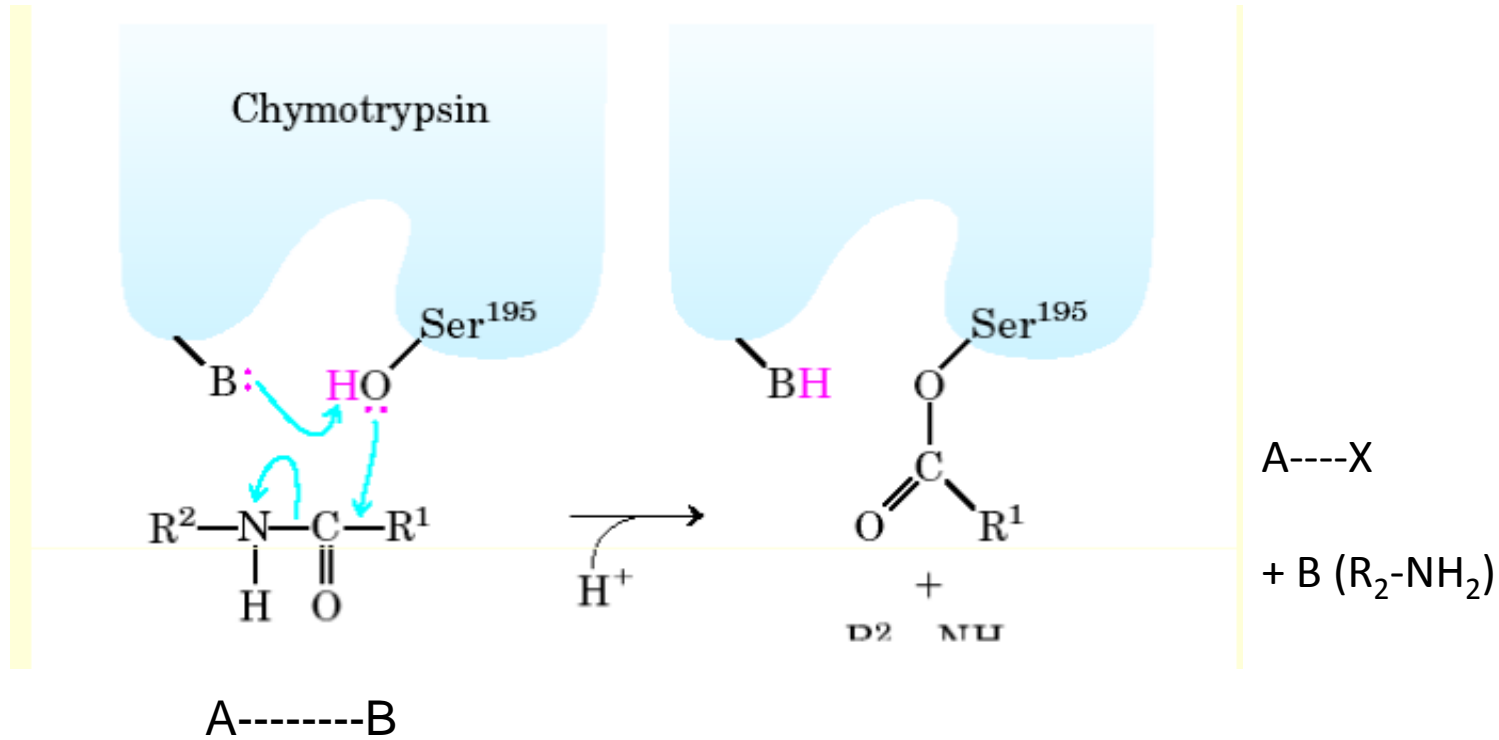
Ör: Asetat derkarbosilaz enziminde bir lizin kalıntısı yakın pozitif yüklerin elektrostatik etkisi nedeniyle pKa değeri 10,5 den $< > ?$
→ Proton daha kolay verilir, asidik güç artar, pKa 6.6 ya düşer
Tam tersi de doğru, negatif yükler olsa proton daha zor ayrılır
Asidik özellik azalır pKa yükselir

ENZİM MEKANİZMALARI

- Saflaştırılmış bir enzimin etki mekanizmasının tam anlaşılması tüm substratların, kofaktör, koenzim, ürün ve düzenleyicilerin anlaşılmasını gerektirir
- Bunun dışında ara ürünlerin oluş sırası, her biri ara ürün ve geçiş durumunun yapısının anlaşılması gerekir
- Onlarca yıllık çalışmalar gerektiriyor
- 3 iyi anlaşılmiş mekanizma
 - Kimotripsin
 - Heksokinaz
 - Enolaz
- Kimotripsin 25 kDa
- Peptit bağlarının hidrolitik parçalanmasını sağlayan proteaz enzimi, aromatik AA ların bitişiğindeki peptit bağlarını parçalıyor
- Üç bağımsız ppz , disülfidlerle tutturulmuş
- Hidroliz hızı kimotripsin varlığında 1 milyar kat artıyor
- İki ana aşamada gerçekleşiyor



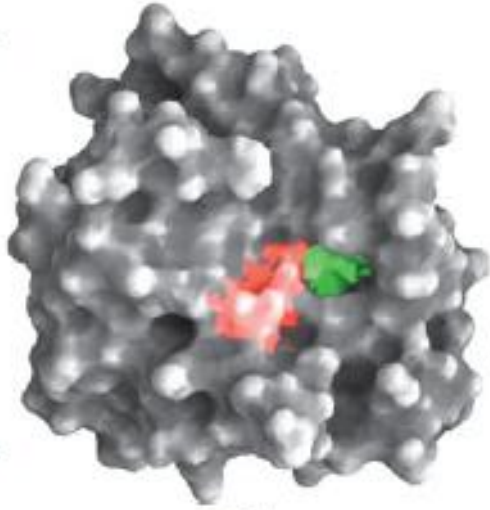
ENZİM MEKANİZMALARI



Açillenme evresi: peptit bağı kırılır ve enzimle ester bağı oluşur

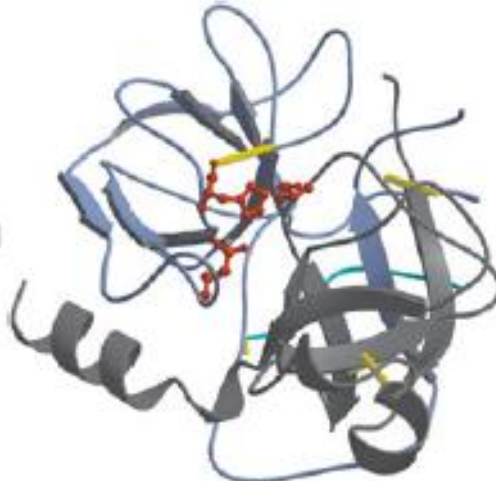
Deaçillenme evresinde ester bağı hidrolizlenir ve açillenmemiş serbest enzim yeniden oluşturulur

ENZİM MEKANİZMALARI



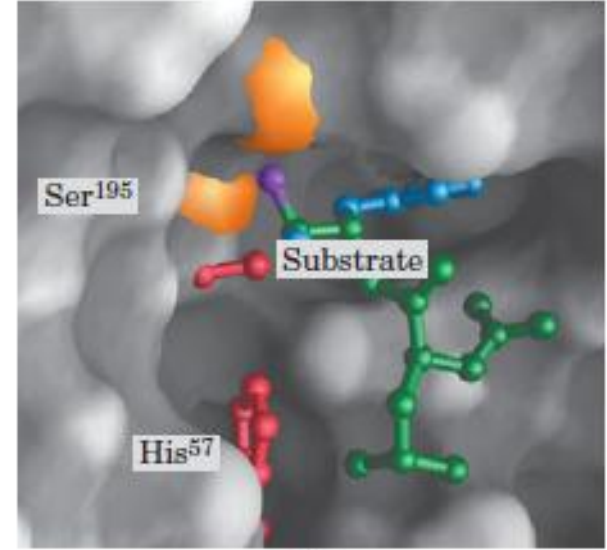
(b)

Enzim yüzeyi



(c)

şeritsel gösterim

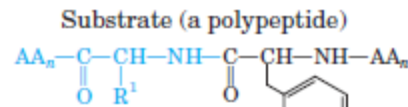
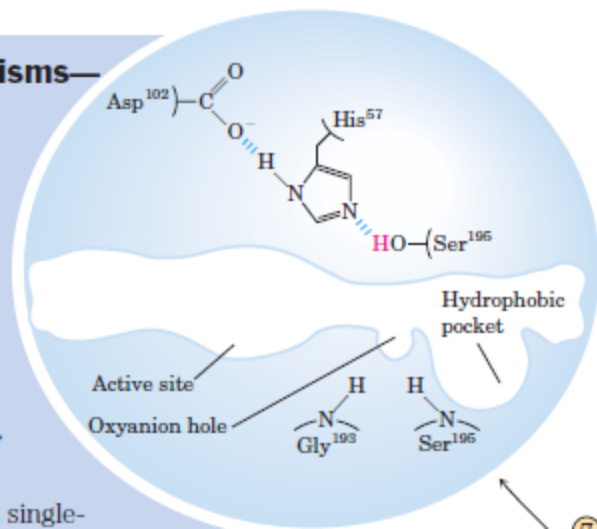


(d)

oksanyon stabilizasyonu
hidrofobik çep
karbonik, hidroksil etkileşimi

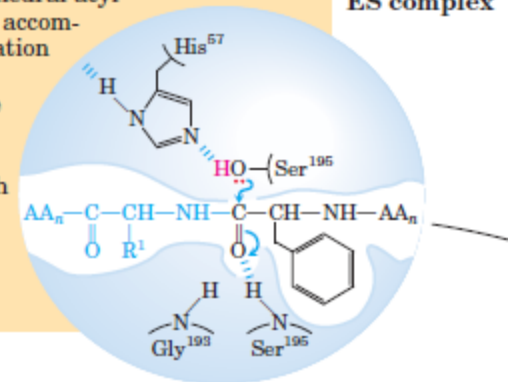
ENZİM MEKANİZMALARI

Chymotrypsin
(free enzyme)



When substrate binds, the side chain of the residue adjacent to the peptide bond to be cleaved nestles in a hydrophobic pocket on the enzyme, positioning the peptide bond for attack.

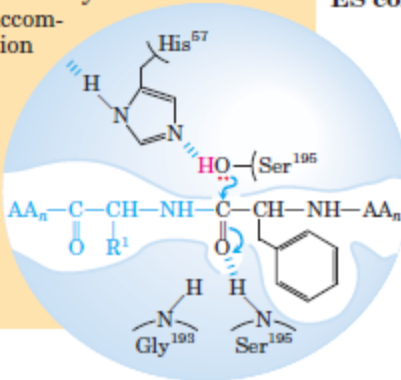
Interaction of Ser¹⁹⁵ and His⁵⁷ generates a strongly nucleophilic alkoxide ion on Ser¹⁹⁵; the ion attacks the peptide carbonyl group, forming a tetrahedral acyl-enzyme. This is accompanied by formation of a short-lived negative charge on the carbonyl oxygen of the substrate, which is stabilized by hydrogen bonding in the oxyanion hole.



ENZİM MEKANİZMALARI

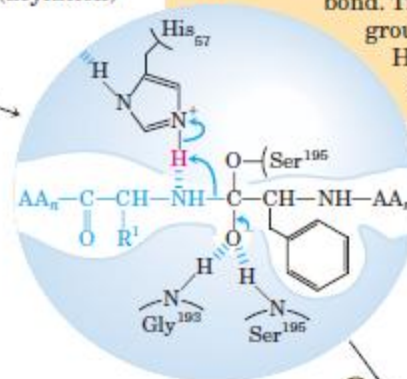
Interaction of Ser¹⁹⁵ and His⁵⁷ generates a strongly nucleophilic alkoxide ion on Ser¹⁹⁵; the ion attacks the peptide carbonyl group, forming a tetrahedral acyl-enzyme. This is accompanied by formation of a short-lived negative charge on the carbonyl oxygen of the substrate, which is stabilized by hydrogen bonding in the oxyanion hole.

ES complex



Instability of the negative charge on the substrate carbonyl oxygen leads to collapse of the tetrahedral intermediate; re-formation of a double bond with carbon displaces the bond between carbon and the amino group of the peptide linkage, breaking the peptide bond. The amino leaving group is protonated by His⁵⁷, facilitating its displacement.

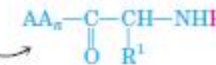
Short-lived intermediate* (acylation)



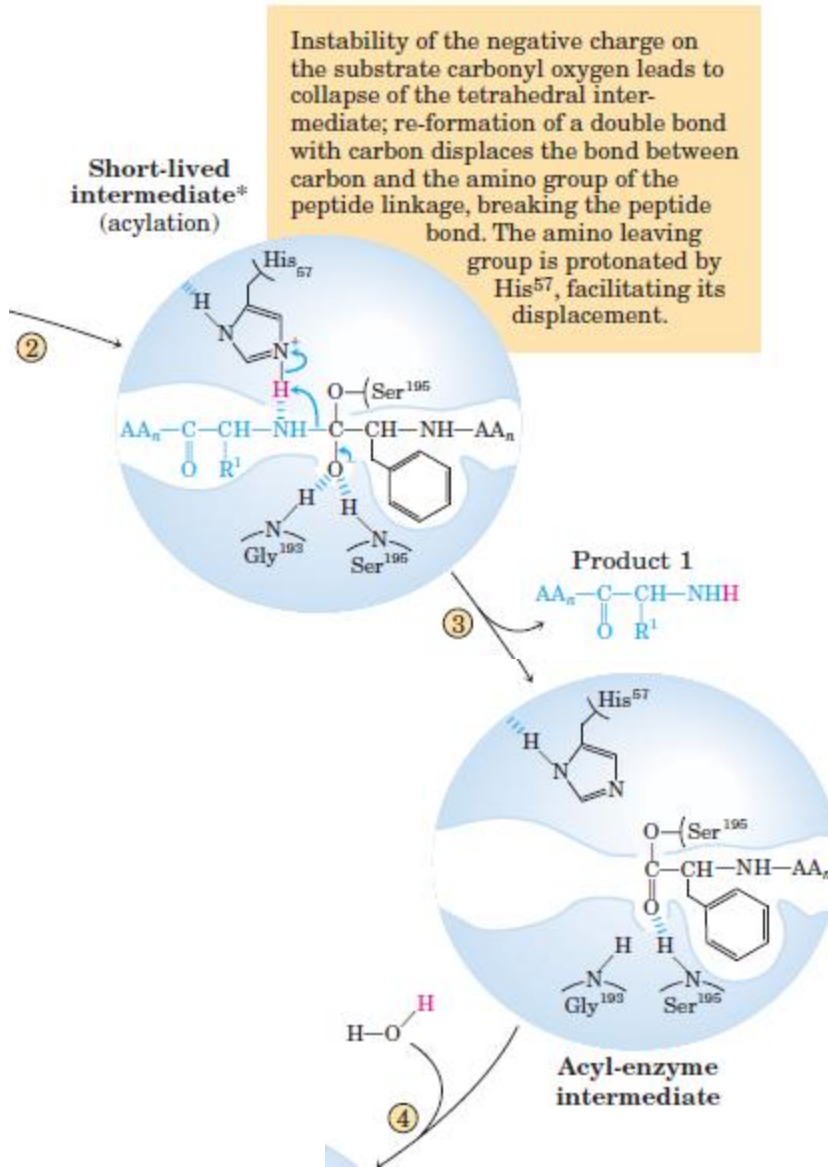
Oksianyon stabilizasyonu

Asp stabilizes protonated his

Product 1



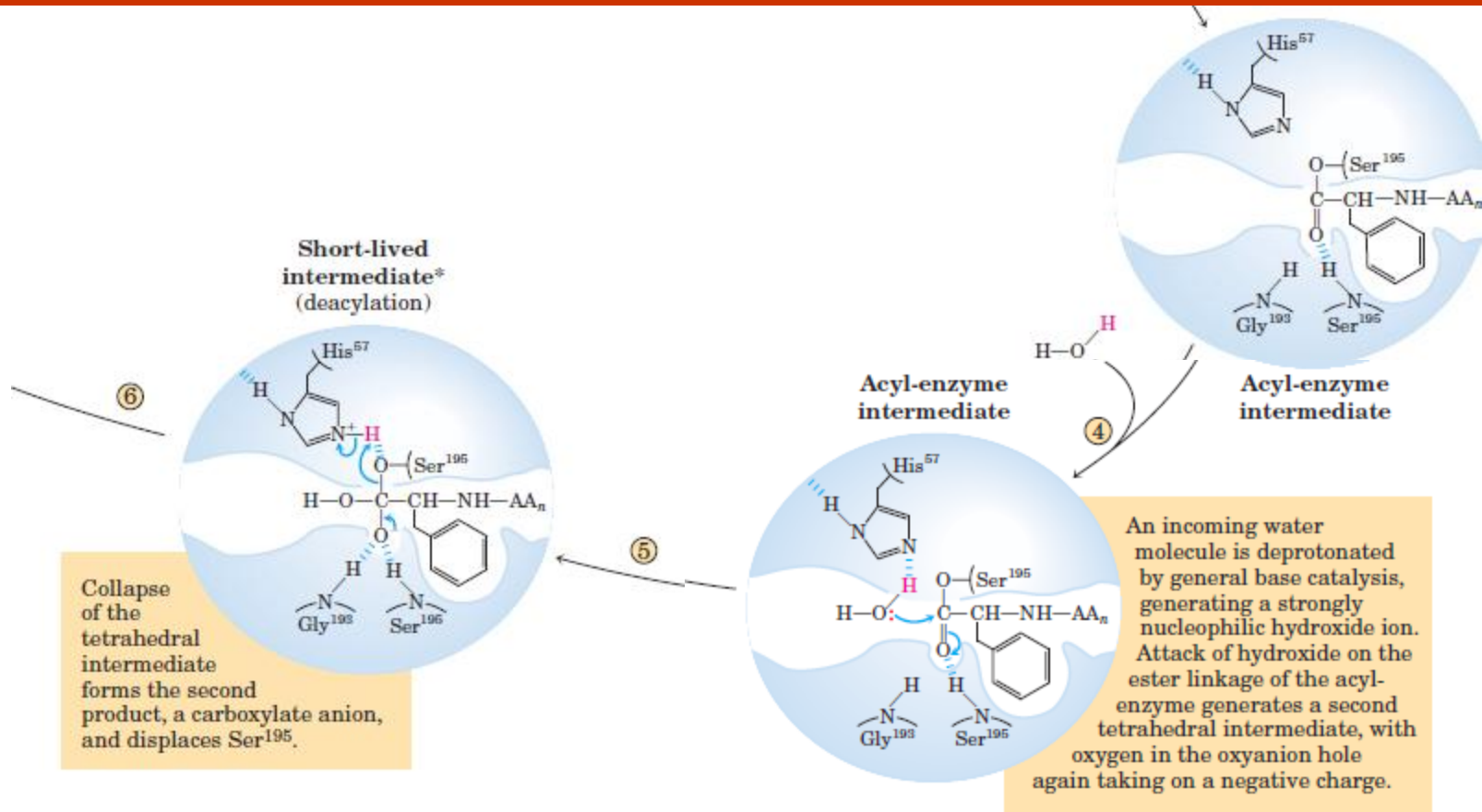
ENZİM MEKANİZMALARI



A-----X

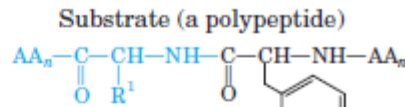
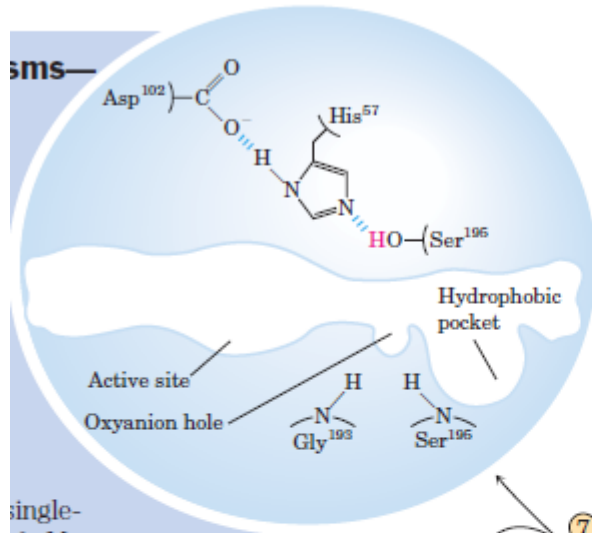
+ B (R₂-NH₂)

ENZİM MEKANİZMALARI



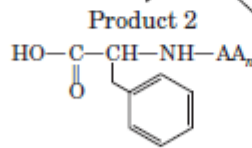
Oksianyon stabilizasyonu

Chymotrypsin
(free enzyme)

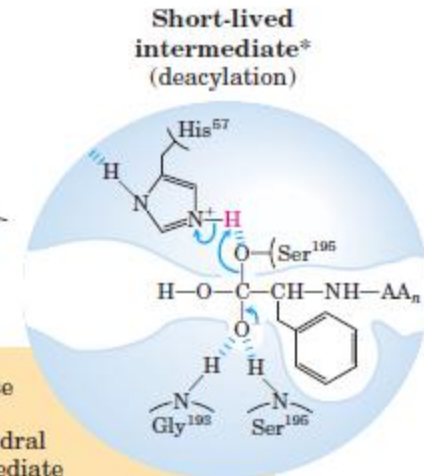
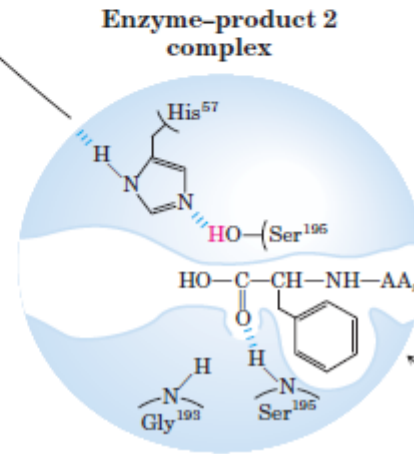


When substrate binds, the side chain of the residue adjacent to the peptide bond to be cleaved nestles in a hydrophobic pocket on the enzyme, positioning the peptide bond for attack.

single-
(. Most
on pair (as in the
han others; that is, they
ive electronegativities of
> N > C = S > P = H. For
p a C=O (carbonyl)
s relatively electron-
electrons. Many reactions
ile) reacting with an
Some common
istry are shown at right.
iated at an unshared
sm diagrams, the base



Diffusion of the second product from the active site regenerates free enzyme.

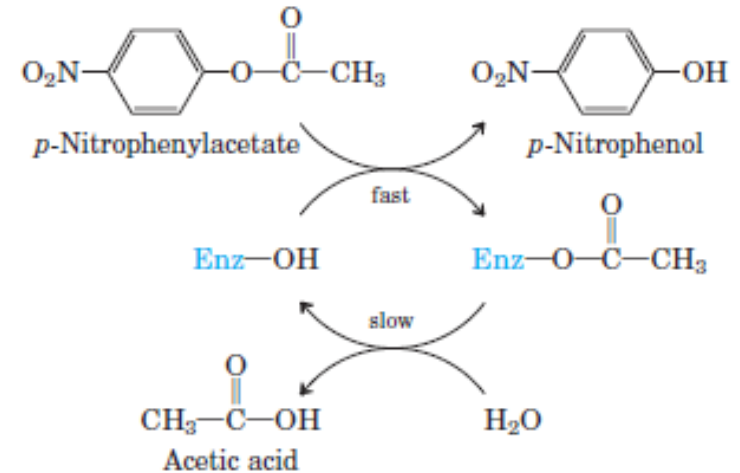
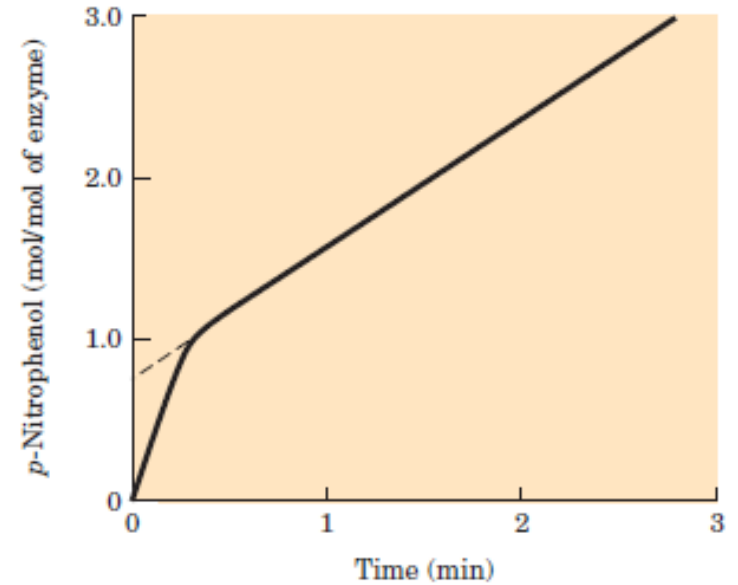


Collapse of the tetrahedral intermediate forms the second product, a carboxylate anion, and displaces Ser¹⁹⁶.

ENZİM MEKANİZMALARI

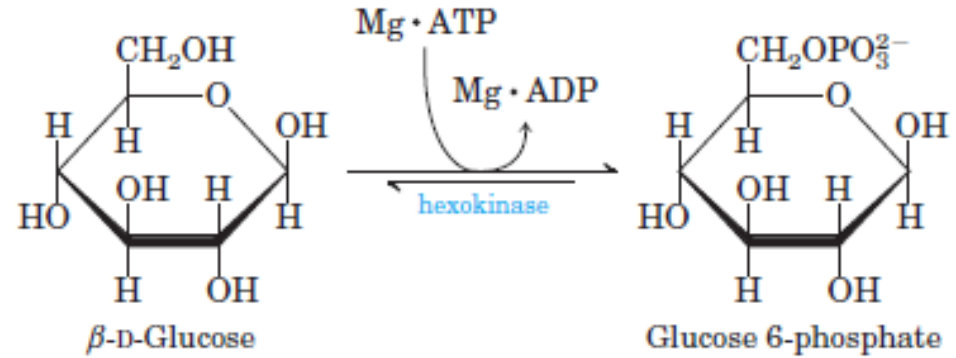
- Zayıf etkileşimler, kovalent kataliz ve Asit-Baz katalizi hem ES arabileşğini hem de geçiş durumu komplekslerinin stabilizasyonuna katkıda bulunarak kataliz işlevinin yerine gelmesini sağlarlar

- Kimotripsin esterleri de hidrolizler
- Yine önce açillenme (hızlı)
Ardından deaçillenme (yavaş)
- Serbest enzimler tamamen açillenene kadar hızlı tepkime
- Bunun ardından deaçillenme hız tayin edici çünkü serbest enzim eldesi bu basamağa bağlı



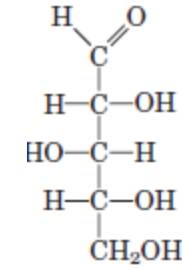
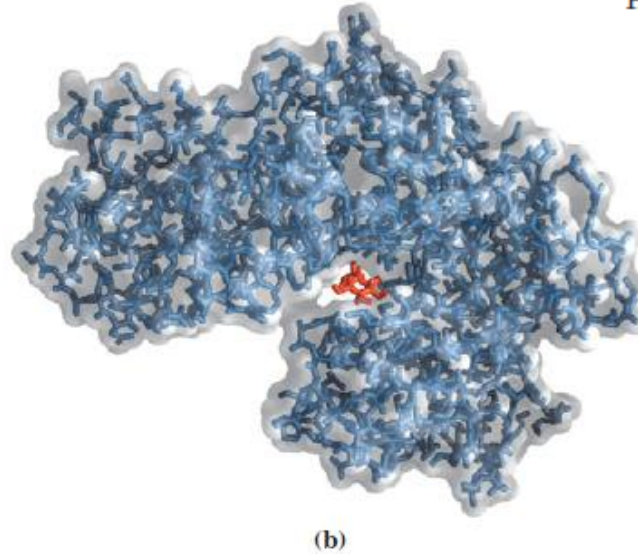
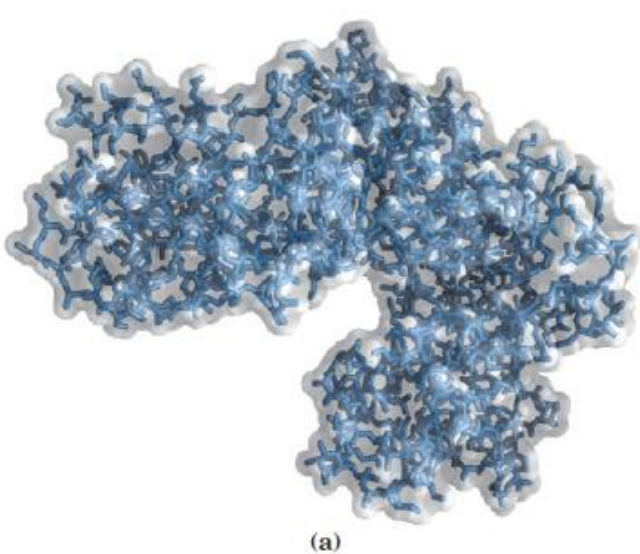
ENZİM MEKANİZMALARI

- Glukozun C-6 sının fosforillenmesi , Mg varlığında
- C-6 daki hidroksil, suyla benzer yapıda
- Su da enzimin aktif bölgesine serbestçe girip çıkar ama su fosforillenmez
- Suya oranla glukoz 1 milyon kat katalizleniyor
- Peki neden?

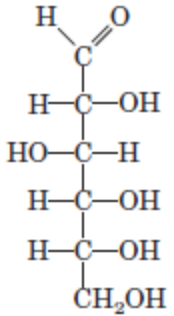


ENZİM MEKANİZMALARI

- Heksokinaz doğru substratlar bağlandığında enzim konformasyonundaki değişiklik nedeniyle Su ve glikozu ayırabilir → indüklenmiş uyuma örnek
 - Su değil de glikoz ve Mg-ATP bağlandığında bu etkileşimden gelen bağlanma enerjisi katalitik olarak aktif formu oluşturmak üzere enzimde konformasyonel değişikliği doğurur
 - Ksiloz da aynı değişimi doğurur ancak kendisi fosforillenmeyecek bir pozisyonda
 - Su kendi başına tetikleyemez, ksiloz varlığında enzim su ile kandırılır, şekil değişikliği sayesinde su fosforillenir



Xylose



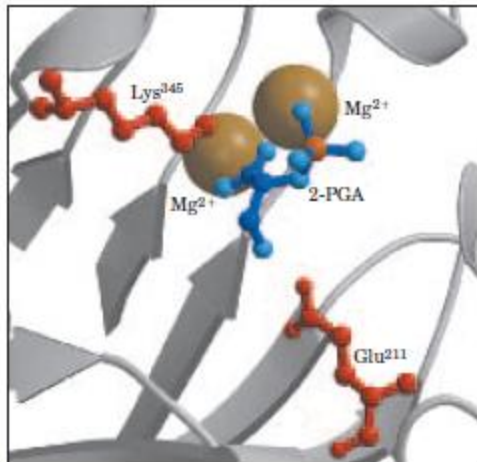
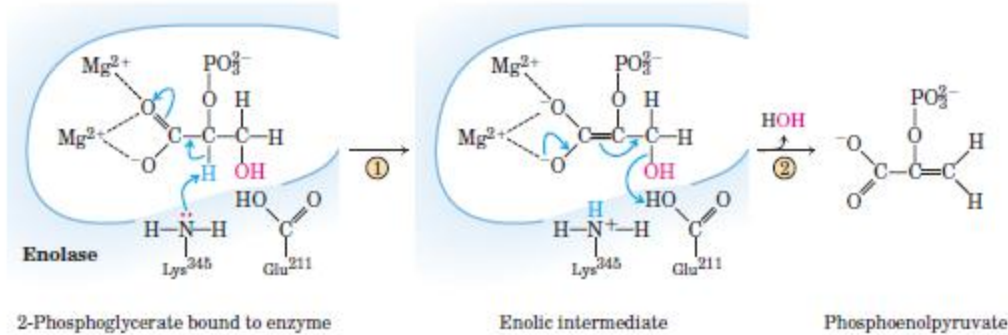
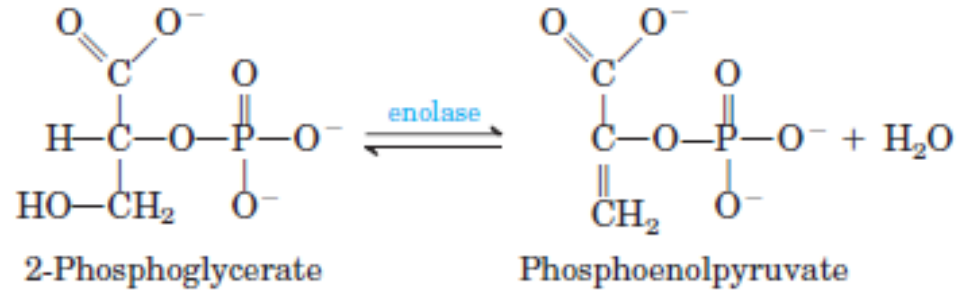
Glucose

FIGURE 6-22 Induced fit in hexokinase. (a) Hexokinase has a U-shaped structure (PDB ID 2YHX). (b) The ends pinch toward each other in a con-

formational change induced by binding of D-glucose (red) (derived from PDB ID 1HKG and PDB ID 1GLK).

ENZİM MEKANİZMALARI

- Enolaz glikoliz de etkin!
- Glikozdan enerji
- Suyun uzaklaşması ile çift bağ oluşumu
- Mg kofaktörü ile ara ürün stabilizasyonu
- Yan zincirler genel asit-baz katalizörü

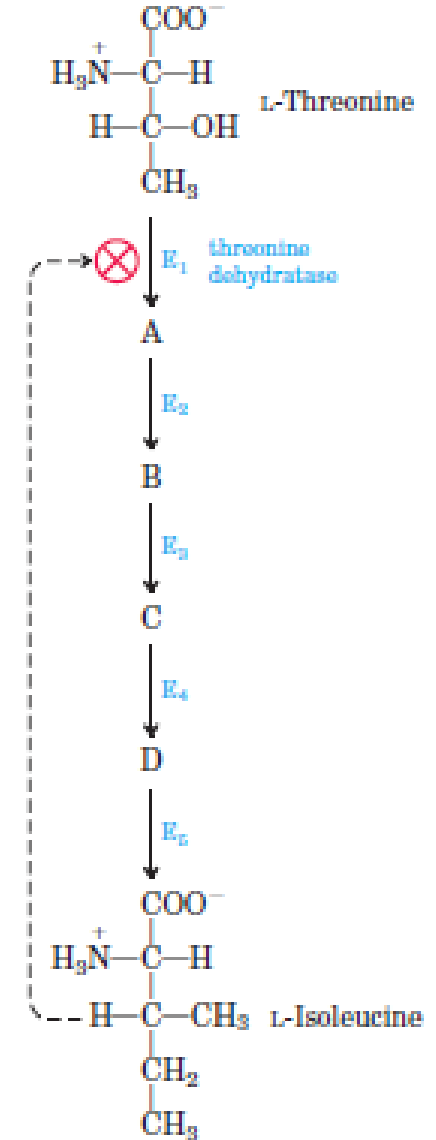


MECHANISM FIGURE 6-23 Two-step reaction catalyzed by enolase. (a) The mechanism by which enolase converts 2-phosphoglycerate (2-PGA) to phosphoenolpyruvate. The carboxyl group of 2-PGA is coordinated by two magnesium ions at the active site. A proton is abstracted in step ① by general base catalysis (Lys³⁴⁵), and the resulting enolic intermediate is stabilized by the two Mg²⁺ ions. Elimination of the —OH in step ② is facilitated by general acid catalysis (Glu²¹¹). (b) The substrate, 2-PGA, in relation to the Mg²⁺ ions, Lys³⁴⁵, and Glu²¹¹ in the enolase active site. Hydrogen atoms are not shown. All the oxygen atoms of 2-PGA are light blue; phosphorus is orange (PDB ID 1ONE).

- Mg⁺² varlığı elektron zenginlerini stabil hale getirir
- Mg⁺² varlığı ayrıca normalde yüksek pKa ya sahip (ayrılmak istemeyen zayıf asit protonu) C2 protonunun pKa sını düşürür rahat ayrılır

DÜZENLEYİCİ ENZİMLER

- Pekçok enzim, ardışık önemli metabolik yolda birlikte çalışır. Bu durumlarda ilk enzimin ürünü bir sonrakinin substratı olur.
- Her bir metabolik yolda en yavaş hız sınırlayıcı tepkimeyi katalizleyip bütün tepkimenin hızını oluşturan en azından bir enzim vardır → bu enzimlere düzenleyici enzimler denir
- Çoklu enzim sistemlerinin çoğunda dizinin ilk enzimi düzenleyici enzimdir. Böylece gereksiz metabolit üretimi ve enerji tüketimi önlenir. Balığı baştan kokutmuyor!



DÜZENLEYİCİ ENZİMLER

- İki ana sınıfı vardır. Allosterik enzimler ve diğerleri
- Allosterik enzimler genellikle küçük metabolitler veya kofaktörler olan allosterik modülatörler diye adlandırılan bileşiklerin kovalent olmayan geri dönüşümlü bağlanmasıyla işlev görürler
- Diğer düzenleyici enzimler geri dönüşümlü kovalent modifikasyonla düzenlenirler
- Düzenleyici enzimlerin her iki sınıfı da çoklu altbirimlere sahiptir

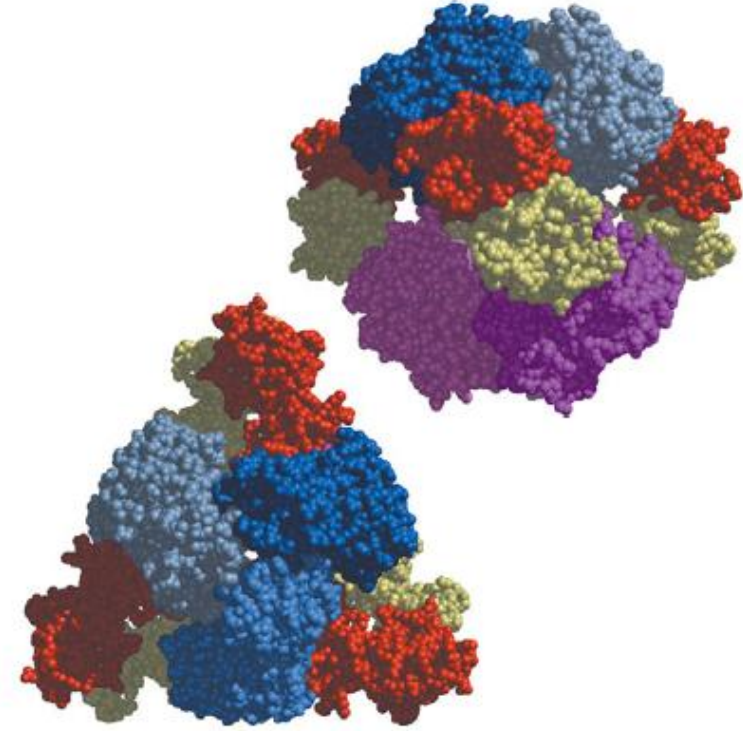


FIGURE 6-32 Two views of the regulatory enzyme aspartate transcarbamoylase. (Derived from PDB ID 2AT2.) This allosteric regulatory en-

DÜZENLEYİCİ ENZİMLER

- Allosterik enzimler modülatör bağlanmasına yanıt olarak konformasyonel değişikliğe uğrar
- Basit enzimlerden yapısal olarak da ayrılır
- Aktif bölgeye (catalytic) ek olarak, modülatör bağlanması için düzenleyici bölgelere (regulatör) Birime sahiptir
 - Nukleotit sentezinde kullanılan aspartat karbamoylaz (12 ppz) da sarı kırmızı yerler regülatör, maviler katalitik
- Modülatörler ya inhibitör ya da stimülatör olabilirler
- Stimülatör kendi substratı ise homotropik allosterik enzimler (Hb-enzim değil!)
- Modülatör kendi substratından farklı ise heterotropik allosterik enzim

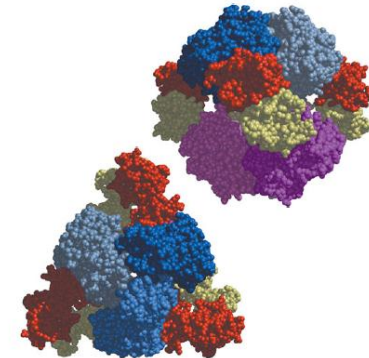
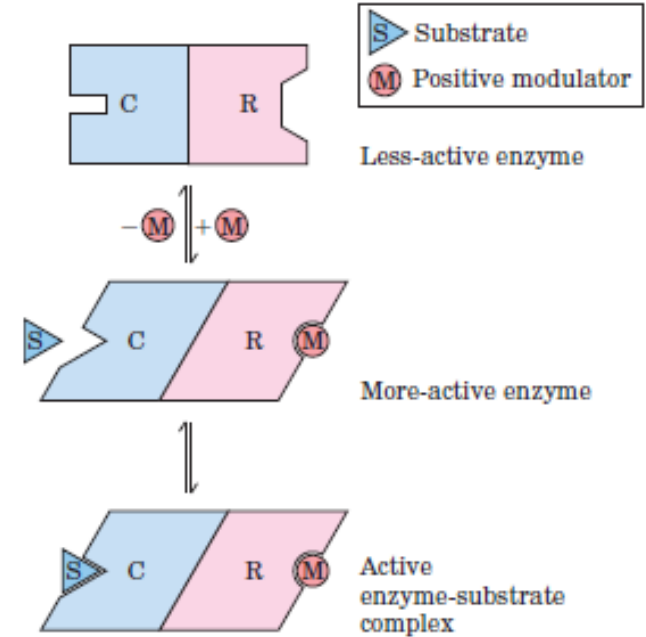


FIGURE 6-32 Two views of the regulatory enzyme aspartate transcarbamoylase. (Derived from PDB ID 2AT2.) This allosteric regulatory en-

DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-FEEDBACK İNHİBİSYON

•Bazı çoklu enzim sistemlerinde düzenleyici enzim, son ürünün derişimi hücre gereksinimini aştığında son ürün tarafından inhibe edilir

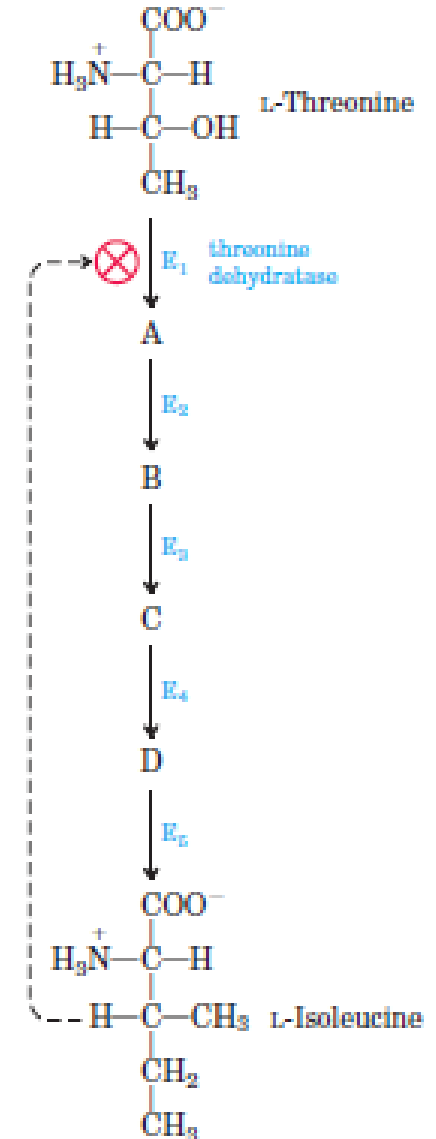
- Bu şekilde bütün ardışık enzimlerin substratları azaldığı için düşük hızlarda çalışır
- Hız azalınca ürün zamanla tükenir
- Ürün azalınca ilk enzimin aktivitesi artar
- Ürün oluşur ve denge sağlanır

•Treonin dehidrataz heterotropik allosterik bir inhibisyon örneği gösterir

•substrattan farklı olan izolösin modölatörü regölatör kısma bağlanarak inhibisyonu tetikler

•Hiçbir ara ürün değil sadece son ürün ilk enzimi inhibe eder

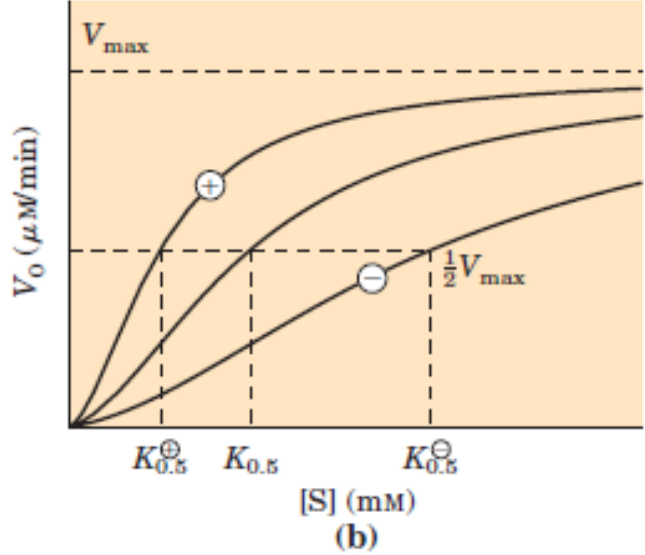
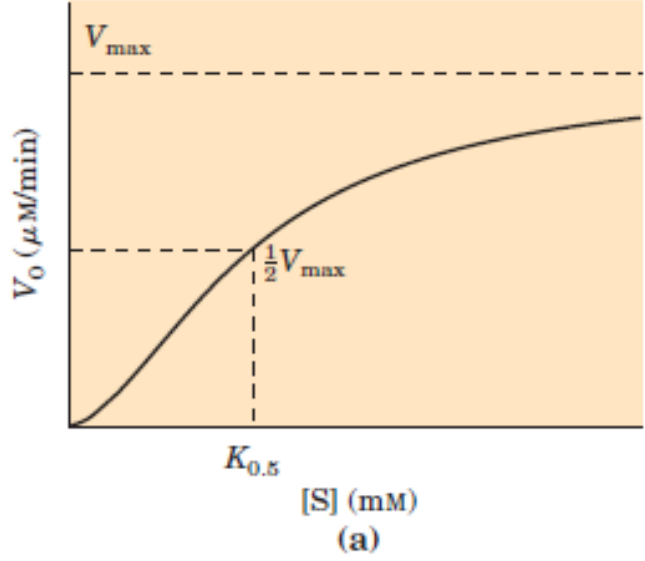
•Son ürün de hiçbir enzimi değil sadece treonin dehidratazı inhibe eder



ALLOSTERİK DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-MM Sapma

- Hiberbolikden ziyade sigmoit bir eğri
- $V_{max} / 2$ değerine tekabül eden S bulunabilir ancak bu K_m değildir çünkü MM davranışı göstermiyor
- $[S]_{0,5}$ veya $K_{0,5}$ bunun için kullanılıyor
- Sigmoit davranış çoklu altbirimler arası etkileşimi yansıtır.

S → modulator yani?



- Bir altbirimin yapısındaki değişiklikler kovalent olmayan etkileşimlerle komşu altbirimlerdeki yapısal değişiklikleri tetikler
- Enzimin katalitik aktivitesi ve tepkime hızı basit enzimlerden farklı olarak altbirimlerin birbirlerini tetiklemesi ile oluşuyor
 - Basit enzimde substrata uygun cep ve MM davranış, hiberbolik eğri
 - Burda ise M bağlanacak ona göre altbirimlerde yapısal değişiklik...
- Stimülatör varlığında aynı hıza ulaşmak daha az S ile , inhibitör varlığında ise daha fazla S ile mümkün →

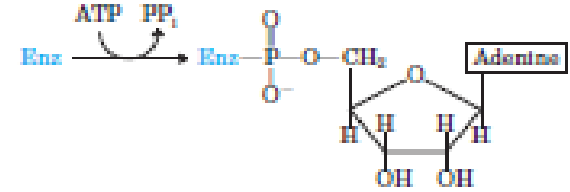
DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-KOVALENT MODİFİKASYON

- Bu düzenleyici enzimlerde aktivite, enzimin kovalent modifikasyonu ile sağlanır
- Fosforil, adenil, metil gibi gruplar düzenleyici enzimlere başka enzimler tarafından kovalent olarak bağlanır veya uzaklaştırılır
- Metillenme örneği: Bakterilerde kemotoksis proteini bir çözültide çeken moleküllere doğru yüzmeyi, ve tehlikelilerden kaçmayı sağlayan sistemin bir parçası.
- Bilinen kovalent modifikasyonlarının çoğunluğunu fosforillenmeler oluşturuyor
- Bir proteinin özgül AA kalıntılarına fosforil takılması işlemini protein kinazlar gerçekleştirir.
- Ayrılmasını da fosfotazlar katalizler

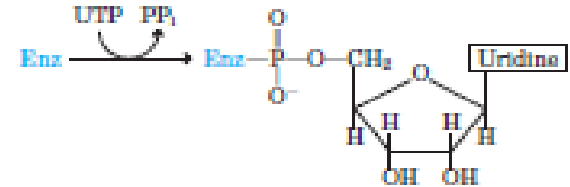
Phosphorylation (Tyr, Ser, Thr, His)



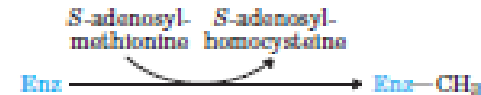
Adenylation (Tyr)



Uridylation (Tyr)



Methylation (Glu)



DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-KOVALENT MODİFİKASYON

•Böyle bir modifikasyonun yapısal değişiklikleri tetikleyeceği açıktır

- Hiçbir AA çift negatif yükte yan grubu yok
- Negatif yüklü AA lerle elektrostatik itme
- Üç boyutlu yapı (aktif bölge konf.) değişimi substrat bağlanması ve katalizde değişim

•Bunun bir örneği kas ve karaciğerde glikojen depolarından glikoz çıkaran glikojen fosforilaz enziminde görülebilir

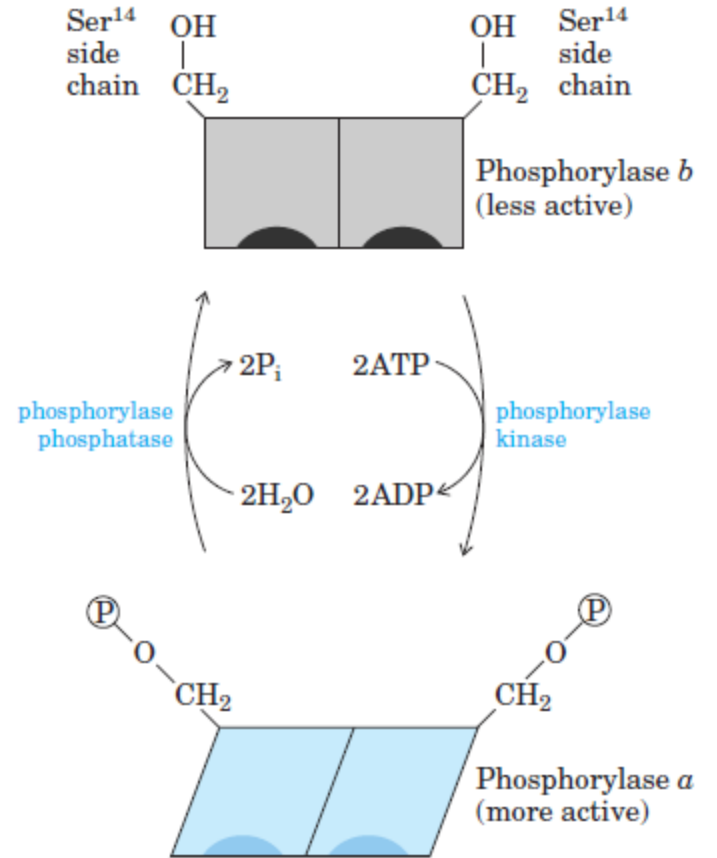
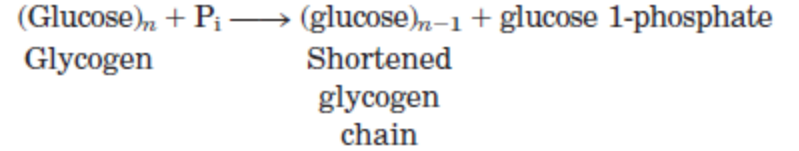
- Düzenleyici bir enzim
- Bunun fonksiyonu fosforillenme ile düzenlenir

•Serinlere fosforil takılması fosforilaz a formunu daha aktif formu doğurur

- Bu işi yapan enzim Fosforilaz kinaz

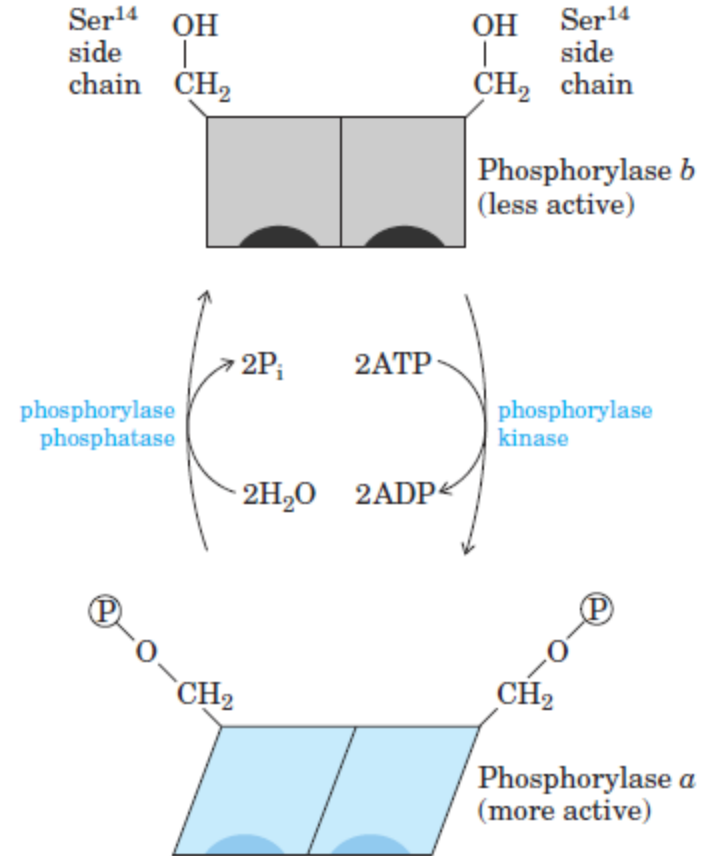
•Aktif formdan fosforil uzaklaştırılması ve tekrar normal Ser formuna dönmesi az aktif forma çevirir

- Bu işi yapan enzim fosforilaz fosfataz



DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-KOVALENT MODİFİKASYON

- Glikojen fosforilaz bir kinaz mıdır?
 - Protein değil ama Carbohidrat Kinaz
- Fosforillenme substrat bağlanma yatkınlığını da değiştirebilir
- Sitrik asit döngüsünde bir enzim olan izositrat dehidrogenaz fosforillendiği zaman elektrostatik itme kaynaklı sitratın bağlanmasını inhibe eder.
- O zaman sitrat ne yüklü?
- Trikarboksilik asit



DÜZENLEYİCİ ENZİMLER-KOVALENT MODİFİKASYON

- Protein kinazların AA diziliminde fosforillediği ortak yapısal motifler yani AA dizileri var
- Bunlara konsensus dizileri ismi verilir
 - Yani her AA yı değil de belli bir kod sırasını takiben fosforil grubunu takıyorlar
 - Tipik olarak serin (S), tyrosin (Y) ve treonin (T) kalıntıları fosforillenir
- Bazı kinazlar bazik komşulara sahip olan kalıntıyı, bazıları hidrofobik kalıntı komşularını, bazıları prolin komşularını fosforiller

TABLE 6-10 Consensus Sequences for Protein Kinases

Protein kinase	Consensus sequence and phosphorylated residue*
Protein kinase A	-X-R-(R/K)-X-(S/T)-B-
Protein kinase G	-X-R-(R/K)-X-(S/T)-X-
Protein kinase C	-(R/K)-(R/K)-X-(S/T)-B-(R/K)-(R/K)-
Protein kinase B	-X-R-X-(S/T)-X-K-
Ca ²⁺ /calmodulin kinase I	-B-X-R-X-X-(S/T)-X-X-X-B-
Ca ²⁺ /calmodulin kinase II	-B-X-(R/K)-X-X-(S/T)-X-X-
Myosin light chain kinase (smooth muscle)	-K-K-R-X-X-S-X-B-B-
Phosphorylase b kinase	-K-R-K-Q-I-S-V-R-
Extracellular signal-regulated kinase (ERK)	-P-X-(S/T)-P-P-
Cyclin-dependent protein kinase (cdc2)	-X-(S/T)-P-X-(K/R)-
Casein kinase I	-(Sp/Tp)-X-X-(X)-(S/T)-B
Casein kinase II	-X-(S/T)-X-X-(E/D/Sp/Yp)-X-
β -Adrenergic receptor kinase	-(D/E) _n -(S/T)-X-X-X-
Rhodopsin kinase	-X-X-(S/T)-(E) _n -
Insulin receptor kinase	-X-E-E-E-Y-M-M-M-M-K-K-S-R-G-D-Y-M-T-M-Q-I-G-K-K-K- L-P-A-T-G-D-Y-M-N-M-S-P-V-G-D-
Epidermal growth factor (EGF) receptor kinase	-E-E-E-E-Y-F-E-L-V-

Hidrofobik

Bazik
E glutamat