

ENZİMATİK TEPKİMELERİN KİNETİĞİ**Michaelis-Menten Yaklaşımı**

Varsayımlar:

1. ES kompleksi oluşumu hızlı bir denge tepkimesidir. Yani enzim ile substrat arasında ES kompleksini oluşturmak üzere hızlı bir denge vardır.

$$\text{Ayrışma sabiti: } Km = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{C_E \cdot C_S}{C_{ES}}$$

2. ES nin ürüne parçalanması tersinmez bir tepkimedir.

$k_2 \gg k_2'$



Stokiyometrik ilişki gereği substratın kaybolma ($-r_s$) ve ürünün oluşum (r_u) hızları birbirine eşittir (r).

$$r = \frac{dC_{\dot{U}}}{dt} = -\frac{dC_S}{dt}$$

$$r = \frac{dC_{\dot{U}}}{dt} = k_2 C_{ES} \quad \text{yazılabilir.}$$

(Başlangıçta ortama konulan toplam enzim) = (Serbest enzim) + (Kompleks halinde bağlı enzim)

$$C_{Eo} = C_E + C_{ES}$$

$$C_E = C_{Eo} - C_{ES}$$

$$Km = \frac{C_E C_S}{C_{ES}} = \frac{(C_{Eo} - C_{ES}) C_S}{C_{ES}} \Rightarrow C_{ES} = \frac{C_{Eo} C_S}{Km + C_S}$$

Tepkime hız ifadesinde yerine konulursa:

$$r = \frac{k_2 C_{Eo} C_S}{Km + C_S} \quad \text{Henry-Michaelis-Menten Denklemi}$$

$$k_2 C_{Eo} = r_{\max}$$

Burada:

C_S = serbest substrat derişimi

r = tepkime hızı

r_{\max} = maksimum hız

Km = Michaelis-Menten sabiti

Briggs-Haldene Yaklaşımı

yaklaşık-yatışkın-koşul varsayımı

Reaksiyon başladıktan çok kısa bir zaman sonra:

$$\frac{dCES}{dt} = 0$$

$$\frac{dC_{ES}}{dt} = k_1 C_E C_S - k_{-1} C_{ES} - k_2 C_{ES} = 0 \Rightarrow C_{ES} = \frac{k_1 C_E C_S}{(k_{-1} + k_2)}$$

Enzim için:

$$C_{Eo} = C_E + C_{ES}$$

$$C_{Eo} = C_E + \frac{k_1 C_E C_S}{(k_{-1} + k_2)} \Rightarrow C_E = \frac{C_{Eo}}{1 + \frac{k_1 C_S}{k_{-1} + k_2}}$$

$$C_{ES} = \frac{k_1 C_S}{(k_{-1} + k_2)} \times \frac{C_{Eo}}{1 + \frac{k_1 C_S}{k_{-1} + k_2}} = \frac{k_1 C_S C_{Eo}}{(k_{-1} + k_2) + k_1 C_S} = \frac{C_{Eo} C_S}{\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} + C_S}$$

$$C_{ES} = \frac{C_{Eo} C_S}{Km + C_S}$$

$$r = k_2 C_{ES} = \frac{k_2 C_{Eo} C_S}{Km + C_S}$$

$$r = \frac{r_{\max} C_S}{Km + C_S}$$

MM denklemi $C_{S0} \gg C_{E0}$ koşulları için geçerli olduğu ve tepkimenin ilerleyen zamanlarında bu varsayım geçerliliğini yitireceği için başlangıç değerleri cinsinden ifade edilir.

$$r_0 = \frac{r_{\max} C_{S0}}{Km + C_{S0}} \quad C_{E0} = s_{bt}$$

Başlangıç Hızı

Tepkimenin $t=0$ anındaki hızıdır ve $(t; C_U)$ grafiğinde veya $(t; C_S)$ grafiğinde başlangıçtan geçen doğrunun (teğetin) eğiminden bulunur.

$$r_0 = \left. \frac{dC_U}{dt} \right|_{t=0} = - \left. \frac{dC_S}{dt} \right|_{t=0}$$

MM Denkleminin Enzim Derişimine Bağlılığı

Sabit C_S değerinde MM hız ifadesi enzim derişimine doğrusal olarak bağlıdır. Ancak çok yüksek enzim derişimlerinde $C_{E0} \geq C_{S0}$ olduğu zaman bu geçerliliğini kaybeder.

Tepkime Mertebesi

MM denklemi substrat derişimi tepkime hızına karşı grafiğe geçirilirse üç ayrı bölgenin olduğu görülür. Tepkime hızı substrat derişimini büyüklüğüne göre farklı mertebelerde olmaktadır.

I. Bölge: Düşük substrat derişimi

$$C_S \ll Km \quad r = \frac{r_{\max}}{Km} C_S \Rightarrow \text{1. mertebe tepkime}$$

II. Bölge: Büyük substrat derişimi

$$C_S \gg Km \quad r = r_{\max} \Rightarrow \text{0. mertebe tepkime}$$

III. Bölge: Geçiş bölgesi

$$\text{Özel konum: } C_S = Km \quad r = \frac{r_{\max}}{2} \quad ; \quad Km \Rightarrow r = \frac{r_{\max}}{2} \text{ deki substrat derişimi}$$

MM Denklem Sabitlerinin Bulunması

MM denklemi (başlangıç substrat derişimi- başlangıç hız) verilerinden yararlanılarak çözülebilir. Bu amaçla en çok kullanılan yöntem MM denklemini Lineweaver-Burk tipi denklem şeklinde doğrusal hale getirmektir.

$$r_0 = \frac{r_{\max} C_S}{Km + C_S} \quad \text{denklemleri ters çevrilirse;}$$

$$\frac{1}{r} = \frac{Km}{r_{\max}} \frac{1}{C_S} + \frac{1}{r_{\max}}$$

Bu, $(\frac{1}{r}; \frac{1}{C_S})$ grafiğinde $egim = \frac{Km}{r_{max}}$ $kayma = \frac{1}{r_{max}}$ olan bir doğru denklemdir.

Eadie-Hoffste Denklemi:

$$r = \frac{r_{max} C_S}{Km + C_S} \quad r(Km + C_S) = r_{max} C_S \quad rKm = (r_{max} - r)C_S$$

$$\frac{r}{C_S} = \frac{r_{max}}{K_m} - \frac{1}{K_m} r$$

Bu $\frac{r}{C_S}; r$ grafiğinde $egim = -\frac{1}{K_m}$ $kayma = \frac{r_{max}}{K_m}$ olan doğru denklemdir.

Hanes-Woolf Denklemi (Langmuir Denklemi):

$$C_S \cdot x \left(\frac{1}{r} = \frac{Km}{r_{max}} \frac{1}{C_S} + \frac{1}{r_{max}} \right) \cdot x C_S \quad \frac{C_S}{r} = \frac{Km}{r_{max}} + \frac{C_S}{r_{max}}$$

Bu $\frac{C_S}{r}; C_S$ grafiğinde $egim = \frac{1}{r_{max}}$ $kayma = \frac{K_m}{r_{max}}$ olan doğru denklemdir.

Tersinir MM Denklemi

MM denkleminin en önemli varsayımlarında biri ES'nin parçalanma tepkimesinin tersinmez olmasıdır. Bu varsayımın yapılmadığı durumda:



Yaklaşık-yatışkın-koşul varsayımı:

$$r = \frac{dC_{\dot{U}}}{dt} = k_2 C_{ES} - k_{-2} C_E C_S \quad \text{ürün oluşum hızı}$$

$$r = -\frac{dC_S}{dt} = k_1 C_E C_S - k_{-1} C_{ES} \quad \text{substrat kaybolma hızı}$$

$$\frac{dC_{ES}}{dt} = k_1 C_E C_S - k_{-1} C_{ES} - k_2 C_{ES} + k_{-2} C_E C_S = 0$$

$$(k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}}) C_E - (k_2 + k_{-1}) C_{ES} = 0$$

$$C_{ES} = \frac{(k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}}) C_E}{(k_2 + k_{-1})}$$

$$\text{Enzim için: } C_{Eo} = C_E + C_{ES}$$

$$C_E = \frac{(k_2 + k_{-1}) C_{Eo}}{(k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})}$$

$$C_{ES} = \frac{(k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})}{(k_2 + k_{-1})} \times \frac{(k_2 + k_{-1}) C_{Eo}}{(k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})}$$

$$C_{ES} = \frac{(k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}}) C_{Eo}}{(k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})}$$

$r = k_1 C_E C_S - k_{-1} C_{ES}$ denkleminde yerine konursa:

$$r = \frac{k(k_2 + k_{-1}) C_{Eo} C_S}{(k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})} - \frac{(k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}}) C_{Eo} k_{-1}}{((k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}}))}$$

$$r = \frac{(k_1 k_2 C_S - k_{-1} k_{-2} C_{\dot{U}}) C_{Eo}}{(k_2 + k_{-1}) + (k_1 C_S + k_{-2} C_{\dot{U}})}$$

Denklem düzenlenirse:

$$C_{\dot{U}}=0 \text{ için } r = \frac{k_1 k_2 C_{Eo} C_S}{k_2 + k_{-1} + k_1 C_S} \quad r = \frac{k_2 C_{Eo} C_S}{\frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} + C_S}$$

$$K_S = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} \quad r_{\max} = k_2 C_{Eo} \quad r = \frac{r_{\max(1)} C_S}{K_S + C_S}$$

$$C_S=0 \text{ için: } r = \frac{-k_{-1} k_{-2} C_{Eo} C_{\dot{U}}}{k_2 + k_{-1} + k_{-2} C_{\dot{U}}} \quad r = \frac{-k_{-1} C_{Eo} C_{\dot{U}}}{\frac{k_2 + k_{-1}}{k_{-2}} + C_{\dot{U}}}$$

$$K_{\dot{U}} = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_{-2}} \quad r_{\max} = k_{-1} C_{Eo} \quad r = \frac{-r_{\max(2)} C_S}{K_{\dot{U}} + C_{\dot{U}}}$$

$$r = \frac{\frac{r_{\max(1)}}{K_S} C_S - \frac{r_{\max(2)}}{K_{\dot{U}}} C_{\dot{U}}}{1 + \frac{C_S}{K_S} + \frac{C_{\dot{U}}}{K_{\dot{U}}}} \quad \text{Tersinir MM Denklemi}$$

Dengede $r=0$

$$\frac{r_{\max(1)} C_S}{K_S} = \frac{r_{\max(2)} C_{\dot{U}}}{K_{\dot{U}}}$$

$$K_{\text{denge}} = \frac{C_{\dot{U}}}{C_S} = \frac{K_{\dot{U}} r_{\max(1)}}{K_S r_{\max(2)}} \quad \text{Haldane Bağıntısı}$$

Kaynak:

1. Bailey JE and Ollis DF, 1986. Biochemical Engineering Fundamentals, McGraw Hill, 2.baskı, NY
2. Shuler,ML and Kargı F, 2001. Bioprocess Engineering: Basic Concepts, 2. Baskı, Prentice Hall, NJ