

ENZİMLER

Enzim tanımı ve enzim araştırmalarının tarihçesi

Enzimler, biyolojik sistemlerin reaksiyon katalizörleridirler; biyokimyasal olayların vücutta yaşam ile uyumlu bir şekilde gerçekleşmesini sağlayan kimyasal ajanlardır.

Biyolojik katalizörler olarak da tanımlanan enzimler, besleyici moleküllerin yıkıldığı, kimyasal enerjinin depolandığı ve şeklinin değiştirildiği, basit prekürsörlerden biyolojik makromoleküllerin yapıldığı metabolik yollarda yüzlerce reaksiyon basamağını katalize ederler. Enzimlerle katalize edilen tepkimeye katılan kimyasal moleküllere **substrat** adı verilir.

Enzimler, spesifik kimyasal reaksiyonları hızlandırırlar; substratları için yüksek derecede spesifiteye sahiptirler; sulu çözeltilerde çok ılımlı sıcaklık ve pH durumları altında fonksiyon gösterirler.

Metabolizmaya katılan birçok enzimin bazıları düzenleyici enzimlerdir. Enzim sistemleri, düzenleyici enzimlerin etkisi vasıtasıyla, yaşamı sürdürmek için gerekli birçok farklı metabolik aktivite arasında uyumlu bir etkileşim oluşturmak üzere ayarlanır. Düzenleyici enzimler, çeşitli metabolik sinyallere katalitik aktivitelerini gerektiği şekilde değiştirerek cevap verirler.

Biyokimya tarihçesinin çoğu, enzim araştırmalarının tarihçesidir. Enzimlerin incelenmesinin çok büyük pratik önemi vardır: Özellikle kalıtsal genetik bozukluklar gibi bazı hastalıklarda dokulardaki bir veya daha fazla enzimin eksikliği veya tam yokluğu söz konusu olabilir; anormal şartlar, spesifik bir enzimin aşırı aktivitesi nedeniyle oluşmuş olabilir. Bu nedenle kan plazmasındaki, eritrositlerdeki veya doku örneklerindeki belli enzimlerin aktivitelerinin ölçülmesi, hastalıkların tanısı için önemlidir.

Biyolojik kataliz, ilk kez 1800'lerin ilk yıllarında, mide salgıları vasıtasıyla etin sindirilmesinin, tükürük ve çeşitli bitki ekstraktları vasıtasıyla nişastanın şekere dönüştürülmesinin incelenmesi çalışmalarında tanındı ve tanımlandı. Louis Pasteur, 1850'lerde, şekerin maya vasıtasıyla alkole fermentasyonunun "fermentler" vasıtasıyla katalizlendiği sonucuna vardı ve daha sonra "enzimler" olarak adlandırılan bu fermentlerin canlı maya hücrelerinin yapısından ayrılmaz olduğunu kabul etti. Pasteur'un bu görüşü uzun yıllar kabul gördü. Ancak 1897'de Eduard Buchner tarafından maya ekstraktlarının şekerini alkole fermente edebildiğinin keşfi, fermentasyonu sağlayan enzimlerin canlı hücre yapısından çıkarıldığında da fonksiyon görebildiğini ispat etti.

Fermentasyonu sağlayan enzimlerin canlı hücre yapısından çıkarıldığında da fonksiyon görebildiğinin ispatı, biyokimyacıları birçok farklı enzimin izolasyonunu denemek ve onların katalitik özelliklerini incelemek için teşvik etti. 1926'da James Sumner'in üreazı izole ve kristalize etmesi, spesifik enzimlerin özelliklerinin daha önceki incelenmeleri için bir hamle sağladı. Sumner, üreaz kristallerinin tamamen proteinden oluştuğunu buldu ve bütün enzimlerin protein olduklarını ileri sürdü. Bu düşünce, başka örneklerin olmaması nedeniyle bir süre için tartışmalı kaldı. Ancak, 1930'larda John Northrop ve meslektaşlarının pepsin ve tripsini kristalize etmeleri ve bunların protein olduklarını bulmalarından sonra Sumner'ın vardığı sonuç geniş olarak kabul gördü. J.B.S.Haldane, bu dönemde, "enzimler" adlı bir bilimsel inceleme yayınladı.

Bugün, binlerce enzim saflaştırılmış ve bunların yüzlercesinin yapısı ve kimyasal mekanizması aydınlatılmıştır.

Enzimlerin yapısal özellikleri

Katalitik RNA moleküllerinin küçük bir grubu hariç bütün enzimler proteindirler. Bu nedenle enzimler, proteinlere ait tüm yapısal özellikleri gösterirler. Enzimler, diğer proteinler gibi 12.000'den 1.000.000 üzerine kadar değişen moleküler ağırlığa sahiptirler. Enzimlerin katalitik aktiviteleri, doğal protein konformasyonlarının bütünlüğüne bağlıdır; bir enzim denatüre edilirse veya alt ünitelerine ayrıştırılırsa katalitik aktivitesi genellikle kaybolur; bir enzim amino asit komponentlerine yıkılırsa katalitik aktivitesi daima harap olur. Enzim proteinlerinin primer, sekonder, tersiyer ve kuarterner yapıları, katalitik aktiviteleri için esastır.

Bazı enzimler aktivite için, protein yapıyı oluşturan amino asit kalıntılarından başka kimyasal komponent gerektirmezler. Bazı enzimler ise **kofaktör** diye adlandırılan bir ek kimyasal komponent gerektirirler. Kofaktör, ya Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} gibi bir veya daha fazla **inorganik iyon** ya da **koenzim** denen organik veya metalloorganik kompleks bir moleküldür.

Kofaktör olarak işlev gören inorganik iyonlar ve ilgili bazı enzimler şunlardır:

Fe^{2+} or Fe^{3+}	Cytochrome oxidase Catalase Peroxidase
Cu^{2+}	Cytochrome oxidase
Zn^{2+}	Carbonic anhydrase Alcohol dehydrogenase
Mg^{2+}	Hexokinase Glucose-6-phosphatase Pyruvate kinase
Mn^{2+}	Arginase Ribonucleotide reductase
K^{+}	Pyruvate kinase
Ni^{2+}	Urease
Mo	Dinitrogenase
Se	Glutathione peroxidase

Kofaktör olarak işlev gören koenzimler, genellikle suda çözünen bir vitamin türevidir. Bazı koenzimler ve molekülden moleküle transportunu sağladıkları bazı kimyasal gruplar şunlardır:

Coenzyme	Examples of some chemical groups transferred	Dietary precursor in mammals
Thiamine pyrophosphate	Aldehydes	Thiamin (vitamin B ₁)
Flavin adenine dinucleotide	Electrons	Riboflavin (vitamin B ₂)
Nicotinamide adenine dinucleotide	Hydride ion ($:H^{-}$)	Nicotinic acid (niacin)
Coenzyme A	Acyl groups	Pantothenic acid, plus other molecules
Pyridoxal phosphate	Amino groups	Pyridoxine (vitamin B ₆)
5'-Deoxyadenosyl-cobalamine (coenzyme B ₁₂)	H atoms and alkyl groups	Vitamin B ₁₂
Biocytin	CO ₂	Biotin
Tetrahydrofolate	One-carbon groups	Folate
Lipoate acid	Electrons and acyl groups	Not required in diet

Bazı enzimler aktivite için hem bir veya daha fazla metal iyonu hem de bir koenzim gerektirirler.

Kofaktörü ile birlikte tam, katalitik olarak aktif bir enzim, **holoenzim** olarak adlandırılır; holoenzimin bir protein kısmı bir de kofaktör kısmı vardır. Holoenzimin protein kısmı **apoenzim** veya **apoprotein** olarak adlandırılır.

Holoenzimin kofaktör kısmının, bazı enzimler için Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} gibi bir veya daha fazla **inorganik iyon**; bazı enzimler için ise **koenzim** denen bir organik veya metalloorganik kompleks bir molekül olduğunu biliyoruz. Holoenzimin kofaktör kısmı koenzim ise; koenzim enzime çok sıkı bağlanmış olabildiği gibi, koenzim enzime çok gevşek olarak bağlanmış olabilir. Koenzimlerin enzim proteinine çok sıkı bir şekilde, kovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılmayanları **prostetik grup** olarak adlandırılırlar; örneğin biotin, karboksilazlara sıkı bir şekilde kovalent olarak bağlı bulunur yani karboksilazların prostetik grubudur. Koenzimlerin enzim proteinine çok gevşek bir şekilde nonkovalent olarak bağlı olup enzim proteininden ayrılabilenleri **kosubstrat** olarak adlandırılırlar.

Bazı enzimler, fosforilasyon, glukozilasyon ve diğer bazı süreçler vasıtasıyla modifiye edilirler ki bu değişikliklerin birçoğu enzim aktivitesinin düzenlenmesinde olur ve önemlidir.

Enzimlerin adlandırılmaları ve sınıflandırılmaları

Birçok enzim, substratlarının adına veya aktivitelerini tanımlayan bir kelime veya sözcük grubuna “**az**” son eki ekleyerek adlandırılır. Üreaz, amilaz, arjinaz, proteaz ve lipaz, substratı tanımlayan; DNA polimeraz, laktat dehidrojenaz ve adenilat siklaz, tepkimeyi tanımlayan adlandırmalardır. **Üreaz**, ürenin hidrolizini katalize eden; **DNA polimeraz** ise DNA’nın sentezini katalize eden enzimdir.

Pepsin, tripsin, amigdalın, pityalin, zimaz gibi, substratlarını veya aktivitelerini tanımlamayan, genel bir tanıma uymayan enzim isimleri de kullanılmıştır.

Karışık isimlendirmelerin sonucu olarak bazen aynı enzim için iki veya daha fazla ad kullanılmıştır; bazen de iki farklı enzim için aynı ad kullanılmıştır. Böyle belirsiz anlamlılıklar ve yeni olarak keşfedilen enzimlerin sürekli artan sayısı nedeniyle, uluslararası anlaşmalar vasıtasıyla, enzimlerin isimlendirilmesi ve sınıflandırılması için bir sistem benimsenmiştir.

Uluslararası Biyokimya ve Moleküler Biyoloji Birliği (IUBMB) tarafından önerilen ve benimsenen sistematik adlandırmada enzimler, altı büyük sınıfa ayrılırlar, her sınıfın da katalizlenen reaksiyon tipine dayanan alt sınıfları vardır:

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

Class	Reaction type	Important subclasses
1 Oxidoreductases	○ = Reduction equivalent	Dehydrogenases Oxidases, peroxidases Reductases Monooxygenases, dioxygenases
2 Transferases		C ₁ -Transferases Glycosyltransferases Aminotransferases Phosphotransferases
3 Hydrolases		Esterases Glycosidases Peptidases Amidases
4 Lyases ("synthases")		C-C-Lyases C-O-Lyases C-N-Lyases C-S-Lyases
5 Isomerases		Epimerases cis-trans-Isomerases Intramolecular transferases
6 Ligases ("synthetases")	X = A, G, U, C	C-C-Ligases C-O-Ligases C-N-Ligases C-S-Ligases

Sistemik adlandırma sisteminde her enzime enzim komisyonu (EC) tarafından verilen dört rakamlı kod numarası ve katalizlediği reaksiyonu tanıtan sistemik ad verilir. Örneğin;



reaksiyonunu katalizleyen enzimin resmi sistemik adı **ATP:glukoz fosfotransferaz**dır ki bu ad, enzimin, bir fosfat grubunun ATP'den glukozu transferini katalizlediğini belirtir.

ATP:glukoz fosfotransferazın kod numarası (EC numarası) **2.7.1.1** dir. Burada birinci rakam, tepkimenin tipi veya sınıf adını (2; transferaz); ikinci rakam, donörün ilgili grubunu belirten alt sınıfı (7; fosfotransferaz); üçüncü rakam, akseptörün ilgili grubunu (1; -CH-OH); dördüncü rakam akseptör olan substratı (1; glukoz) ifade eder. *Bir enzimin sistemik adı uzun veya kullanışsız olduğunda geleneksel anlamsız bir isim kullanılabilir ki ATP:glukoz fosfotransferaz enzimi için heksokinaz adı kullanılmaktadır. Heksokinaz, bir fosfat grubunu, glukozun bir -CH-OH grubu üzerine transfer eden enzimdir.*

Enzim sınıfı 1: Oksidoredüktazlar

Oksidoredüktazlar, redüksiyon-oksidasyon reaksiyonlarını katalize ederler; alt sınıfları ve alt-alt sınıfları vardır:

1.1 Elektron donörünün -CH-OH grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

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

1.1.1.1	Alcohol dehydrogenase [Zn ²⁺]
1.1.1.3	Homoserine dehydrogenase
1.1.1.8	Glycerol-3-phosphate dehydrogenase (NAD ⁺)
1.1.1.21	Aldehyde reductase
1.1.1.27	Lactate dehydrogenase
1.1.1.30	3-Hydroxybutyrate dehydrogenase
1.1.1.31	3-Hydroxyisobutyrate dehydrogenase
1.1.1.34	Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH)
1.1.1.35	3-Hydroxyacyl-CoA dehydrogenase
1.1.1.37	Malate dehydrogenase
1.1.1.40	Malate dehydrogenase (oxalacetate-decarboxylating) (NADP ⁺), "malic enzyme"
1.1.1.41	Isocitrate dehydrogenase (NAD ⁺)
1.1.1.42	Isocitrate dehydrogenase (NADP ⁺)
1.1.1.44	Phosphogluconate dehydrogenase (decarboxylating)
1.1.1.49	Glucose-6-phosphate 1-dehydrogenase
1.1.1.51	3(or 17)β-Hydroxysteroid dehydrogenase
1.1.1.95	Phosphoglycerate dehydrogenase
1.1.1.100	3-Oxoacyl-[ACP] reductase
1.1.1.101	Acylglycerone-phosphate reductase
1.1.1.105	Retinol dehydrogenase
1.1.1.145	3β-Hydroxy-Δ ⁵ -steroid dehydrogenase
1.1.1.205	IMP dehydrogenase

1.1.3 Oksidazlar: Elektron akseptörü olarak moleküler oksijen kullanırlar

1.1.3.4	Glucose oxidase [FAD]
1.1.3.8	L-Gulonolactone oxidase
1.1.3.22	Xanthine oxidase [Fe, Mo, FAD]

1.2 Elektron donörünün aldehit veya keton grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.2.1 Dehidrojenazlar: Elektron akseptörü olarak NAD(P)⁺ kullananlar

1.2.1.3	Aldehyde dehydrogenase (NAD ⁺)
1.2.1.11	Aspartate-semialdehyde dehydrogenase
1.2.1.12	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase
1.2.1.13	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (NADP ⁺) (phosphorylating)
1.2.1.24	Succinate-semialdehyde dehydrogenase

1.2.4 Elektron akseptörü olarak disülfid kullananlar

1.2.4.1	Pyruvate dehydrogenase (lipoamide) [TPP]
1.2.4.2	Oxoglutarate dehydrogenase (lipoamide) [TPP]

1.2.7 Elektron akseptörü olarak Fe/S protein kullananlar

1.2.7.2	2-Oxobutyrate synthase
---------	------------------------

1.3 Elektron donörünün –CH–CH– grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.3.1.10	Enoyl-[ACP] reductase (NADPH)
1.3.1.24	Biliverdin reductase
1.3.1.34	2,4-Dienoyl-CoA reductase
1.3.5.1	Succinate dehydrogenase (ubiquinone) [FAD, Fe ₂ S ₂ , Fe ₄ S ₄], "complex II"
1.3.99.3	Acyl-CoA dehydrogenase [FAD]
1.3.99.11	Dihydroorotate dehydrogenase [Fe]

1.4 Elektron donörünün –CH–NH₂ grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.4.1.2	Glutamate dehydrogenase
1.4.3.4	Amine oxidase [FAD], "monoamine oxidase, MAO"
1.4.3.13	Protein-lysine 6-oxidase [Cu]
1.4.4.2	Glycine dehydrogenase (decarboxylating) [PLP]

1.5 Elektron donörünün –CH– NH – grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.5.1.2	Pyrroline-5-carboxylate reductase
1.5.1.3	Dihydrofolate reductase
1.5.1.5	Methylenetetrahydrofolate dehydrogenase (NADP ⁺)
1.5.1.12	1-Pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase
1.5.1.20	Methylenetetrahydrofolate reductase (NADPH) [FAD]
1.5.5.1	Electron-transferring-flavoprotein (ETF) dehydrogenase
1.5.99.8	Proline dehydrogenase [FAD]

1.6 Elektron donörünün NAD(P)H olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.6.4.2	Glutathione reductase (NADPH) [FAD]
1.6.4.5	Thioredoxin reductase (NADPH) [FAD]
1.6.5.3	NADH dehydrogenase (ubiquinone) [FAD, Fe ₂ S ₂ , Fe ₄ S ₄], "complex I"

1.8 Elektron donörünün sülfür grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.8.1.4	Dihydrolipoamide dehydrogenase [FAD]
---------	--------------------------------------

1.9 Elektron donörünün hem grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.9.3.1	Cytochrome-c oxidase [heme, Cu, Zn], "cytochrome oxidase, complex IV"
---------	---

1.10 Elektron donörünün difenol olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.10.2.2	Ubiquinol-cytochrome-c reductase [heme, Fe ₂ S ₂], "complex III"
----------	---

1.11 Peroksidazlar: Elektron akseptörünün bir peroksit olduğu reaksiyonları katalize ederler

1.11.1.6	Catalase [heme]
1.11.1.7	Peroxidase [heme]
1.11.1.9	Glutathione peroxidase [Se]
1.11.1.12	Lipid hydroperoxide-glutathione peroxidase [Se]

1.13 Oksijenazlar: Moleküler oksijenin elektron donörü ile birleştirildiği reaksiyonları katalize ederler

1.13.11 Dioksijenazlar: Moleküler oksijenin her iki atomunun da elektron donörü ile birleştirildiği reaksiyonları katalize ederler

1.13.11.5	Homogentisate 1,2-dioxygenase [Fe]
1.13.11.20	Cysteine dioxygenase [Fe]
1.13.11.27	4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase [ascorbate]
1.13.11.n	Arachidonate lipoxygenases

1.14 Monooksijenazlar (hidroksilazlar): Moleküler oksijenin her bir atomunun iki ayrı elektron donörü ile birleştirildiği reaksiyonları katalize ederler

1.14.11.2	Procollagen-proline 4-dioxygenase [Fe, ascorbate], "proline hydroxylase"
1.14.11.4	Procollagen-lysine 5-dioxygenase [Fe, ascorbate], "lysine hydroxylase"
1.14.13.13	Calcdiol 1-monooxygenase
1.14.15.4	Steroid 11 β -monooxygenase [heme]
1.14.15.6	Cholesterol monooxygenase (side-chain-cleaving) [heme]
1.14.16.1	Phenylalanine 4-monooxygenase [Fe, THB]
1.14.16.2	Tyrosine 3-monooxygenase [Fe, THB]
1.14.17.1	Dopamine β -monooxygenase [Cu]
1.14.99.1	Prostaglandin synthase [heme]
1.14.99.3	Heme oxygenase (decycling) [heme]
1.14.99.5	Stearoyl-CoA desaturase [heme]
1.14.99.9	Steroid 17 α -monooxygenase [heme]
1.14.99.10	Steroid 21-monooxygenase [heme]

1.17 Elektron donörünün –CH₂– grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.17.4.1	Ribonucleoside-diphosphate reductase [Fe], "ribonucleotide reductase"
----------	---

1.18 Elektron donörünün indirgenmiş ferredoksin olduğu reaksiyonları katalize edenler

1.18.1.2	Ferredoxin-NADP ⁺ reductase [FAD]
1.18.6.1	Nitrogenase [Fe, Mo, Fe ₄ S ₄]

Enzim sınıfı 2: Transferazlar

Transferazlar, fonksiyonel grupların bir molekülden diğerine transferini katalize ederler; alt sınıfları vardır:

2.1 Bir karbonlu grupları transfer edenler

2.1.1 Metil grubu transfer edenler

2.1.1.13	5-Methyltetrahydrofolate-homocysteine S-methyltransferase
2.1.1.28	Phenylethanolamine N-methyltransferase
2.1.1.45	Thymidylate synthase

2.1.2 Formil grubu transfer edenler

2.1.2.1	Glycine hydroxymethyltransferase [PLP]
2.1.2.2	Phosphoribosylglycinamide formyltransferase
2.1.2.3	Phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase
2.1.2.5	Glutamate formiminotransferase [PLP]
2.1.2.10	Aminomethyltransferase

2.1.3 Karbamoil grubu transfer edenler

2.1.3.2	Aspartate carbamoyltransferase [Zn ²⁺]
2.1.3.3	Ornithine carbamoyltransferase

2.2 Bir aldehit veya keton kalıntısı transfer edenler

2.2.1.1	Transketolase [TPP]
2.2.1.2	Transaldolase

2.3 Bir açıl grubu transfer edenler

2.3.1 Açıl grubu donörünün açıl-CoA olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.3.1.1	Amino-acid N-acetyltransferase
2.3.1.6	Choline O-acetyltransferase
2.3.1.12	Dihydroipoamide acetyltransferase [lipoamide]
2.3.1.15	Glycerol-3-phosphate O-acyltransferase
2.3.1.16	Acetyl-CoA acyltransferase
2.3.1.20	Diacylglycerol O-acyltransferase
2.3.1.21	Carnitine O-palmitoyltransferase
2.3.1.22	Acylglycerol O-palmitoyltransferase
2.3.1.24	Sphingosine N-acyltransferase
2.3.1.37	5-Aminolevulinate synthase [PLP]
2.3.1.38	[ACP] S-acetyltransferase
2.3.1.39	[ACP] S-malonyltransferase
2.3.1.41	3-Oxoacyl-[ACP] synthase
2.3.1.42	Glycerone-phosphate O-acyltransferase
2.3.1.43	Phosphatidylcholine-sterol acyltransferase, "LCAT"
2.3.1.51	Acylglycerol-3-phosphate O-acyltransferase
2.3.1.61	Dihydroipoamide succinyltransferase
2.3.1.85	Fatty-acid synthase

2.3.2 Bir aminoaçıl grubunun transfer edildiği reaksiyonları katalize edenler

2.3.2.12	Peptidyltransferase
2.3.2.13	Protein-glutamine-γ-glutamyltransferase, "fibrin-stabilizing factor"

2.4 Bir glukozil grubu transfer edenler

2.4.1 Heksoz kalıntısı transfer edenler

2.4.1.1	Phosphorylase [PLP], "glycogen (starch) phosphorylase"
2.4.1.11	Glycogen (starch) synthase
2.4.1.17	Glucuronosyltransferase
2.4.1.18	1,4-α-Glucan branching enzyme
2.4.1.25	4α-Glucanotransferase
2.4.1.47	N-Acylsphingosine galactosyltransferase
2.4.1.119	Protein glycotransferase

2.4.2 Pentoz kalıntısı transfer edenler

2.4.2.7	Adenine phosphoribosyltransferase
2.4.2.8	Hypoxanthine phosphoribosyltransferase
2.4.2.10	Orotate phosphoribosyltransferase
2.4.2.14	Amidophosphoribosyltransferase

2.5 Bir alkil veya aril grubu transfer edenler

2.5.1.1	Dimethylallyltransferase
2.5.1.6	Methionine adenosyltransferase
2.5.1.10	Geranyltransferase
2.5.1.21	Farnesyl-diphosphate farnesyltransferase

2.6 Azot içeren grup transfer edenler

2.6.1 Transaminazlar: Bir amino grubu transfer ederler

2.6.1.1	Aspartate transaminase [PLP]
2.6.1.2	Alanine transaminase [PLP]
2.6.1.3	Cysteine transaminase [PLP]
2.6.1.5	Tyrosine transaminase [PLP]
2.6.1.6	Leucine transaminase [PLP]
2.6.1.11	Acetylornithine transaminase [PLP]
2.6.1.13	Ornithine transaminase [PLP]
2.6.1.19	4-Aminobutyrate transaminase [PLP]
2.6.1.42	Branched-chain-amino-acid transaminase [PLP]
2.6.1.52	Phosphoserine transaminase [PLP]

2.7 Kinazlar: Fosfat içeren grup transfer ederler

2.7.1 Fosfat akseptörünün –CH–OH grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.7.1.1	Hexokinase
2.7.1.3	Ketohexokinase
2.7.1.6	Galactokinase
2.7.1.11	6-Phosphofructokinase
2.7.1.19	Phosphoribulokinase
2.7.1.28	Triokinase
2.7.1.30	Glycerol kinase
2.7.1.32	Choline kinase
2.7.1.36	Mevalonate kinase
2.7.1.37	Protein kinase
2.7.1.38	Phosphorylase kinase
2.7.1.39	Homoserine kinase
2.7.1.40	Pyruvate kinase
2.7.1.67	Phosphatidylinositol kinase
2.7.1.68	1-Phosphatidylinositol 4-phosphate kinase
2.7.1.82	Ethanolamine kinase
2.7.1.99	[Pyruvate dehydrogenase] kinase
2.7.1.105	6-Phosphofructo-2 -kinase
2.7.1.112	Protein-tyrosine kinase

2.7.2 Fosfat akseptörünün –CO–OH grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.7.2.3	Phosphoglycerate kinase
2.7.2.4	Aspartate kinase
2.7.2.8	Acetylglutamate kinase
2.7.2.11	Glutamate 5-kinase

2.7.3 Fosfat akseptörünün azot içeren bir grup olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.7.3.2	Creatine kinase
---------	-----------------

2.7.4 Fosfat akseptörünün bir fosfat grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.7.4.2	Phosphomevalonate kinase
2.7.4.3	Adenylate kinase

2.7.6 Fosfat akseptörünün bir difosfat grubu olduğu reaksiyonları katalize edenler

2.7.6.1	Ribose-phosphate pyrophosphokinase
---------	------------------------------------

2.7.7 Bir nükleotid transfer edenler

2.7.7.6	DNA-directed RNA polymerase, "RNA polymerase"
2.7.7.7	DNA-directed DNA polymerase, "DNA polymerase"
2.7.7.9	UTP-glucose-1-phosphate uridylyltransferase
2.7.7.12	Hexose-1-phosphate uridylyltransferase
2.7.7.14	Ethanolamine-phosphate cytidyltransferase
2.7.7.15	Choline-phosphate cytidyltransferase
2.7.7.41	Phosphatidate cytidyltransferase
2.7.7.49	RNA-directed DNA polymerase, "reverse transcriptase"

2.7.8 Bir başka substitüe fosfat transfer edenler

2.7.8.1	Ethanolaminephosphotransferase
2.7.8.2	Diacylglycerol cholinephosphotransferase
2.7.8.11	CDPdiacylglycerol-inositol 3-phosphatidyltransferase
2.7.8.16	1-Alkyl-2-acetylgllycerol cholinephosphotransferase
2.7.8.17	N-Acetylglucosaminephosphotransferase

Enzim sınıfı 3: Hidrolazlar

Hidrolazlar, su katılması suretiyle bağların parçalandığı hidroliz reaksiyonlarını katalize ederler; alt sınıfları vardır:

3.1 Esterazlar: Ester bağını hidroliz ederler

3.1.1 Karboksilik asit esterlerini hidroliz edenler

3.1.1.3	Triacylglycerol lipase
3.1.1.4	Phospholipase A ₂
3.1.1.7	Acetylcholinesterase
3.1.1.13	Cholesterol esterase
3.1.1.17	Gluconolactonase
3.1.1.34	Lipoprotein lipase

3.1.2 Tiyoesterleri hidrolize edenler

3.1.2.4	3-Hydroxyisobutyryl-CoA hydrolase
3.1.2.14	Acyl-[ACP] hydrolase

3.1.3 Fosfatazlar: Fosforik asit monoesterlerini hidrolize ederler

3.1.3.1	Alkaline phosphatase [Zn ²⁺]
3.1.3.4	Phosphatidate phosphatase
3.1.3.9	Glucose-6-phosphatase
3.1.3.11	Fructose-bisphosphatase
3.1.3.13	Bisphosphoglycerate phosphatase
3.1.3.16	Phosphoprotein phosphatase
3.1.3.37	Sedoheptulose-bisphosphatase
3.1.3.43	[Pyruvate dehydrogenase]-phosphatase
3.1.3.46	Fructose-2,6-bisphosphate 2-phosphatase
3.1.3.n	Polynucleotidases

3.1.4 Fosfodiesterazlar: Fosforik asit diesterlerini hidrolize ederler

3.1.4.1	Phosphodiesterase
3.1.4.3	Phospholipase C
3.1.4.17	3',5'-Cyclic-nucleotide phosphodiesterase
3.1.4.35	3',5'-Cyclic-GMP phosphodiesterase
3.1.4.45	N-Acetylglucosaminyl phosphodiesterase

3.1.21 DNA'daki ester bağlarını hidroliz edenler

3.1.21.1	Deoxyribonuclease I
3.1.21.4	Site-specific deoxyribonuclease (type II), "restriction endonuclease"

3.1.26-27 RNA'daki ester bağlarını hidrolize edenler

3.1.26.4	Ribonuclease H
3.1.27.5	Pancreatic ribonuclease

3.2 Glukozidazlar: Glukozidik bağları hidrolize ederler

3.2.1 O-glukozidlerdeki glukozidik bağları hidrolize edenler

3.2.1.1	α -Amylase
3.2.1.10	Oligo-1,6-Glucosidase
3.2.1.17	Lysozyme
3.2.1.18	Neuraminidase
3.2.1.20	α -Glucosidase
3.2.1.23	β -Galactosidase
3.2.1.24	α -Mannosidase
3.2.1.28	α,α -Trehalase
3.2.1.30	N-Acetyl- β -glucosaminidase
3.2.1.33	Amylo-1,6-glucosidase
3.2.1.48	Sucrose α -glucosidase
3.2.1.52	β -N-Acetylhexosaminidase
3.2.2.n	Nucleosidases

3.3 Bir eter bağı hidrolize edenler

3.3.1.1	Adenosylhomocysteinase
---------	------------------------

3.4 Peptidazlar: Peptit bağlarını hidrolize ederler

3.4.11 Amino peptidazlar: N-terminal ekzo peptidazlar

3.4.11.n	Various aminopeptidases [Zn ²⁺]
----------	---

3.4.13 Dipeptidazlar: Yalnızca dipeptitler üzerine etki ederler

3.4.13.n	Various dipeptidases [Zn ²⁺]
----------	--

3.4.15 Peptidil-dipeptidazlar: C-terminal ekzo peptidazlar; dipeptitleri serbestleştirirler

3.4.15.1	Peptidyl-dipeptidase A [Zn ²⁺]
----------	--

3.4.17 Karboksi peptidazlar: C-terminal ekzo peptidazlar

3.4.17.1	Carboxypeptidase A [Zn ²⁺]
3.4.17.2	Carboxypeptidase B [Zn ²⁺]
3.4.17.8	Muramoylpentapeptide carboxypeptidase

3.4.21 Serin proteazlar: Endopeptidazlar

3.4.21.1	Chymotrypsin
3.4.21.4	Trypsin
3.4.21.5	Thrombin
3.4.21.6	Coagulation factor Xa, "thrombokinas"
3.4.21.7	Plasmin
3.4.21.9	Enteropeptidase, "enterokinase"
3.4.21.21	Coagulation factor VIIa, "proconvertin"
3.4.21.22	Coagulation factor IXa, "Christmas factor"
3.4.21.27	Coagulation factor XIa, "plasma thromboplastin antecedent"
3.4.21.34	Plasma kallikrein
3.4.21.35	Tissue kallikrein
3.4.21.36	Elastase
3.4.21.38	Coagulation factor XIIa, "Hageman factor"
3.4.21.68	Tissue plasminogen activator
3.4.21.73	Urinary plasminogen activator, "urokinase"

3.4.22 Sistein proteinazlar: Endopeptidazlar

3.4.22.2	Papain
----------	--------

3.4.23 Aspartat proteinazlar: Endopeptidazlar

3.4.23.1	Pepsin A
3.4.23.2	Pepsin B
3.4.23.3	Gastricsin
3.4.23.4	Chymosin
3.4.23.15	Renin

3.4.24 Metalloproteinazlar: Endopeptidazlar

3.4.24.7 Collagenase

3.4.99 Diğer peptidazlar

3.4.99.36 Signal peptidase

3.5 Amidazlar: Peptit bağından başka bir amit bağına hidrolize ederler

3.5.1.1 Asparaginase
3.5.1.2 Glutaminase
3.5.1.16 Acetylornithine deacetylase [Zn²⁺]
3.5.2.3 Dihydroorotase
3.5.2.7 Imidazolonepropionase
3.5.3.1 Arginase
3.5.4.6 AMP deaminase
3.5.4.9 Methylenetetrahydrofolate cyclohydrolase
3.5.4.10 IMP cyclohydrolase

3.6 Bir anhidrid bağı hidrolize edenler

3.6.1.6 Nucleoside-diphosphatase
3.6.1.32 Myosin ATPase
3.6.1.34 H⁺-transporting ATP synthase, "ATP synthase"
3.6.1.35 H⁺-transporting ATPase
3.6.1.36 H⁺/K⁺-exchanging ATPase
3.6.1.37 Na⁺/K⁺-exchanging ATPase, "Na⁺/K⁺-ATPase"
3.6.1.38 Ca²⁺-transporting ATPase

3.7 Bir C–C bağına hidrolize edenler

3.7.1.2 Fumarylacetylacetylase

Enzim sınıfı 4: Liyazlar

Liyazlar, oksidasyon veya hidrolizden başka yollarla bağları yıkar veya oluştururlar; alt sınıfları vardır:

4.1 Bir C–C bağı oluşturan veya yıkanlar

4.1.1 Karboksi-liyazlar (karboksilazlar, dekarboksilazlar)

4.1.1.1 Pyruvate decarboxylase [TPP]
4.1.1.15 Glutamate decarboxylase [PLP]
4.1.1.21 Phosphoribosylaminoimidazole carboxylase
4.1.1.23 Orotidine-5'-phosphate decarboxylase
4.1.1.28 Aromatic-L-amino-acid decarboxylase [PLP]
4.1.1.32 Phosphoenolpyruvate carboxykinase (GTP)
4.1.1.39 Ribulose-bisphosphate carboxylase [Cu], "rubisco"

4.1.2 Aldehit veya ketonlar üzerine etkili olanlar

4.1.2.5 Threonine aldolase [PLP]
4.1.2.13 Fructose-bisphosphate aldolase, "aldolase"
4.1.3.4 Hydroxymethylglutaryl-CoA lyase
4.1.3.5 Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase
4.1.3.7 Citrate synthase
4.1.3.8 ATP-citrate lyase
4.1.3.18 Acetolactate synthase [TPP, Flavin]

4.1.99 Diğer C–C liyazlar

4.1.99.3 Deoxyribodipyrimidine photo-lyase [FAD], "photolyase"

4.2 Bir C–O bağı oluşturan veya yıkanlar

4.2.1 Hidro-liyazlar (hidratazlar, dehidratazlar)

4.2.1.1	Carbonate dehydratase [Zn ²⁺], "carbonic anhydrase"
4.2.1.2	Fumarate hydratase, "fumarase"
4.2.1.3	Aconitate hydratase [Fe ₄ S ₄], "aconitase"
4.2.1.11	Phosphopyruvate hydratase, "enolase"
4.2.1.13	Serine dehydratase
4.2.1.17	Enoyl-CoA hydratase
4.2.1.18	Methylglutaconyl-CoA hydratase
4.2.1.22	Cystathionine β-synthase [PLP]
4.2.1.24	Porphobilinogen synthase
4.2.1.49	Urocanate hydratase
4.2.1.61	3-Hydroxypalmitoyl-[ACP] dehydratase
4.2.1.75	Uroporphyrinogen III synthase

4.2.99 Diğer C–O liyazlar

4.2.99.2	Threonine synthase [PLP]
----------	--------------------------

4.3 Bir C–N bağı oluşturan veya yıkanlar

4.3.1 Amonyak liyazlar

4.3.1.3	Histidine ammonia lyase
4.3.1.8	Hydroxymethylbilane synthase

4.3.2 Amidin liyazlar

4.3.2.1	Argininosuccinate lyase
4.3.2.2	Adenylosuccinate lyase

4.4 Bir C–S bağı oluşturan veya yıkanlar

4.4.1.1	Cystathionine γ-lyase [PLP]
---------	-----------------------------

4.6 Bir C–P bağı oluşturan veya yıkanlar

4.6.1.1	Adenylate cyclase
4.6.1.2	Guanylate cyclase

Enzim sınıfı 5: İzomerazlar

İzomerazlar, bir molekül içindeki değişiklikleri katalize ederler; alt sınıfları vardır:

5.1 Epimerazlar: *Rasemizasyon veya epimerizasyon reaksiyonlarını katalize ederler.*

5.1.3.1	Ribulose-phosphate 3-epimerase
5.1.3.2	UDPglucose 4-epimerase
5.1.3.4	L-Ribulosephosphate 4-epimerase
5.1.99.1	Methylmalonyl-CoA epimerase

5.2 Cis-trans izomerizasyon reaksiyonlarını katalize edenler

5.2.1.2	Maleylacetoacetate isomerase
5.2.1.3	Retinal isomerase

5.3 Bir intramoleküler elektron transferi reaksiyonunu katalize edenler

5.3.1.1	Triose-phosphate isomerase
5.3.1.6	Ribose-5-phosphate isomerase
5.3.1.9	Glucose-6-phosphate isomerase
5.3.3.1	Steroid Δ-isomerase
5.3.3.8	Enoyl-CoA isomerase

5.4 Mutazlar: *İntramoleküler grup transferi reaksiyonlarını katalize ederler.*

5.4.2.1	Phosphoglycerate mutase
5.4.2.2	Phosphoglucomutase
5.4.2.4	Bisphosphoglycerate mutase
5.4.99.2	Methylmalonyl-CoA mutase [cobamide]

5.99 Diğer tür izomerizasyon reaksiyonlarını katalize edenler

5.99.1.2	DNA topoisomerase
5.99.1.3	DNA topoisomerase (ATP-hydrolyzing), "DNA gyrase"

Enzim sınıfı 6: Ligazlar

Ligazlar, enerjice zengin bir bağın hidrolizi ile iki molekülün birbirine bağlanmasını katalize ederler; alt sınıfları vardır:

6.1 Bir C–O bağı oluşturanlar

6.1.1.n	(Amino acid)-tRNA ligases (<i>aminoacyl-tRNA synthetases</i>)
---------	---

6.2 Bir C–S bağı oluşturanlar

6.2.1.1	Acetate-CoA ligase
6.2.1.3	Fatty-acid-CoA ligase
6.2.1.4	Succinate-CoA ligase (GDP-forming), "thiokinase"

6.3 Bir C–N bağı oluşturanlar

6.3.1.2	Glutamate-NH ₃ ligase, "glutamine synthetase"
6.3.2.6	Phosphoribosylaminoimidazolesuccinocarboxamide synthase (
6.3.3.1	Phosphoribosylformylglycinamide cyclo-ligase
6.3.3.2	5-Formyltetrahydrofolate cyclo-ligase
6.3.4.2	CTP synthase
6.3.4.4	Adenylosuccinate synthase
6.3.4.5	Argininosuccinate synthase
6.3.4.13	Phosphoribosylamine-glycine ligase
6.3.4.16	Carbamoyl-phosphate synthase (ammonia)
6.3.5.2	GMP synthase (glutamine-hydrolyzing)
6.3.5.3	Phosphoribosylformylglycinamide synthase
6.3.5.4	Asparagine synthase (glutamine-hydrolyzing)
6.3.5.5	Carbamoylphosphate synthase (glutamine-hydrolyzing)

6.4 Bir C–C bağı oluşturanlar

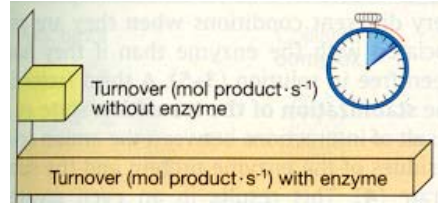
6.4.1.1	Pyruvate carboxylase [biotin, Mn]
6.4.1.2	Acetyl-CoA carboxylase [biotin]
6.4.1.3	Propionyl-CoA carboxylase [biotin]
6.4.1.4	Methylcrotonyl-CoA carboxylase [biotin]

6.5 Bir P–O bağı oluşturanlar

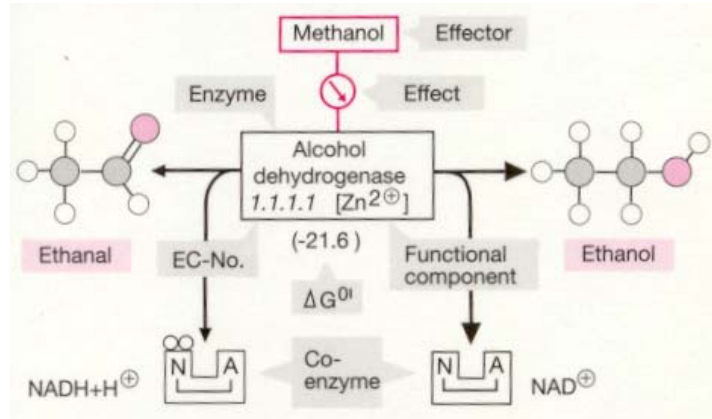
6.5.1.1	DNA ligase (ATP)
---------	------------------

Enzim katalizi

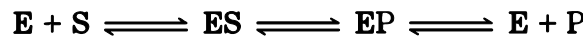
Canlı sistemler için reaksiyonların enzimatik katalizi esastır; biyolojik olarak uygun şartlar altında katalizlenmeyen reaksiyonlar, yavaş olmak eğilimindedirler:



Biyomoleküllerin çoğu, hücre içinde bulunan nötral pH, ılımlı sıcaklık ve sulu çevrede oldukça stabildirler. Yiyeceklerin sindirilmesi, sinir sinyallerinin gönderilmesi veya kasların kasılması için gerekli reaksiyonlar, kataliz olmadan yararlı bir hızda meydana gelmez. Bir enzim, belli bir reaksiyon için enerjetik olarak daha uygun spesifik bir ortam sağlayarak bu problemleri atlatır.

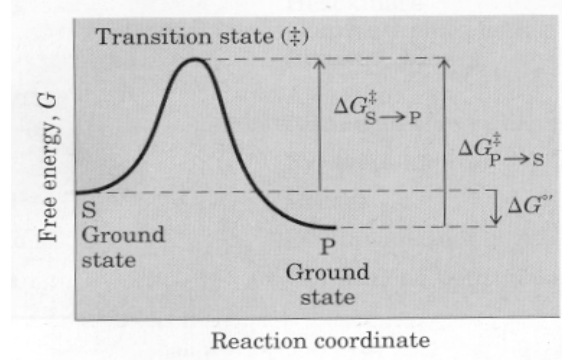


Enzimle katalizlenen bir reaksiyonun ayırt edici özelliği, enzim üzerinde **aktif merkez** denen bir cep sınırları içinde meydana gelmesidir. Aktif merkez, enzim molekülü üzerinde, substrat bağlama özelliğine sahip özel bölgedir. Aktif merkez tarafından tutulan ve enzimin etki ettiği molekül, substrat diye adlandırılır. Basit bir enzimatik reaksiyon şu şekilde yazılabilir:



Burada E enzimi, S substratı, P ürünü gösterir; ES enzim-substrat kompleksi, EP enzim-ürün kompleksidir. Enzim-substrat kompleksi, enzim etkisi için temeldir. Aktif merkez için, enzim-substrat bağlanmasını açıklayan iki model ileri sürülmüştür: 1) Fisher'in anahtar-kilit modelinde, substrat ve enzimin aktif yerinin birbirine uyacak şekilde önceden belirlenmiş olduğu varsayılır. 2) Koshland'ın uyum oluşturma modeline göre aktif merkez esnek yapıdadır; substrat varlığında, proteinin tersiyer yapısında oluşan bir değişiklik, enzim substratını katalize uygun en doğru biçimde bağlayacak biçimsel bir değişikliğe uğrar.

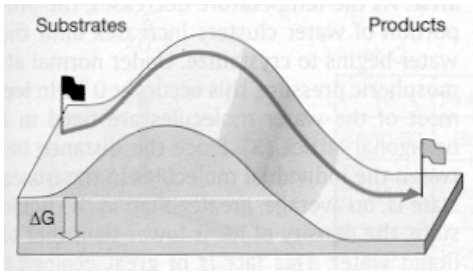
Bir kimyasal reaksiyonda belirli bazı maddelerden (substratlar, S) belirli başka bazı maddeler (ürünler, P) oluşur. Geçiş düzeyi kuramına göre, her kimyasal tepkimede, substrat ve ürünler arasında kararsız bir ara ürün oluşumu öngörülür; geçiş durumundaki kararsız bileşik, kararlı temel bileşiklere göre daha çok serbest enerji içerir ve daima daha kararlı bir bileşiğe dönüşmek üzere parçalanır. Bir kimyasal reaksiyonda geçiş durumuna ulaşmak için gerekli enerji, **aktivasyon enerjisi** olarak bilinir. Aktivasyon enerjisi, $S \leftrightarrow P$ gibi her hangi bir reaksiyonu koordinat diyagramı ile göstermek suretiyle daha kolay anlatılabilir:



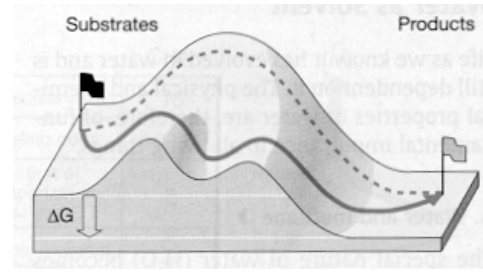
Termodinamik bilgilerimize göre, substratların ve ürünlerin belirli serbest enerjileri vardır. Substratlar ve ürünler arasında bir enerjetik bariyer de vardır. Moleküllerin reaksiyona uğramaları için bu bariyeri aşmaları, dolayısıyla daha yüksek bir enerji düzeyine yükselmeleri gerekir. Bu bariyer, reaksiyonlaşan grupların ayarlanması, geçici anstabil yüklerin oluşması, bağ yeniden düzenlenmeleri ve reaksiyonun gerektirdiği diğer değişikliklerin olması için bir enerji (**aktivasyon enerjisi**) gerektiğini gösterir. *Enerjinin en yüksek olduğu ve geçiş durumu diye adlandırılan bir noktada oluşan ara ürünün S'ye ve P'ye doğru gidiş olasılığı birbirine eşittir.*

Aktivasyon enerjisi (substratlar ve ürünler arasındaki enerjetik bariyer), geçiş durumu ve temel durumun (S veya P) enerji düzeyleri arasındaki farka ($\Delta G_{S \rightarrow P}$ veya $\Delta G_{P \rightarrow S}$) eşittir. Aktivasyon enerjisi bir reaksiyonun hızını yansıtır. Yüksek bir aktivasyon enerjisi yavaş bir reaksiyona karşılık gelir; düşük bir aktivasyon enerjisi ise hızlı bir reaksiyona karşılıktır. *Ancak aktivasyon enerjisini serbest enerji değişikliği veya standart serbest enerji değişikliği ile karıştırmamak gerekir.*

Kimyasal reaksiyonların hızları, enerji bariyerini aşmak için yeterli enerjili moleküllerin sayısını artıran sıcaklık yükseltilmesi (ısıtma) suretiyle artırılabilir. Alternatif olarak bir katalizör eklenerek aktivasyon enerjisi (substratlar ve ürünler arasındaki enerjetik bariyer) düşürülebilir:



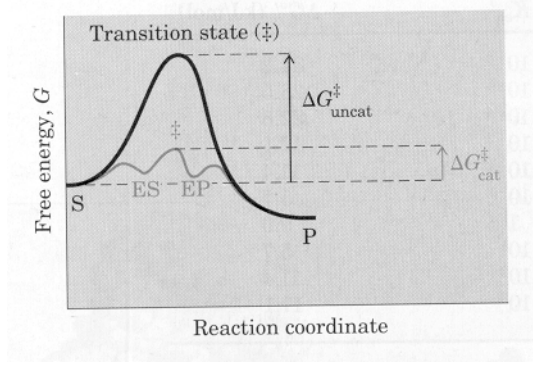
Katalizörsüz bir reaksiyonun enerji profili



Katalizörlü bir reaksiyonun enerji profili

Bir katalizörün fonksiyonu, aktivasyon enerjisini düşürmek suretiyle bir reaksiyonun hızını artırmaktır. Örneğin, H_2O_2 'nin parçalanması için gerekli olan aktivasyon enerjisi 18,16 kcal/mol iken, katalizör olarak katalaz enzimi varlığında bu değer 1,91 kcal/mol'e düşmektedir. *Katalizör, reaksiyonun dengesini etkilemez.*

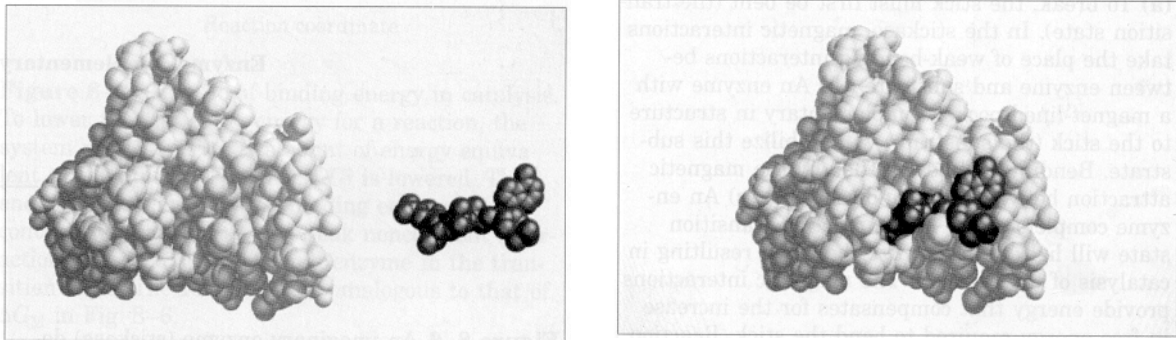
Enzimler, olağanüstü katalizörlerdir. Glukoz molekülünün laboratuvar koşullarında CO_2 ve H_2O 'ya dönüşümü termodinamik yönden olanaklıdır; ancak bunun için yüksek basınç ve sıcaklık gerekir. Hücre içinde ise aynı tepkime enzimlerin etkisiyle çok kolaylıkla gerçekleşmektedir. Enzimler de katalizörlerin reaksiyon dengelerini etkilememe kuralına uyarlar:



S→P reaksiyonunu katalize eden her hangi bir enzim, aynı zamanda **P→S** reaksiyonunu da katalize eder; enzimin rolü, S ve P'nin karşılıklı dönüşümlerini hızlandırmaktır. Enzimler vasıtasıyla meydana getirilen hız artışı 10^7 - 10^{14} derecesindedir. Bir enzim, bir dakikada milyonlarca substrat molekülünün ürüne dönüşümünü sağlar ki bir enzim molekülü başına bir saniyede ürüne çevrilen substrat molekülü sayısına **dönüşüm sayısı** denir.

Bir enzim, reaksiyon sürecinde tükenmez ve denge noktasını etkilemez. Bununla beraber, uygun enzim varsa reaksiyon hızı artacağından reaksiyon dengeye çok daha hızlı ulaşır.

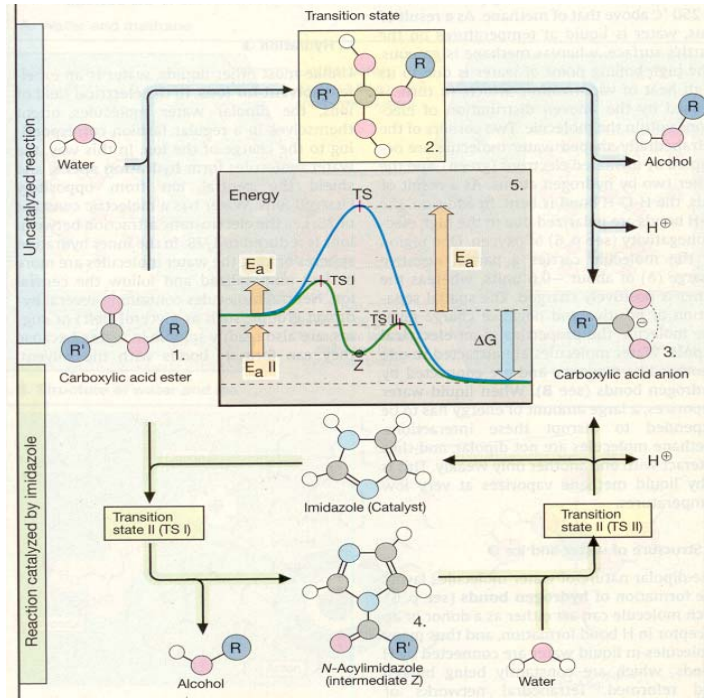
Enzim etkisini açıklamak için substrat ve enzimin fonksiyonel grupları arasındaki kimyasal reaksiyonlar iyice incelenmiştir. Enzimleri enzim olmayan birçok katalizörden ayıran, spesifik enzim-substrat kompleksi (ES) oluşmasıdır:



Enzim üzerindeki spesifik amino asit yan zincirleri, metal iyonları, koenzimler gibi fonksiyonel gruplar, substrat ile geçici olarak etkileşebilirler ve reaksiyon için substratı aktive ederler.

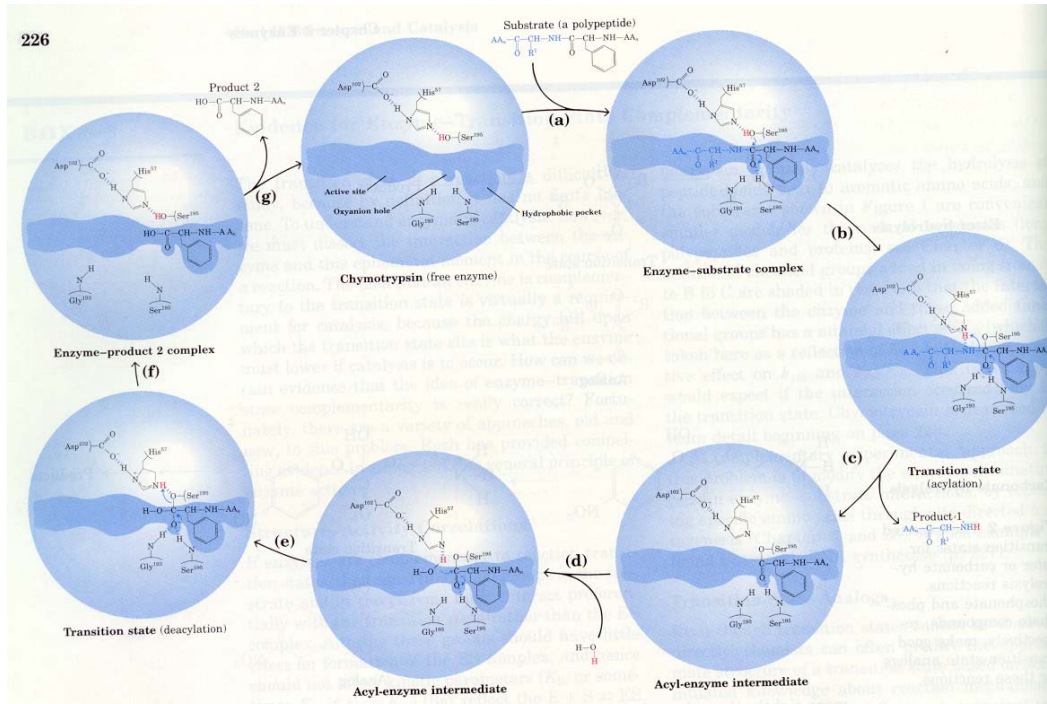
Enzim üzerindeki, substrat ile etkileşen küçük gruplar, birçok durumda düşük enerjili reaksiyon yolu sağlayarak aktivasyon enerjisini azaltırlar ve bu nedenle reaksiyonu hızlandırırlar.

Daha düşük aktivasyon enerjisi için gerekli enerji, genellikle enzim ve substrat arasındaki zayıf, nonkovalent etkileşimden türer. ES kompleksinde enzim ile substrat arasındaki etkileşime, protein yapısını stabilize eden hidrojen bağları, iyonik bağlar ve hidrofobik Van der Waals etkileşimleri gibi güçler aracı olur. ES kompleksinde her zayıf etkileşimin oluşması, etkileşim için bir stabilite derecesi sağlayan küçük miktarda serbest enerji salınması ile birliktedir. Enzim-substrat etkileşiminden türeyen bu enerji, **bağlanma enerjisi** olarak adlandırılır; reaksiyonun aktivasyon enerjisini düşürmek için enzimler vasıtasıyla kullanılan serbest enerjinin başlıca kaynağıdır:



Enzim katalizi için genel bir açıklama sağlayan temel ve birbiriyle ilişkili iki prensip, böylece ortaya çıkar: 1) Enzimlerin katalitik gücü, bir enzim ve substratı arasında meydana gelen etkileşim ve birçok zayıf bağ oluşmasında salıverilen serbest enerjiden (bağlanma enerjisi) türer. 2) Zayıf etkileşimler, reaksiyonun geçiş durumunda optimize edilir; enzimin aktif yeri substratların kendileri için değil, katalize ettikleri reaksiyonların geçiş durumu için tamamlayıcıdır. 1894'de Emil Fischer, enzimlerin substratlarını bir "kilit-anahtar" gibi birbirlerine uyacak şekilde yapısal olarak tamamlayıcı olduklarını ileri sürmüştür. Enzimatik kataliz için modern görüş ise ilk kez 1930'da J.B.S.Haldane tarafından ileri sürülmüş ve 1946'da Linus Pauling tarafından işlenmiştir.

Enzim katalizine güzel bir örnek, kimotripsin tarafından bir peptit bağının yıkılmasıdır:



Reaksiyon hızına katalizörün ve çeşitli enzimlerin etkilerini inceleme deneyleri

MnO₂'in katalizörlüğünün incelenmesi

MnO₂, hidrojen peroksidin parçalanışını hızlandırır.

Bir deney tüpüne 5 mL sulandırılmış H₂O₂ konur. Tüpteki sulandırılmış H₂O₂ üzerine spatül ucu ile toz halindeki MnO₂'ten eklenir. Tüpte şiddetli bir köpürme olduğu gözlenir.

Açıklama: H₂O₂, kendiliğinden fakat yavaş olarak su ve moleküler oksijene parçalanmaktadır. MnO₂, H₂O₂'in su ve moleküler oksijene parçalanmasını hızlandırır. Hızlandırılmış olayda moleküler oksijenin açığa çıkışı, su içinde kabarcıklar veya köpürme ile belli olur.

Katalazın etkisinin incelenmesi

Katalaz, hidrojen peroksidin parçalanışını hızlandırır.

Bir deney tüpüne 1 damla kan konur ve 5 mL su ile sulandırılır. Tüpteki sulandırılmış kan üzerine 1-2 damla sulandırılmış H₂O₂ damlatılır. Tüpte şiddetli bir köpürme veya gaz çıkışı olduğu gözlenir.

Açıklama: H₂O₂, kendiliğinden fakat yavaş olarak su ve moleküler oksijene parçalanmaktadır. Kanda bulunan katalaz enzimi, H₂O₂'in su ve moleküler oksijene parçalanmasını hızlandırır. Hızlandırılmış olayda moleküler oksijenin açığa çıkışı, su içinde kabarcıklar veya köpürme ile belli olur.

Peroksidazın etkisinin incelenmesi

Peroksidaz, uygun bir substrattan hidrojen alıp bunları hidrojen peroksit molekülü üzerine taşıyarak hidrojen peroksidin suya dönüşümünü ve substratın oksitlenmesini katalize eder.

Bir deney tüpüne 5 mL %3'lük H₂O₂ çözeltisi konur ve üzerine 1-2 damla benzidin çözeltisi damlatılarak karıştırılır. Tüpteki karışım üzerine 1-2 damla sulandırılmış kan damlatılır. Tüpte mavi-yeşil renk oluştuğu gözlenir.

Açıklama: Kanda bulunan peroksidaz enzimi, benzidinden hidrojen alarak bunları H₂O₂ moleküllerinin üzerine taşır; H₂O₂ suya indirgenirken benzidin yükseltgenir. Ortamdaki yükseltgenmiş benzidin ile henüz yükseltgenmemiş benzidin karışımı, benzidin mavisini diye bilinen mavi-yeşil bir renk oluşturur. Gözlenen renk değişimi bundan ileri gelmektedir.

Tükürük amilazının etkisinin incelenmesi

Tükürükteki α -amilaz, nişastayı hidrolitik olarak parçalar.

Bir deney tüpüne 5 mL nişasta çözeltisi konur. Tüpteki nişasta çözeltisi üzerine 1-2 damla iyot çözeltisi damlatılır; çözeltide mavi bir renk oluştuğu gözlenir. Tüpteki mavi renkli çözeltiye bir miktar tükürük eklenir ve tüp 37°C'de inkübe edilir; bir süre sonra çözeltideki mavi rengin açıldığı gözlenir.

Açıklama: Nişasta, içerdiği amilopektin nedeniyle gözenekli bir molekül yapısındadır. İyot, nişasta molekülünün boşluklarına girerek çözeltinin mavi renkli görünmesine neden olur. Tükürükteki α -amilaz, nişastayı hidrolitik olarak parçalar; nişasta molekülünün boşluklarına girmiş olan iyot moleküllerinin serbestleşmesine ve sonuçta mavi rengin kaybolmasına neden olur.

Üreazın etkisinin incelenmesi

Üreaz, üreyi parçalayarak amonyak oluşumuna neden olur.

İki deney tüpü alınarak numaralandırılır ve her iki tüpe 2'şer mL üreaz çözeltisi konur. 1.tüp bunzen beki alevinde bir süre dikkatlice ısıtıldıktan sonra soğutulur. Her iki tüpteki üreaz çözeltileri üzerine 2'şer mL üre çözeltisi ve 1-2 damla fenolfitaleyn eklenip karıştırılır. Tüpler 37°C'de inkübe edilir; bir süre sonra ısıtılmayan tüpte pembe renk oluşumu gözlenirken ısıtılan tüp renksiz kalır.

Açıklama: Üreaz, üreyi amonyak ve karbondioksit parçalar. Oluşan amonyak, suda bazik ortam oluşturur ve bazik ortamda fenolfitaleyn pembe renk alır. Isıtılan tüpte denatüre olan üreaz, üreyi parçalama özelliğini kaybettiği için bu tüpte üre parçalanmaz; amonyak oluşmaz ve renk değişimi gözlenmez.

Lipazın etkisinin incelenmesi

Lipaz, nötral yağları parçalayarak yağ asidi oluşturur.

Bir deney tüpünün ¼'üne kadar süt konur ve bu tüpteki süte 1-2 damla fenolfitaleyn damlatılır. Tüpteki karışıma, pembe renk gözleninceye kadar Na_2CO_3 çözeltisi damlatılır. Tüpteki pembe renkli süt karışımına bir miktar pankreas ekstresi eklenir ve karıştırılır. Tüpteki son karışımın yarısı ikinci bir tüpe aktarılır. Birinci tüp bunzen beki alevinde bir süre dikkatlice ısıtıldıktan sonra soğutulur. Her iki tüp 37°C 'de inkübe edilir; bir süre sonra ısıtılmayan tüpte pembe rengin kaybolduğu gözlenirken ısıtılan tüp pembe renkli kalır.

Açıklama: Tüplerdeki son karışım, Na_2CO_3 'tan ileri gelen bazik ortamda fenolfitaleynin pembe renkli olması nedeniyle pembe görünümündedir. Pankreas ekstresinde bulunan lipaz, trigliseridleri gliserol ve yağ asitlerine parçalar; oluşan yağ asitleri, ortamın bazikliğini nötrleştirir ve fenolfitaleynin renginin kaybolmasına neden olur. Isıtılmayan tüpte önceki pembe rengin kaybolması, pankreas ekstresinde bulunan lipazın trigliseridleri parçalaması ile oluşan yağ asitlerinin ortamın bazikliğini nötrlestirmesi nedeniyledir. Isıtılan tüpte lipaz inaktive olur; trigliseridleri parçalayamaz; yağ asitleri oluşmaz; ortamın bazikliği nötrleşmez; fenolfitaleynin pembe rengi kaybolmaz.

Enzimlerin spesifikliğı

Enzimlerin spesifikliğı veya özgülüğü, katalize ettikleri belirli reaksiyonlar ile ilgili özellikleridir. Enzimler için çeşitli spesifiklikler (özgüllükler) tanımlanmıştır:

1) Mutlak spesifiklik: Bir enzimin, yalnızca spesifik bir substratın spesifik bir reaksiyonunu katalize etmesi özelliğidir. Enzimlerin çoğu mutlak spesifiklik gösterirler.

2) Grup spesifikliğı: Bir enzimin, benzer fonksiyonel grupları içeren sınırlı sayıda substrat ile reaksiyonlaşması özelliğidir. Örneğin glukozidazlar glukozidler üzerine, alkol dehidrojenaz ise alkol üzerine etkilidir.

3) Bağ spesifikliğı: Bir enzimin proteinlerin peptid bağı, karbonhidratların glukozidik bağı gibi belli bağ tipleri üzerine etkili olması özelliğidir. Kimotripsin, peptit bağlarının hidrolitik parçalanmasında görevli bir enzimdir; etkili olduğu bağlar ise aromatik halkalı amino asitlerin oluşturduğu peptit bağlarıdır.

4) Stereospesifiklik: Bir enzimin yalnızca glukozun D veya L izomerleri gibi belli optik izomerlere etkili olması özelliğidir. Örneğin maltaz, α glukozidlere etkili fakat β glukozidlere etkili değildir.

Hücre içindeki çeşitli metabolik aktiviteler hücrenin farklı organellerinde gerçekleşmektedir. Buna göre enzimlerin hücre içi dağılımları da çeşitlilik gösterir. Örneğin glikoliz olayı hücrenin sitoplazmasında, solunum zinciri ise mitokondrilerde gerçekleşir; dolayısıyla glikolizde görevli enzimler sitoplazmada, solunum zincirinde görevli enzimler ise mitokondride lokalizedirler. Hücrenin çeşitli fraksiyonlarındaki enzimler, ilgili organel subsellüler fraksiyonlama işlemiyle izole edildikten sonra incelenebilir.

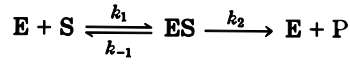
Enzim kinetikleri

Tanımlar

Enzimatik reaksiyonların hızlarının deneysel parametrelerdeki değişmelerle nasıl değiştiklerinin incelenmesi, **enzim kinetikleri** olarak bilinir. Enzimler, hücrelerden izole edilebilirler ve laboratuvarında bir test tüpünde özellikleri incelenebilir. Tıpta tanı ve hastalığı takipte vücut sıvı ve dokularındaki özgün enzim aktivitelerinin ölçümü, biyokimyasal analizlerin vazgeçilmez uygulamasıdır. Enzim kinetiklerini öğrenmek, biyokimyasal enzim

analizlerinin sağlıklı yapılabilmesi için dikkat edilmesi gereken koşulları öğrenmemizi sağlayacaktır.

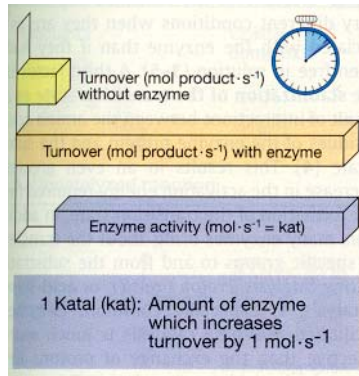
Enzimatik bir reaksiyonun,



şeklinde bir denklemlle özetlenebildiğini biliyoruz.

Bir enzimatik reaksiyonun hızı, enzim etkisiyle zaman birimi başına (1 dakikada veya 1 saniyede) oluşan ürünün veya ürüne dönüşen substratın miktarına göre ifade edilir. Bir enzimin bir doku ekstratı veya biyolojik bir sıvı içindeki miktarını ölçmek için, örnek içinde bulunan enzimin katalize ettiği tepkimenin hızı ölçülür; ölçülen hız, var olan aktif enzimin miktarıyla doğru orantılıdır. Ancak birçok enzimin saf örnekleri olmadığından veya miktarlarını saptamak zor olduğundan bu enzimlerin miktarları yerine aktivite ünitesi kullanılır; çeşitli enzimatik reaksiyonların hızlarının farklı olması, ilgili enzimlerin aktivitelerinin veya etkinliklerinin farklı olmasıyla açıklanır.

Bir enzimin aktivitesi, o enzim tarafından katalizlenen enzimatik reaksiyonun hızının, enzim etkisiyle optimal koşullarda belirli sürede ürüne dönüştürülen substrat miktarına göre ifadesidir:



Etkinliği veya aktivitesi fazla olan bir enzim, belirli bir sürede daha fazla substrat molekülünü ürün haline dönüştürür.

*Optimal pH, 25°C sıcaklık ve doyurucu substrat konsantrasyonunda bir tek enzim molekülü tarafından birim zamanda ürüne dönüştürülen substrat molekülü sayısına, enzime ait **dönüşüm sayısı** denir ve kısaca k_{cat} sembolü ile gösterilir. Bazı enzimlere ait dönüşüm sayıları şöyledir:*

Enzyme	Substrate	k_{cat} (s ⁻¹)
Catalase	H ₂ O ₂	40,000,000
Carbonic anhydrase	HCO ₃ ⁻	400,000
Acetylcholinesterase	Acetylcholine	140,000
β-Lactamase	Benzylpenicillin	2,000
Fumarase	Fumarate	800
RecA protein (ATPase)	ATP	0.4

En çok kullanılan **enzim aktivitesi birimi**, IU'dur. **1 IU enzim aktivitesi**, optimal koşullarda, 1 dakikada 1µmol substratı değiştiren enzim etkinliğini ifade eder ki bu da 1 saniyede 16,67 nmol substratın ürüne dönüştürülmesine karşılıktır.

Enzim aktivitesi, bazen katal olarak ifade edilir. **1 katal enzim aktivitesi**, optimal koşullarda, 1 saniyede 1 mol substratı değiştiren enzim etkinliğini ifade eder ki bu da 6×10^7 IU enzim aktivitesine denktir. $1 \text{ katal} = 6 \times 10^7 \text{ IU}$; $1 \text{ nanokatal} = 10^{-9} \text{ katal} = 0,06 \text{ IU}$

Enzim aktivitesi, spesifik aktivite olarak da ifade edilir. Bir enzim için **spesifik aktivite**, 1 mg enzim proteini başına düşen enzim ünitesi (IU veya katal) sayısıdır. Aktivite tayini yapılan biyolojik örnekteki enzim saflığı arttıkça spesifik aktivite de yüksek olur.

Çeşitli enzimler için özel aktivite birimleri de tanımlanmıştır: **Bodansky ünitesi**, 37°C'de 8,6 pH ortamında 100 mL serumda sodyum gliserofosfattan 1 saatte 1 mg fosfor oluşumunu katalize eden fosfataz enzimi aktivitesidir. **King-Armstrong ünitesi**, 37°C'de, 100 mL serumda fenilfosfattan 15 dakikada 1 mg fenol oluşumunu katalize eden fosfataz enzimi aktivitesidir.

Enzimatik bir reaksiyonun hızını etkileyen faktörler

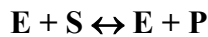
Enzimatik bir reaksiyonun hızını etkileyen birçok faktörden bazıları şunlardır: Enzim konsantrasyonu, substrat konsantrasyonu, pH, ısı veya sıcaklık, zaman, ışık ve diğer fiziksel faktörler, iyonların doğası ve konsantrasyonu, hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörler, reaksiyon ürünleri.

Enzim konsantrasyonunun enzimatik reaksiyonların hızına etkisi

Substratın çok bol olduğu bir ortamda optimal şartlarda enzimatik bir reaksiyonun ölçülen ilk hızı (V_0), enzim konsantrasyonu $[E]$ ile doğru orantılıdır:



Esasen bir enzimatik tepkimenin hızı, tüm substrat konsantrasyonlarında enzim konsantrasyonu ile orantılı olarak değişir. Örneğin, enzim konsantrasyonu yarıya indiğinde tepkimenin başlangıç hızı da yarıya düşer.



Denge halinde, tepkimenin sağa doğru olan hızı ($H_{12} = k_1 \cdot [E] \cdot [S]$), sola doğru olan hızı ($H_{21} = k_2 \cdot [E] \cdot [P]$) eşittir:

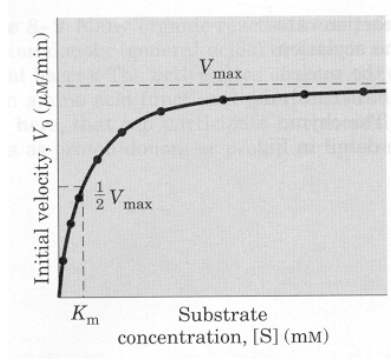
$$k_1 \cdot [E] \cdot [S] = k_2 \cdot [E] \cdot [P]$$

Buradan denge sabitinin $K_{\text{denge}} = k_1/k_2 = [P]/[S]$ olduğu bulunur. Buna göre de denge halinde enzim konsantrasyonunun denge sabiti üzerine etkisi yoktur; enzimler hıza etki etmekle birlikte hız sabitlerini ve denge sabitlerini değiştirmezler.

Bir enzimin bir doku ekstratı veya biyolojik bir sıvı içindeki miktarını ölçmek için, örnek içinde bulunan enzimin katalize ettiği tepkimenin hızı ölçülür; ölçülen hız, var olan aktif enzimin miktarıyla doğru orantılıdır.

Substrat konsantrasyonunun enzimatik reaksiyonların hızına etkisi

Enzim konsantrasyonu ve diğer bütün şartların sabit olduğu bir ortamda çok küçük bir substrat konsantrasyonunda, enzim moleküllerinin çoğu serbest kalır, ES kompleksi az miktarda oluşur ve dolayısıyla ürüne dönüşen substrat miktarı veya reaksiyonun hızı küçüktür. Substrat konsantrasyonunun belirli artışları ile enzim moleküllerinin yarısının serbest kalıp yarısının ES kompleksi oluşturduğu yarı maksimal hız ($1/2 V_{max}$) noktasına ulaşılır. Substrat konsantrasyonunun belirli artışlarının devamında enzim moleküllerinin hepsinin ES kompleksi oluşturduğu bir noktada reaksiyon hızı maksimumdur (V_{max}) ve bu noktadan sonra substrat konsantrasyonunun artışı ile reaksiyon hızı artmaz:

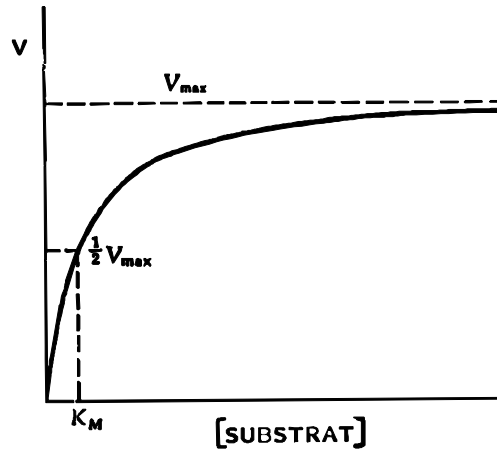


Enzim konsantrasyonu ve diğer bütün şartların sabit olduğu bir ortamda enzimatik tepkimenin hızı, substrat konsantrasyonunun artırılmasıyla başlangıçta doğrusal bir artış gösterir; fakat substrat ilave edildikçe hız giderek daha az artar ve belirli bir V_{max} düzeyinde sabit kalır.

V_{max} noktasındaki substrat konsantrasyonu enzimi doyuran ve bunun üzerinde her hangi bir değer olabileceğinden bunun ölçülmesi pratik olarak zordur. Buna karşılık enzimatik bir reaksiyonda enzim moleküllerinin yarısının substrata doyduğu ve böylece yarı maksimal hızın ($1/2 V_{max}$) gözlemlendiği noktadaki substrat konsantrasyonu ölçülebilir. Bir enzimatik reaksiyonda enzim moleküllerinin yarısının substrata doyduğu ve böylece yarı maksimal hızın gözlemlendiği noktadaki substrat konsantrasyonuna “**Michaelis-Menten sabiti**” denir ve K_m ile gösterilir.

Bir enzim için K_m (Michaelis-Menten sabiti), enzim ile verilen substratın karşılıklı etkileşimlerini karakterize eden bir sabit sayıdır; enzim konsantrasyonundan bağımsız bir değerdir; maksimum hızın yarısına erişildiği andaki substrat konsantrasyonunu gösterir.

Enzimatik bir reaksiyon için K_m , başlangıç hızını (V_0) substrat konsantrasyonunun ($[S]$) bir fonksiyonu kabul ederek grafik çizmek suretiyle deneysel olarak saptanabilir:



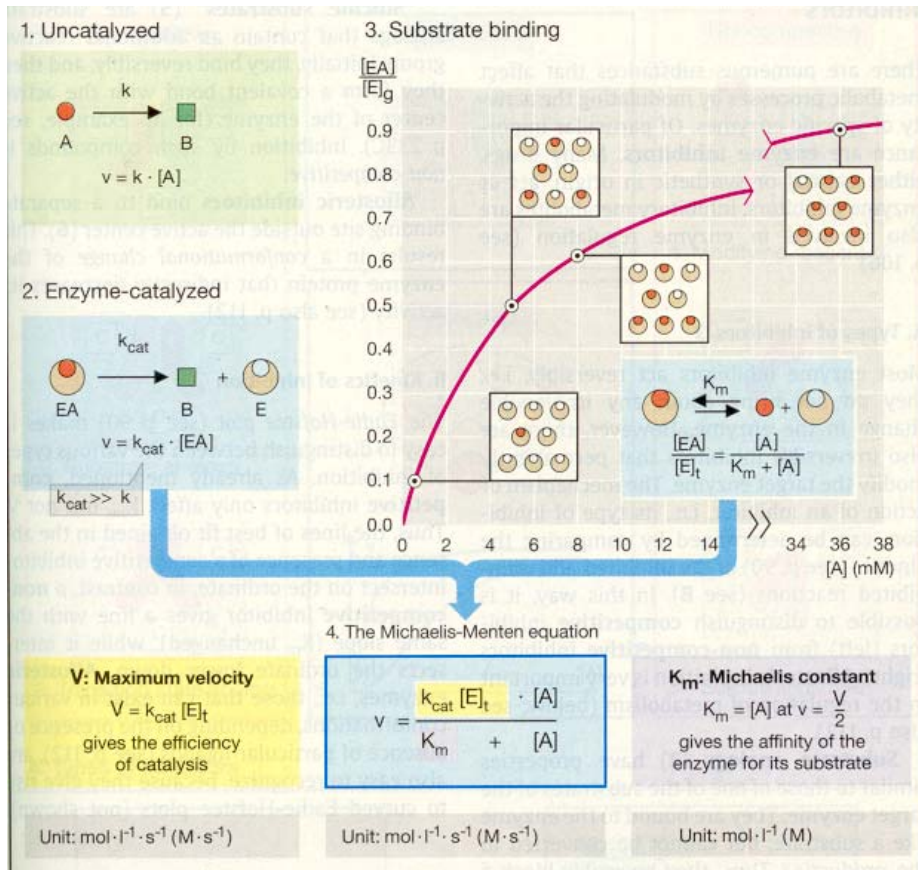
Birçok enzim için K_m , enzimin substratının fizyolojik konsantrasyonuna yakın bulunmuştur:

Enzyme	Substrate	K_m (mM)
Catalase	H_2O_2	25
Hexokinase (brain)	ATP	0.4
	D-Glucose	0.05
	D-Fructose	1.5
Carbonic anhydrase	HCO_3^-	9
Chymotrypsin	Glycyltyrosinylglycine	108
	N-Benzoyltyrosinamide	2.5
β -Galactosidase	D-Lactose	4.0
Threonine dehydratase	L-Threonine	5.0

Enzimatik bir reaksiyon için V_o , V_{max} , K_m ve $[S]$ arasındaki ilişki, “**Michaelis-Menten denklemi**” denin eşitlikle ifade edilir:

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

Michaelis-Menten denklemi, enzimatik bir reaksiyon için başlangıç hızını (V_o) substrat konsantrasyonunun ($[S]$) bir fonksiyonu kabul ederek çizilen hiperbolik eğrinin matematiksel ifadesidir:



Michaelis-Menten denklemi, bir enzimin, etkili olduğu reaksiyonda, substrat konsantrasyonuna göre ne şekilde davranacağını tanımlar:

1) **K_m çok büyük** ($[S]$, K_m 'den çok çok küçük) ise, enzimatik reaksiyonun hızı substrat konsantrasyonuna bağlıdır:

$$V_0 \approx \frac{V_{\max} \cdot (S)}{K_m}$$

$$V_0 \approx K \cdot [S]$$

Böyle reaksiyonlar, birinci dereceden reaksiyon olarak tanımlanırlar.

2) **K_m çok küçük** ($[S]$, K_m 'den çok çok büyük) ise, enzimatik reaksiyonun hızı substrat konsantrasyonuna bağlı değildir; $V_{\max}$ değerine eşittir:

$$V_0 \approx \frac{V_{\max} \cdot (S)}{(S)}$$

$$V_0 \approx V_{\max}$$

Böyle reaksiyonlar sıfırıncı dereceden reaksiyon olarak tanımlanırlar.

3) **K_m $[S]$ 'ye eşit** ise, enzimatik reaksiyonun hızı substrat konsantrasyonuna bağlı değildir; $1/2 V_{\max}$ değerine eşittir:

$$V_0 \approx \frac{V_{\max} \cdot (S)}{2(S)}$$

$$V_0 \approx \frac{V_{\max}}{2}$$

Michaelis-Menten denkleminde göre; K_m (Michaelis-Menten sabiti), enzimin substratına karşı olan ilgisini göstermektedir. K_m değeri küçük olan enzim, substratı için yüksek bir affinite gösterir; enzim düşük bir substrat konsantrasyonunda doyararak maksimal hız sağlar. K_m değeri 10^{-6} M (10^{-3} mM) ve daha düşük olan enzimler yüksek affiniteli enzimlerdir ki bunların metabolizmada büyük önemi vardır. K_m değeri büyük olan enzim, substratı için düşük bir affinite gösterir; enzimin yarı doygunluğa ulaşması için daha fazla substrat konsantrasyonu gerekmektedir. *Bir enzim için K_m değeri, enzim ile verilen substratın karşılıklı etkileşimini karakterize eden bir sabit sayıdır.*

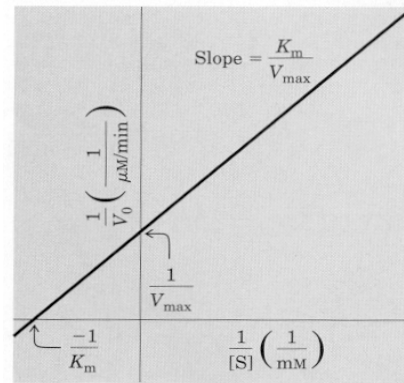
Michaelis-Menten denklemi bir hiperbolik eğrinin denklemi olduğundan ve hiperbolik eğrinin karakteristik noktalarını belirlemek zor olduğundan bir enzime ait $V_{\max}$ ve K_m 'yi deneysel olarak incelemeyi kolaylaştırmak için grafiği doğrusal olan başka denklemler de önerilmiştir. Bunlardan Michaelis-Menten denklemini tersine çevirip çarpanlarına ayırmakla elde edilen **Lineweaver-Burk denklemi**, en sık kullanılanıdır:

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

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

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

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



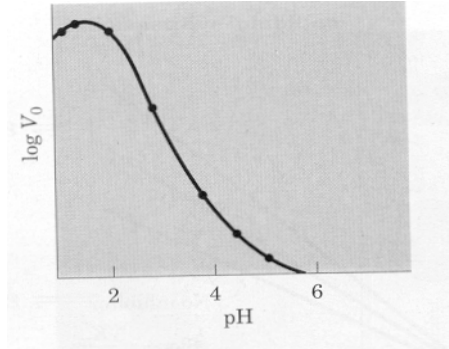
pH'in enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Enzimlerin aktiviteleri H^+ iyonu konsantasyonu veya pH değışmelerinden etkilenir. Çünkü, gerek enzimlerin aktif yerleri gerekse substratları, iyonizasyonu pH'ın fonksiyonu olan asidik ve bazik gruplar içerir:

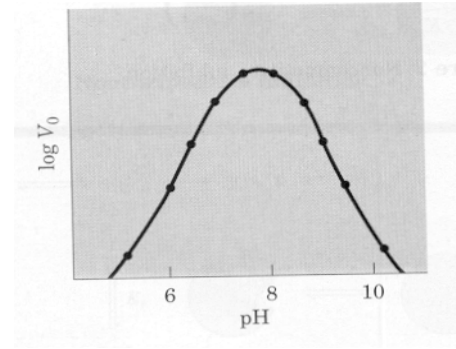
Aktif yerde amino asit kalıntısı	Asit form (Proton donörü)	Baz formu (Proton akseptörü)
Glu, Asp	$R-COOH$	$R-COO^-$
Lys, Arg	$R-\overset{H}{\underset{H}{ }{N}H}$	$R-\ddot{N}H_2$
Cys	$R-SH$	$R-S^-$
His	$R-\overset{H}{\underset{H}{ }{C}}=CH-\overset{H}{\underset{H}{ }{N}}H$	$R-\overset{H}{\underset{H}{ }{C}}=CH-\overset{H}{\underset{H}{ }{N}}H$
Tyr	$R-\text{C}_6\text{H}_4-OH$	$R-\text{C}_6\text{H}_4-O^-$

pH değışimi, enzimin aktif merkezinin iyonizasyonunu bozar ya da substrat molekülünün çözünürlüğünü değıştirerek enzim-substrat etkileşimi değıştirir. Ayrıca pH değışimiyle, katalitik olarak aktif olan enzimin amino asit zincirindeki iyonik karakter değıştiğı için enzim denatüre olarak katalitik aktivitesini kaybedebilir.

Her enzimin maksimum aktivite gösterdiği bir pH değeri vardır ki bu pH değerine enzimin **optimal pH değeri** denir. Çeşitli enzimlerin optimum pH değeri farklıdır:



Pepsinin pH-aktivite grafiğı



Glukoz-6-fosfatazın pH-aktivite grafiğı

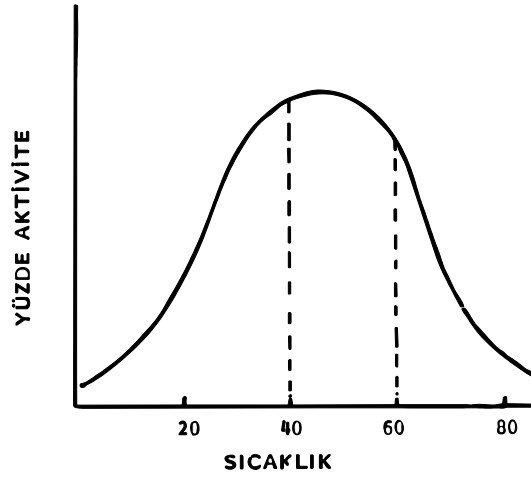
Bir enzimin aktivitesi, pH'ı enzimin optimal pH'ına eşit olan bir tampon çözelti içinde ölçülür.

Isı veya sıcaklığın enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Bazı enzimler 100°C sıcaklığa kadar oldukça yüksek ısıya birkaç dakika dayanabildikleri halde enzimlerin çoğu 50-60°C gibi sıcaklıklarda denatüre olurlar. Ancak ısıya maruz kalma süresi çok önemlidir; örneğin oda sıcaklığında birkaç saatlik süre 100°C'de birkaç saniyelik süreden daha yıkıcı etki yapar. Bu nedenle canlı dokulardan ekstrakte edilen enzimler, soğuk oda, buzdolabı, derin dondurucu gibi yerlerde saklanırlar.

Enzimatik reaksiyonların hızı, sıcaklık değışmelerinden etkilenir. Aktivasyon enerjisinin 50 kJ/mol olduğu reaksiyonlarda sıcaklığın 25°C'den 35°C'ye yükseltilmesi, reaksiyon hızını iki kat artırır; aktivasyon enerjisinin 85 kJ/mol olduğu reaksiyonlarda sıcaklığın 10°C yükseltilmesi, reaksiyon hızını üç kat artırır. Genel olarak sıcaklıkta her 1°C artış %10 daha yüksek bir enzim aktivitesi sağlar. Sıcaklık artışıyla enzimatik reaksiyonun hızındaki artış,

sıcaklık belli bir değere yükselinceye kadar devam eder; daha yüksek sıcaklıklarda enzim denatüre olarak aktivitesini kaybeder ve reaksiyon hızı azalır:



Enzim analizleri, 1°C'den daha büyük sıcaklık dalgalanmaları önlenerek yapılmalıdır.

Enzimatik reaksiyonun hızının maksimum olduğu sıcaklık derecesine **optimal sıcaklık** denir. Enzimlerin en büyük kısmı için optimal sıcaklık, ilgili enzimin bulunduğu hücre ortamının sıcaklığında veya onun biraz üzerinde olmak üzere 40-60°C'dir. Doğal sıcak su kaynaklarında çoğalmak üzere adapte olan mikroorganizmalardan elde edilen enzimler, suyun kaynama noktasına yakın optimal sıcaklık gösterirler.

Zamanın enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Bir enzim tarafından katalizlenen bir reaksiyonun hızı, zamanla azalır. Bunun sebebi, reaksiyon ürünlerinin kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirmeleri, enzimin zamanla inaktive olması, reaksiyonu önleyen maddelerin oluşması ve substratın tükenmesidir.

Enzimlerle yapılan ölçümler, çoğu kez substratın yaklaşık %10 kadarının kullanıldığı reaksiyonun başlangıç kısmında yapılır.

Işığın enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Işık, enzimlerin aktivitesini artırır veya azaltır.

İyonların enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Birçok enzim, aktiviteleri için metal iyonlarına gereksinim gösterirler. Metal iyonlarının katalitik fonksiyonları, çoğu kez karbonil bağındaki elektronlar veya alkollerdeki oksijen üzerinde bulunan elektron çiftleri gibi elektron çiftleriyle kompleks yaparak fonksiyonel grubu polarize etmek ve yönlendirmektir. Metal iyonlarının ayrıca yapısal fonksiyonu da vardır.

Metal iyonlarının enzimatik katalizde oynadıkları rol, beş mekanizma ile özetlenebilir:

- 1) Metalloenzimlerdeki metal iyonları, katalize doğrudan katılırlar. Örneğin, sitokromlardaki demir iyonu değer değiştirerek elektron transportunda rol oynar.
- 2) Bir metal iyonu, enzimde biçimsel bir değişiklik yapar; aktif olan tersiyer veya kuarterner yapıyı sürdürmede rol oynar. Örneğin Zn^{2+} iyonu, alkol dehidrojenazda aktif olan kuarterner yapıyı sürdürmede rol oynar. Enzime bir metalin eklenmesi aktif bir şekli inaktif şekle de çevirebilir.

3) Bir enzim için esas substrat metal-substrat kompleksi (MS) olabilir; enzim ancak MS kompleksine bağlanabilir. Örneğin, birçok fosfat transferi reaksiyonlarında enzim için gerçek substrat, Mg^{2+} -ATP⁻⁴ kompleksidir.

4) Bir enzim, metal ile enzim-metal kompleksi (EM) oluşturduktan sonra substrata bağlanabilir ve EMS kompleksi üzerinden ürün oluşur.

5) Bir metal ürün ile kompleks yapar ve ürünün tekrar substrata dönüşümünü engelleyerek reaksiyonu hızlandırabilir. Örneğin, trigliseridlerin lipaz ile parçalanmasında oluşan yağ asitleri, Ca^{2+} iyonları ile çözünmeyen tuzlar halinde ortamdan uzaklaşınca lipaz stimüle olur.

Metaller, reaksiyona giren türlerin doğasını değiştirerek tüm reaksiyonun denge sabitini değiştirirler.

Hormonlar ve diğer biyokimyasal faktörlerin enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Hormonlar, amino asitler ve diğer bazı maddeler enzimin durumunu etkileyerek reaksiyon hızını değiştirebilirler. Örneğin, östrojenik, androjenik ve bazı steroid gebelik hormonları, glutamat dehidrojenaz enziminin dört alt ünitesini dissosiyasyon ederek enzimin aktivitesini kaybetmesine neden olurlar ki bu durum, lösin, metiyonin, izolösin, ADP tarafından geri çevrilebilir.

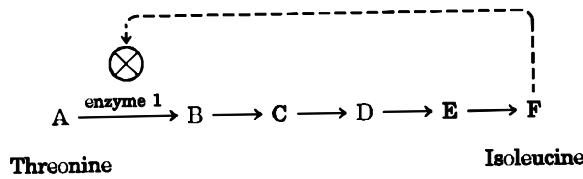
Reaksiyon ürünlerinin enzimatik reaksiyonların hızı üzerine etkisi

Reaksiyon ürünleri oluştuğunda enzimatik reaksiyonun hızı azalır. Çünkü enzimatik reaksiyonlar reversibldir; reaksiyon ürünleri kendi aralarında birleşerek aksi yönde bir reaksiyon meydana getirirler: $A \leftrightarrow B + C$ reaksiyonu, ancak B ve C oluşur oluşmaz ortamdan uzaklaştırılırlarsa hep soldan sağa yürür.

Reaksiyon ürünlerinden bir kısmı substrat ile yapısal benzerlik gösterir ve enzimle birleşerek onun aktivitesini azaltabilir.

Düzenleyici enzimler

Hücre metabolizmasında enzim grupları, iskelet kaslarında glukozun laktata dönüştürülmesi reaksiyonları ve bakteriyel hücrede daha basit prekürsörlerden amino asit sentezi gibi belli bir metabolik süreci gerçekleştirmek için art arda gelen yollarda birlikte iş görürler. Böyle enzim sistemlerinde ilk enzimin reaksiyon ürünü daha sonraki reaksiyonun substratı olur ve böyle devam eder:



Enzim sistemlerindeki enzimlerin çoğu, daha önce tanımlanan kinetik örnekleri izler. Ancak her enzim sisteminde en az bir enzim vardır ki bu, tüm dizinin hızını ayarlar. Çoğu multienzim sisteminde dizinin ilk enzimi olan böyle enzimler, **düzenleyici enzimler** diye tanımlanır ve en yavaş veya hız sınırlayan reaksiyonu katalizlerler. *Düzenleyici enzimlerin etkisi vasıtasıyla her metabolik dizinin hızı, hücre büyüme ve onarımında gerekli enerji ve biyomoleküller için hücrenin taleplerindeki değişiklikleri karşılamak üzere sabit olarak ayarlanır.*

Düzenleyici enzimlerin aktiviteleri, genellikle küçük metabolitler veya kofaktörler olan sinyal moleküllerinin çeşitli tipleri vasıtasıyla ayarlanır. Düzenleyici enzimler, belli sinyallere

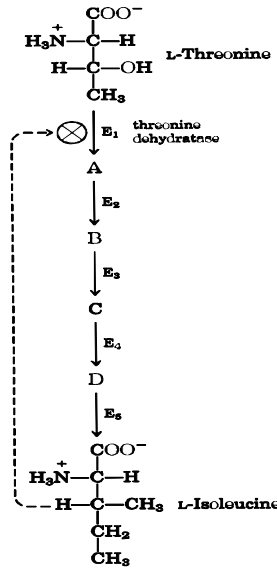
cevapta artan veya azalan katalitik aktivite gösterirler. Metabolik yollardaki düzenleyici enzimlerin iki büyük sınıfı vardır: 1) **Allosterik enzimler**, düzenleyici enzimlerin birinci sınıfını oluştururlar ki bunlar, genellikle bir metabolik yolun ilk aşamalarında etkil enzimlerdir ve modölatör (effektör) denen düzenleyici bir metabolitin reversibl nonkovalent bağlanmasıyla fonksiyon görürler. 2) Düzenleyici enzimlerin ikinci sınıfı, reaksiyon hızlarını reversibl kovalent modifikasyon vasıtasıyla düzenlerler. Her iki sınıf düzenleyici enzimler, birçok alt üniteye sahip olma eğilimindedirler ki bazı hallerde düzenleyici yer ve aktif yer ayrı alt ünitelerde bulunur.

Düzenleyici enzimlerin iki büyük sınıfını oluşturan **allosterik enzimler** ve **aktiviteleri reversibl kovalent modifikasyon vasıtasıyla ayarlanan enzimlerden** başka mekanizmalarla etkili olan düzenleyici enzimler de vardır: Bazı enzimler, kendilerine bağlanan ve aktivitelerini etkileyen ayrı kontrol proteinleri vasıtasıyla stimüle edici veya inhibe edicidirler. **Zimojenler** denen bazı enzimler, diğer irreversibl mekanizmalara benzemeyen proteolitik yıkılım vasıtasıyla aktive edilirler.

Allosterik enzimler ve enzim aktivitesinin nonkovalent düzenlenmesi

Bazı multienzim sistemlerinde düzenleyici enzim, son ürün gerektiğinden aşırı fazla olduğunda yolun son ürünü tarafından spesifik olarak inhibe edilir. Düzenleyici enzim reaksiyonu böylece yavaşladığında, bütün sıralı enzimler düşük hızda çalışırlar; yolun son ürününün üretim hızı bu suretle hücrenin ihtiyaçları ile dengeye getirilir. Enzim aktivitesinin bu tür düzenlenmesi, **allosterik feedback inhibisyon** olarak adlandırılır. *Allosterik feedback inhibisyonda, bir son ürün, genellikle tepkimenin irreversibl olan ilk aşamasında görevli allosterik enzime bağlanarak onu inhibe eder.*

Allosterik feedback inhibisyonun ilk keşfedilen örneklerinden biri, L-Treoninin L-İzolösine dönüşümünü katalizleyen bakteriyel enzim sisteminde incelenir:



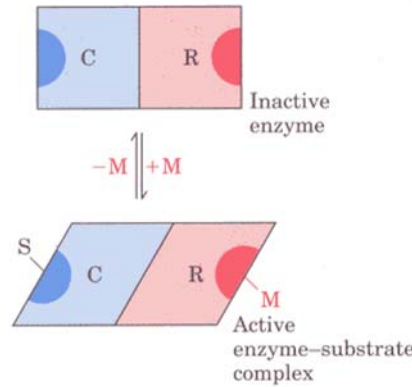
L-Treoninin L-İzolösine dönüşümünü katalizleyen bakteriyel enzim sisteminde ilk enzim olan *treonin dehidrataz*, bir allosterik enzimdir ve dizideki en son reaksiyonun ürünü olan izolösün vasıtasıyla inhibe edilir. İzolösün, bir inhibitör olarak oldukça spesifiktir; diğer ara ürünlerin hiçbiri treonin dehidratazı inhibe etmez ve dizideki diğer enzimlerin hiçbiri izolösün tarafından inhibe edilmez. *İzolösün, treonin dehidratazın aktif yerine değil, enzim üzerinde bir başka spesifik yer olan düzenleyici yere bağlanır ki bu bağlanma nonkovalenttir ve bu nedenle kolayca geri dönebilir; izolösün konsantrasyonu azalırsa, treonin dehidrataz aktivitesi*

artar. Böylece treonin dehidrataz aktivitesi, hücrede izolösin konsantrasyonundaki dalgalanmalara hızlı ve reversibl olarak cevap verir.

Allosterik enzimlerin özellikleri düzenleyici olmayan enzimlerinkinden önemli derecede farklıdır: 1) Farklılıkların bazıları yapısaldır ki allosterik enzimler, aktif veya katalitik yere ek olarak, modülatörü (effektör) bağlamak için genellikle bir veya daha fazla **düzenleyici** veya **allosterik yere** sahiptirler. Tıpkı bir enzimin aktif yerinin substratı için spesifik olması gibi, allosterik yer de modülatör (effektör) için spesifiktir. Allosterik enzimlerin modülatörleri, inhibitör (negatif effektör) veya stimülatör (pozitif effektör) olabilir. *Pozitif effektörler, enzimin aktivitesini artırır; negatif effektörler ise enzimin aktivitesini azaltır.* Bazı enzimlerin iki veya daha fazla modülatörü vardır ki birkaç modülatörlü enzimler genellikle her bir modülatör için farklı spesifik allosterik yere sahiptirler.

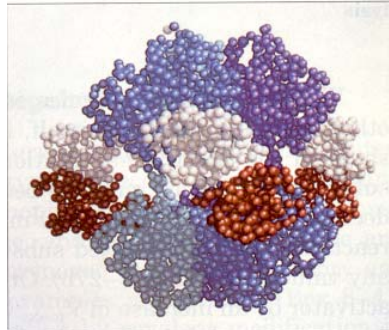
Birçok enzim için substrat, stimülatör etkili modülatördür (pozitif effektör) ki modülatörü ve substratı aynı olan düzenleyici enzimler **homotropik enzim** olarak adlandırılırlar; homotropik enzimlerde aktif yer ve allosterik yer aynıdır. *Homotropik enzimlerin effektörleri homotropik effektör olarak tanımlanır.*

Modülatörü substratından farklı olan düzenleyici enzimler ise **heterotropik enzim** olarak adlandırılırlar:

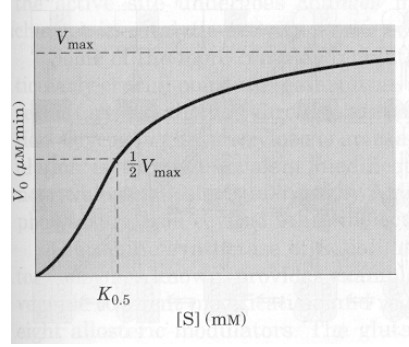


Heterotropik enzimlerde aktif yer ve allosterik yer aynı değildir. Heterotropik enzimlerin effektörleri heterotropik effektör olarak tanımlanır ki bu tür effektörler substrat dışı maddelerdir ve çoğunlukla metabolik olaylar sırasında oluşan son ürünlerdir.

Allosterik enzimlerin düzenleyici olmayan basit enzimlerden bir başka farkı, daha büyük ve daha kompleks yapıda olmalarıdır. Allosterik enzimlerin çoğu iki veya daha fazla polipeptit zincire veya alt üniteye sahiptirler:



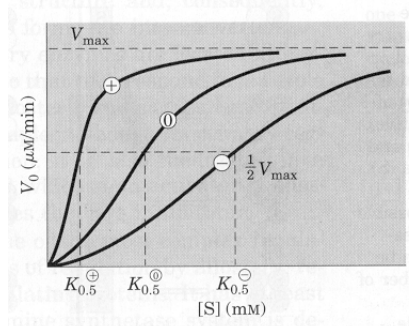
2) Allosterik enzimlerle düzenleyici olmayan enzimler arasında kinetik özelliklerde de farklılıklar vardır. Allosterik enzimler, birçok genel kural için istisnadırlar; V_0 ve $[S]$ arasında normal Michaelis-Menten denkleminde uymayan ilişki gösterirler; substrat-aktivite grafiği hiperbolikten daha çok sigmoiddır:



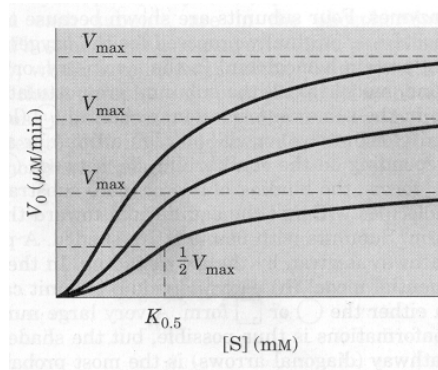
Bir allosterik enzim vasıtasıyla katalizlenen reaksiyonun yarı maksimal hızını veren substrat konsantrasyonunu göstermek için $K_{0,5}$ veya $[S]_{0,5}$ sembolleri kullanılır.

Homotropik allosterik enzimler genellikle birçok alt üniteye sahiptirler ve her alt ünite üzerindeki aynı bağlanma yerleri hem aktif yer hem düzenleyici yer olarak işlev görür; enzimin substratı bir pozitif modülatör (stimülatör, aktivatör)'dür. Bir bağlanma yerine bir substrat molekülünün bağlanması, enzimin konformasyonunu değiştirir ve substrat molekülünün art arda bağlanmasını büyük ölçüde artırır ki bu, $[S]$ artışıyla V_0 'daki artışın sigmoid oluşunun nedenini açıklar.

Heterotropik enzimlerde modülatör enzimin substratından başka bir molekül olduğundan substrat-aktivite grafiğinin şekli hakkında genelleştirme yapmak zordur. Bir pozitif modülatör (stimülatör, aktivatör), $K_{0,5}$ 'i azaltma fakat V_{max} 'u değiştirmeme suretiyle substrat-aktivite grafiğinin hiperboliğe yakın olmasına neden olabilir. Bir negatif modülatör (inhibitör) ise, $K_{0,5}$ 'i artırarak daha sigmoid substrat-aktivite grafiği oluşturabilir:

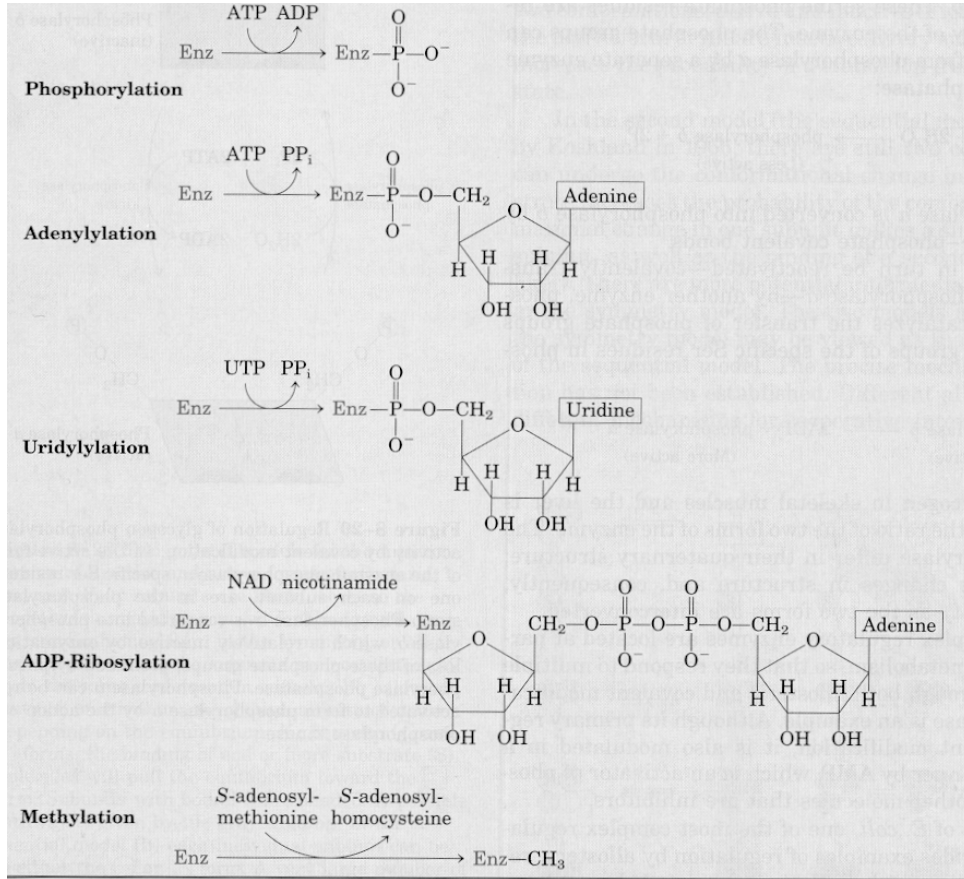


Allosterik enzimlerin bazıları inhibitör modülatörlere sahiptirler, bazıları aktivatör modülatörlere sahiptirler, bazıları her iki tür modülatöre de sahiptirler. Bu nedenle allosterik enzimler, substrat-aktivite grafiklerinde farklı tür yanıtlar gösterirler. Modülasyonun daha az görülen tipinde $K_{0,5}$ sabit kalırken V_{max} değişir:

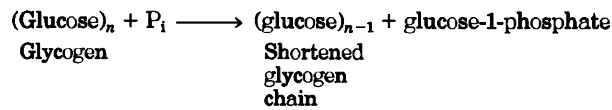


Aktiviteleri reversibl kovalent modifikasyon vasıtasıyla düzenlenen düzenleyici enzimler ve enzim aktivitesinin kovalent modifikasyon ile düzenlenmesi

Düzenleyici enzimlerin ikinci büyük sınıfında aktivite, enzim molekülünün kovalent modifikasyonu suretiyle düzenlenir. Enzim molekülünü kovalent modifiye edici gruplar şunlardır: Fosfat (P), adenosin monofosfat (AMP), Uridin monofosfat (UMP), adenosin difosfat riboz (ADP-Riboz), metil ($-\text{CH}_3$) grupları:

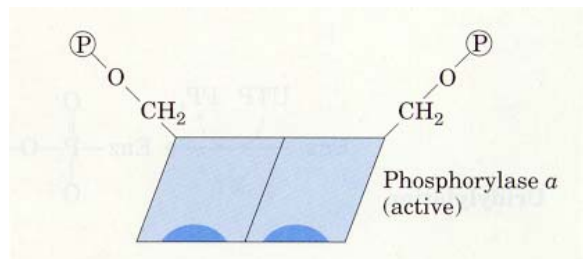


Enzim aktivitesinin kovalent modifikasyon ile düzenlenmesinin önemli bir örneği, kas ve karaciğer *glikojen fosforilaz*ının aktivitesinin düzenlenmesidir. Glikojen fosforilaz,



reaksiyonunu katalize eder; oluşan glukoz-1-fosfat, daha sonra kasta laktata yıkılabilir, karaciğerde serbest glukozu dönüşebilir.

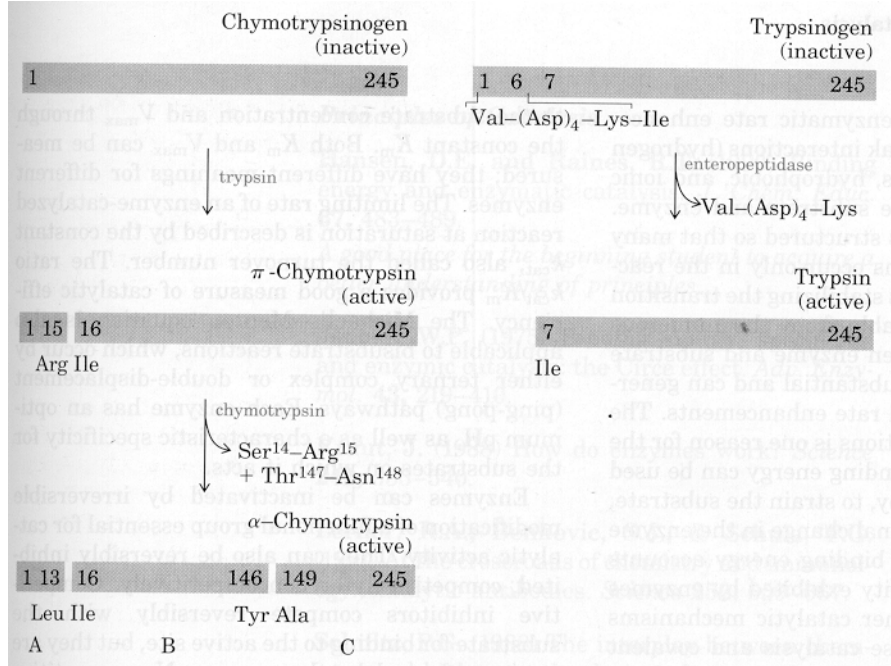
Glikojen fosforilaz, aktif *fosforilaz a* ve nispeten inaktif *fosforilaz b* olmak üzere iki formda bulunur. Fosforilaz a, iki alt üniteye sahiptir ve bunların her biri spesifik serin kalıntılarının hidroksil gruplarında fosforillenmiştir:



$$\begin{array}{ccc} \text{Phosphorylase } a + 2\text{H}_2\text{O} & \longrightarrow & \text{phosphorylase } b + 2\text{P}_i \\ \text{(More active)} & & \text{(Less active)} \end{array}$$

Zimojenler ve proteolitik yıkılım vasıtasıyla enzim aktivasyonu

Bir enzimin aktivitesinin düzenlenmesinin biraz farklı bir tipi, proteolitik yıkılım vasıtasıyla enzim aktivasyonudur. Proteolitik yıkılım vasıtasıyla aktive edilen enzimlerin inaktif prekürsörü, **zimojen** olarak isimlendirilir. Zimojen, proteolitik yıkılım sonunda aktif forma dönüşür; spesifik yıkılım, enzimin aktif yerinde konformasyonal değişikliklere neden olur. Mide ve pankreasın birçok enzimi inaktif prekürsörlerinin proteolitik yıkılımı sonunda aktif forma dönüşürler:



Aktivasyonun bu şekli irreversibl olduğundan bu enzimleri inaktive etmek için başka mekanizmalar gereklidir. Bu enzimler, genellikle enzimin aktif yerine çok sıkı olarak inhibitör proteinlerin bağlanması suretiyle inaktive edilirler.

Zimojen aktivasyonun diğer örnekleri, hormonlar, bağ dokusu ve kan pıhtılaştırıcı sistemde meydana gelir: İnsülin hormonu, proinsülinin yıkılması suretiyle oluşturulur; kollajen, başlangıçta prokollajen denen solubl bir prekürsör olarak sentezlenir; kan pıhtılaşmasında zimojen aktivasyonun komplike şelale şekli etkili olur.

Enzim sentezinin indüksiyonu ve represyonu

Hücrede enzim aktivitesini düzenleyen bir mekanizma da enzimin sentez hızının kontrolüdür. Bu mekanizma, indüksiyon veya represyon ile düzenlenim olarak tanımlanır. Gereksinime göre enzim aktivitesi, indüksiyon veya represyon ile düzenlenebilmektedir. Örneğin glukoz metabolizmasındaki anahtar enzimlerin sentezi, kan glukozunun yükseldiği durumlarda artar (indüksiyon); kan glukozunun düştüğü durumlarda ise azalır (repersyon).

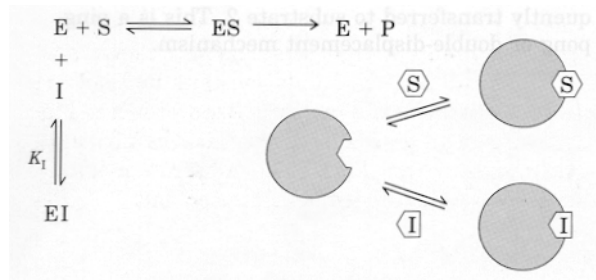
Enzim inhibisyonu

Enzim inhibisyonu, enzimatik bir tepkimenin hızının inhibitör adı verilen bazı maddeler tarafından azaltılması veya tamamen durdurulmasıdır. *Bazı hastalıkların nedeni, bir enzimin işlevini yerine getirmemesi olabilir; herhangi bir etken bir enzimi inhibe ederek enzimin katalize ettiği kimyasal olayı bozabilir veya bir farmakolojik ajan, bir hastalığı enzim inhibisyonu üzerinden tedavi edebilir.*

Bazı ilaçlar ve bir kısım kimyasal maddeler enzimlerin katalitik etkilerine engel olurlar ki enzimlerin etkilerini önleyen maddelere **enzim inhibitörleri** denir. Enzim inhibitörleri ile enzim inhibisyonu reversibl veya irreversibl olabilir.

Reversibl enzim inhibisyonları

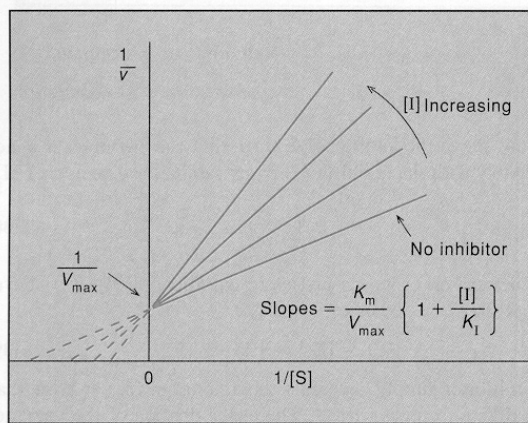
1) Kompetitif (yarışmalı) enzim inhibisyonu: Yarışmalı enzim inhibisyonudur; reversibl enzim inhibisyonunun yaygın bir tipidir. Kompetitif enzim inhibisyonunda, bir **kompetitif inhibitör**, enzimin aktif yeri için substrat ile yarışır. Enzimin aktif yerine inhibitör bağlanınca reaksiyon gerçekleşmez; inhibitör aktif yeri işgal ederken substratın enzime bağlanmasını önler. Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör madde, enzimin substratına olan ilgisini azaltır; K_m değeri büyür. Kompetitif inhibitör, sıklıkla yapısal olarak substrata benzeyen ve substrat gibi, enzime reversibl bağlanma özelliği gösteren bir bileşiktir; EI kompleksi oluşturmak üzere enzim ile reversibl olarak birleşir:



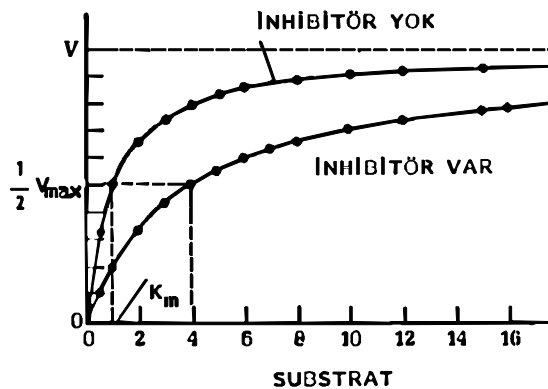
Süksinik aside ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$) yapıca çok benzeyen malonik asit ($\text{HOOC}-\text{CH}_2-\text{COOH}$), süksinat dehidrojenazın kompetitif inhibitörüdür.

Kompetitif enzim inhibisyonunda inhibitör enzime reversibl olarak bağlandığından yarışma, basit olarak daha fazla substrat ekleyerek substrat lehine çevrilebilir. Yeterli substrat varsa bir kompetitif inhibitörün enzime bağlanma olasılığı çok azdır. Bu durumda reaksiyon az çok normal bir $V_{\max}$ değeri gösterir; fakat kompetitif inhibitörün varlığında, yarı maksimal hızın gözlemlendiği noktadaki substrat konsantrasyonu olan K_m değeri artar.

K_m değeri üzerine belirgin etki ve $V_{\max}$ değeri üzerine etkinin az veya yok oluşu, kompetitif enzim inhibisyonunun karakteristiğidir:



Lineweaver-Burk grafiği



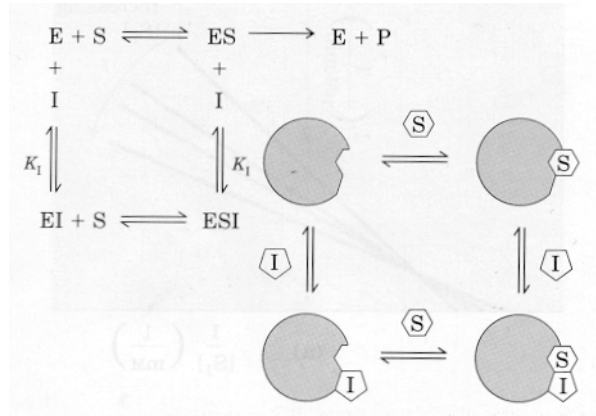
Michaelis-Menten grafiği

Kompetitif inhibitör, Lineweaver-Burk grafiğinin eğimini artırır.

Kompetitif inhibisyon, metanol içen hastaları tedavi etmek için yararlı olarak kullanılır. *Metanol, alkol dehidrojenaz enziminin etkisi vasıtasıyla formaldehite dönüştürülür; oluşan formaldehit, birçok dokuyu harap eder ki gözler özellikle duyarlı olduğundan sıklıkla körlüğe*

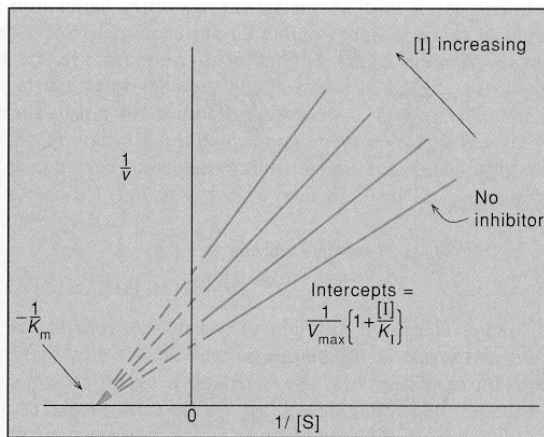
neden olur. Etanol, alkol dehidrojenaz için bir substrat olarak metanol ile etkili bir şekilde yarışır. Metanol ile zehirlenmede tedavi, etanolün hastaya intravenöz infüzyonudur. İntravenöz verilen etanol, formaldehit oluşumunu yeterince yavaşlatarak fazla metanolün zararsız bir şekilde idrarla atılımını sağlar.

2) Nonkompetitif (yarışmasız) enzim inhibisyonu: Yarışmalı olmayan enzim inhibisyonudur. Nonkompetitif enzim inhibisyonunda, **nonkompetitif inhibitör**, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır; enzime nonkompetitif inhibitörün bağlanması substrat bağlanmasını bloke etmez, substrat bağlanması da nonkompetitif inhibitörün bağlanmasını bloke etmez. Nonkompetitif inhibitör, kimyasal yapı yönünden substrata benzemez; serbest enzime veya ES kompleksi oluşuktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktive eder:

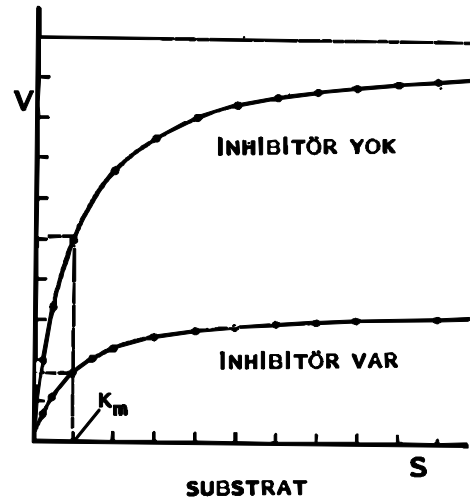


ESI kompleksi ürün vermek üzere ES kompleksinden daha yavaş parçalandığı için tepkimenin hızı yavaşlamaktadır. Bu tür inhibisyon ile, tepkimenin V_{max} değeri azaldığı halde K_m değeri değişmez.

Nonkompetitif inhibitör, aktif enzimin konsantrasyonunu ve dolayısıyla V_{max} değerini belirgin olarak azaltır; yarı maksimal hızın gözlemlendiği noktadaki substrat konsantrasyonu olan K_m değeri üzerine etkisi sıklıkla çok azdır veya yoktur:



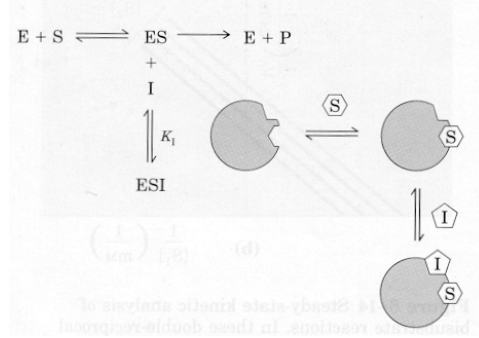
Lineweaver-Burk grafiği



Michaelis-Menten grafiği

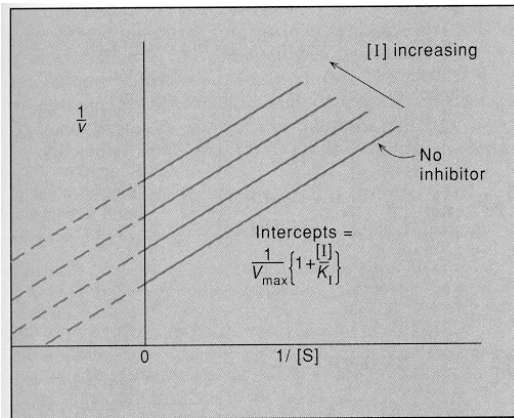
3) Ankompetitif enzim inhibisyonu: Bir enzime bir ankompetitif inhibitörün bağlanması sonucu meydana gelen enzim inhibisyonudur. **Ankompetitif inhibitör**, nonkompetitif inhibitör gibi, enzim üzerinde substratın bağlandığı aktif yerden ayrı bir yere reversibl olarak bağlanır;

fakat nonkompetitif inhibitör serbest enzime veya ES kompleksine bağlanabildiği halde ankompetitif inhibitör, yalnızca ES kompleksi oluşuktan sonra enzimin substratın bağlı olduğu aktif yerden başka bir yerine reversibl bağlanarak enzimi inaktive eder:

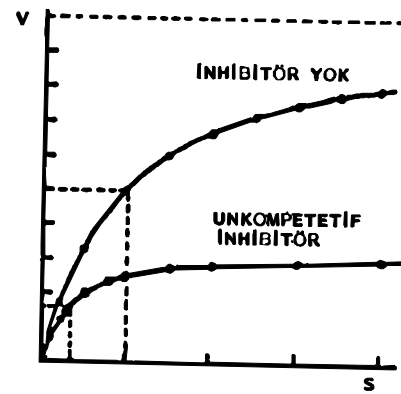


Ankompetitif inhibitör, ES konsantrasyonunu azaltır.

Ankompetitif inhibisyon sonucu hem V_{max} hem K_m değeri değişmektedir; V_{max} değeri azalırken K_m değeri küçülür:



Lineweaver-Burk grafiği



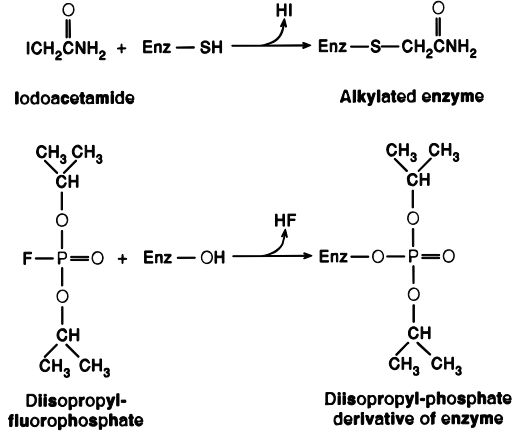
Michaelis-Menten grafiği

İrreversibl enzim inhibisyonları

İrreversibl enzim inhibisyonu, bir **irreversibl inhibitör**ün, enzim üzerinde bulunan ve aktivite için esas olan bir fonksiyonel grubu yıkması veya onunla irreversibl olarak birleşmesi sonucu meydana gelir. Bir irreversibl inhibitör ve bir enzim arasında kovalent bağ oluşması yaygındır:

İnhibitör	İnhibitör ile kovalent bağ oluşturan gruplar
Siyanür	Fe, Cu, Zn ve diğer metaller
p-Merkuribenzoat	Sülfhidril
Diizopropilfluorofosfat	Serin hidroksili
İyodoasetat	Sülfhidril, imidazol, karboksil, tiyoeter

İyodoasetamid, aktif yerinde sistein kalıntısı içeren birçok enzim için bir irreversibl inhibitördür; Diizopropilfluorofosfat, aktif yerinde serin kalıntısı içeren tripsin ve kimotripsin gibi enzimler için bir irreversibl inhibitördür:



İrreversibl inhibitörlerin çok özel bir sınıfı, **suisid inhibitörler**dir. Suisid inhibitörler, bir spesifik enzimin aktif yerine bağlanınca normal enzim reaksiyonunun ilk birkaç basamağını gerçekleştirmek için hazırlanır. Ancak suisid inhibitör, normal ürüne değişme yerine enzim ile irreversibl olarak birleşen birçok etkili bileşiğe dönüştürülür:

*Suisid inhibitörler, enzimi inaktive etmek için normal enzim reaksiyon mekanizması kullandıklarından **mekanizmaya dayanan inaktivatörler** diye de adlandırılırlar.*

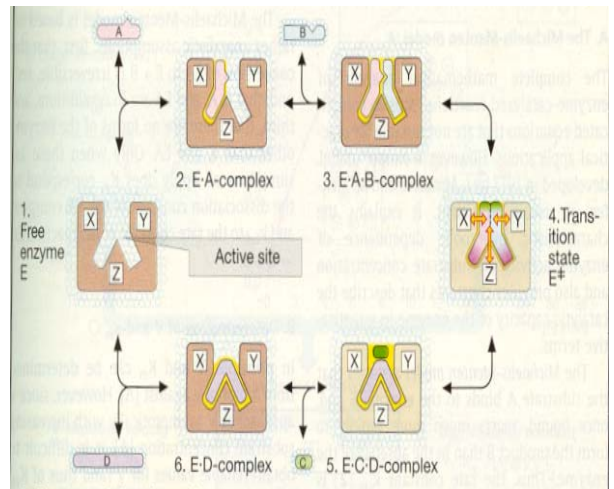
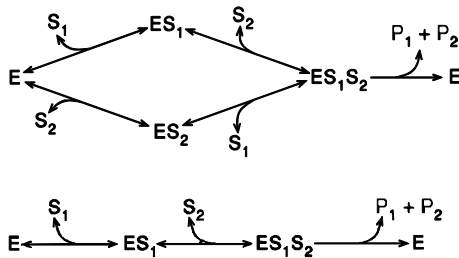
İki veya daha fazla substratlı enzimatik reaksiyonlar

Birçok enzimatik reaksiyonda iki veya daha fazla farklı substrat molekülleri enzime bağlanır ve reaksiyona katılırlar. Örneğin, heksokinaz tarafından katalizlenen reaksiyonda ATP ile glukoz, substrat molekülleri ve ADP ile glukoz-6-fosfat üretirler:



Böyle iki substratlı reaksiyonların hızı da Michaelis-Menten yaklaşımı ile analiz edilebilir.

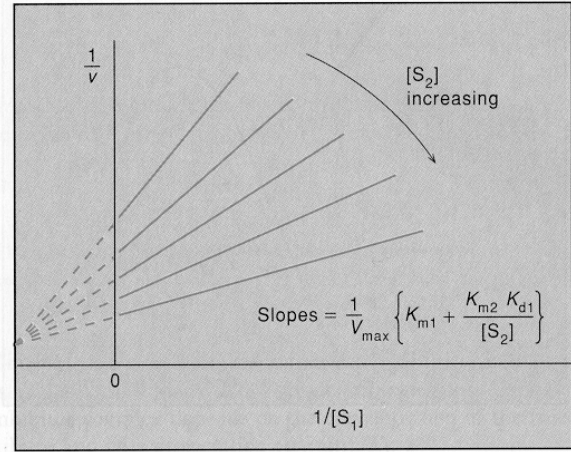
İki substratın olduğu enzimatik reaksiyonlar, genellikle bir atom veya fonksiyonel grubun bir substrattan diğerine transferini kapsar ve böyle reaksiyonlar birkaç farklı yoldan yürür: 1) Bazı durumlarda her iki substrat, reaksiyon sırasında enzime birkaç noktada aynı anda bağlanıp bir üçlü kompleks oluşturur ki böyle bir üçlü kompleks, substratların rasgele sırada veya özel bir düzende bağlanması suretiyle oluşturulabilir:



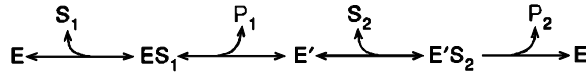
Ardaşık mekanizma olarak tanımlanan bu model için kinetik formül ve grafikler şu şekildedir:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_{m2}}{[S_2]} + \frac{K_{m1}}{[S_1]} + \frac{K_{m2} K_{d1}}{[S_2][S_1]} \right)$$

Formüldeki K_{d1} , ES_1 kompleksi için dissosiasyon (ayrışma) sabitidir.

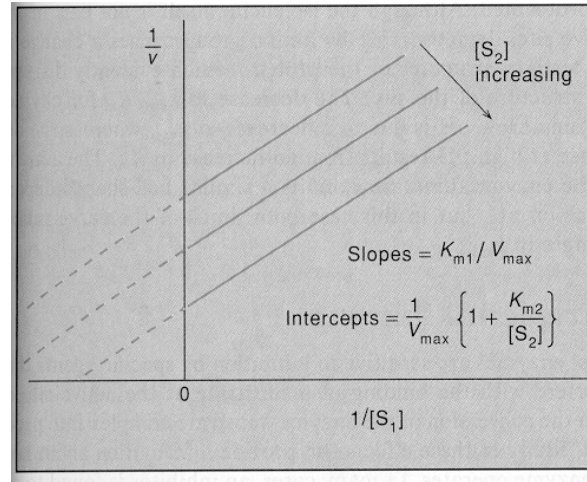


2) Bazı durumlarda ilk substrattan oluşan ürün ikinci substrat bağlanmadan önce ayrılır; üçlü kompleks oluşmaz ki bunun bir örneği, ping-pong veya çift kaydırım (çift yer değiştirme) mekanizması olarak tanımlanır:



Bu model için kinetik formül ve grafikler şu şekildedir:

$$\frac{1}{v} = \frac{1}{V_{\max}} \left(1 + \frac{K_{m2}}{[S_2]} \right) + \frac{K_{m1}}{V_{\max}} \frac{1}{[S_1]}$$



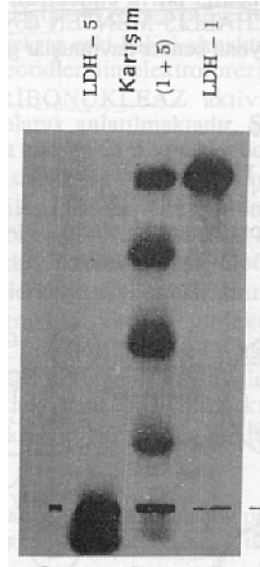
İzoenzimler (izozimler)

Belli bir enzimin katalitik aktivitesi aynı, fakat elektriksel alanda göç, doku dağılımı, ısı, inhibitör ve aktivatörlere yanıtları farklı olan formlarına o enzimin izoenzimleri denir. İzoenzimler, amino asit dizinleri farklı proteinler olduğu halde aynı tepkimeyi katalize eden enzimlerdir; farklı dokularda veya farklı intrasellüler kompartmanlarda farklı rollere sahiptirler. Eğer bir reaksiyon hücrenin hem sitozolünde hem mitokondrisinde oluyorsa, genellikle farklı izoenzimler tarafından katalize edilir. Günümüzde gelişmiş tekniklerle, aynı tepkimeyi katalizlediği halde farklı yapısal özellik gösteren izoenzimler ayrı ayrı analiz edilerek miktarları veya aktiviteleri belirlenebilmektedir.

İzoenzimlere karşı ilgi, 1957'de insan serumlarının birçok laktat dehidrojenaz (LD, LDH) izoenzimi içerdiğinin ve bunların nisbi oranlarının belli patolojik şartlarda önemli derecede değiştiğinin bulunmasıyla artmıştır. Bir hastada kan serumunda artan total enzim aktivitesinin hangi organa ait hasarı gösterdiğini saptayabilmek, ancak izoenzimlerin tayini ile mümkün

olmaktadır. Doku spesifik izoenzimler, doku hasarının yerinin belirlenmesinde tanısal amaçla kullanılır; izoenzim aktivitelerinin bilinmesi, klinisyenler için tanı koymada yol göstericidir.

Laktat dehidrojenaz (LD, LDH) izoenzimleri, bir serum örneğine 8,6 pH’da nişasta, agar veya poliakrilamid jel destek üzerinde elektroforez uygulamak suretiyle gösterilebilirler:



Laktat dehidrojenaz (LD, LDH) izoenzimleri, kuarterner yapı düzeyinde birbirinden farklılıklar gösterirler. Aktif LD molekülü, H ve M tiplerinde dört monomerden oluşur; bu monomerler beş farklı şekilde birbirleriyle birleşirler ve beş farklı LD izoenzimi meydana gelir:

LD izoenzimi	İzoenzimin monomerleri	İzoenzimin özellikleri
LD ₁	HHHH	Elektroforezde anoda en hızlı göçen izoenzimdir; kalp kası, eritrositler, blast hücreler ve böbreklerde bulunur; miyokard enfarktüsünde serum düzeyi artar.
LD ₂	HHHM	Kalp kasında ve eritrositlerde bulunur.
LD ₃	HHMM	Akciğer, endokrin bezler, dalak, lenf bezleri ve trombositlerde bulunur.
LD ₄	HMMM	Karaciğer ve iskelet kasında bulunur.
LD ₅	MMMM	İskelet kasında ve karaciğerde bulunur; karaciğer hastalıklarında serum düzeyi artar.

Kreatin kinaz (CK, CPK) enziminin üç izoenzimi vardır:

CK izoenzimi	İzoenzimin özellikleri
CK ₁ (CK-BB)	Beyinde bulunur; serumda her zaman aktivitesi gösterilemez.
CK ₂ (CK-MB)	Kalp kasında bulunur; plazma düzeyi normalde total CK düzeyinin %2'sinden daha azdır; miyokard enfarktüsünden sonra plazma düzeyi artar.
CK ₃ (CK-MM)	İskelet kasında bulunur; normalde plazma total CK aktivitesinin %98'ini oluşturur.

Koenzimler

Koenzimler, bazı enzimlerin aktiviteleri için gerekli olan ve **kofaktör** diye adlandırılan ek kimyasal komponentlerin organik veya metalloorganik molekül yapısında olanlarıdır. *Kofaktörlerin diğer grubu, Fe^{2+} , Mg^{2+} , Mn^{2+} , Zn^{2+} gibi inorganik iyonlardır.*

Koenzimlerin bazıları enzim proteinine kovalent olarak bağlıdır; enzimden ayrılmazlar. Bazı koenzimler ise enzim proteinine nonkovalent olarak gevşek bir şekilde bağlıdır; enzimden ayrılabilirler. Koenzimlerin enzim proteinine kovalent olarak bağlı olup enzimden ayrılmayanları **prostetik grup** olarak adlandırılırlar; enzim proteinine nonkovalent olarak bağlı olup enzimden ayrılabilenleri **kosubstrat** olarak adlandırılırlar.

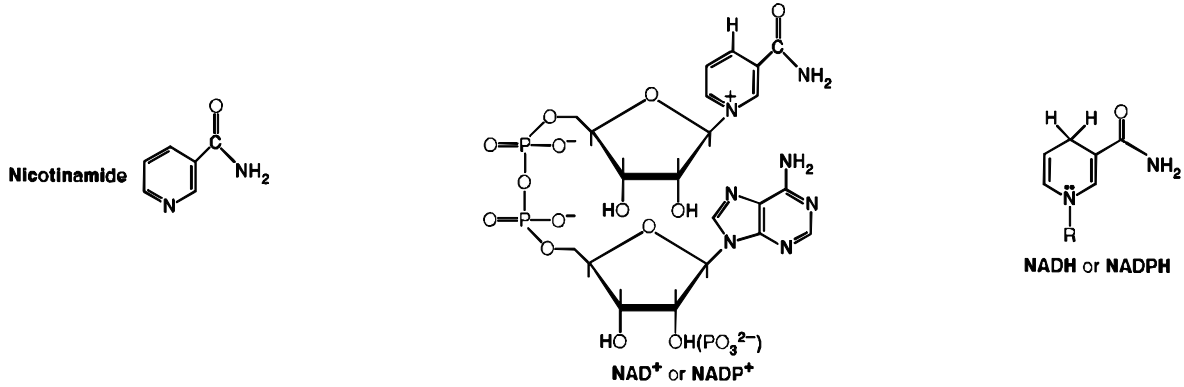
Koenzimler, fonksiyonlarına göre genellikle üç grupta incelenebilirler: 1) Hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler. 2) Fonksiyonel grup transfer eden koenzimler. 3) Liyaz, izomeraz ve ligazların koenzimleri.

Hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler

Hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler, yapısal özelliklerine göre sınıflandırılarak incelenebilirler.

Yapısında nikotinamid içeren, hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler

Yapısında nikotinamid içeren, hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler, nikotinamid adenin dinükleotid (okside şekli NAD^+ , redüe şekli $NADH$) ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (okside şekli $NADP^+$, redüe şekli $NADPH$)'dir:

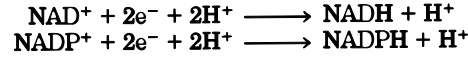


Nikotinamid adenin dinükleotid ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat, niasin (nikotinik asit) vitamininden türerler; enzimden ayrılabilen kosubstratlardır; dehidrojenazlar ile birlikte solubl elektron taşıyıcıları olarak etki gösterirler:

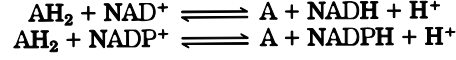
Enzyme	Cofactor
Isocitrate dehydrogenase	NAD^+
α -Ketoglutarate dehydrogenase	NAD^+
Glucose-6-phosphate dehydrogenase	$NADP^+$
Malate dehydrogenase	NAD^+
Glutamate dehydrogenase	NAD^+ or $NADP^+$
Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	NAD^+
Lactate dehydrogenase	NAD^+
Alcohol dehydrogenase	NAD^+

*Bir substrat molekülü oksidasyona (dehidrojenasyon) uğrarken iki hidrojen atomu verir. Bu sırada NAD^+ veya $NADP^+$, bir **hidrid iyonu** ($:H^-$) kabul ederek indirgenmiş şekle ($NADH$*

veya NADPH) dönüşür; substrattan ayrılan ikinci hidrojen, H^+ iyonu şeklinde sulu çözeltiye salınır. Bu olayın yarı reaksiyonu,



şeklinde gösterilir; tam reaksiyonu ise,



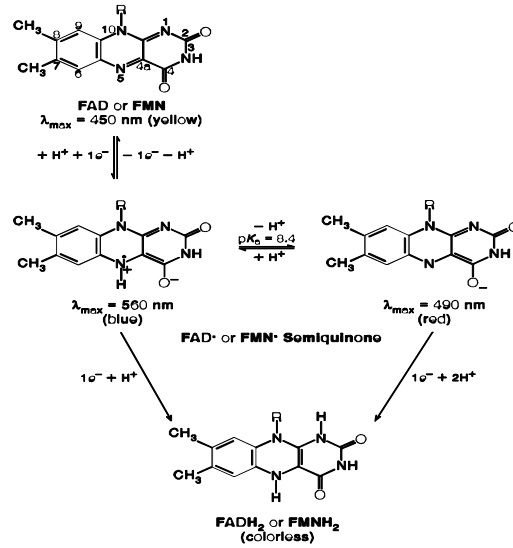
şeklinde gösterilir.

Dokuların çoğunda nikotinamid adenin dinükleotidin total konsantrasyonu, yaklaşık olarak 10^{-5} Molardır; nikotinamid adenin dinükleotid fosfatın konsantrasyonu yaklaşık 10 misli daha düşüktür. Birçok doku ve hücrede NAD^+ , $NADH$ 'den yüksek oranda bulunur; $NADPH$, $NADP^+$ 'den yüksek orandadır. Bu durum, iki kofaktörün özelleşmiş metabolik rolünü yansıtır; NAD^+ genellikle katabolik oksidasyonlarda görev alır, $NADPH$ ise anabolik indirgeme reaksiyonlarında görev alır.

Yapısında nikotinamid içeren koenzimlerin enzimleri, başlıca şu reaksiyonları katalize ederler: 1) Oksidasyon reaksiyonları. 2) Flavinli koenzimlerin indirgenmesi. 3) Aromatik ve alifatik bileşiklerin hidroksilasyonu ve desatüre edilmesi. 4) DNA sentezi. 5) Kolesterol sentezi. 6) Glukozun direkt oksidasyonu.

Yapısında flavin içeren, hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler

Yapısında flavin içeren, hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler, flavin adenin dinükleotid (okside şekli FAD, redü şekli $FADH_2$) ve flavin mononükleotid (okside şekli FMN, redü şekli $FMNH_2$)'dir:

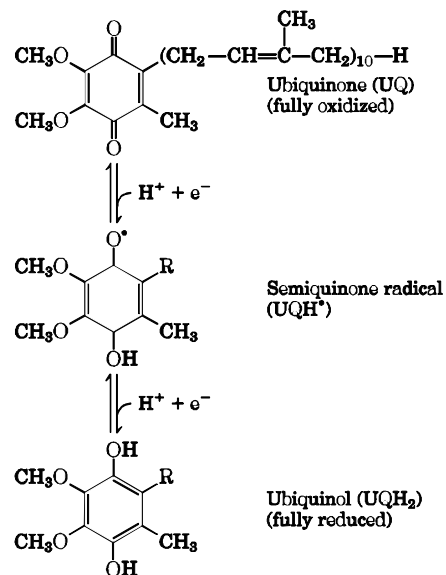


Bu koenzimler, riboflavinden (vitamin B₂) türerler; enzime kovalent olarak bağlıdırlar; enzimden ayrılmazlar; çeşitli dehidrojenazların koenzimleridirler:

Enzyme	Flavin nucleotide
Fatty acyl-CoA dehydrogenase	FAD
Dihydrolipoyl dehydrogenase	FAD
Succinate dehydrogenase	FAD
α -Glycerophosphate dehydrogenase	FAD
NADH dehydrogenase	FMN
Glycolate dehydrogenase	FMN

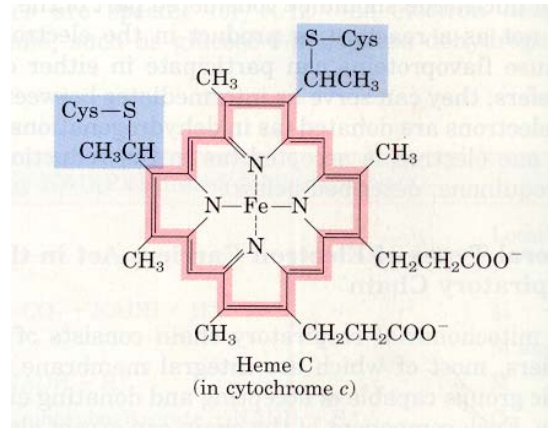
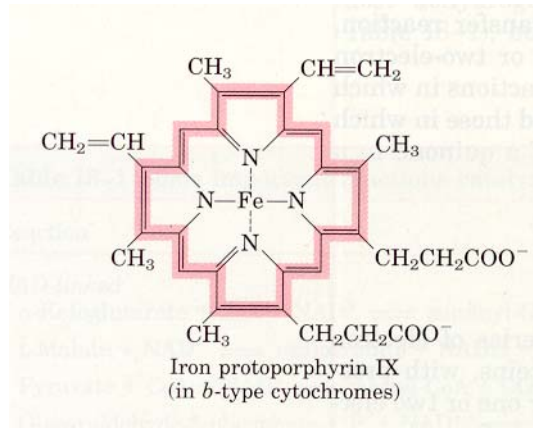
Flavinli koenzimler hem 1 hem 2 elektron transferine katılabilirler. NAD-bağımlı dehidrojenazlardan daha çok reaksiyon çeşitliliği gösterirler. Flavinli enzimlerin katalize ettiği reaksiyonlar şunlardır: 1) D-amino asitlerin oksidasyonu. 2) Pirüvatın oksidatif dekarboksilasyonunda redüce lipoik asidin oksitlenmesi. 3) Yağ asitlerinin oksidatif yıkılımı. 4) Elektron transportu.

Koenzim Q, kinon yapısında bir maddedir. Koenzim Q'nun tam okside şekli (UQ), flavinli koenzimler gibi 1 elektron alarak semikinon radikali ($UQH^\bullet$), 2 elektron alarak ubikinol (UQH_2) oluşturabilir:



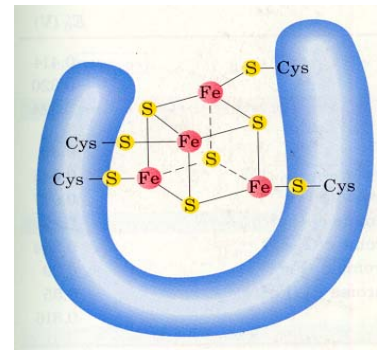
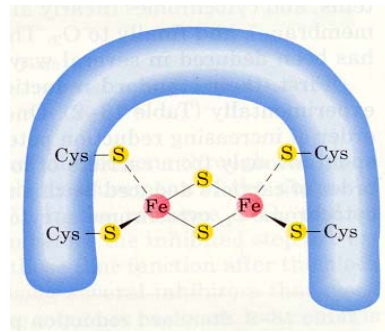
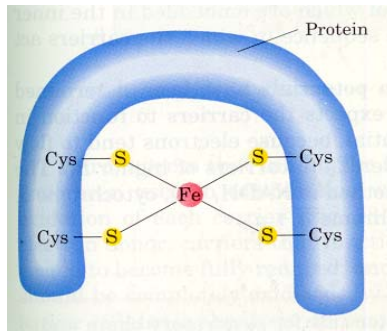
Demir porfirinler (Hem'ler)

Heme A
(in *a*-type cytochromes)



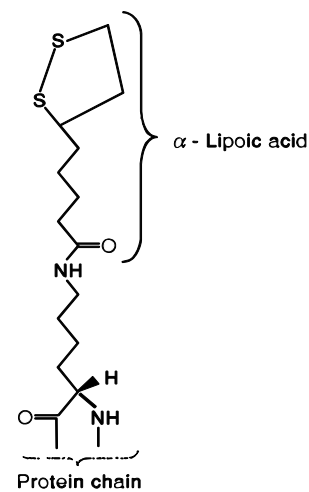
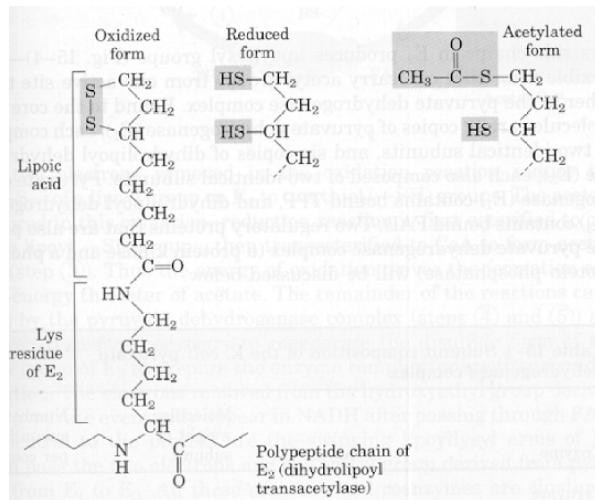
Sitokromlar, biyolojik oksidasyon olayında redoks potansiyellerine göre sıralanırlar ve koenzim Q'dan aldıkları elektronları birbirlerine aktarırlar.

Demir-kükürt proteinleri denen ve elektron transfer eden proteinler de vardır; bu proteinlerde demir, sitokromlardaki gibi hem yapısında değildir:



α -Lipoik asit

α -Lipoik asit, α -ketoglutarat dehidrojenaz ve piruvat dehidrojenaz multienzim komplekslerinde yer alan *dihidrolipoil transasetilaz* enzimin koenzimidir. α -Lipoik asit, enzimdeki lizin kalıntılarının ϵ -amino grubu ile amid bağı yapmak suretiyle enzime kovalent olarak bağlanmıştır:



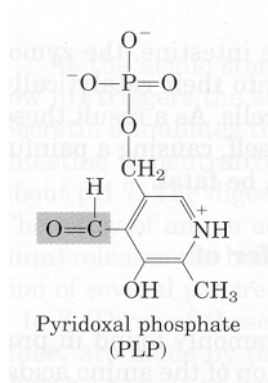
α -Lipoik asit, **açıl taşıyıcısı** ve **elektron taşıyıcısı** olarak işlev görür.

Fonksiyonel grup transfer eden koenzimler

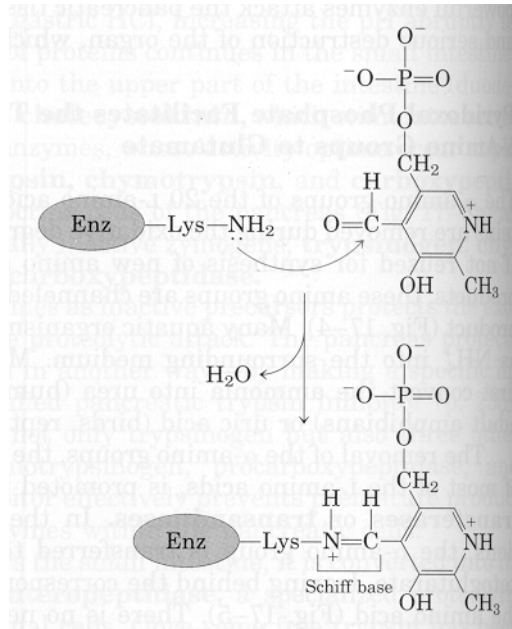
Fonksiyonel grup transfer eden koenzimler, piridoksal-5-fosfat (PLP), tiyamin pirofosfat (TPP), koenzim A (CoA·SH), α -lipoik asit, biotin (vitamin H), tetrahidrofolat (H_4 -folat) ve koenzim B₁₂ (5ⁱ-deoksiadenozil kobalamin)'dir. Bunlardan başka PAPS (3ⁱ-fosfoadenozin-5ⁱ-fosfosülfat, aktif sülfat), ATP, UTP, CTP, GTP, S-Adenozil metiyonin de çeşitli grupların veya moleküllerin bir moleküle bağlanmasında görev görürler.

Piridoksal-5-fosfat (PLP)

Piridoksal-5-fosfat (PLP), Vitamin B₆ ailesinin üç önemli üyesinden biri olan **piridoksalin** aktif şeklidir:



Piridoksal-5-fosfat (PLP), bir α -amino asidin amino grubunun bir α -keto asidin α -karbonuna transferini katalizleyen **transaminazların** (aminotransferazlar) koenzimidir. *Aspartat aminotransferaz (AST, GOT, glutamat oksaloasetat transaminaz) ve alanin aminotransferaz (ALT, GPT, glutamat piruvat transaminaz) önemli transaminazlardır ki bunların koenzimi PLP'tir.* Piridoksal-5-fosfat (PLP), karbonil karbonu ile, enzimin aktif yerindeki lizinin ϵ -amino azotu arasında Schiff bazı (aldimin) oluşturur ve elektron musluğu olarak etki yapar:

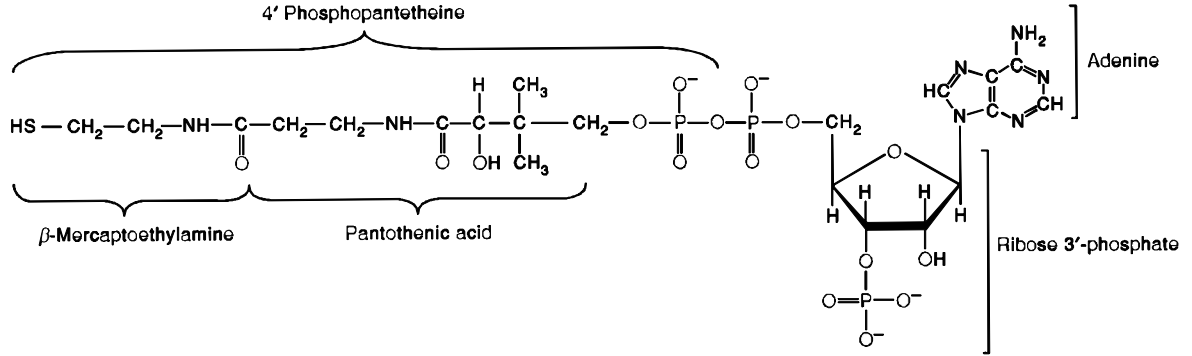


Tiamin pirofosfat (TPP)

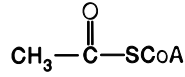
Tiamin pirofosfat (TPP), vitamin B₁ (tiyamin)'in türevidir:

Koenzim A (CoA·SH)

Koenzim A (CoA·SH), vitamin pantotenik asit türevidir:

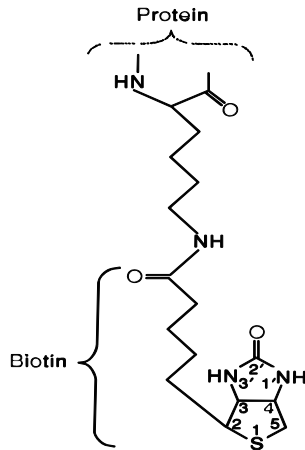


Koenzim A (CoA·SH), asetik asit ve diğer karboksilik asit kalıntıları olan **açıl gruplarının transferinde** rol oynayan koenzimdir; yapısındaki tiyol (sülfhidril, –SH) grupları, açıl grupları ile yüksek enerjili bağ oluşturur:



Biotin (vitamin H)

Biotin, siklik bir üre türevi ve bir tiofen halkasından kurulu bileşiktir; koenzim olarak, enzimdeki lizin kalıntılarının ε-amino grubu ile amid bağı yapmak suretiyle enzime kovalent olarak bağlanmıştır ve **biositin** adını alır:



Biotin, karboksilaz ve karboksiltransferazların koenzimidir; **CO₂'in aktiflenmesini ve transferini** sağlar.

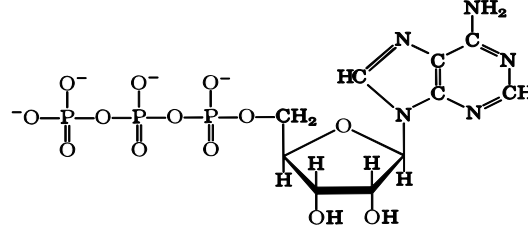
Tetrahidrofolat (H₄ folat)

Tetrahidrofolat (H₄ folat), folik asit türevidir; pteridin halka sistemi, p-aminobenzoik asit ve glutamattan kuruludur; folik asidin 5, 6, 7 ve 8. pozisyonunda enzimatik indirgenmesiyle oluşmuştur:

PAPS, fenol ve alkollere sülfat grubunun transfer edilerek sülfürik asit esterlerinin oluştuğu reaksiyonlarda işlev görür.

Adenozin trifosfat (ATP)

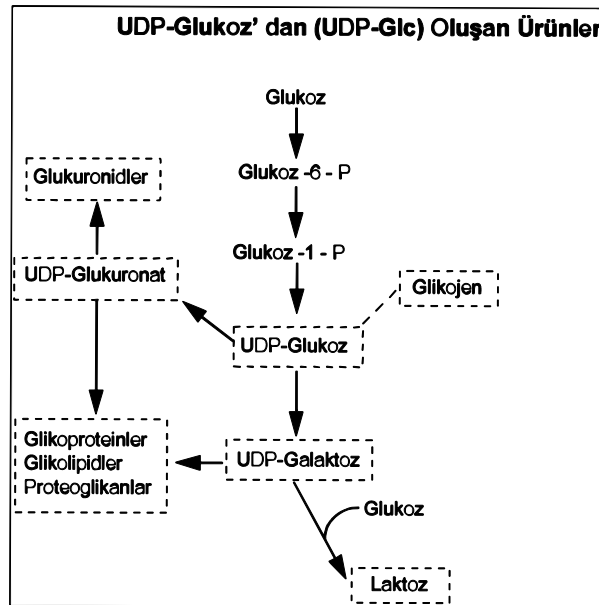
ATP, bir nükleotiddir:



ATP, ATP-Mg^{2+} kompleksi olarak, fosfat gruplarının transfer edilerek fosforik asit esterlerinin oluştuğu reaksiyonlarda işlev görür. ATP'nin enerjice zengin iki fosfat bağı, birçok reaksiyon için enerji kaynağıdır: 1) ATP'nin terminal fosfat grubu bir substrata transfer edilir; ADP ile fosforile substrat oluşur. 2) ATP'nin terminal pirofosfatı bir substrata transfer edilir; AMP ile substrat-pirofosfat oluşur. 3) ATP'nin terminal pirofosfatı ayrılır; AMP-substrat oluşur. 4) ATP'nin her üç fosfatı pirofosfat ve inorganik fosfat şeklinde ayrılır; adenozil-substrat oluşur. 5) ATP, ADP ve fosfata veya AMP ve pirofosfata parçalanır; bu sırada serbestleşen enerji, endergonik bir reaksiyonun gerçekleşmesi için kullanılır.

Uridin trifosfat (UTP)

Uridin trifosfat (UTP), glukozun UDP-glukoz şeklinde aktiflenmesini ve bir başka moleküle transfer edilerek bağlanmasını sağlar. *UDP-Glukoz, glikojen gibi polisakkaritlerin sentezinde, şekerlerin birbirine çevrilisinde, glikozidlerin sentezinde rol oynar; UDP-glukoz, glukozun bir başka moleküle transfer edilmek üzere aktiflenmiş şeklidir:*



Sitidin trifosfat (CTP)

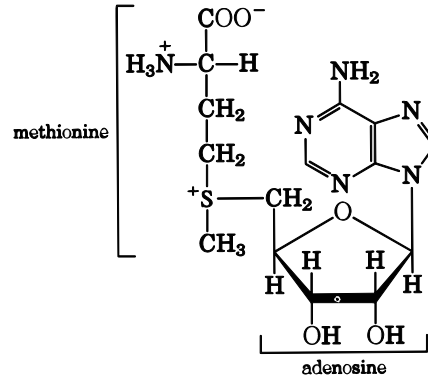
Sitidin trifosfat (CTP), kolinin CDP-kolin şeklinde, etanolaminin CDP-etanolamin şeklinde aktiflenmelerini ve bir başka moleküle transfer edilerek bağlanmalarını sağlar; ayrıca nöraminik asidin CMP-nöraminik asit şeklinde aktiflenerek bir başka moleküle transfer edilip bağlanmasını sağlar.

Guanozin trifosfat (GTP)

Guanozin trifosfat (GTP), mannozun GDP-mannoz şeklinde aktiflenmesini ve bir başka moleküle transfer edilerek bağlanmasını sağlar.

S-adenozil metiyonin (SAM)

S-adenozil metiyonin (SAM), metiyoninin aktif şeklidir:



S-Adenosylmethionine (adoMet)

S-adenozil metiyonin (SAM), bir molekülün metillenmesi reaksiyonlarında metil grubu vericisi olarak işlev görür.

Liyaz, izomeraz ve ligazların koenzimleri

Hidrojen ve elektron transfer eden koenzimler ile fonksiyonel grup transfer eden koenzimlerin bazıları liyaz, izomeraz ve ligazların koenzimleri olarak da görev görürler; bazı hallerde ara ürün, koenzim olarak işlev görür.