

ENZİMLER-2

ENZİMLER

2. Hafta

Ders Konuları

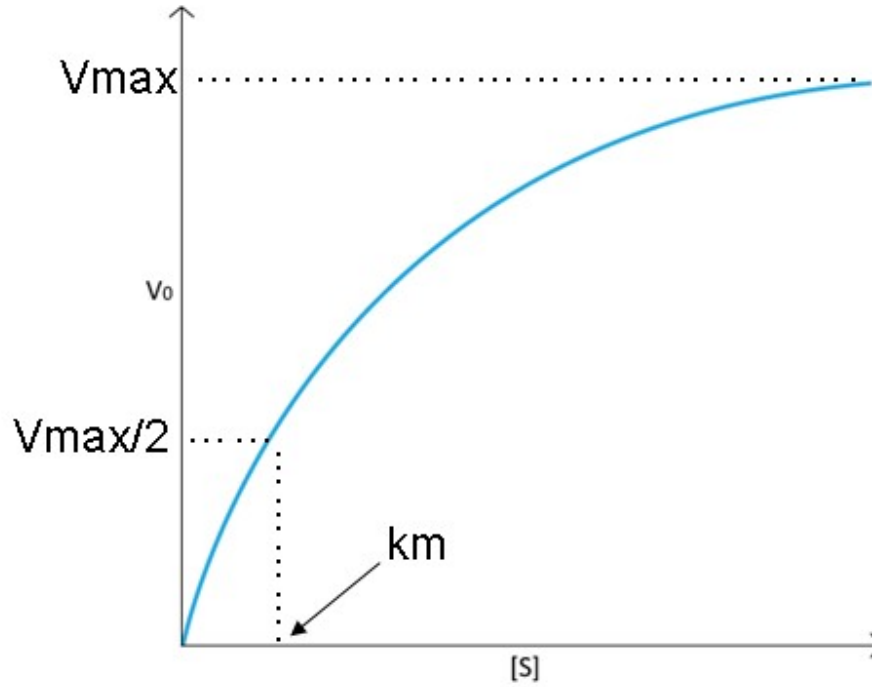
1) Enzim Katalizli Reaksiyonların Kinetiği

- Michaelis Menten Kinetiği
- Michaelis Menten eşitliğinin temelleri ve çıkarımı
- Michaelis Menten eşitliğinin sonuçları ve önemi
- k_m ve k_{cat} terimlerinin fizyolojik anlamı

2) Enzimlerin İnhibisyonları

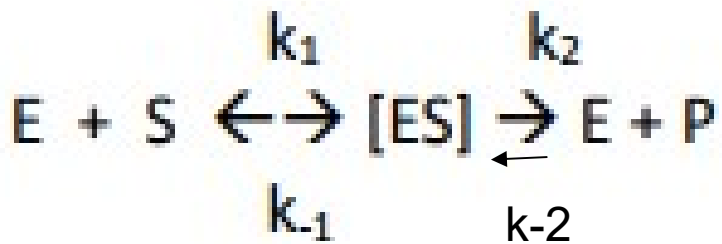
- Geri Dönüşümsüz İnhibisyonlar (İrreversibl İnhibisyonlar)
- Geri Dönüşümlü İnhibisyonlar (Reversibl İnhibisyonlar)

ENZİM KATALİZLİ REAKSİYONLARIN KİNETİĞİ

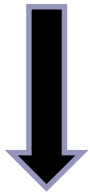


Enzim katalizli bir reaksiyonda reaksiyon hızı ve substrat konsantrasyonu arasındaki ilişki

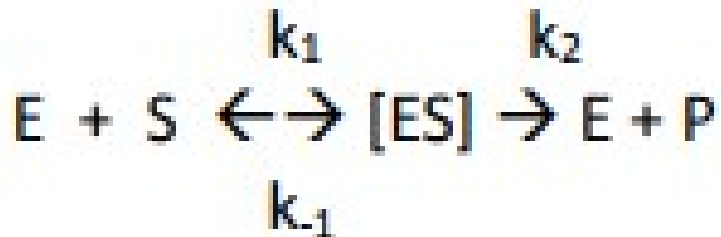
Michaelis Menten Eşitliği'nin temelleri

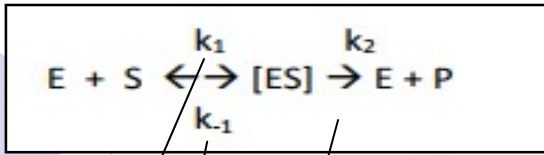


Bu eşitlik, reaksiyon dengeye (equilibrium'a) ulaştığında elde edilen eşitliktir.



Bu reaksiyonu sadeleştirmek üzere reaksiyonun başlangıcını düşünelim, reaksiyonun başında $t=0$ a yakın olduğunda, çok az ürün oluşacağı için üründen geri dönüşüm ihmal edilir.





1) Reaksiyonun hız eşitliği

$$v_0 = k_2[ES]$$

2) ES'nin oluşum hızı

$$k_1[E][S] :$$

3) ES'nin disosiasyon hızı

$$: k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

4) Dengede ES'nin oluşum hızı disosiasyon hızına eşittir.

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

5) $[E_T] = [E] + [ES]$

6) $k_1(E_T - ES)[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$

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

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

Michaelis Menten Eşitliği'nin Çıkarımı

7)

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

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

8) $v_0 = \frac{k_2[E_T][S]}{K_M + [S]} = \frac{k_{cat}[E_T][S]}{K_M + [S]}$

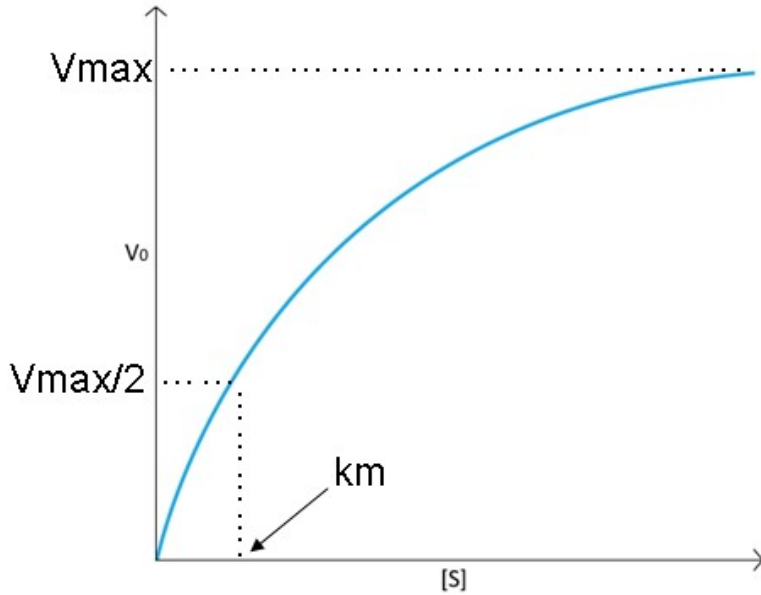
$$[ES] = \frac{k_1[E][S]}{k_{-1} + k_2}$$

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}$$

Michaelis Menten Eşitliği:

$$v_0 = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]}$$

Michaelis Menten Eşitliği'nin sonuçları



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

1) $K_m = [S]$ olduğunda $V_o = V_{max}/2$

2) $K_m \gg \gg \gg [S]$ olduğunda $V_o = \frac{V_{max} \cdot [S]}{K_m}$

t 0'a yakın olduğunda reaksiyon birinci düzendir ve substrat konsantrasyonu ile orantılıdır.

2) $K_m \ll \ll \ll [S]$ olduğunda $V_o = V_{max}$

Sona yaklaşıldığında ve substrat konsantrasyonu çok yüksek olduğunda reaksiyon sıfırıncı düzendir.

Km'in fizyolojik anlamı

- Km, Michaelis sabiti olarak bilinir ve enzimden enzime değışiklik gösterir.
- pH ve sıcaklık gibi çevresel koşullar değıştiğinde Michealis sabiti de değışebilir.

Km değerin en temel iki tanımı vardır:

1)

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

V=Vmax/2 olduğunda Km=[S]

2)

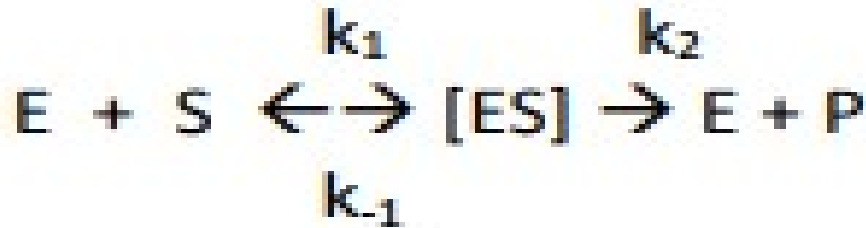


$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

k-1>>>k2 olduğunda

km= k-1/k1 olacağı için ,
km değeri aynı zamanda
enzimin substrattan
disosiye olma (ayrılma)
eğilimini de ifade eder.

kcat (Turnover sayısı) nedir?



$$V_0 = k_2[ES]$$

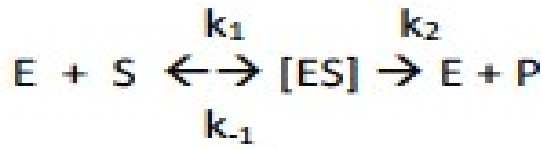
$$[ES] = [E]_{\text{total}}$$

$$V_{\text{max}} = k_2 \cdot [E]_{\text{total}}$$

Aynı zamanda kcat olarak da bilinen k_2 , bir enzimin 'turnover' sayısını belirler

Bir enzimin turnover sayısı, birim zamanda bir enzimin tek bir aktif bölgesi tarafından ürüne dönüştürülen substrat sayısını ifade eder.

Örnek: Bir enzimin $[E_t] = 0.2 \text{ M}$ olsun, bu konsantrasyonda enzimin maksimum hızı 400000 M/sn ise, enzimin kcat değeri???



1) Reaksiyonun hız eşitliği

$$v_0 = k_2 [ES]$$

2) ES'nin oluşum hızı

$$k_1 [E][S] =$$

3) ES'nin

disosiasyon hızı : $k_{-1}[ES] + k_2[ES]$

4) Dengede ES'nin oluşum hızı disosiasyon hızına eşittir.

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

$$5) [E_T] = [E] + [ES]$$

$$6) k_1 (E_T - ES)[S] = k_{-1}[ES] + k_2[ES]$$

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

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

Michaelis Menten Eşitliği'nin Çıkarımı

7)

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

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

$$8) v_0 = \frac{k_2 [E_T][S]}{K_M + [S]} = \frac{k_{cat} [E_T][S]}{K_M + [S]}$$

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

$$[ES] = [E] [S] / k_m$$

Michaelis Menten Eşitliği:

$$v_0 = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

$$v_0 = k_{cat} [ES]$$

$$v_0 = \frac{k_{cat}}{K_M} [E]_{Total} [S]$$

Enzimle katalizlenen reaksiyonların hızı nelere bağlıdır?

$$V_0 = k_{cat}[ES]$$

$$[ES] = [E][S]/K_m$$

$$V_0 = k_{cat}/K_m \cdot [E]_{total} [S]$$

!!!! k_{cat}/K_m , bir enzimin katalitik etkinliğini ifade etmektedir.

- 1) Total enzim konsantrasyonu
- 2) Substrat konsantrasyonu
- 3) k_{cat}/K_m

km ve enzimin substrata affinitesi- Örnek

Fizyolojik anlamı nedir?

Heksokinaz→→ Düşük Km (0.1 mM) Kan glukoz düzeyleri relatif olarak düşük olduğunda bile glikolizin başlamasına olanak tanır

Glukookinaz→→ Yüksek Km (10 mM) Karbohidratça zengin bir yemekten sonra, portal vende glukozun çok yüksek olduğu zaman en aktiftir.

Lineweaver Burk Denklemi-Grafiği

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

Michaelis Menten eşitliğinin
çift resiprokali alınarak
Lineweaver Burk denklemi
elde edilmiştir.

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

ENZİM İNHİBİSYONU

Enzimlerin hem *in vivo* hem de *in vitro* aktivitelerinin, bazı bileşikler tarafından azaltılması veya tamamen yok edilmesine inhibisyon ve inhibisyon yapan bileşiklere de inhibitör adı verilir.

- ▶ İnhibitörler küçük molekül ağırlığına sahip bileşikler veya iyonlar olabilmektedir.
- ▶ Enzimatik aktivitesinin inhibisyonu, biyolojik sistemlerde bir kontrol mekanizması oluşturmasının yanında çeşitli ilaçlar ve zehirli bileşikler etkilerini enzim inhibisyonu yaparak gerçekleştirirler.
- ▶ Günümüzde yaygın olarak kullanılan pek çok ilaç da enzim inhibitörü olarak etki göstermektedir.
- ▶ İnhibisyon olayından aynı zamanda enzim etki mekanizmalarının incelenmesinde de faydalanılır.

Enzimlerin İnhibisyonu:

- 1) Geri dönüşümsüz (İrreversible) İnhibisyon
- 2) Geri dönüşümlü (Reversible) İnhibisyon
 - Kompetitif (Yarışmalı) İnhibisyon
 - Unkompetitif İnhibisyon
 - Non kompetitif İnhibisyon

Enzimatik inhibisyon geri dönüşümsüz (tersinmez) veya geri dönüşümlü (tersinir) olabilir.

1) Geri Dönüşümsüz (Irreversible) İnhibisyon

Geri dönüşümsüz inhibitör enzime ya kovalent olarak bağlanır veya zor ayrışabilen bir kompleks oluşturur.

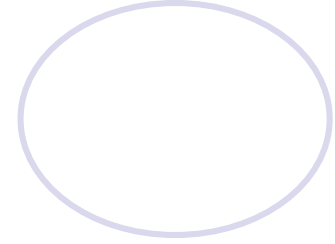
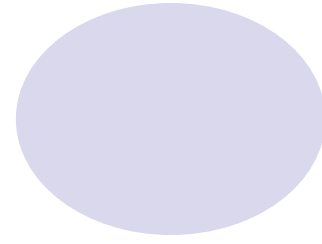
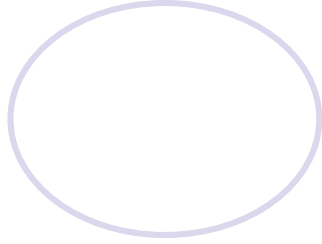
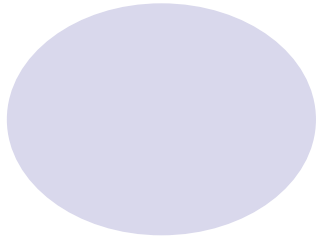
- Sit c oksidaz inh. (Siyanür → Fe, Cu, Zn ve diğer geçiş metalleri)
- Proteaz inh. (Merküri benzoat → sülfhidril)
- Kolin esteraz inh. (Diizopropil florofosfat → serin hidroksil)
- Sistein peptidaz inh. Glikoliz inh. (İyodoasetat → sülfhidril, imidazol, karboksil ve iyoeter grupları)

Geri Dönüşümsüz inhibisyona örnekler

Çeşitli ilaçlar, etkilerini geri dönüşümsüz inhibisyon yaparak gösterirler.

Penisilin → → → Glikopeptid transpeptidaz inhibisyonu

Aspirin → → → COX inhibisyonu



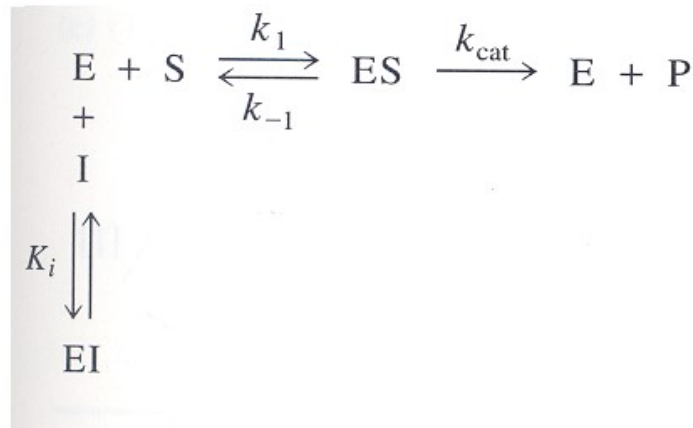
2) Geri dönüşümlü (Tersinir, Reversible) inhibisyonlar:

1. Kompetitif (Yarışmalı) İnhibisyon
2. Unkompetitif (Yarı Yarışmalı) İnhibisyon
3. Nonkompetitif (Yarışmasız) İnhibisyon

1. Kompetitif (Yarışmalı) İnhibisyon

Bu tür inhibisyon yapı bakımından substrata benzeyen maddeler tarafından yapılır.

- İnhibitör aktif merkeze bağlanarak enzim-inhibitör kompleksi oluşturur.
- Bu tür inhibitörler substrat molekülleri ile yarış yaptığı için bu tür inhibisyona yarışmalı inhibisyon (kompetitif inhibisyon) adı verilir.



Kompetitif inhibisyona örnekler

Malonat →→→ Süksinat dehidrogenaz inhibisyonu (Süksinat ile yarışma)

Etanol →→→ Metanol ile alkol dehidrogenaza bağlanmak için yarışma

Metotreksat →→→ Folik asitle Dihidrofolat redüktaz enzimine bağlanmak için yarışma

Sülfonamid →→→ PABA ile Dihidropteorat redüktaz enzimine bağlanmak için yarışma

Kompetitif inhibisyona örnekler- ÖZET

- ▶ TCA döngüsünde görev yapan süksinat dehidrogenaz enzimi de malonat tarafından kompetitif inhibisyona uğrar.
- ▶ Metanol zehirlenmesinde, tedavi olarak metanolün yarışmalı inhibitörü olan etanol uygulanmaktadır.
- ▶ Metotreksat, folik asitin yapısına benzerlik gösterir ve dihidrofolat redüktazı inhibe ederek nükleotid sentezini inhibe etmektedir ve kemoterapide kullanılmaktadır.
- ▶ Sulfonilamid grubu antibiyotikler, p-amino benzoik asidin yapısına çok benzediği için kompetitif inhibitör olarak etki eder ve bakteriyel proliferasyonu inhibe eder.

Kompetetif inhibisyonun reaksiyon kinetiğine etkileri

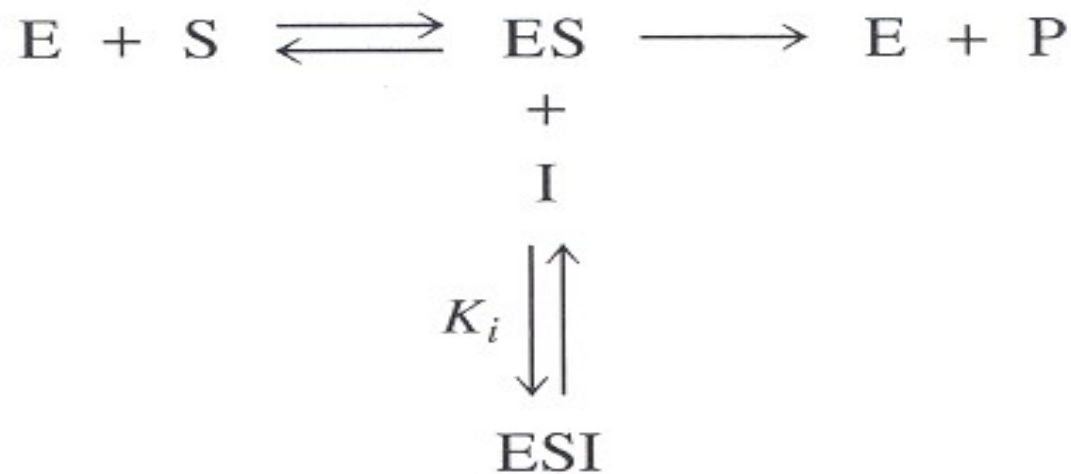
Kompetetif inhibisyonda,

Enzimin substrata olan ilgisi azalmaktadır. Artan substrat konsantrasyonu ile inhibisyon geri dönmektedir.

K_m değeri artarken **V_{max}** değerinde herhangi bir değişme olmaz.

2. Unkompetitif (Yarı Yarışmalı) İnhibisyon

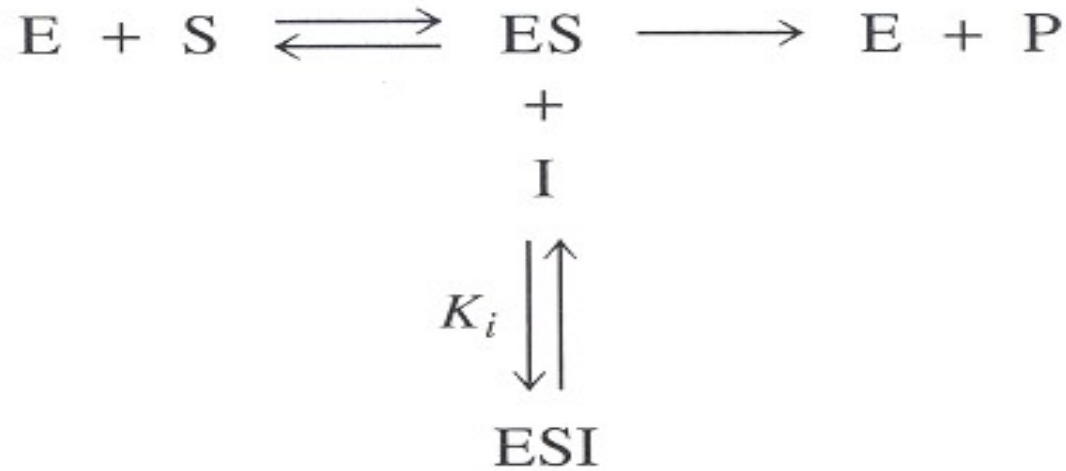
Bu tür inhibisyonda inhibitör, enzime aktif bölgesinin dışındaki bir bölgeden ve sadece enzim substrat kompleksine bağlanmaktadır.



Unkompetetif inhibisyonun reaksiyon kinetiğine etkisi

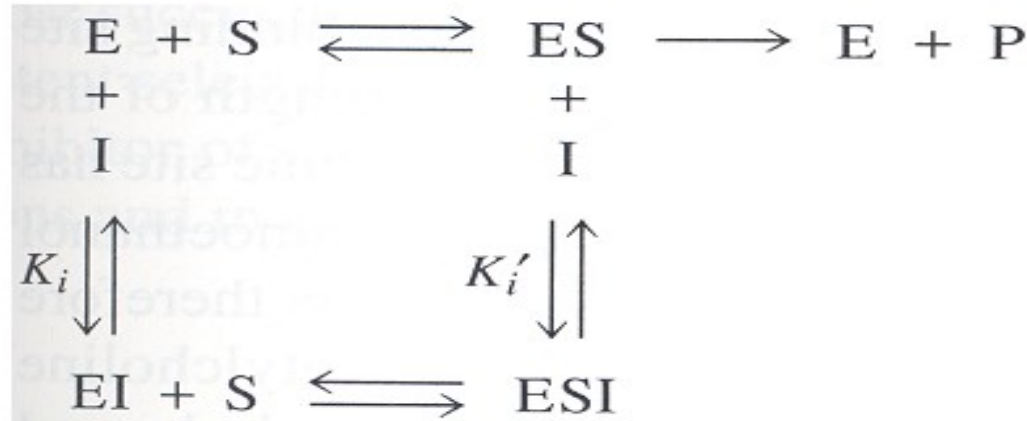
ES kompleksi ortamdan uzaklaştığı için **V_{max}** değeri azalır.

Enzimin substrata bağlanması, inhibitör bağlanması için uyarıcı gibi davranır, bu nedenle **k_m** değeri azalır.



3. Yarışmasız (Non-kompetitif) İnhibisyon

- ▶ Eğer bir inhibitör, enzime aktif merkezin dışındaki bir bölgesinden bağlanarak inhibisyona neden oluyorsa bu tip inhibitöre nonkompetitif inhibitör, meydana gelen inhibisyona da nonkompetitif inhibisyon denir.
- ▶ Bu tür bir inhibitör etkisini bir enzimin turnover sayısını yani katalitik aktivitesini düşürerek gösterir. Nonkompetitif inhibisyonların bir kısmı geriye dönüşlü bir kısmı ise geriye dönüşsüzdür !!!.





Non-kompetitif inhibisyona örnekler

Katalizlemede metal iyonlarına gerek duyan enzimlerin aktiviteleri, bazı bileşiklerin bu metal iyonlarına bağlanmaları sonucu nonkompetitif olarak inhibe edilebilir. Örneğin CN^- , demir içeren enzimleri inhibe edebildiği gibi, EDTA da Mg^{+2} iyonu kullanan enzimleri inhibe edebilmektedir.

Non-kompetitif inhibisyonun reaksiyon kinetiğine etkileri

- ▶ Yarışmasız (nonkompetitif) inhibisyonda Lineweaver-Burk eğrisinin y eksenini kestiği nokta artar, yani **V_{max}** azalır.
- ▶ V_{max}'ın tersine **K_m** yarışmasız inhibisyondan etkilenmez.
- ▶ Bu inhibisyon substrat konsantrasyonu artırılarak önlenemez.

