

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MATEMATİK ANABİLİM DALI

**BİYOKİMYASAL REAKSİYONLARIN MATEMATİKSEL MODELLEMESİ
ÜZERİNE**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SENEM YILDIRIM

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ EMRAH HASPOLAT

BİLECİK, 2024

10592552

T.C.
BİLECİK ŞEYH EDEBALI ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
MATEMATİK ANABİLİM DALI

**BİYOKİMYASAL REAKSİYONLARIN MATEMATİKSEL MODELLEMESİ
ÜZERİNE**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SENEM YILDIRIM

TEZ DANIŞMANI
DR. ÖĞR. ÜYESİ EMRAH HASPOLAT

BİLECİK, 2024

10592552

BEYAN

"Biyokimyasal Reaksiyonların Matematiksel Modellemesi Üzerine" adlı yüksek lisans yeterlilik tezinin hazırlık ve yazımı sırasında bilimsel araştırma ve etik kurallarına uyduğumu, başkalarının eserlerinden yararlandığım bölümlerde bilimsel kurallara uygun olarak atıfta bulunduğumu, kullandığım verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı, tezin herhangi bir kısmının Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunulmadığını, aksinin tespit edileceği muhtemel durumlarda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Bu çalışmanın, Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP), TÜBİTAK veya benzeri kuruluşlarca desteklenmesi durumunda; projenin ve destekleyen kurumun adı proje numarası ile birlikte, ETİK KURUL onayı alınması durumunda ise ETİK KURUL tarih karar ve sayı bilgilerinin beyan edilmesi gerekmektedir.	
DESTEK ALINMIŞTIR	DESTEK ALINMAMIŞTIR X
Destek alındı ise;	
Destekleyen kurum;	
Desteğin Türü	Proje Numarası
1-BAP (Bilimsel Araştırma Projesi)	
2-TÜBİTAK	
Diğer;	
ETİK KURUL onayı var ise;	
ETİK KURUL karar tarih/ sayı:/

Senem YILDIRIM

.../.../2024

İmza

ÖN SÖZ

Tezin oluşumundan tamamlanış sürecine kadar geçen yoğun çalışma dönemi boyunca bana yol gösteren, engin bilgi ve tecrübelerinden her zaman faydalandığım ve öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım kıymetli hocam DR. ÖĞR. ÜYESİ Emrah HASPOLAT'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her döneminde bana destek olan, çocukluğumdan beri tüm gücüyle benim buralara gelmem için savaştan ve yürüdüğüm bu yolda beni hiç yalnız bırakmayan canım babam Rıdvan YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Beni zorluklar karşısında cesaretlendiren, yorulduğumda devam etmemi sağlayan, hayallerimi hayalleri yaparak gerçekleştirmem için daima yanımda olup elimden tutan, kıymetlim, canım annem Berrin Behiye YILDIRIM'a teşekkür ederim.

Bana her zaman potansiyelimi gerçekleştirmem için teşvikte bulunan, benimle beraber tezi tamamlamak için gecesini gündüzüne katıp bana destek olan, beni cesaretlendiren, Kürşad ELVAN'a teşekkür ederim.

Senem Yıldırım

2024

ÖZET

BİYOKİMYASAL REAKSİYONLARIN MATEMATİKSEL MODELLEMESİ ÜZERİNE

Enzimler, canlı organizmalarda bulunan ve hücrel metabolizmada biyokimyasal reaksiyonları hızlandıran doğal olarak oluşan biyolojik katalizörlerdir. Hücreler, metabolitlerin fizyolojik seviyelerini korumak için çeşitli düzenleyici mekanizmalar kullanırlar. Bu mekanizmalar arasında enzimatik inhibisyon, özellikle yarışmasız inhibisyon olmak üzere hücrel metabolizmada önemli bir rol oynar ve enzimatik aktivitenin etkili bir şekilde düzenlemesine yardımcı olur.

Matematiksel modelleme, biyokimyasal enzim inhibitörlerinin hedef moleküllerine nasıl bağlandığını anlamaya ve analiz etmeye yardımcı olduğu için sistem biyolojisi alanında çok önemlidir. Bu tür matematiksel dinamik modeller değerli öngörüler sağlar ve doğru sonuçlar üretir. Bununla birlikte, enzimatik tersinir inhibitörler ki bunlar sırasıyla, yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız inhibisyonlar matematiksel olarak karmaşık bir kimyasal reaksiyon sistemine sahiptirler. Bu modelleri daha yönetilebilir hale getirmek ve ilgili parametrelerin sayısını azaltmak için belirli teknikler gereklidir. Bu çalışmada, ilk olarak yarışmalı ve yarı yarışmalı inhibisyonlar tanıtıldı ve sonrasında yarışmasız bir inhibisyon reaksiyonu için dinamik bir model geliştirildi ve modelin dinamik davranışını analiz etmek ve reaksiyon mekanizmasını anlamak için yarı kararlı durum yaklaşımı adı verilen bir model indirgeme tekniği kullanıldı. Bu çalışma sonucunda, indirgenmiş denklem sistemi, yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız inhibitörlerde ürün oluşumu üzerindeki substrat ve inhibitör etkisini analiz etmeyi kolaylaştırmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Yarışmalı İnhibisyon, Yarı Yarışmalı İnhibisyon, Yarışmalı Olmayan İnhibisyon, Kimyasal Reaksiyonlar, Matematiksel Model.

ABSTRACT

ON MATHEMATICAL MODELING OF BIOCHEMICAL REACTIONS

Enzymes are naturally occurring biological catalysts found in living organisms that accelerate biochemical reactions in cellular metabolism. Cells employ various regulatory mechanisms to maintain physiological levels of metabolites. Enzymatic inhibition, notably non-competitive inhibition, is a significant mechanism in cellular metabolism, playing an important role in the regulation of enzymatic activity.

Mathematical modeling is crucial in the field of systems biology as it helps to understand and analyze how biochemical enzyme inhibitors bind to their target molecules. These kinds of dynamic mathematical models provide valuable insights and produce accurate results. However, enzymatic reversible inhibitors, which are competitive, uncompetitive and noncompetitive inhibitions, respectively, have a mathematically complex chemical reaction system. Certain techniques are required to make these models more manageable and to reduce the number of relevant parameters. In this study, competitive and uncompetitive inhibitions are first introduced and then a dynamic model for a noncompetitive inhibition reaction is developed and a model reduction technique called the quasi-steady state approximation is used to analyze the dynamic behavior of the model and understand the reaction mechanism. As a result of this study, the reduced system of equations facilitates the analysis of the substrate and inhibitor effect on product formation in competitive, uncompetitive and noncompetitive inhibitors.

Keywords: Competitive Inhibition, Uncompetitive Inhibition, Noncompetitive Inhibition, Chemical Reactions, Mathematical Model.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖN SÖZ	i
ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLolar LİSTESİ	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. TEMEL KAVRAMLAR	4
3. KİMYASAL REAKSİYONLARIN MODELLENMESİ.....	6
3.1. Kütle Eylem Yasası.....	7
3.2. Michaelis-Menten Yasası Ve Lineweaver-Burk Denklemi	8
4. İNHİBE EDİLMİŞ ENZİM KATALİZLİ REAKSİYONLAR.....	13
4.1. Yarışmalı İnhibisyon	15
4.2. Yarı Yarışmalı İnhibisyon	21
4.3. Yarışmasız İnhibisyon	26
5. SONUÇ.....	35
KAYNAKÇA	37

TABLÖLAR LİSTESİ

	Sayfa
Tablo 4.1. Parametre tanımları	14
Tablo 4.2. İnhibisyonlu kimyasal reaksiyon türleri.....	15

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 3.1. Biyokimyasal Reaksiyon Modelinin (BRM) şeması.....	8
Şekil 4.1. Yarışmalı inhibisyon diagram.	16
Şekil 4.2. Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	16
Şekil 4.3. Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	17
Şekil 4.4. Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	18
Şekil 4.5. Yarı yarışmalı inhibisyon diagram.	21
Şekil 4.6. Yarı yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	22
Şekil 4.7. Yarı Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	22
Şekil 4.8. Yarı Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	23
Şekil 4.9. Yarışmasız inhibisyon diagram.	27
Şekil 4.10. Yarışmasız inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	27
Şekil 4.11. Yarı Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	28
Şekil 4.12. Yarışmasız inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	29
Şekil 4.13. Yarışmasız inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	30
Şekil 4.14. Yarışmasız inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk	31

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

E	: Enzim
S	: Substrat
P	: Product (Ürün)
I	: İnhibitör
ES	: Enzim-Substrat kompleksi
EI	: Enzim-İnhibitör kompleksi
ESI	: Enzim-Substrat-İnhibitör kompleksi
QSSA	: Quasi steady state approximation (Yarı kararlı durum yaklaşımı)
ADD	: Adi diferansiyel denklem
BRM	: Biyokimyasal reaksiyon modeli
E₀	: Enzim moleküllerinin tamamı
k_n	: Reaksiyonun hız kat sayısı
V₀	: Sıfıncı dereceden (başlangıç anındaki) hız
V_{max}	: Maksimum hız
K_M	: Michaelis Menten sabiti
V[*]	: Sınırlayıcı hız
K_M[*]	: Michaelis sabiti için belirgin (inhibitöre bağlı) sabit
t	: Zaman
K_{cat}	: Bir enzimin devir (turnover) sayısı
K_i	: Enzim ve inhibitörün ayrışma sabiti

1. GİRİŞ

Matematiksel yaklaşımların, bilimin her alanında problem çözümü için kullanıldığı bilinmektedir. Matematiğin diğer bilim alanlarına dahil edilmesiyle bilimsel çalışmaların uygulamalarının kolaylaştığı, çoğu zaman iş yükü ve maddi giderlerin azaldığı rahatlıkla gözlemlenmektedir. Farklı alanlar arası iletişimin güçlü olması bilimsel olarak daha çok ve hızlı ilerlemeyi sağlar (Banwarth-Kuhn ve Sindi, 2020).

Bir olayı formül, eşitlik, grafik, tablo ve benzeri matematiksel terimler ile ifade etmeye matematiksel model, bu modelleri ortaya çıkartmak için yapılan çalışmalara da matematiksel modelleme adı verilir. Matematiksel modelleme, bir gerçek yaşam durumunun fiziksel, sembolik ya da soyut modelini oluşturma sürecidir (Hıdıroğlu ve Güzel, 2013; Bills, 2004; Kaiser, 2006). Matematiksel modellemede üç temel aktör vardır. Bunlar; değişkenler, parametreler ve fonksiyonel formlardır (Baker, 2011; Sontag, 2011; Ingalls, 2013).

Matematiksel modelleme ile ilgili çalışmalar gözden geçirildiğinde, yalnızca matematik bilimi alanında değil; fizik, kimya, biyoloji ve mühendislik gibi farklı alanlarda da matematiksel modellemenin kullanıldığı görülmektedir. Kalıtsal konularda yapılan çalışmalarda istatistik ve matematiğin kullanılması büyük önem arz etmektedir. Bu bilim dalları sayesinde canlı bir hücredeki biyokimyasal reaksiyon ağlarını açıklayabilmek kolaylaşmaktadır (Daae, 1999).

Enzimler, çoğu canlı organizmada doğal olarak bulunan biyolojik katalizörlerdir (Frey ve Hegeman, 2007; Lehninger vd., 2005). Enzimlerden etkilenen maddelere substrat denir. Hücre metabolizmasının işlevsel birimlerini temsil eder. Bunlar dikkate değer katalizörlerdir, çünkü hafif çalışma koşulları altında substratlarına karşı yüksek özgüllük ve aktivite gösterirler. Aktivasyon enerjisi, kimyasal bir tepkimede oluşan ve tepkimenin devam edilebilmesi için gereken en düşük enerji seviyesidir. Enzimler bu noktada tepkimeyi katalizleyerek reaksiyon için aktivasyon enerjisine ihtiyaç duyulmamasını sağlar. Bu sayede moleküllerin kinetik enerjileri yükseltilerek tepkimeye girmeleri sağlanır.

Enzimler, ürün üretmek için substratlarla etkileşime girer (Hamad vd., 2020). Çok düşük konsantrasyonlarda olduğunda bile biyokimyasal reaksiyon hızlarını büyük ölçüde hızlandırabilirler. Reaksiyonun gerçekleşmesi için, reaksiyonun enerji tüketip tüketmediğine bakılmaksızın aktivasyon enerjisi olarak adlandırılan bir miktar enerjiye ihtiyaç vardır. Ayrıca enzimlerin tamamı reaksiyon esnasında tüketilmez, yeni oluşan ürünün yanında, yani reaksiyon sonunda

açığa çıkar (Frey ve Hegeman, 2007; Bugg, 2012).

Bir enzimin aktivitesini engelleyen bir molekül, enzim inhibitörü olarak adlandırılır (Hamad vd., 2020). Enzim inhibitörleri moleküller olarak meydana gelir. Kataliz ve enzimatik reaksiyonlarla ilgilidirler. Tersinir ve tersinmez inhibitörler, enzim inhibitörlerinin iki ana önemli türüdür. Tersinir inhibitörler de kendi içinde yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmalı olmayan (karışık) inhibitörler olmak üzere üçe ayrılır (Mohan, 2013).

Yarışmalı inhibitör, tersinir inhibisyonun ilk yaygın türüdür. Yarışmalı bir inhibitör ve substrat, bir enzimin aktif bölgesi için rekabet eder. Aktif taraf inhibitör tarafından kullanılır ve substratın enzime bağlanması engellenir. (Klonowski, 1983; Akgül vd., 2020)

Yarı yarışmalı inhibitörler de bir diğer yaygın tersinir inhibisyon türüdür. Yarı yarışmalı bir inhibitör, substrat aktif bölgesinden farklı bir bölgeye bağlanır ve sadece [ES] kompleksine bağlanır. Bu tür bir reaksiyon, inhibitörün bağlanabilmesi için önce bir veya daha fazla substratın E'ye bağlanmasını gerektirir (Mohan, 2013; Akgül vd., 2020).

Yarışmasız inhibisyon sürecinde, enzim molekülünün biri substrat için (aktif bölge) ve diğeri inhibitör için (rekabetçi olmayan bölge) olmak üzere iki bağlanma bölgesi vardır. Bir inhibitör molekülünün bir enzim molekülüne bağlanması, enzim molekülünün aktif bölgesini devre dışı bırakır. Bir enzimin yarışmasız ürün inhibisyonu, ürünün inhibitör rolünü oynadığı yarışmasız bir inhibisyonudur (Frey ve Hegeman, 2007; Cornish-Bowden, 2013; Taylor, 2002; (Abdalrahman vd., 2018)).

Matematiksel modelleme, sistem biyolojisindeki modelleri tanımlamak ve analiz etmek için büyük bir role sahiptir. Gerçek hayattaki olguları matematiksel olarak anlamamızı sağlar. Birçok klasik biyokimya çalışması, diferansiyel denklem sistemlerinin modellerini araştırmıştır. Araştırmacılar biyokimyasal reaksiyon ağları için model indirgemeleri, yarı-denge manifold yaklaşımları, toplam yarı-kararlı durum yaklaşımları, kimyasal dinamiklerde model indirgemeleri, yavaş değişmez manifoldlar, tekil pertürbasyonlar, termodinamik tahminler ve reaksiyon grafiği analizi gibi modeller üzerinde çalışmalar yapmışlardır (Hamad vd., 2020).

Bir fikri teorik bir modele ve ardından nicel bir modele dönüştürmek için kullanılacak çeşitli adımlar vardır. Teorik bir modelin fikrimizi oklar ve kutular içeren bir model diyagramında sunduğu açıktır. Diyagramlar yardımıyla matematiksel denklemler elde edilir. Matematiksel denklemler de her bir sürecin hızını tanımlamak için kullanılır (Baker, 2011; Sontag, 2011). Diyagramdan elde edilen denklemler sonrasında daha kolay matematiksel ana-

liz yapmak amacıyla model indirgeme sürecine girerler.

Kimyasal reaksiyonlar genellikle karmaşıktır ve karmaşık bir reaksiyonun karmaşıklığını basitleştirmek için reaksiyon mekanizmasının temel özelliklerinin bilinmesi gerekir (Hamad vd., 2020). Model indirgeme, orijinal sistem üzerinde yeni modelin daha az sayıda eleman içerdiği başka bir sisteme dönüşüm sürecidir (Akgül vd., 2020). Bu yöntemle sistemdeki denklem sayısı azalır ve oluşan indirgenmiş denklem sisteminin davranış analizini yaparak, genel sistemin bileşenleri arasındaki davranışları yorumlamak kolaylaşır. Yarı-kararlı durum yaklaşımı (Quasi steady state approximation (QSSA)) biyokimyasal kinetik çalışmalarında yaklaşım aracı olarak en çok bilinen ve kullanılan yöntemlerden biridir (Hamad vd., 2020). Bu çalışmada yarı kararlı durum yaklaşımı yönteminden faydalanılacaktır. Bu yöntem daha önce, Akgül ve ark. (Akgül vd., 2020) tarafından yarışmalı ve yarı yarışmalı inhibitörlerde uygulanmıştı. Bu tezde ilk olarak bu çalışmalardan bahsedilecek ve sonrasında daha önce üzerinde çalışma yapılmamış olan yarışmasız (karışık) inhibitörler üzerinde uygulanacaktır.

2. TEMEL KAVRAMLAR

Bu bölümde, tez içerisinde kullanılan temel tanımlara yer verilmiştir.

Tanım 2.1. (Enzim) Canlıda meydana gelen biyokimyasal reaksiyonları katalize eden ve genelde protein yapılı biyolojik katalizördür.

Tanım 2.2. (Substrat) Biyokimyada enzimlerin tepkimelerinde işlenen maddelerdir.

Tanım 2.3. (Katalizör ve Kataliz) Bir kimyasal tepkimenin aktivasyon enerjisini düşürerek tepkime hızını artıran ve tepkime sonrasında kimyasal yapısında bir değişiklik meydana gelmeyen maddelere katalizör denir. Katalizörün tepkime üzerinde yaptığı bu değişikliğe kataliz denir.

Tanım 2.4. (İnhibitör) İnhibitörler, enzime bağlanan ve aktivitesini (reaksiyon hızını) düşüren bileşenlerdir. Bir inhibitörün kendine özgü durumu substratın kendisidir.

Tanım 2.5. (Geri dönüşümsüz inhibisyon) ($E + I \rightarrow EI$): İnhibitör enzime sıkıca bağlanır ve kararlı bir kompleks oluşturur.

Tanım 2.6. (Geriye dönüşümlü inhibisyon) ($E + I \rightleftharpoons EI$): Bağlanma geriye dönüşümlüdür, bu da inhibitörün [EI] kompleksinden salınabileceği anlamına gelir.

Tanım 2.7. (Yarışmalı İnhibitörler) Substratın enzime bağlanma noktasında rekabet ederek enzim ile substratın etkileşimini engellerler. Bu tür inhibitörlerin varlığında, substratın enzime bağlanma şansı azalır ve dolayısıyla reaksiyon hızı düşer. Yarışmalı inhibitörler, enzimle aynı bağlanma bölgesine bağlanır ve genellikle benzer yapıya sahiptirler.

Tanım 2.8. (Yarışmasız İnhibitörler) Enzim üzerinde aktif olmayan bir bölgeye bağlanmaktadır ve substratlarla yapısal olarak ilgisizlerdir. Bu durumda substrat ve inhibitör enzime aynı anda farklı bölgelerden bağlanabilmektedirler.

Tanım 2.9. (Yarı Yarışmalı İnhibitörler) Enzim üzerinde aktif olmayan bir bölgeye bağlanmamaktadırlar, aktif bölgeye yakın bir yerde oluşan cep yapısına bağlanmaktadır. Böylece substratın yine aktif bölgeye bağlanması engellenmemektedir ama enzimle kompleks oluşturan substrat enzimden ayrılamamakta ve ürün oluşmamaktadır. Bu inhibisyon iki substratlı reaksiyonlarda görülebilmektedir.

Tanım 2.10. (Allosterik İnhibitörler) Enzimle substratın bağlanma bölgesine değil, enzimin başka bir bölgelerine bağlanarak etki gösterirler. Bu bağlanma, enzim yapısını değiştirir ve substratın bağlanmasını engeller ya da enzimin katalitik etkinliğini azaltır. Allosterik inhibitörler, enzimlerin birlikte çalıştığı düzenleyici mekanizmaların bir parçası olarak işlev görebilirler.

3. KİMYASAL REAKSİYONLARIN MODELLENMESİ

Kimyasal reaksiyon, maddelerin birbiri ile etkileşime girmesi olayıdır. Biyokimya alanında yapılan çalışmaları farklı türden maddelerin etkileşime girmesi sonucu belli bir reaksiyon vermesi olarak düşünülmektedir. Farklı türden maddelerin birbiri ile sağladığı reaksiyon şemalarının sürecine biyokimyasal süreç denilmektedir (Oğraş ve Altıntan, 2021). Bu tür çalışmaların matematiksel modellenmesinde en çok tercih edilen yaklaşımların deterministik ve stokastik yaklaşım olduğu ortaya çıkmaktadır (Oğraş ve Altıntan, 2021). Ayrıca bu yaklaşımlara alternatif olarak difüzyon modelleri ile deterministik ve stokastik yaklaşımları bir araya getiren melez modeller elde edilmiştir (Cao vd., 2005; Crudu, 2009; Salis vd., 2005; Oğraş ve Altıntan, 2021).

Deterministik yaklaşım, reaksiyona giren maddelerin koşullarda bir değişiklik yapılmadan ve aynı miktarda bir araya gelmesi ile sonuçların hiç bir zaman değişmeyeceğini savunur. Bu nedenle elde edilecek sonuçlar her zaman tahmin edilebilirdir. Reaksiyon sonuçları koşullarda bir değişiklik yapılmadan uygulanıyor ve her durumda aynı veriler elde ediliyorsa sonuçlar için 'deterministik' denilebilir. Uygun ortamlarda yapılan canlının içinde çalışılan (in vivo) deneyler ve canlının dışında çalışılan (in vitro) deneyler organizma çalışmaları ile elde edilir. İki deneyde elde edilen sonuçların denklemlerin biyolojik sonuçlarına, yani denklemi oluşturan temel maddelere daha kolay ulaşılmasını sağlar (Haspolat vd., 2019; Banwarth-Kuhn ve Sindi, 2020).

Deterministik modelleme, reaksiyonları tanımlamak için bir dizi hız denkleminin oluşturulmasına dayanır. Bu oran denklemleri aslında doğrusal olmayan adi diferansiyel denklemlerdir (ADD). Deterministik simülasyon, ADD'leri çözümler konsantrasyonlar üretir (Ullah vd., 2006). Ancak deterministik yaklaşımın uygulanabilir olması için, laboratuvar gibi uygulama ortamındaki sıcaklık, nem vb. değerlerin kontrol altında tutulabileceği ortamlar tercih edilmelidir.

Kataliz, ilk kez 1800'lerin ilk yıllarında, mide salgılarıyla etin sindirilmesinin, tükürük ve bitki özleriyle nişastanın şekere dönüştürülmesinin incelenmesi çalışmalarıyla tanındı ve tanımlandı (Laidler vd., 1997). 1850'lerde Louis Pasteur, maya tarafından şekerin alkole fermentasyonunun fermentler tarafından katalize edildiği sonucuna vardı ve daha sonra enzimler olarak adlandırılan bu fermentlerin, özünde canlı maya hücrelerinin yapısı ile bağlantılı olduğunu kabul etti. Enzimler biyokimyasal reaksiyonların biyolojik katalizörleri olarak adlandırıldı. Yıllar önce Eduard Buchner'in maya ekstraktlarının şekerleri alkole fermente edebildiğini

keşfetmesi, fermantasyonu sağlayan enzimlerin canlı hücre yapısından uzaklaştırıldıklarında da işlev görebileceğini gösterdi (Buchner, 1899).

Katalizin ortaya çıkması ile enzimlerin reaksiyonlar içerisindeki etkileri incelenmeye başlandı. Bu etkilerin tamamı düzenli olarak incelendiğinde bir enzim hakkında oldukça fazla bilgi elde edileceği kanısı ortaya çıktı. Örnek olarak bir reaksiyona giren ve çıkan maddelerin konsantrasyonları değiştirilerek bu maddelerin hangi sıra ile reaksiyona girdikleri ve hangi sıra ile reaksiyondan çıktıklarına ait enzim kinetik mekanizmasının belirlenmesi gösterilebilir (Yıldırım ve Bayram, 2000).

3.1. Kütle Eylem Yasası

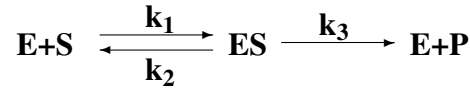
Kütle eylem yasası kimyasal reaksiyonların modellenmesinde kullanılan temel yöntemlerden biridir ve tarihte ilk olarak kimyasal reaksiyonlarda ürün ve reaktanların mol sayıları arasındaki ilişkiyi gözlemleyerek ortaya çıkmıştır (Koudriavtsev vd., 2001). Bir başka görüşe göre kimya ve biyoloji fiziğe dayanır. Richard Feynman'ın söylediği gibi, "her şey atomlardan yapılmıştır ve canlıların yaptığı her şey, atomların sallanması ve kısırdatılmasıyla anlaşılabilir" (Gunawardena, 2014).

Kütle eylem yasası ile maddenin bazı halleri (gazlar gibi) formülize edilebilirken, farklı hallerde pratikte ancak ideal duruma yaklaşılabilir. Başlangıçta bileşiklerin reaksiyona girme ve gerekli ürünlerin oluşturulmasını karakterize edecek bir parametre bulma konusunda kaygılar söz konusu iken, çalışmaların devam etmesi ile bu konuda gelişmeler katedildi (Koudriavtsev vd., 2001).

Mısır göllerinde yaptığı deney sonucunda Berthollet (1803) "Bir maddenin kimyasal aktivitesi afinitesinin gücüne ve belirli bir hacimde bulunan kütleyle bağlıdır" ifadesinde bulunmuştur. H.Rose ve L. Wilhelmy yaptığı kimyasal reaksiyon çalışmalarıyla maddeler arasındaki bazı oranları belirlemişlerdir (Mellor, 1909; Wilhelmy, 1850). Yine benzer şekilde M. Berthelot (Berthelot, 1862) reaksiyona giren madde ile oluşan maddenin doğru orantılı olduğunu etil alkol çalışması ile gözlemlemiştir. Ayrıca reaksiyon hızının yaklaşık olarak reaktanların konsantrasyonları ile orantılı olduğunu bulmuştur, ancak bu önemli sonuç genelleştirilmemiştir. Bu süreçte dengenin statik olduğu ve bu durumda tüm reaksiyonların durduğu düşünülüyordu. Alkolün konsantrensülfirik asit ile eterleşme mekanizmasının yorumlanmasının bir sonucu olarak, A.W. Williamson (Williamson, 1850), kimyasal dengenin dinamik olduğu ve hem doğrudan

hem de ters işlemlerin aynı hızda gerçekleşmesi nedeniyle reaksiyonun durağan görüldüğü görüşüne yöneldi. C. Guldberg ve P. Waage (Guldberg ve Waage, 1867), dinamik dengeyi içeren tersinir bir reaksiyonun kimyasal yakınlıkların karşılaştırılması için en iyi koşulları sağladığını görmüşler ve bu da onları günümüzde kütle etkisi yasası olarak bilinen yasaya ve kütle kimyasal aktivite üzerindeki etkisinin matematiksel olarak formüle edilmesine götürmüştür (Quílez, 2017; Koudriavtsev vd., 2001).

En genel enzim substrat etkileşimini gözönüne alınırsa, matematiksel olarak formüle edilmesi için ilk olarak bir şema ile aşağıdaki gibi gösterilebilir;



Şekil 3.1. Biyokimyasal Reaksiyon Modelinin (BRM) şeması

Yukarıdaki Şekil (3.1)'de E makromoleküler biyolojik katalizörleri (enzim), S etkilenen molekülleri (substrat), P ürünü ve k_1, k_2 ve k_3 ise reaksiyonun hız katsayılarını temsil etmektedir. Kütle eylem yasasından faydalanılarak oluşturulan, enzim ve substratın zamana bağlı değişimlerine ait lineer olmayan adi diferansiyel denklem sistemleri ise aşağıdaki gibidir,

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= -k_1[S][E] + k_2[ES], \\ \frac{dE}{dt} &= -k_1[S][E] + (k_2 + k_3)[ES], \\ \frac{dES}{dt} &= k_1[S][E] - (k_2 + k_3)[ES], \\ \frac{dP}{dt} &= k_3[ES]. \end{aligned}$$

3.2. Michaelis-Menten Yasası Ve Lineweaver-Burk Denklemi

Michaelis ve Menten tarafından 1913 (Michaelis ve Menten, 1913) senesinde oluşturulan Biyokimyasal Reaksiyon Modeli (BRM) substrat, enzim, enzim–substrat karışımı ve ürün miktarlarındaki değişimleri gösteren ifadeler lineer olmayan diferansiyel denklemlerden oluşmaktadır (Johnson ve Goody, 2011). Lineer olmayan bu denklemlerden gerekli olan verileri elde edebilmek için sayısal metotlardan yardım alınır (Karaarslan, 2019). Modellemenin yapılabilmesi için genellikle elde edilen verilerin deterministik bir uygulama sonucunda elde

edilmesi gerekir. Bu nedenle modellemelerde laboratuvar ortamında yapılmış çalışma sonuçları esas alınır. BRM'ye göre rastgele bileşenlerin davranışları deterministik karşılıklarına çok benzerken, sonuçlarda küçük sayısal farklılıklar vardır (Bekiryazici vd., 2016).

Michaelis ve Menten, [P]'nin [E] ve [S] ile dengede olduğunu varsayarak, daha yavaş fazın dinamikleri için deneysel veriler ve reaksiyon hızı sabitleri arasında doğrudan bir bağlantının kurulabileceği analitik bir yaklaşım elde ettiler (Chen vd., 2010). Michaelis ve Menten, makromoleküler biyolojik katalizörlerin etkisini gösterdiği moleküllerin reaksiyonlarını incelemek için Şekil (3.1)'deki şemayı oluşturmuştur.

Enzim ve substratın etkileşime girmesi ile substrat ürüne dönüşür. Reaksiyon sonucunda ürün serbest kalırken substrat yok olur. Substrat ve ürünün zamana bağlı değişimi incelenirse karşımıza,

$$\frac{-d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

denklemini çıkar. Michaelis-Menten denklemini oluşturmak için V_0 (sıfırdan hız), V_{max} (maksimum hız) ve K_M (Michaelis-Menten sabiti) arasında bir ilişki kurmak gerekir.

BRM'nde [ES] oluşumu ile [ES] parçalanması birbirine eşittir. Bunu matematiksel olarak ifade etmek gerekirse; [ES] oluşumu şema yardımıyla $k_1[S][E]$ olarak, [ES] parçalanması ise şema yardımıyla $k_2[ES] + k_3[ES]$ olarak ifade edilebilir. Bu durumda [ES] dengesine ait denklem;

$$k_1[S][E] = k_2[ES] + k_3[ES],$$

şeklinde dir. Bu denkleme ait düzenlemeler yapılırsa yeni eşitlikler ortaya çıkar. Bu oranına ise K_M veya Michaelis-Menten sabiti olarak adlandırılır ve aşağıdaki gibi gösterilir.

$$K_M = \frac{(k_2 + k_3)}{k_1} = \frac{[S][E]}{[ES]}.$$

Ürün (P) oluşumunun zamana bağlı değişimi ise;

$$V_0 = \frac{d[P]}{dt},$$

şeklinde ifade edilebilir. BRM şeması göz önünde bulundurularak ürün oluşumunda etki göste-

ren $[ES]$ yardımıyla V_0 denkleminin yazılması gerekirse;

$$V_0 = k_3[ES],$$

oluşturulabilir.

Biyokimyasal reaksiyonlarda substrata bağlı olan ve olmayan enzim molekülleri vardır. Bu enzim moleküllerinin tamamını E_0 olarak kabul etmek gerekirse;

$$E_0 = E + ES,$$

olarak ifade edilebilir. Tüm enzim molekülleri substrata bağlandığında serbest enzim kalmaz ve bu durumda denklemden $E = 0$ yerine yazılırsa;

$$E_0 = ES,$$

elde edilir. Bu durumda hız maksimum seviyeye ulaşacağından V_0 denkleminde ES yerine E_0 yazılarak maksimum hız denklemi;

$$V_{max} = k_3[E_0],$$

oluşturulur. Böylece K_M , V_0 ve V_{max} ifadeleri oluşturulabilir. Daha sonra, denklemler arasında ilişki kurarsak, E_0 denklemine;

$$E_0 = E + ES \Rightarrow E = E_0 - ES,$$

düzenlemeleri yapılarak E denklemi elde edilir. K_M denkleminde E yerine yazılırsa;

$$K_M = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{[E_0 - ES][S]}{[ES]},$$

oluşur ve gerekli düzenlemeler ile;

$$K_M = \frac{[E_0][S] - [ES][S]}{[ES]} = \frac{[E_0][S]}{[ES]} - [S],$$

denklemleri elde edilir. Benzer şekilde V_{max} içinde düzenlemeler yapmak gerekirse;

$$V_{max} = k_3[E_0] \Rightarrow [E_0] = \frac{V_{max}}{k_3},$$

ifadesi elde edilir. Elde edilen E_0 , K_M denkleminde yerine yazılarak;

$$K_M = \frac{\frac{V_{max}}{k_3}[S]}{[ES]} - [S] = \frac{V_{max}[S]}{k_3[ES]} - [S],$$

denklemleri oluşturulur. Oluşturulan denklemlerde $V_0 = k_3[ES]$ yerine konulursa;

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

eşitliği oluşur. V_0 , V_{max} ve K_M değerleri artık aynı denklemdir. İlişkilerinin daha rahat bir şekilde gözlemlenmesi için son bir düzenleme ile;

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

Michaelis-Menten fonksiyonu elde edilmiş olur.

Bu fonksiyonlar, enzimler ve substratlar arasındaki etkileşimi anlamada, ortamda inhibitör varlığı durumunda, oluşan inhibisyonun ne tür olduğunu belirlemede kimyacılar için çok önemli yardımcı etkenlerdir.

Michaelis-Menten denklemleri bize hiperbolik eğriler elde ettirir. Kritik noktaları analiz etmek ise hiperbolik eğriler için zordur. Bu nedenle enzimlere ait V_{max} ve K_M değerlerini daha uygun şekilde değerlendirebilmek için grafiği doğrusal olan Lineweaver-Burk denklemleri ortaya çıkarılmıştır. Bu denklemler ilk olarak Michaelis-Menten denklemlerinin ters çevrilmesi ve sonrasında çarpanlara ayrılmasıyla elde edilir:

$$\frac{1}{V_0} = \frac{K_M + [S]}{V_{max}[S]} = \frac{K_M}{V_{max}} \cdot \frac{1}{[S]} + \frac{[S]}{V_{max}[S]}. \quad (\text{Lineweaver - Burk Denklemi})$$

Lineweaver-Burk denklemleri bu tür çalışmalarda en sık kullanılan denklemlerdir.

Şimdiye kadar, kimyasal reaksiyonların modellenmesinde büyük öneme sahip olan kütle eylem yasası, Michaelis-Menten yasası ve denklemleri ile Lineweaver-Burk denklemlerine değinildi. Bundan sonraki bölümlerde, bu yasaların kullanılmasıyla oluşturulan inhibe edilmiş enzimlerin

reaksiyonlarının oluşturulması konusuna değinilecek ve matematiksel modelleri oluşturularak, oluşan dinamik sistemlerinin analizleri yapılacaktır.

4. İNHİBE EDİLMİŞ ENZİM KATALİZLİ REAKSİYONLAR

Enzimlerin aktivitesinin karakterizasyonuna yönelik nicel bir yaklaşım, biyokimya, biyoteknoloji, eczacılık ve tıp dahil olmak üzere çeşitli araştırma alanları için çok önemli olan reaksiyon dinamiklerinin ayrıntılı bir şekilde anlaşılması için gereklidir. Bunlara ek olarak enzimler insan vücudundaki duyuların çalışmasında önemli bir rol oynar. Görme, işitme gibi duyularımızı, sinir hücreleri arasındaki iletişimi sağlayarak reaksiyonların hızlı çalışmasını sağlar. Ayrıca, enzim katalizli reaksiyonların hızları farklı modifiye ediciler tarafından düzenlenebilir. İlaç keşfi, özellikle enzim işlevini bozmak için genellikle inhibitör (engelleyici) olan bu tür değiştiricilerin tanımlanması ve tasarlanmasına odaklanmaktadır (Hopkins vd., 2002).

Bununla birlikte, ilaç adayları için enzim kinetiği çalışmalarında, kullanılan substratların, inhibitörlerin ve enzimlerin maliyetlerini düşürmeye, analiz sürelerini en aza indirmeye ihtiyaç vardır. Bu nedenle, enzim inhibitörleri için doğru reaksiyon tipini ve uygun kinetik sabitlerini bulmamız gerekmektedir. Ayrıca deneysel analitikleri minimum sayıya indiren ve tahmin edilen model açık denklemlerinin standart yazılım kullanılarak ham verilere doğrudan uydurulmasına olanak tanıyan bir yöntemle belirleyebilmek avantajlı olacaktır (Kakkar vd., 2000).

Geleneksel olarak, inhibe edilmiş enzim katalizli reaksiyonların kantitatif kinetiği, eşitlik (4.1)'de verilen ifadeye göre başlangıç hız ölçümleri ve substrat konsantrasyonları arasındaki korelasyon açısından incelenmiştir (Segel, 1975).

$$V = \frac{d[S]}{dt} = \frac{V^* \cdot [S]}{K_m^* + [S]} \quad (4.1)$$

Burada kinetik parametreler V^* ve K_m^* sırasıyla sınırlayıcı hız ve Michaelis sabiti için belirgin (inhibitöre bağlı) sabitlerdir. Eşzamanlı doğrusal olmayan regresyon kullanan yöntemler kinetik parametreler için daha doğru tahmini değerler sağladığından, eşitlik (4.1) için doğrusal olmayan regresyon analizinin kullanımı son on yılda önemli ölçüde artmıştır (Kakkar vd., 2000). Reaksiyon hızlarının gürültüye karşı yüksek hassasiyeti nedeniyle başlangıç hızı ölçümleri çok sayıda bireysel deney gerektirse de, bu analiz prosedürünün gerçekleştirilmesi kolaydır ve gerçekten de iyi bir şekilde oluşturulmuştur. Öte yandan, tam ilerleme eğrilerinin analizleri de aynı bilgileri sağlayabilir, ancak herhangi bir deneysel test başlangıç değeri ile reaksiyonun sonundaki değer arasındaki her konsantrasyondaki kinetik verileri ölçtüğü için bu ayrı ölçümlerin sayısının yalnızca bir kısmıyla elde edilebilir. Bu nedenle, ölçülen reaktan konsantrasyon-

larının farklılaştırılması yerine, kinetik yasasının entegre edilmesi gerekir. Bu genellikle eşitlik (4.1)'deki hız denkleminin, sayısal olarak entegre edilmesiyle elde edilir. Ancak son zamanlarda bu yaklaşımın bazı dezavantajları olduğu gösterilmiştir (Zavrel vd., 1975). Bununla birlikte, zamanı (t) ve substrat konsantrasyonu ($[S]$) değişkenleri ayrılabilirdiğinden eşitlik (4.1) için cebirsel bir çözüm elde etmek de mümkündür. Ortaya çıkan ifadenin doğrudan integrali, integrasyonlu Michaelis-Menten denklemini verir (Bezerra vd., 2007),

$$V^* \cdot t = [S]_0 - [S]_t + K_m^* \cdot \ln\left(\frac{[S]_0}{[S]_t}\right). \quad (4.2)$$

Burada $[S]_t$ ve $[S]_0$ sırasıyla t ve sıfır zamanlarındaki substrat konsantrasyonlarıdır. Bu kesin çözümün sakıncası, doğrusal olmayan bir denklem olmasıdır; yani zamana bağlı değişken $[S]_t$, bağımsız değişken t 'nin bir fonksiyonu olarak verilmez ve eşitlik (4.2) tekrar sayısal olarak çözülmelidir (Goličnik, 2012).

Substrat üzerinde bir enzimin katalitik gücü K_M (Michaelis-Menten sabiti) ve V_{max} (maksimum hız)'a bağlıdır. Enzimin çalışmasını etkileyen bazı faktörler; Ph, sıcaklık değeri, zaman, ortamın su miktarı, aktivatör ve inhibitörlerdir. Enzimin aktif bölgeleri substrat ile tam doyunca tepkime V_{max} 'a ulaşır. K_M değeri, tepkimenin $V_{max}/2$ değerine ulaştığında enzimi çalıştırabilecek substrat konsantrasyonudur.

Tablo 4.1. Parametre tanımları

K_M	Enzimin substrata olan yakınlığının bir ölçüsüdür (En düşük K_M , en güçlü yakınlığa sahiptir).
K_{cat}	Bir enzimin bağlandıktan sonra substratını ne kadar hızlı katalizleyebileceğinin bir ölçüsüdür (En yüksek K_{cat} , en hızlı enzim katalizi).
V_{max}	Bir enzimin belirli bir enzim konsantrasyonunda hareket edebileceği en hızlı değerdir. Eğer enzim konsantrasyonu artarsa, V_{max} da artacaktır.
$\frac{K_{cat}}{K_M}$	Enzimlerin özgürlük sabiti (katalitik etkinlik).

Üç adet inhibe edilmiş enzim reaksiyon türü bulunmaktadır. Bunlar sırasıyla, yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmasız (karışık) inhibitör reaksiyonlardır. Aşağıda bu reaksiyon türleri ve bunlardan oluşan diferansiyel denklem sistemleri tanıtılacaktır ve matematiksel analizlerine yer verilecektir.

Tablo 4.2. İnhibisyonlu kimyasal reaksiyon türleri

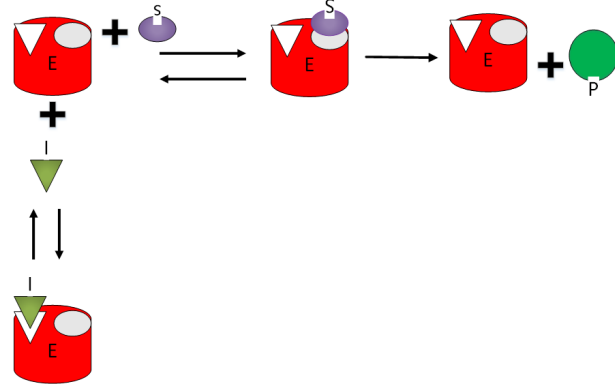
İnhibisyon Türü	Reaksiyon şeması	V^*	K_m^*
Yarışmalı inhibisyon	$\begin{array}{c} \mathbf{E+S} \xrightleftharpoons{K_S} \mathbf{ES} \xrightarrow{K_{cat}} \mathbf{E+P} \\ + \\ \mathbf{I} \\ \updownarrow K_I \\ \mathbf{EI} \end{array}$	V	$K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)$
Yarı yarışmalı inhibisyon	$\begin{array}{c} \mathbf{E+S} \xrightleftharpoons{K_S} \mathbf{ES} \xrightarrow{K_{cat}} \mathbf{P} \\ + \\ \mathbf{I} \\ \updownarrow K_I \\ \mathbf{EIS} \end{array}$	$\frac{V}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$	$\frac{K_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$
Yarışmasız inhibisyon	$\begin{array}{c} \mathbf{E+S} \xrightleftharpoons{K_S} \mathbf{ES} \xrightarrow{K_{cat}} \mathbf{P} \\ + \quad + \\ \mathbf{I} \quad \mathbf{I} \\ \updownarrow K_I \quad \updownarrow K_I \\ \mathbf{EI+S} \xrightleftharpoons{K_S} \mathbf{EIS} \end{array}$	$\frac{V}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$	$\frac{K_M}{\left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)}$

Tablo (4.2)'de E enzimi, S substratı, I inhibitörü ve P ürünü temsil etmektedir. İnhibitör-süz ortamda kimyasal bir tepkime gerçekleşirken önce substrat enzimin aktif bölgesine bağlanır, enzim-substrat kompleksini ($[ES]$) oluşturup enzimi aktif hale getirir. Daha sonra enzime bağlı olan substrat ayrılarak ürüne dönüşür. İnhibitörlü ortamda ise yukarıda verilen Tablo (4.2)'deki gibi üç farklı durum ortaya çıkmaktadır. Aşağıda alt bölümlerde bu durumlar sırasıyla tek tek açıklanacaktır.

4.1. Yarışmalı İnhibisyon

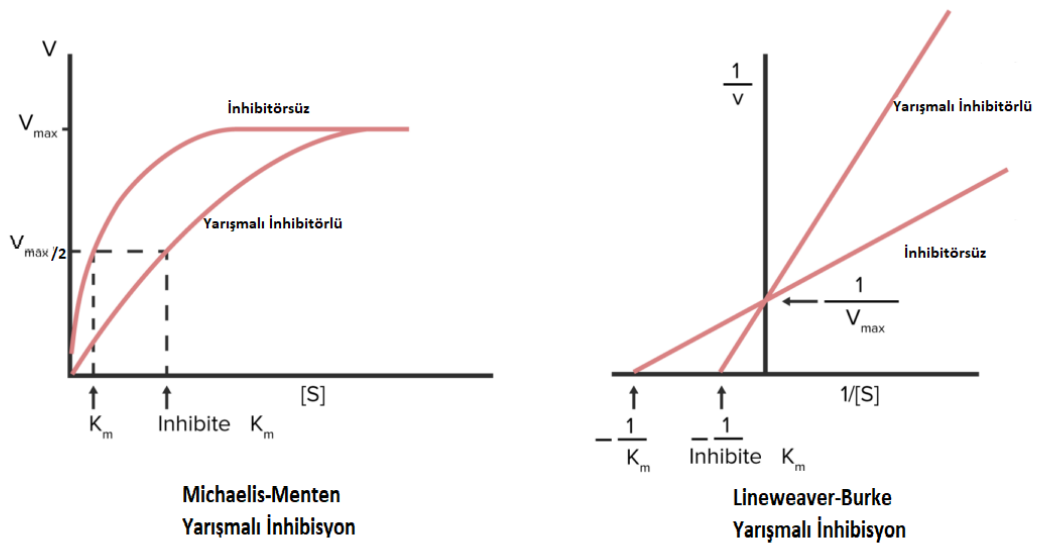
Tablo (4.2)'nin birinci bölümünde bulunan yarışmalı inhibisyonunda; inhibitör (I) enzimin aktif bölgesine substratla (S) yarışarak bağlanmaktadır. İnhibitör molekülünün yapısı substratınkine benzediği için enzim ile inhibitör kolaylıkla bağlanırlar. Fakat inhibitörler, enzime

substratın bağlanmasını engelleyen maddeler olduğu için ürün oluşmamaktadır. Bu tür inhibisyonlarda V_{max} değerine bakarken substrat miktarının az olduğu göz önüne alındığında V_{max} değerinin değişmeyeceği söylenebilir. Fakat K_M değeri artar.



Şekil 4.1. Yarışmalı inhibisyon diagram.

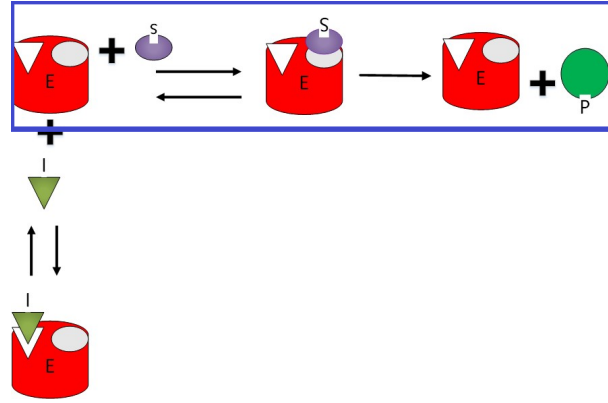
İnhibitörsüz ve yarışmalı inhibitörlü enzim reaksiyonu için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri:



Şekil 4.2. Yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri.

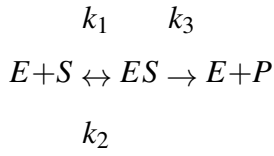
Yarışmalı bir inhibitör, geri dönüşümlü inhibisyonun ilk yaygın türüdür, (bkz. Şekil 4.1). Yarışmalı bir inhibitör ve substrat, bir enzimin aktif bölgesi için rekabet eder. Aktif taraf inhibitör (I) tarafından işgal edilmiştir. Substratın enzime bağlanmasını engeller (Klonowski, 1983;

Akgül vd., 2020).



Şekil 4.3. Yarışmalı inhibisyon diyagramı için 1. kısım

Yarışmalı inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;

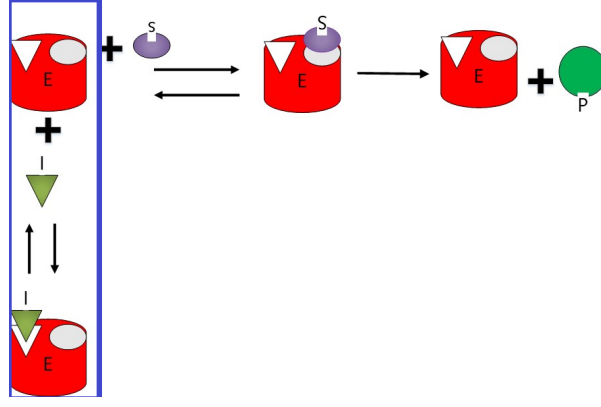


Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{aligned} \frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A, \\ \frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A \\ \frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A, \\ \frac{dP}{dt} &= k_3A. \end{aligned} \tag{4.3}$$

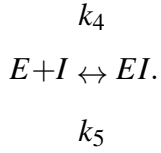
Burada, k_1 , k_2 ve k_3 sabit parametreleri gösterirken, $E = [E]$, $S = [S]$, $P = [P]$, ve $A = [ES]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$E(0) = e_0, \quad S(0) = s_0 \quad \text{ve} \quad A(0) = P(0) = 0.$$



Şekil 4.4. Yarışmalı inhibisyon diyagramı için 2. kısım

Yarışmalı inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;



Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{array}{l}
 \frac{dE}{dt} = -k_4IE + k_5B, \\
 \frac{dI}{dt} = -k_4IE + k_5B, \\
 \frac{dB}{dt} = k_4IE - k_5B,
 \end{array} \tag{4.4}$$

Burada da iki adet sabit parametre vardır ve bunlar k_4 ve k_5 'tir. Ayrıca, $I = [I]$ ve $B = [EI]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$I(0) = i_0 \quad \text{ve} \quad B(0) = 0.$$

$[I]$ 'in inhibitör olduğu yerde, $[ES]$ ve $[EI]$ karmaşık ara türlerdir. Kütle eylem yasası kullanılarak elde edilen 4.3 ve 4.4 denklem sistemleri birleştirildiğinde, yarışmalı inhibisyon denklem sistemi aşağıdaki gibi elde edilmektedir.

$$\begin{aligned}
\frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A, \\
\frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A - k_4IE + k_5B, \\
\frac{dI}{dt} &= -k_4IE + k_5B, \\
\frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A, \\
\frac{dB}{dt} &= k_4IE - k_5B, \\
\frac{dP}{dt} &= k_3A.
\end{aligned} \tag{4.5}$$

Korunum yasası gereği yukarıdaki (4.5) denklem sisteminden aşağıdaki eşitlikler elde edilmektedir.

$$\frac{dI}{dt} + \frac{dB}{dt} = 0, \quad \frac{dE}{dt} + \frac{dA}{dt} + \frac{dB}{dt} = 0 \quad \text{ve} \quad \frac{dS}{dt} + \frac{dA}{dt} + \frac{dP}{dt} = 0.$$

Korunum yasası sonucu gelen bu eşitlikleri ve başlangıç koşullarını kullanarak, aşağıdaki eşitlikler elde edilebilir,

$$I + B = i_0, \quad E + A + B = e_0 \quad \text{ve} \quad S + A + P = s_0.$$

Bulunan bu sonuçlar (4.5)'deki denklem sisteminde yerleştirilirse, oluşan kinetik denklemler şu şekilde yeniden yazılabilir:

$$\begin{aligned}
\frac{dS}{dt} &= -k_1S(e_0 - i_0 + I - A) + k_2A, \\
\frac{dI}{dt} &= -k_4I(e_0 - i_0 + I - A) + k_5(i_0 - I), \\
\frac{dA}{dt} &= k_1S(e_0 - i_0 + I - A) - (k_2 + k_3)A, \\
\frac{dP}{dt} &= k_3A.
\end{aligned} \tag{4.6}$$

Burada, E yerine $(e_0 - i_0 + I - A)$ ve B yerine de $(i_0 - I)$ ifadeleri kullanılarak E ve B denklemleri elimine edilmiş ve denklem sistemi altı denklemden dört denkleme indirgenmiştir. Ayrıca, son denklem kapalı döngü içinde olmadığından dolayı, aşağıda yapılan işlemlerde gözönüne alınmamış ve ilk üç denklem ile çalışılmıştır.

Akgül ve arkadaşları (Akgül vd., 2020), değişkenleri aşağıdaki gibi yeniden tasarlaya-

rak,

$$\tau = k_1 e_0 t, \quad u(\tau) = \frac{I(t)}{i_0}, \quad v(\tau) = \frac{S(t)}{s_0} \quad \text{ve} \quad w(\tau) = \frac{A(t)}{e_0},$$

(4.6) denklem sisteminin ilk üç denklemini boyutsuzlaştırarak aşağıdaki gibi yeniden oluşturmuşlardır.

$$\begin{aligned} \frac{dv}{d\tau} &= -v \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) + \alpha_2 w, \\ \frac{du}{d\tau} &= -\alpha_3 u \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) + \alpha_4(1-u), \\ \varepsilon \frac{dw}{d\tau} &= v \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) - \alpha_5 w. \end{aligned} \quad (4.7)$$

Burada, başlangıç şartları $u(0) = v(0) = 1$ ve $w(0) = 0$ olduğu aşikardır. Ayrıca (4.7) denklem sisteminde ortaya konulan yeni parametreler aşağıdaki gibidir:

$$\varepsilon = \frac{e_0}{s_0}, \quad \alpha_1 = \frac{i_0}{e_0}, \quad \alpha_2 = \frac{k_2}{k_1 s_0}, \quad \alpha_3 = \frac{k_4}{k_1}, \quad \alpha_4 = \frac{k_5}{e_0 k_1} \quad \text{ve} \quad \alpha_5 = \frac{k_2 + k_3}{k_1 s_0}. \quad (4.8)$$

Enzim kinetiğinde substrat konsantrasyonunun, enzim konsantrasyonundan çok daha yüksek olması koşulu, özellikle QSSA yaklaşımını uygularken çok karşılaşılan bir durum olduğundan, (4.7) denklem sisteminde $\varepsilon \rightarrow 0$ olarak alınmaktadır. Dolayısıyla (4.7) denklem sistemi aşağıdaki gibi olur.

$$\begin{aligned} \frac{dv}{d\tau} &= -v \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) + \alpha_2 w, \\ \frac{du}{d\tau} &= -\alpha_3 u \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) + \alpha_4(1-u), \\ 0 &= v \left((1-w) + \alpha_1(u-1) \right) - \alpha_5 w. \end{aligned} \quad (4.9)$$

(4.9) denklem sistemindeki son denklemini kullanarak w değişkeni aşağıdaki gibi elde edilir;

$$w = \frac{v(1 + \alpha_1(u-1))}{v + \alpha_5}. \quad (4.10)$$

(4.10) eşitliği, (4.9) denklem sisteminde yerine konulmasıyla aşağıdaki diferansiyel denklem

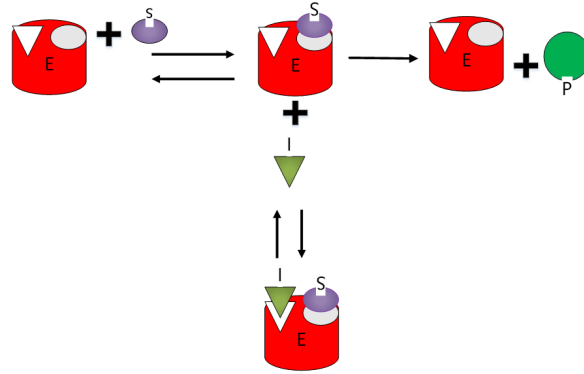
sistemi elde edilir.

$$\begin{aligned}\frac{dv}{d\tau} &= \frac{v(\alpha_2 - \alpha_5)(\alpha_1(1+u) - 1)}{v + \alpha_5}, \\ \frac{du}{d\tau} &= \frac{(\alpha_4v + \alpha_1\alpha_3\alpha_5u + \alpha_4\alpha_5)(1-u) - \alpha_3\alpha_5u}{v + \alpha_5}.\end{aligned}\quad (4.11)$$

4.2. Yarı Yarışmalı İnhibisyon

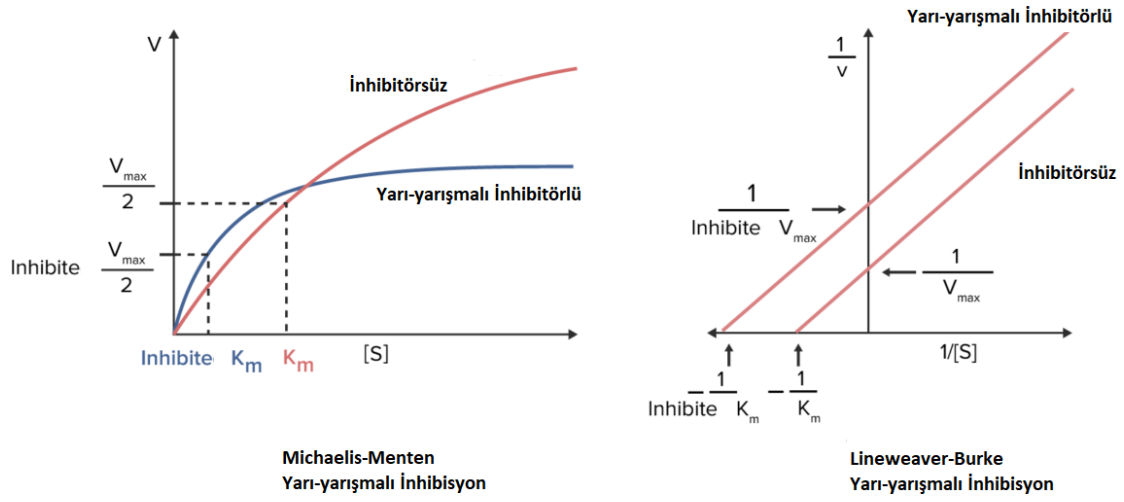
Tablo (4.2)'nin ikinci bölümünde bulunan yarı yarışmalı inhibisyonda; [I], [ES] kompleksine bağlanır. İnhibitör bağlandığında ürün oluşumu sonlanır. Bu inhibisyonlarda V_{max} ve K_M değeri azalır.

Yarı yarışmalı inhibitörler de bir diğer yaygın tersinir inhibisyon türüdür. Yarı yarışmalı bir inhibitör, substrat aktif bölgesinden farklı bir bölgeye bağlanır ve yalnızca [ES] kompleksine bağlanır. Bu tür bir reaksiyon, inhibitörün bağlanabilmesi için önce bir veya daha fazla substratın [E]'ye bağlanmasını gerektirir (Mohan, 2013).

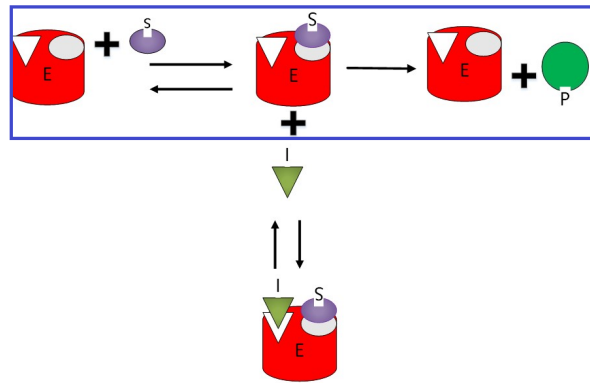


Şekil 4.5. Yarı yarışmalı inhibisyon diagramı.

İnhibitörsüz ve yarı yarışmalı inhibitörlü enzim reaksiyonu için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri:

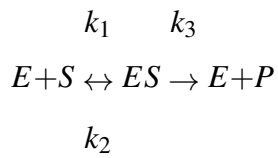


Şekil 4.6. Yarı yarışmalı inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri.



Şekil 4.7. Yarı yarışmalı inhibisyon diyagramı için 1. kısım

Yarı yarışmalı inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;

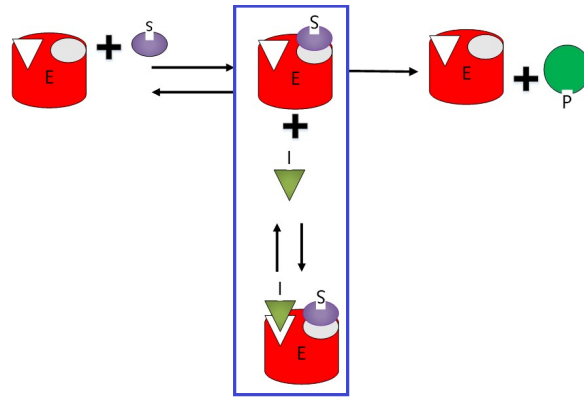


Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{aligned}\frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A, \\ \frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A \\ \frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A, \\ \frac{dP}{dt} &= k_3A.\end{aligned}\tag{4.12}$$

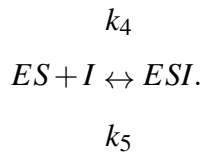
Burada, k_1 , k_2 ve k_3 sabit parametreleri gösterirken, $E = [E]$, $S = [S]$, $P = [P]$, ve $A = [ES]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$E(0) = e_0, \quad S(0) = s_0 \quad \text{ve} \quad A(0) = P(0) = 0.$$



Şekil 4.8. Yarı yarışmalı inhibisyon diyagramı için 2. kısım

Yarı yarışmalı inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;



Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{aligned}\frac{dI}{dt} &= -k_4AI + k_5C, \\ \frac{dA}{dt} &= -k_4AI + k_5C, \\ \frac{dC}{dt} &= k_4AI - k_5C.\end{aligned}\tag{4.13}$$

Burada, $I = [I]$ ve $C = [ESI]$ 'yi göstermektedir. k_4 ve k_5 modelin sabit parametreleridir. Başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$I(0) = i_0 \quad \text{ve} \quad C(0) = 0.$$

Her iki tarafta, $[I]$ inhibisyondur, $[ES]$ ve $[ESI]$ ara bileşenlerdir. Kütle eylem yasası kullanılarak elde edilen 4.12 ve 4.13 denklem sistemleri birleştirildiğinde, yarı yarışmalı inhibisyon denklem sistemi aşağıdaki gibi elde edilmektedir.

$$\begin{aligned}\frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A, \\ \frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A, \\ \frac{dI}{dt} &= -k_4AI + k_5C, \\ \frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A - k_4AI + k_5C, \\ \frac{dC}{dt} &= k_4AI - k_5C, \\ \frac{dP}{dt} &= k_3A.\end{aligned}\tag{4.14}$$

Korunum yasasının sonucu olarak, yukarıdaki (4.14) denklem sisteminden aşağıdaki üç bağımsız stokiyometrik korunum yasası elde edilmektedir,

$$\frac{dI}{dt} + \frac{dC}{dt} = 0, \quad \frac{dE}{dt} + \frac{dA}{dt} + \frac{dC}{dt} = 0 \quad \text{ve} \quad \frac{dS}{dt} + \frac{dA}{dt} + \frac{dP}{dt} + \frac{dC}{dt} = 0.$$

Korunum yasası sonucu gelen bu eşitlikleri ve başlangıç koşullarını kullanarak, aşağıdaki eşitlikler elde edilebilir,

$$I + C = i_0, \quad E + A + C = e_0, \quad S + A + P + C = s_0.$$

Bulunan bu sonuçlar, (4.14)'deki denklem sisteminde yerleştirilerek kinetik denklemler şu şekilde yeniden yazılabilir;

$$\begin{aligned}
\frac{dS}{dt} &= -k_1S(e_0 - i_0 + I - A) + k_2A, \\
\frac{dI}{dt} &= -k_4AI + k_5(i_0 - I), \\
\frac{dA}{dt} &= k_1S(e_0 - i_0 + I - A) - (k_2 + k_3)A - k_4AI + k_5(i_0 - I), \\
\frac{dP}{dt} &= k_3A.
\end{aligned} \tag{4.15}$$

Burada, yarışmalı inhibitör modelinde olduğu gibi E yerine $(e_0 - i_0 + I - A)$ ve C yerine de $(i_0 - I)$ ifadeleri kullanılarak E ve C denklemleri elimine edilmiş ve denklem sistemi altı denklemden dört denkleme indirgenmiştir. Ayrıca, son denklem burada da kapalı döngü içinde olmadığından dolayı, aşağıda yapılan işlemlerde gözönüne alınmamış ve ilk üç denklem ile çalışılmıştır.

Bu kısımda da Akgül ve arkadaşlarının (Akgül vd., 2020), boyutsuzlaştırma için yapmış oldukları değişken değişimlerinden aşağıdaki gibi faydalanarak,

$$\tau = k_1 e_0 t, \quad u(\tau) = \frac{I(t)}{i_0}, \quad v(\tau) = \frac{S(t)}{s_0} \quad \text{ve} \quad w(\tau) = \frac{A(t)}{e_0},$$

(4.15) denklem sisteminin ilk üç denklemini aşağıdaki gibi yeniden oluşturulabilir,

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= -v((1 - w) + \alpha_1(u - 1)) + \alpha_2w, \\
\frac{du}{d\tau} &= -\alpha_3uw + \alpha_4(1 - u), \\
\varepsilon \frac{dw}{d\tau} &= v((1 - w) + \alpha_1(u - 1)) - \alpha_5w + \varepsilon \alpha_1(-\alpha_3uw + \alpha_4(1 - u)).
\end{aligned} \tag{4.16}$$

Burada da (4.7) modelinde olduğu gibi, başlangıç şartları $u(0) = v(0) = 1$ ve $w(0) = 0$ olduğu aşikardır ve katsayılarda (4.8)'deki gibidir. (4.16) denklem sisteminde $\varepsilon \rightarrow 0$ olarak alınırsa, denklem sistemi aşağıdaki gibi olur,

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= -v((1 - w) + \alpha_1(u - 1)) + \alpha_2w, \\
\frac{du}{d\tau} &= -\alpha_3uw + \alpha_4(1 - u), \\
0 &= v((1 - w) + \alpha_1(u - 1)) - \alpha_5w.
\end{aligned} \tag{4.17}$$

Denklem 4.17 de w değeri, v ve u cinsinden analitik olarak çözümlerse,

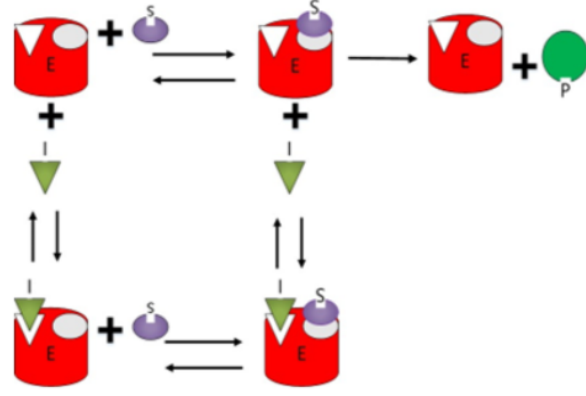
$$w = \frac{v(1 + \alpha_1(u - 1))}{v + \alpha_5}, \quad (4.18)$$

sonucunu elde edilir. (4.18) eşitliği, (4.17) denklem sisteminde yerine konulmasıyla aşağıdaki diferansiyel denklem sistemi elde edilir.

$$\begin{aligned} \frac{dv}{d\tau} &= \frac{v(\alpha_2 - \alpha_5)(\alpha_1(1 + u) - 1)}{v + \alpha_5}, \\ \frac{du}{d\tau} &= \frac{-\alpha_3uv(1 - \alpha_1(1 - u)) + \alpha_4(1 - u)(v + \alpha_5)}{v + \alpha_5}. \end{aligned} \quad (4.19)$$

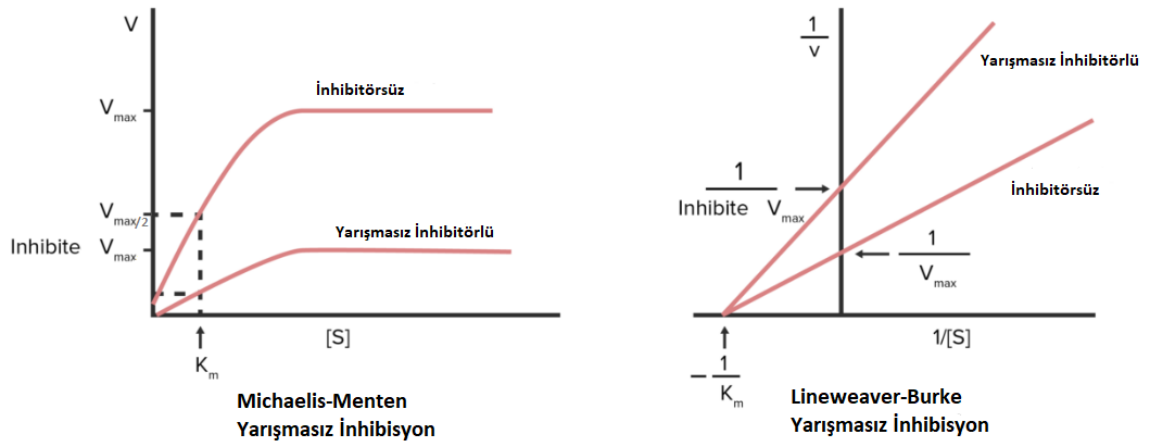
4.3. Yarışmasız İnhibisyon

Tablo (4.2)'nin üçüncü bölümünde bulunan yarışmasız inhibisyonda, yapısal benzerliği olmayan substrat ve inhibitör, aynı bölgeye bağlanamaz. Enzim molekülünün biri substrat için (aktif bölge) ve diğeri inhibitör için (yarışmalı olmayan bölge) olmak üzere iki bağlanma bölgesi vardır. Bu şekilde, substratlar ve inhibitörler enzim üzerinde iki farklı noktaya bağlanabilir. Bir inhibitör molekülünün bir enzim molekülüne bağlanması, enzim molekülünün aktif bölgesini devre dışı bırakır. Böylece, inhibitör substrat bağlanması için aktif bölgeyi bozar ve enzimin üç boyutlu yapısı değişir. Bu da [ES] kompleksinin etkinliğini azaltır. Serbest enzime yada [ES] kompleksine bağlanarak reaksiyonu yavaşlatır. Substrat konsantrasyonu artırılarak inhibisyon ortadan kaldırılamaz. Bir enzimin yarışmalı olmayan ürün inhibisyonu, ürünün inhibitör rolünü oynadığı yarışmasız bir inhibisyonudur (Frey ve Hegeman, 2007; Cornish-Bowden, 2013; Taylor, 2002; (Abdalrahman vd., 2018)). Yarışmasız inhibisyonda V_{max} değeri azalırken, K_M değeri değişmez.



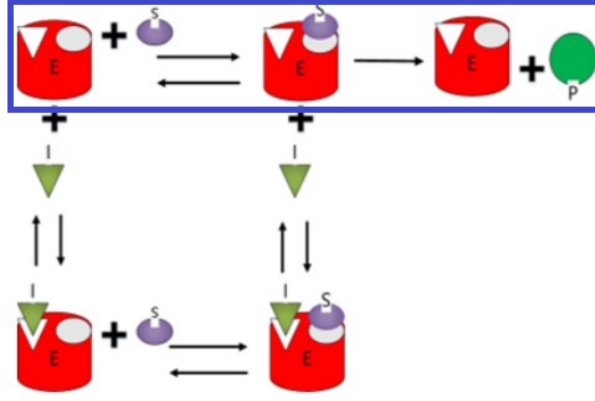
Şekil 4.9. Yarışmasız inhibisyon diagram.

İnhibitörsüz ve yarışmasız inhibitörlü enzim reaksiyonu için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri:



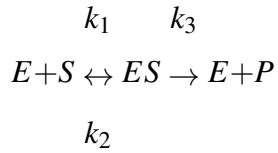
Şekil 4.10. Yarışmasız inhibisyon için Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burk grafikleri

Yarışmasız inhibisyonlarının kinetik mekanizmaları aşağıdaki gibi verilmektedir:



Şekil 4.11. Yarışmasız inhibisyon diyagramı için 1. kısım

Yarışmasız inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;

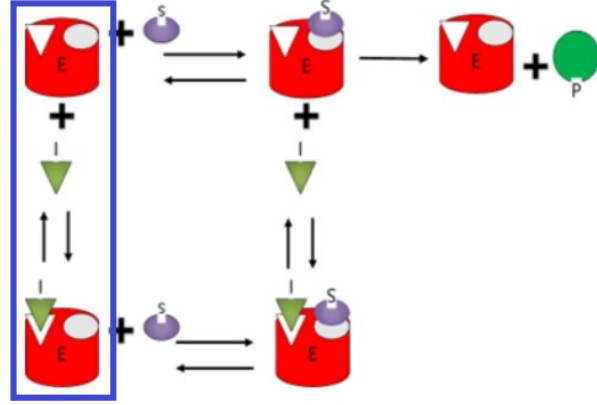


Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{aligned}
 \frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A, \\
 \frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A \\
 \frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A, \\
 \frac{dP}{dt} &= k_3A.
 \end{aligned} \tag{4.20}$$

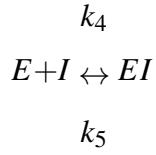
Burada, k_1 , k_2 ve k_3 sabit parametreleri gösterirken, $E = [E]$, $S = [S]$, $P = [P]$, ve $A = [ES]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$E(0) = e_0, \quad S(0) = s_0 \quad \text{ve} \quad A(0) = P(0) = 0.$$



Şekil 4.12. Yarışmasız inhibisyon diyagramı için 2. kısım

Yarışmasız inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;

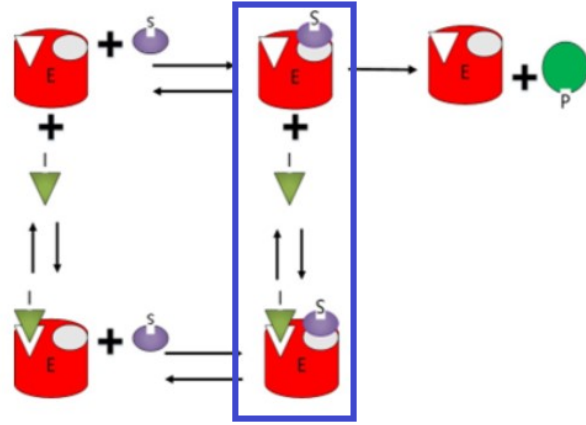


Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{array}{l}
 \frac{dE}{dt} = -k_4IE + k_5B, \\
 \frac{dI}{dt} = -k_4IE + k_5B, \\
 \frac{dB}{dt} = k_4IE - k_5B,
 \end{array}
 \tag{4.21}$$

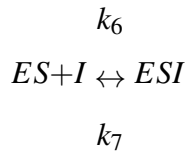
Burada da iki adet sabit parametre vardır ve bunlar k_4 ve k_5 'tir. Ayrıca, $I = [I]$ ve $B = [EI]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulları aşağıdaki gibidir.

$$I(0) = i_0 \quad \text{ve} \quad B(0) = 0.$$



Şekil 4.13. Yarışmasız inhibisyon diyagramı için 3. kısım

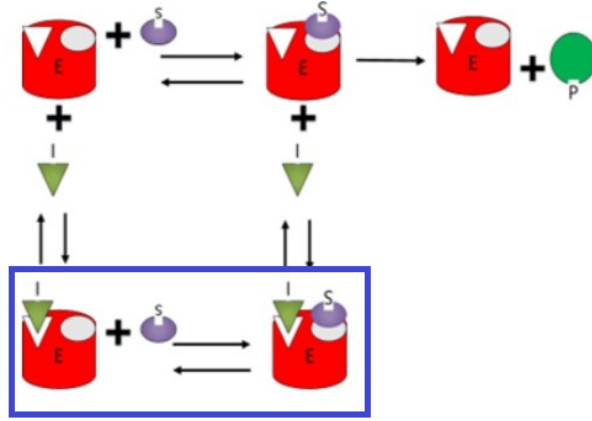
Yarışmasız inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;



Diyagrama ait denklemler;

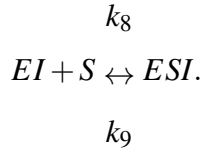
$$\begin{aligned}
 \frac{dI}{dt} &= -k_6AI + k_7C, \\
 \frac{dA}{dt} &= -k_6AI + k_7C, \\
 \frac{dC}{dt} &= k_6AI - k_7C.
 \end{aligned}
 \tag{4.22}$$

Burada da iki adet sabit parametre vardır ve bunlar k_6 ve k_7 'tir. Ayrıca, $C = [ESI]$ 'yi göstermektedir ve başlangıç koşulu $C(0) = 0$ 'dır.



Şekil 4.14. Yarışmasız inhibisyon diyagramı için 4. kısım

Yarışmasız inhibisyon diyagramının yukarıda gösterilen kısmı için şematik gösterim;



Diyagrama ait denklemler;

$$\begin{array}{l}
 \frac{dS}{dt} = -k_8BS + k_9C, \\
 \frac{dB}{dt} = -k_8BS + k_9C, \\
 \frac{dC}{dt} = k_8BS - k_9C.
 \end{array}
 \tag{4.23}$$

Burada, k_8 ve k_9 değerleri, Şekil 4.14'de gösterilen inhibisyon mekanizmasının 4.kısımının parametreleridir. 4.20, 4.21, 4.22 ve 4.23 denklem sistemleri birleştirildiğinde, yarışmasız inhibisyon reaksiyonunun dinamik sistemi aşağıdaki gibi yazılabilir.

$$\begin{aligned}
\frac{dE}{dt} &= -k_1SE + k_2A + k_3A - k_4IE + k_5B, \\
\frac{dS}{dt} &= -k_1SE + k_2A - k_8BS + k_9C, \\
\frac{dI}{dt} &= -k_4IE + k_5B - k_6AI + k_7C, \\
\frac{dA}{dt} &= k_1SE - k_2A - k_3A - k_6AI + k_7C, \\
\frac{dB}{dt} &= k_4IE - k_5B - k_8BS + k_9C, \\
\frac{dC}{dt} &= k_6AI - k_7C + k_8BS - k_9C, \\
\frac{dP}{dt} &= k_3A.
\end{aligned} \tag{4.24}$$

Aşağıdaki üç bağımsız koruma yasası sistemden elde edilmiştir,

$$B + I = i_0, \quad E + A + B + C = e_0 \quad \text{ve} \quad S + P + A + B + C = s_0.$$

Korunum yasalarından elde edilen sonuçlar, 4.24 denklem sistemine yerleştirilirse, aşağıdaki gibi kinetik denklemler elde edilir,

$$\begin{aligned}
\frac{dS}{dt} &= -k_1S(e_0 - i_0 + I - A) + k_2A - k_8S(i_0 - s_0 + S + A + P - I) + k_9(s_0 - S - A - P), \\
\frac{dI}{dt} &= -k_4I(e_0 - i_0 + I - A) + k_5(i_0 - s_0 + S + A + P - I) - k_6AI + k_7(s_0 - S - A - P) \\
\frac{dA}{dt} &= k_1S(e_0 - i_0 + I - A) - (k_2 + k_3 + k_6I)A + k_7(s_0 - S - A - P), \\
\frac{dP}{dt} &= k_3A.
\end{aligned}$$

Bu kısımda da, yarışmalı inhibitör modelinde olduğu gibi E yerine $(e_0 - i_0 + I - A)$ ifadesi kullanılmış, ayrıca B yerine $(i_0 - s_0 + S + A + P - I)$ ve C yerine de $(s_0 - S - A - P)$ ifadeleri kullanılarak, E ile birlikte B ve C denklemleri elimine edilmiş ve denklem sistemi yedi denklemden dört denkleme indirgenmiştir.

Yeni boyutsuz değişkenler aşağıdaki gibi ele alınsın,

$$\tau = t, \quad u = \frac{i}{i_0}, \quad v = \frac{s}{s_0}, \quad w = \frac{A}{e_0} \quad \text{ve} \quad x = \frac{P}{e_0}.$$

Bu durumda denklem sistemi aşağıdaki gibi olur,

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= -k_1 e_0 v(1-w) + (k_1 - k_8) i_0 v(1-u) + (k_8 s_0 v + k_9) [(1-v) - \varepsilon(x+w)] - k_2 \varepsilon w, \\
\frac{du}{d\tau} &= -k_4 e_0 u(1-w) + (k_4 i_0 u + k_5)(1-u) + \left(\frac{(k_5 - k_7) e_0}{i_0} \right) (x+w) - \left(\frac{(k_5 - k_7) s_0}{i_0} \right) \\
&\quad (1-v) - k_6 e_0 u w, \\
\varepsilon \frac{dw}{d\tau} &= [k_1 e_0 v(1-w) - k_1 i_0 v(1-u) + k_7(1-v)] - \varepsilon [(k_2 + k_3)w + k_7(x+w) + k_6 i_0 u w], \\
\frac{dx}{d\tau} &= k_3 w.
\end{aligned} \tag{4.25}$$

Burada $\varepsilon = \frac{e_0}{s_0}$ dir. Daha önce QSSA kullanımında açıklandığı gibi, $\varepsilon \rightarrow 0$ ifadesi yukarıdaki (4.25) sistemindeki denklemlerde kullanıldığında, denklem sistemi aşağıdaki gibi olur,

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= -k_1 e_0 v(1-w) + (k_1 - k_8) i_0 v(1-u) + (k_8 s_0 v + k_9)(1-v), \\
\frac{du}{d\tau} &= -k_4 e_0 u(1-w) + (k_4 i_0 u + k_5)(1-u) + \left(\frac{(k_5 - k_7) e_0}{i_0} \right) (x+w) \\
&\quad - \left(\frac{(k_5 - k_7) s_0}{i_0} \right) (1-v) - k_6 e_0 u w, \\
0 &= [k_1 e_0 v(1-w) - k_1 i_0 v(1-u) + k_7(1-v)], \\
\frac{dx}{d\tau} &= k_3 w.
\end{aligned} \tag{4.26}$$

Sistem (4.26)'nin üçüncü denkleminde w eşitliği, u ve v cinsinden aşağıdaki gibi hesaplanabilir,

$$w = 1 - \frac{i_0}{e_0} (1-u) + \frac{k_7}{k_1 e_0} \frac{(1-v)}{v}.$$

Daha sonra, w değişkeni (4.26) denklem sisteminde yerine konulursa, aşağıdaki sonuç

elde edilebilir,

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= k_8 i_0 v (u - 1) + (k_7 + k_9 + k_8 s_0 v) (1 - v), \\
\frac{du}{d\tau} &= \frac{k_7}{k_1} \left[(k_4 - k_6) u + \frac{(k_5 - k_7)}{i_0} \right] \frac{(1 - v)}{v} + \frac{(k_5 - k_7)}{i_0} [e_0 (x + 1) - s_0 (1 - v)] + k_7 (1 - u) \\
&\quad + k_6 u [e_0 + i_0 (1 - u)], \\
\frac{dx}{d\tau} &= k_3 \left[1 - \frac{i_0}{e_0} (1 - u) + \frac{k_7}{k_1 e_0} \frac{(1 - v)}{v} \right].
\end{aligned} \tag{4.27}$$

(4.27) denklem sistemindeki son denklem burada da kapalı döngü içinde olmadığından dolayı, oluşan sistemin davranış analizinde kullanılmamaktadır. Dolayısıyla, elimizde aşağıdaki iki denklemden oluşan 4.28 denklem sistemi kalmaktadır.

$$\begin{aligned}
\frac{dv}{d\tau} &= k_8 i_0 v (u - 1) + (k_7 + k_9 + k_8 s_0 v) (1 - v), \\
\frac{du}{d\tau} &= \frac{k_7}{k_1} \left[(k_4 - k_6) u + \frac{(k_5 - k_7)}{i_0} \right] \frac{(1 - v)}{v} + \frac{(k_5 - k_7)}{i_0} [e_0 (x + 1) - s_0 (1 - v)] + k_7 (1 - u) \\
&\quad + k_6 u [e_0 + i_0 (1 - u)].
\end{aligned} \tag{4.28}$$

Böylece bu iki denklem kullanılarak, ileride yapılacak çalışmalarda bu denklem sisteminin kararlılık analizi kolaylıkla yapılabilir ve çıkan sonuçlar istenilirse 4.27'deki denklem sisteminde, istenilirse de 4.24'deki en genel sistemde uygulanabilir. Ayrıca 4.28'deki denklemin kararlılık sonuçları kullanılarak faz düzlemde davranış analizlerinin simülasyonları oluşturulabilir.

5. SONUÇ

Bu çalışmada biyokimyasal reaksiyonların matematiksel modellenmesi incelenmiştir. Enzim substrat dengesi incelendiğinde bu durumu etkileyen bir çok faktör olduğu gözlemlenmiştir. Bunlar göz önünde bulundurularak reaksiyona girmelerini etkileyen faktörler, hız kat sayıları, engelleyici moleküller ve ürün oluşumu ele alınmıştır.

Her reaksiyonun ilerleyişine, gerçekleştiği ortama ve benzer durumlara bağlı olarak etkilendiği faktörler vardır. Hız katsayıları, reaksiyona giren maddeler arasında k_n olarak ifade edilen terimlerdir. Engelleyici moleküller ise reaksiyonda enzim ve substratın bağlanması sırasında reaksiyona etki eden moleküllerdir.

Biyokimyasal reaksiyolarda matematiksel modelleme yapabilmek için enzim ve substratın reaksiyona girmesi incelendiğinde reaksiyonun gerçekleşmesini engelleyici (inhibisyon) moleküllerin bu konuda önemli bir rol oynadığı gözlemlenmiştir. Enzim ve substrat birbirleri ile bağlanmaya çalışırken inhibitörlerin durumları önemli rol oynamaktadır.

İnhibe eden moleküllerin matematiksel modellemelerine ait akademik çalışmalar incelendiğinde tersinir ve tersinmez olmak üzere inhibisyon türlerinin ikiye ayrıldığı bilinmektedir. Tersinir inhibisyon türünün alt başlıkları yarışmalı inhibisyon, yarı yarışmalı inhibisyon ve yarışmasız inhibisyonudur. Bu inhibisyon türlerinden yarışmasız inhibisyon türlerinin matematiksel modellemesinde yapılan çalışmaların daha seyrek olduğu saptanmıştır.

Reaksiyonların modellenmesini yapabilmek için etkileşime giren maddelerin arasındaki ilişkilere ait diyagramların elde edilmesi gerekmektedir, bu nedenle incelemelerde model oluşumu için diyagramlardan yararlanılmıştır. Diyagramlar ilk olarak tüm reaksiyonu ifade edecek şekilde oluşturulmuştur. İnhibitörün bağlanma durumuna göre kısımlara ayrılarak her kısım için ayrı bir şema oluşturulmuş ve sonrasında bu şemaya ait denklemler elde edilmiştir. Farklı şemalardan elde edilen denklemler tek bir denklem sisteminde birleştirilmiştir. Bunlara ilave olarak Michaelis-Menten ve Lineweaver-Burke grafikleri çizdirilebilmektedir.

Yarı yarışmalı inhibisyonunda biyokimyasal reaksiyon modeline ilave olarak enzim ve inhibitörün bağlanması görülmektedir. Bu diyagram yardımıyla altı adet denklem elde edilir ve gerekli işlemler yapılarak denklem sistemi iki denkleme indirgenir. Michaelis-Menten yarışmalı inhibisyon grafiği incelendiğinde V_{max} değerinin değişmediği, Lineweaver-Burke yarışmalı grafiği incelendiğinde K_M değerinin arttığı görülmektedir.

Yarı yarışmalı inhibisyonda biyokimyasal reaksiyon modeline ilave olarak enzim-substrat ve inhibitörün bağlanması görülmektedir. Bu diyagram yardımıyla altı adet denklem elde edilir ve gerekli işlemler yapılarak denklem sistemi iki denkleme indirgenir. Michaelis-Menten yarı yarışmalı inhibisyon grafiği incelendiğinde V_{max} değerinin azaldığı, Lineweaver-Burke yarı yarışmalı grafiği incelendiğinde K_M değerinde azaldığı görülmektedir.

Yarışmasız inhibisyon türünde model oluşturabilmek için yarışmasız bir diyagram oluşturulmuştur. Diyagram enzim ve substratın reaksiyona girmesi esnasında, inhibitör ile birleşiminin nasıl gerçekleştiğini ve ürün oluşumunu ifade etmektedir. Michaelis-Menten yarışmasız inhibisyon grafiği incelendiğinde V_{max} değerinin azaldığı, Lineweaver-Burke yarışmasız grafiği incelendiğinde K_M değerinin değişmediği görülmektedir. Bu diyagram kullanılarak üretilen yedi denklemlilik bir sistemin elde edilmesiyle başlamıştır. Daha sonra, korunum yasaları kullanılarak başlangıçtaki yedi denklem dört denkleme indirgenmiştir. Karmaşıklık, QSSA yaklaşımı kullanılarak daha da basitleştirilmiş ve sonuçta iki denkleme indirgenmiştir. Orijinal denklemlerin karmaşıklığına rağmen sistemin iki denkleme indirgenmesi başarılmıştır. Bu oluşan iki denklemlilik denklem sistemi sayesinde sistemin davranışının incelenmesi kararlılık analizi yapılarak kolaylaşacaktır.

Gelecekteki araştırmalarda, yarışmalı, yarı yarışmalı ve yarışmalı olmayan inhibisyonlar için kapsamlı bilgiler elde edebilmek adına, kritik noktalar ve bunların kararlılık analizi ve potansiyel olarak sayısal yöntemler ve faz düzlemi analizi araştırılabilir.

KAYNAKÇA

- Abdalrahman, A. S.** (2018). Slow and fast subsystems for complex biochemical reactions (Master's thesis, Siirt üniversitesi fen bilimleri enstitüsü).
- Akgül, A., Khoshnaw, S. H. & Abdalrahman, A. S.** (2020). Mathematical modeling for enzyme inhibitors with slow and fast subsystems. *Arab Journal of Basic and Applied Sciences*, 27(1), 442-449.
- Baker, R. E.** (2011). Mathematical biology and ecology lecture notes. University of Oxford, Michaelmas Term.
- Banwarth-Kuhn, M. & Sindi, S.** (2020). How and why to build a mathematical model: A case study using prion aggregation. *Journal of Biological Chemistry*, 295(15), 5022-5035.
- Bekiryazici, Z., Merdan, M., Kesemen, T. & Khaniyev, T.** (2016). Mathematical modeling of biochemical reactions under random effects. *Turkish Journal of Mathematics and Computer Science*, 5, 8-18.
- Berthelot, M.** (1862). Recherches sur les affinités de la formation et de la décomposition des éthers par MM. Berthelot et Péan de Saint-Gilles (Vol. 1). Mallet-Bachelier.
- Bezerra, R.M.F. & Dias, A.A.** (2007). Utilization of integrated Michaelis-Menten equation to determine kinetic constants. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, Wiley Online Library, 35(2), 145-150.
- Bills, E.** (2004). Beyond constructivism: Models and modeling perspectives on mathematics problem solving, learning and teaching. *British Journal of Educational Psychology*, 74(635).
- Buchner, E.** (1899). Rapp R.: Alkoholische Gärung ohne Hefezellen. In: Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft. Bd 32, S 2086.
- Bugg, T. D.** (2012). Introduction to enzyme and coenzyme chemistry. John Wiley & Sons.
- Cao, Y., Gillespie, D. T. & Petzold, L. R.** (2005). The slow-scale stochastic simulation algorithm. *The Journal of chemical physics*, 122(1).
- Chen, W. W., Niepel, M. & Sorger, P. K.** (2010). Classic and contemporary approaches to modeling biochemical reactions. *Genes & development*, 24(17), 1861-1875.

- Cornish-Bowden, A.** (2013). *Fundamentals of enzyme kinetics*. John Wiley & Sons.
- Crudu, A., Debussche, A. & Radulescu, O.** (2009). Hybrid stochastic simplifications for multiscale gene networks. *BMC systems biology*, 3, 1-25.
- Daae, E. B.** (1999). *Mathematical modelling of biochemical pathways*. University of London, University College London (United Kingdom).
- Frey, P. A. & Hegeman, A. D.** (2007). *Enzymatic reaction mechanisms*. Oxford University Press.
- Goličnik, M.** (2012). Estimation of kinetic parameters for enzyme-inhibition reaction models using direct time-dependent equations for reactant concentrations. *Acta Chimica Slovenica*, 59(1).
- Guldberg C.M. & Waage, P.** (1867). *Études sur les Affinités Chimiques*. Christiania University, Oslo.
- Gunawardena, J.** (2014). Models in biology: 'accurate descriptions of our pathetic thinking'. *BMC biology*, Springer, 12, 1-11.
- Hamad, H., Khoshnaw, S. H. A. & Shahzad, M.** (2023). Slow and fast subsystems for complex uncompetitive inhibitor mechanisms. *Malaysian Journal of Science*, 22-32.
- Haspolat, E., Huard, B. & Angelova, M.** (2019). Deterministic and stochastic models of *Arabidopsis thaliana* flowering. *Bulletin of Mathematical Biology*, Springer, 81(1), 277-311.
- Hıdıroğlu, Ç. N. & Güzel, E. B.** (2013). Matematiksel modelleme sürecini açıklayan farklı yaklaşımlar. *Bartın Üniversitesi Eğitim Fakültesi Dergisi*.
- Hopkins, A. L. & Groom, C. R.** (2002). The druggable genome. Nature Publishing Group UK London, *Nature reviews Drug discovery*, 1(9), 727-730,
- Ingalls, B. P.** (2013). *Mathematical modeling in systems biology: an introduction*. MIT press.
- Johnson, K. A. & Goody, R. S.** (2011). The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis–Menten paper. *Biochemistry*, 50(39), 8264-8269.
- Kaiser, G. & Sriraman, B.** (2006). A global survey of international perspectives on modelling in mathematics education. *Zdm*, 38, 302-310.

- Kakkar, T., Pak, Y. & Mayersohn, M.** (2000). Evaluation of a minimal experimental design for determination of enzyme kinetic parameters and inhibition mechanism. *ASPET, Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 293(3), 861-869.
- Karaarslan, G.** (2019). Biyokimyasal reaksiyon modelinin rastgele özelliklerinin farklı olasılık dağılımları ile incelenmesi. (Doctoral dissertation, Yüksek Lisans Tezi, Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Trabzon, 67s).
- Klonowski, W.** (1983). Simplifying principles for chemical and enzyme reaction kinetics. *Biophysical chemistry*, 18(2), 73-87.
- Koudriavtsev, A. B., Jameson, R. F. & Linert, W.** (2011). The law of mass action. *Springer Science ve Business Media*.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L. & Cox, M. M.** (2005). Lehninger principles of biochemistry. Macmillan.
- Laidler, K. J., & Cornish-Bowden, A.** (1997). Elizabeth Fulhame and the discovery of catalysis (pp. 123-126). Universitat de Valencia, Valencia.
- Mellor, J. W.** (1909). Chemical statics and dynamics: including the theories of chemical change, catalysis, and explosions. Longmans, green.
- Michaelis, L., & Menten, M. L.** (1913). Die Kinetik der Invertinwirkung. *Biochem. Z*, 49, 333.
- Mohan, C., Long, K. D. & Mutneja, M.** (2013). An introduction to inhibitors and their biological applications. EMD Millipore Corp, 2013, 3-13.
- Oğraş, B. & Altıntan, D.** (2021). Biyokimyasal Reaksiyon Sistemlerinin Modellenmesi için Deterministik ve Stokastik Yaklaşım. *Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Fen Dergisi*, 47(1), 1-15.
- Quílez, J.** (2017). The historical development of the basic ideas concerning chemical equilibrium. *ChemTexts*, 3(3). <https://doi.org/10.1007/s40828-017-0040-1>
- Salis, H. & Kaznessis, Y.** (2005). Accurate hybrid stochastic simulation of a system of coupled chemical or biochemical reactions. *The Journal of chemical physics*, 122(5).

Segel, I. H. (1975). Enzyme kinetics: behavior and analysis of rapid equilibrium and steady state enzyme systems. Wiley New York, 115.

Sontag, E. D. (2011). Lecture notes on mathematical systems biology. New Brunswick, New Jersey, Rutgers University.

Taylor, K. B. (2002). Enzyme kinetics and mechanisms. Springer Science & Business Media.

Ullah, M., Schmidt, H., Cho, K. H. & Wolkenhauer, O. (2006). Deterministic modelling and stochastic simulation of biochemical pathways using MATLAB. *IEEE Proceedings-Systems Biology*, 153(2), 53-60.

Wilhelmy, L. (1850). Ueber das Gesetz, nach welchem die Einwirkung der Säuren auf den Rohrzucker stattfindet. *Annalen der Physik und Chemie* 81, 413–433, 499–526.

Williamson, A. W. (1850). Results of a Research on Etherification. Brit. Assoc. Rep, 98-114.

Yildirim, N. & Bayram, M. (2000). An analysis of the kinetics of unstable enzymatic systems using MAPLE. *Applied mathematics and computation*, Elsevier, 112(1), 41-48.

Zavrel, M., Kochanowski, K. & Spiess, A. C. (2010). Comparison of different approaches and computer programs for progress curve analysis of enzyme kinetics. *Engineering in Life Sciences*, Wiley Online Library, 10(3), 191-200.