

ENZİMLER

3. Hafta

Ders Konuları

1) Enzim Katalizinin Mekanizmaları

- Kovalan Kataliz
- Yakınlığa (proximity) bağlı kataliz
- Asit-Baz katalizi
- Metal iyon katalizi

2) Enzimlerin Regülasyonu

- Allosterik Regülasyon
- Geri dönüşümlü (reversibl) kovalan modifikasyon
- Proteolitik parçalanma
- Enzim konsantrasyonu
- İzoenzimler (izozimler)

ENZİM KATALİZİNİN MEKANİZMALARI

1)Kovalan Kataliz:

- Pek çok enzimin aktif bölgesi, substrat molekülüyle geçici kovalan bağlar yapan katalitik rezidüler içermektedir.
- Glikopeptid transpeptidaz, Kimotripsin ve pek çok enzim bu katalizi kullanmaktadır.

ENZİM KATALİZİNİN MEKANİZMALARI

2) Yakınlığa (proximity) bağlı kataliz

- Birden fazla substratın bulunduğu reaksiyonlarda, substratların reaksiyona girebilmeleri için yeterince yakın olmaları ve uygun oryantasyonda bulunmaları gerekmektedir.
- Aktif bölgenin sağladığı mikroçevre, substrat moleküllerinin yeterli enerjiye sahip şekilde birbirleriyle çarpışabilmelerine olanak tanır.

ENZİM KATALİZİNİN MEKANİZMALARI

3) Asit-Baz katalizi

- Aktif bölgede, kuvvetli nükleofil oluşturabilmek üzere, hidrojen iyon transferi gerçekleşebilmektedir.
- Böylece, yüklü grupların ve geçiş durumunun stabilizasyonu sağlanmaktadır.

Kimotripsin enzimidaki histidin, hidrojen transferinde görev yaparak kuvvetli nükleofil oluşumuna katkı sağlar.

ENZİM KATALİZİNİN MEKANİZMALARI

4) Metal iyon katalizi

- Demir, bakır, çinko gibi metaller pek çok enzim tarafından kofaktör olarak kullanılmaktadır. Bu metallerin pozitif yüklü olmaları,
 - Nükleofilik grupların oluşmasını,
 - Geçiş durumunun stabilizasyonunu,
 - Substratın aktif bölge içinde tutulmasını sağlamaktadır.

Enzimlerin Regülasyonu

Allosterik Regülasyon: Aktif bölge dışındaki allosterik bölgeye çeşitli modülatörlerin bağlanmasıyla enzim regüle edilir.

Geri dönüşümlü (reversibl) kovalan modifikasyon: Enzime çeşitli grupların geri dönüşümlü olarak bağlanmasıyla enzim regüle olur.
Örn: Protein kinazlar, protein fosfatazlar

Proteolitik parçalanma: Pek çok enzim inaktif formda (zimojen, pro-enzim) sentezlenir, genellikle geri dönüşümsüz olarak proteazlar tarafından parçalanarak aktive olurlar.

Enzim konsantrasyonunun düzenlenmesi: Enzimlerin konsantrasyonları, organizmanın içinde bulunduğu koşullara bağlı olarak transkripsiyonel olarak düzenlenebilir.

İzoenzimler (izozimler): Bu enzimler, çeşitli metabolik yollarda ayarlamalar yapılmasına olanak tanırırlar.

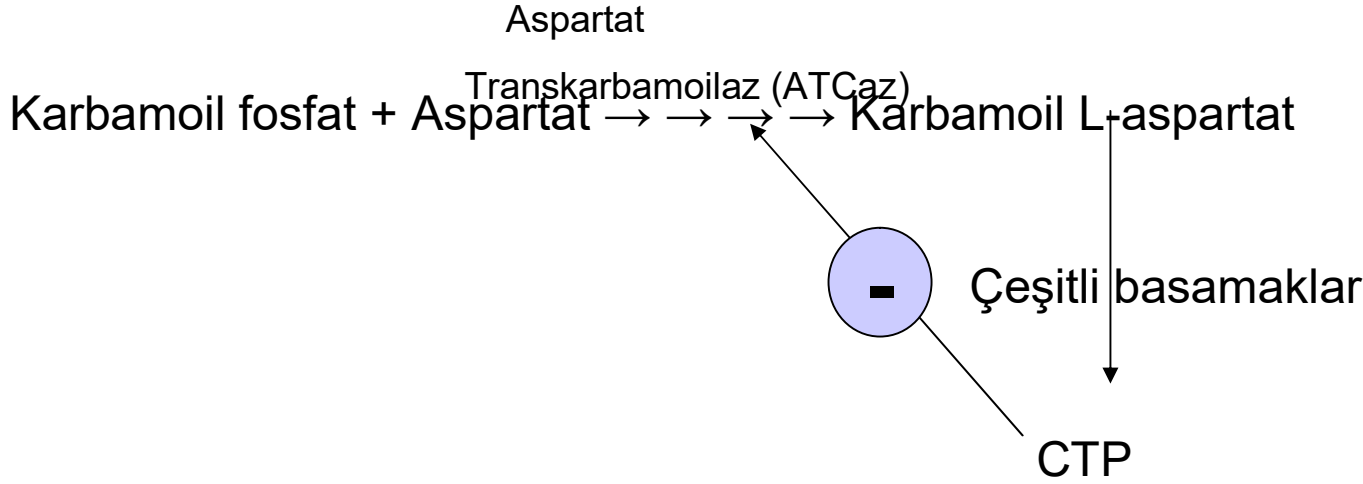


1) ALLOSTERİK REGÜLASYON

- ▶ Bazı enzimler, aktif bölgeleri dışında allosterik bölge adı verilen regülasyon bölgeleri taşımaktadır.
- ▶ Bu bölgelere çeşitli modülatör gruplar bağlanmakta ve bu gruplar enzimin aktivitesini inhibe ya da aktive etmek suretiyle regülatör etki göstermektedirler.
- ▶ Bu şekilde gerçekleşen regülasyon, allosterik regülasyon adını alır.
- ▶ Kooperativite, allosterik enzimlerin sergilediği önemli bir etkileşimdir.

ALLOSTERİK REGÜLASYONA BİR ÖRNEK

(Aspartat transkarbamoilaz enziminin regülasyonu)



- ATCaz ile başlayan reaksiyonun son ürünü ATCaz'a bağlanarak aktivitesini inhibe eder (feedback inhibisyon).
- CTP'nin yapısı substrattan farklı olduğu için, CTP allosterik inhibitör olarak adlandırılır.

ALLOSTERİK REGÜLASYONA BİR ÖRNEK

(Aspartat transkarbamoilaz enziminin regülasyonu)

- ATCaz gibi çoğu allosterik enzim, sigmoidal eğriyi takip eder. Bu tür eğri, tipik Michaelis Menten kinetiğinden farklıdır.
- Allosterik enzimlerin bu eğriyi takip etmelerinin sebebi, enzimin bir ünitesine substrat bağlanmasının diğer ünitelerine substrat bağlanma affinitesini değiştirmesidir.
- Bu tip davranış, **kooperativite** olarak adlandırılır. Kooperatif etkileşimde, substratın bir aktif bölgeye bağlanması, alt üniteler arasındaki etkileşim aracılığıyla diğer aktif bölgelerin substrata affinitesini değiştirmektedir.

ALLOSTERİK REGÜLASYONA BİR ÖRNEK

(Aspartat transkarbamoilaz enziminin regülasyonu)

Düşük substrat konsantrasyonunda ATCaz enzimi, substrat bağlanmasını desteklemeyen sıkı ve gergin bir konformasyonda iken (T durumu), yüksek substrat konsantrasyonunda, substratın katalitik bölgelerden birine bağlanması, katalitik alt birimler arasında kooperatif etkileşimler ile aktarılır ve diğer birimlere de substrat bağlanması uyarılır.

Bu durumda ATCaz enzimi gevşek-relaks bir konformasyondadır (R durumu).

ALLOSTERİK REGÜLASYONA BİR ÖRNEK

(Aspartat transkarbamoylaz enziminin regülasyonu)

- **Homotropik etkiler**--- Allosterik enzimler üzerinde substratların etkisidir.
- **Heterotropik etkiler**---Allosterik enzimler üzerinde substrat olmayan maddelerin etkisidir (Örneğin, ATCaz'a CTP ve ATP etkisi).
 - CTP, ATCaz'ın allosterik inhibitörüdür. CTP bağlanması, ATCaz enziminin T durumunu stabilize eder ve ATCaz aktivitesini inhibe eder.
 - ATP ise ATCaz'ın allosterik aktivatörüdür. ATP bağlanması, ATCaz enziminin R durumunu uyarır ve ATCaz aktivitesini aktive eder.

2) GERİ DÖNÜŞÜMLÜ (REVERSİBLE) KOVALAN MODİFİKASYON

Pek çok protein ve enzim, kovalan modifikasyonla regüle olmaktadır. Bu tip regülasyonda, enzime fonksiyonel bir grup ilave olmaktadır. En yaygın olarak görülen kovalan modifikasyon, fosforilasyondur.

Neden fosforilasyon bu kadar yaygın bir kovalan modifikasyon şeklidir?

- 1) Fosfat grupları, enzime negatif yük vererek enzimin katalitik etkinliğini artırır. Ayrıca, fosfat gruplarının negatif yüklü oksijen atomları, H bağı yaparak enzim-substrat etkileşimine katkı sağlar.
- 2) ATP'nin bol miktarda bulunması durumunda hücre ATP'yi hızlıca kullanır.
- 3) Sinyal amplifikasyonu: Aktive olan kinazlar, başka kinazları ve başka enzim ve reaksiyon yollarının uyarılmasını sağlayarak sinyallerin tüm hücre içinde artarak aktarılmasını sağlar.
- 4) ATP'nin parçalanması sonucunda yüksek düzeyde enerji açığa çıkar ve ekzergonik bir reaksiyon meydana gelir. Stabilitate artacağı için reaksiyonun geri dönüşü (kinaz katalizöründe) tercih edilmez.
- 5) Bu nedenle, proteinlerden fosfat gruplarının ayrılması fosfataz adı verilen başka grup enzimler tarafından gerçekleştirilir.

GERİ DÖNÜŞÜMLÜ (REVERSİBLE) KOVALAN MODİFİKASYONA BİR ÖRNEK Protein Kinaz A

Protein Kinaz A tarafından katalizlenen reaksiyonlar

- Protein kinaz A, pek çok hedef enzim ve proteinin, Serin veya Threonin rezidülerinden fosforilasyonundan-kovalan modifikasyonundan sorumludur
- Protein kinaz A, cAMP tarafından allosterik regülasyona uğramaktadır.

3) PROTEOLİTİK AKTİVASYONLA REGÜLASYON

- Bazı enzimler, inaktif formda sentezlenirler ve bu enzimlerin aktivitesi proteolitik aktivasyonla düzenlenir. Bu tip prekürsör enzimlere pro-enzim veya zimojen adı verilir. Bu enzimler, proteazlar tarafından bir ya da birkaç bölgeden parçalanarak aktive olurlar.
- Proteolitik aktivasyon ATP enerjisi kullanmaz ve bu tip bir aktivasyon enzimin ömrü boyunca bir kez gerçekleşir.

Proteolitik aktivasyon hangi durumlarda gerçekleşir, hangi enzimler proteolitik aktivasyona uğrar?

- 1) Sindirim enzimleri
- 2) Kan pıhtılaşmasında görevli enzimler
- 3) Hormonal enzimler
- 4) Apoptozda görev alan enzimler
- 5) Kollajen
- 6) Gelişimsel ve tekrar modellenme durumları



PROTEOLİTİK AKTİVASYONA ÖRNEKLER

- Sindirim enzimleri (Tripin, kimotripsin, karboksipeptidaz,..)
- Prokaspaz kaspaz dönüşümü.
- Prokollajenaz kollajenaz dönüşümü.
- Pıhtılaşma faktörleri (Fibrinojenin fibrine dönüşümü).

PROTEOLİTİK AKTİVASYONUN SONLANDIRILMASI

- Proteolitik aktivasyona uğramış ve fonksiyonunu tamamlamış enzimlerin aktivitesi nasıl sonlandırılır?

-Pankreatik tripsin inhibitörü → → → → Tripsinin geri dönüşümsüz inhibisyonunu yapar. Yetersiz pankreatik tripsin inhibitörü salımı akut pankreatite yol açabilir.

-Alfa-1 anti-tripsin → → → → Alfa-1 anti-tripsin, elastin ve kollajenin yıkımından sorumlu olan elastazın inhibitörüdür. Bu inhibitörün eksikliği akciğerlerde doku hasarına ve amfizeme yol açar.

PROTEOLİTİK AKTİVASYONUN SONLANDIRILMASI (Sigaraya bağlı alfa 1 antitripsin inaktivasyonu-amfizem)

Amfizemin patogenezi:

Sigara kullanımı → → → Reaktif oksijen türleri (serbest radikaller) → → →
Antiproteazların (Alfa 1 anti tripsinin) inaktivasyonu → → →
Nötrofil elastaz[↑], Makrofaj elastaz ve metalloproteazlar[↑]

4) ENZİM KONSANTRASYONUNUN DÜZENLENMESİ

Enzimlerin aktivitelerinde artış ya da azalma gerektiren durumlarda, çeşitli farklı biyokimyasal mekanizmalarla enzim konsantrasyonu değişmektedir.

4) İZOENZİMLER

Enzim aktivitesi, aynı enzimin farklı formları (izoenzimler) kullanılarak da regüle olabilir.

İzoenzimler,

Farklı aminoasit dizilerine sahiptir fakat aynı reaksiyonu katalizlerler.

Farklı enzim kinetiği sergilerler (k_m , V_{max} ,...).

Farklı allosterik regülatörlerle düzenlenirler.

Farklı genlerden ifade olurlar.

İZOENZİMLERE ÖRNEKLER

Laktat dehidrogenaz

H izozimi → → → Kalpte bulunur
Yüksek oksijen varlığında görev yapar.

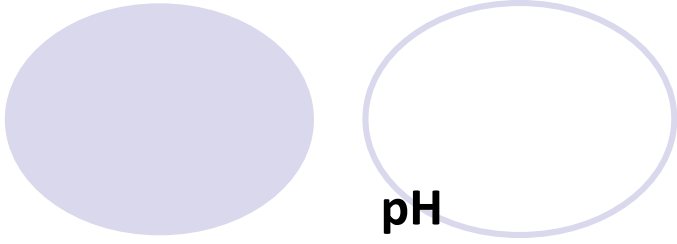
M izozimi → → → Çizgili kasta bulunur
Daha düşük oksijen varlığında görev yapar.

Myokard infarktüsü (kalp krizi) sırasında kalbe kan akışındaki blokaj kalp kasına hasar verir ve hasarlanmış kardiyak kas hücrelerinden H izozimi kana salınır. Bu nedenle, kalp krizinin teşhisinde laktat dehidrogenazın H izoziminin kandaki varlığı, kalp krizinin belirteçleri arasındadır.



Enzim Aktivitesini Etkileyen Faktörler

- ▶ pH,
- ▶ Sıcaklık,
- ▶ Enzim konsantrasyonu,
- ▶ Substrat konsantrasyonu,
- ▶ Reaksiyon ürünleri,
- ▶ Ortamdaki çeşitli iyonların varlığı,
- ▶ Hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörler de enzimlerin aktivitesini etkileyebilir.



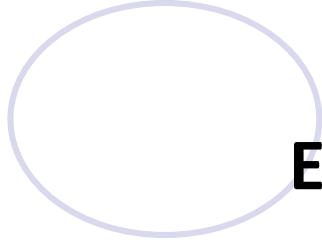
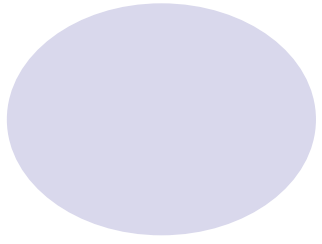
pH

Bir enzim için en iyi aktivite gösterdiği pH'ya enzimin optimum pH'sı denir. Örneğin pH 1-2 arasında en kuvvetli etki gösteren pepsin enzimi, nötral ve alkali ortamda hiç etkili değildir. Optimum pH'sı 8 olan tripsin ise asidik pH da etkili değildir. Sert pH değişiklikleri enzimlerin denatüre olmasına yol açabilir.

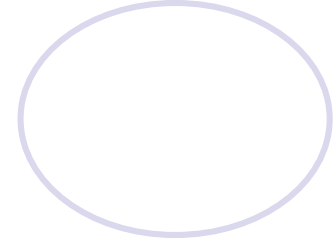


Sıcaklık

Enzimatik reaksiyonun hızı, sıcaklıkla yeterli enerji bariyerini aşarak ürün oluşturacak moleküllerin sayısı artacağı için artar. Fakat belirli bir sıcaklık aşıldıktan sonra enzimler de diğer proteinler gibi denatüre olurlar, etkilerini kaybederler ve bu nedenle reaksiyonun hızı düşer.



Enzim Konsantrasyonu



Enzim reaksiyonunun hızı enzim konsantrasyonuna bağlı olarak doğrusal olarak artmaktadır. Ortamda ne kadar çok enzim molekülü varsa ve çalışıyorsa, yeterli substrat olduğu sürece reaksiyon da hızla sürecektir.

Substrat Konsantrasyonu

Enzim konsantrasyonu sabit tutularak substrat konsantrasyonu arttırıldığında, maksimum hız noktası V_{max} ' a ulaşılıncaya kadar hız artar.