

## Enzim Agregat Sistemlerinde Kinetik Parametrelerin Optimizasyonu

Oğuz Akpolat<sup>1\*</sup>, Fatma Ayhan<sup>1</sup>, Gülçin Özevci<sup>2</sup>, Hakan Ayhan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Muğla, Türkiye

<sup>2</sup>Ege Üniversitesi, Nükleer Bilimler Enstitüsü, İzmir, Türkiye

\*oakpolat@mu.edu.tr

**Özet:** 200'e yakın kalıtsal hastalık enzim yoksunluğuna/ eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkmaktadır. Bu hastalıkların çok azı spesifik diyetle iyileştirilebilmektedir. Bunun dışındaki tedaviler için genellikle eksikliği duyulan enzim metabolizmaya doğrudan verilmektedir. Bu durumda hastalık belirtilerinin hafiflemesi beklenen durum olduğu halde uygun tasarımlar yapılamadığı taktirde tedavi başarısızlıkla da sonuçlanabilmektedir. Medikal uygulamalarda immobilize enzimlerin kullanımı için başarılı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Klinik uygulamalar için tek bir enzimin immobilizasyonunun yanı sıra çoklu enzim sistemlerinin taşıyıcılı immobilizasyonu da çalışılan konular arasındadır. Ancak taşıyıcılı enzim sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanılan doğal ya da sentetik polimer, katalitik olmayan kütlesi nedeniyle immobilize enzimlerin aktivitesinde düşüş yaşanmasına neden olmaktadır. Bu çalışmada, taşıyıcılı immobilizasyonun getirdiği sorunları ortadan kaldırmak amacıyla tekli enzim sistemlerinde, çözülmüş enzimlerin uygun çapraz bağlayıcı madde kullanılarak enzim moleküllerinin kendi üzerine bağlanma yöntemleri ile (yani taşıyıcısız immobilizasyon ile) enzim agregasyonu işlemi gerçekleştirilecektir

**Anahtar kelimeler:** *Enzim immobilizasyonu, optimizasyon, kinetik, multi enzim kompleksleri*

### Optimization of Kinetics Parameters for Enzyme Aggregates Systems

**Abstract:** Genetic diseases nearly 200 types originate from lack of enzymes. A few of them could be cured specific diets. Enzyme is given directly to metabolism as an alternative cure method. If a suitable drug design was not done the cure can be ineffective. In medical applications it was carried out successful studies by using immobilized enzyme. Additionally using carrier immobilization of multiple enzyme systems instead of single enzyme immobilization are increased. Because of using natural or synthetic polymer or noncatalytic mass as carrier enzyme activities decrease. In this study, to eliminate the problems of carrier immobilization the enzyme aggregation will be done by using cross-linked enzyme aggregates.

**Keywords:** Enzyme immobilization, optimization, kinetics, multi enzyme complex

### 1. GİRİŞ

Medikal uygulamalarda immobilize enzimlerin kullanımı için başarılı çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Klinik uygulamalar için tek bir enzimin immobilizasyonunun yanı sıra çoklu enzim sistemlerinin taşıyıcılı immobilizasyonu da çalışılan konular arasındadır. Ancak taşıyıcılı enzim sistemlerinde taşıyıcı olarak kullanılan doğal ya da sentetik polimerler, katalitik olmayan kütlesi nedeniyle immobilize enzimlerin aktivitesinde düşüş yaşanmasına neden olmaktadır. 200'e yakın metabolik hastalığın enzim defektine dayandığı bilinmektedir. Bu hastalıklarda, genellikle ilgili enzim ya hiç bulunmamakta ya aşırı salgılanmakta ya da yeterli düzeyde olmamaktadır. Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) eksikliği, çok yaygın ve çok bilinen enzim eksikliğine dayanan bir hastalıktır. Bu eksiklik alyuvarların yıkımına yol açan iki ayrı hemolitik anemiye (bir tür ileri derecede kansızlık)

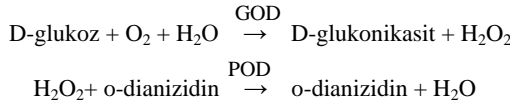
neden olabilir. Bu hastalıkta hasta kişi (bakla vb) oksitleyici bir maddeyi vücuduna aldıktan 48-96 saat sonra hemoliz (alyuvarların yıkımı) bulguları ortaya çıkar [1].

Glukozoksidaz, diyabet hastalarının kan şekerinin klinik analizinde kullanılan bir enzimdir ve klinik enzimlerin teşhis amaçlı kit olarak kullanımında, enzim immobilizasyonu araştırılan bir konudur. Kontrollü ilaç salınımı uygulamaları çerçevesinde; glukozoksidaz enziminin şeker hastalığının tedavisinde, metabolizmada glukoz konsantrasyonundaki değişimine bağlı olarak vücuda yerleştirilen insülinin salınımını kontrol edebilecek bir kit olarak kullanımı ile ilgili literatürde yer alan çalışmalar vardır. Bu yapılan çalışmalarda glukozoksidaz enziminin genellikle taşıyıcılı immobilizasyonu kullanılmıştır ve diyabet hastalarının tedavisinde etkili sonuçlar alınmıştır [2, 3]. Taşıyıcıdan kaynaklanan sorunların giderilmesi yönünde araştırmalar ilerlemektedir. Yapılan bu

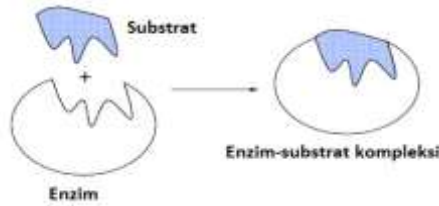
çalışmada oluşturulan multi enzim agregatlarının benzer bir şekilde tedavi amaçlı ve diyabet hastalarının yaşam kalitesinin artmasına yönelik çalışmalarda kullanılabilceği düşünülmektedir. Multi enzim kompleksleri, çoklu katalitik merkezler içeren, dördüncül yapılarla tanımlanabilen büyük polipeptitlerdir [4]. Substratlar ardışık çok basamaklı reaksiyonları sırasında tekli enzimlere nazaran pek çok avantaj sağlayabilirler [5].

Çapraz bağlı enzim agregatları yöntemi, birden fazla enzimin bir araya getirilmesi ile kombine edilmiş çapraz bağlı enzim agregatları oluşturmaya olanak tanır. Katkı maddelerinin varlığında çapraz bağlı enzim agregatları sentezi, immobilize enzimi istenilen konformasyonda 'kilitlemeye' yarar. Böylece daha yüksek aktivite ve/veya seçicilik sağlanabilir. Bu çalışma için aşağıdaki çoklu enzim sistemi seçilmiş ve agregatlarının hazırlanması ile bu enzim sisteminin glukozu indirgeme kinetiğinin araştırılması düşünülmüştür.

#### Glukozoksidaz- peroksidaz sistemi

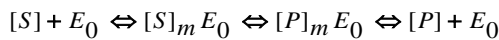


**Enzim Kinetiği:** Enzimler substrata bağlanıp, ardından enzim-substrat yapısını oluşturarak tepkimelerin aktivasyon enerjisini düşürür. Enzim kullanımı tepkimenin denge sabitini etkilemez. Ancak aktivasyon enerjisinde, tepkime aynı sıcaklıkta yürütülmesine rağmen önemli şekilde düşme gözlenir. Şekil 1'den anlaşılacağı gibi enzimler özgül oldukları substrat ile etkileşerek enzim-substrat yapısını oluştururlar [6, 7].



**Şekil 1. Anahtar-kilit Modelinin Şematik Gösterimi**

Genel olarak tepkime hızı tepkimeye giren bileşenlerin ya da ürünlerin zamana bağlı olarak derişiminin bir ifadesi olup S, substrat, P, ürün ve E<sub>0</sub>'dan başlangıçtaki enzim derişimlerini göstermek üzere genel tepkime denklemi için önerilen tepkime hızı aşağıdaki gibi verilmiştir. Bunlar;



veya (1)



$$v \text{ veya } r = -\frac{dS}{dt} = \frac{dP}{dt} \quad (3)$$

olarak yazılır ve enzimatik olmayan birinci mertebeye tepkimeler için en basit tepkime kinetik modeli

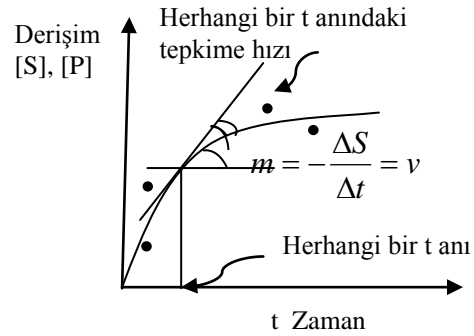
$$v = kS \quad (4)$$

şeklinde iken, bu enzimatik tepkimeler için biraz daha karmaşık olup, Michealis- Menten tarafından aşağıdaki gibi önerilmiş ve uygulamada büyük oranda başarı sağlamıştır.

$$v = \frac{v_m[S]}{K_m + [S]} \quad (5)$$

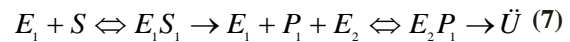
Buradan K<sub>m</sub> enzimatik tepkimeleri için önerilmiş olan Michealis-Menten kinetik sabitini belirtmektedir. v<sub>m</sub> ise ulaşılabilir en yüksek tepkime hızıdır. Tepkime hızlarının bulunması başlı başına bir işlem olup Şekil 2'den anlaşılacağı gibi tepkimeye ilişkin çizilecek zaman-derişim eğrisinin belirlenen noktalarındaki teğetlerinin eğiminden hesaplanabilir. Tepkime hızının hesaplanması zamana ilişkin bir limit işlemi olup, aşağıdaki gibi yazılır [8].

$$v = -\frac{\Delta S}{\Delta t \lim_{\Delta t \rightarrow 0}} = -\frac{dS}{dt} \quad (6)$$



**Şekil 2. Tepkime hızlarının zaman-derişim eğrisinden hesaplanması**

Çoklu enzim sistemleri kullanımı çalışmaları çok olmamakla birlikte, bu tür enzim sistemlerinin kinetik modellenmesi için tekli enzim sistemlerine benzer modeller öne sürülmektedir. Bunların en basiti aşağıdaki gibi önerilebilir [7, 9]. E<sub>1</sub> ve E<sub>2</sub> iki farklı enzimi göstermek üzere,

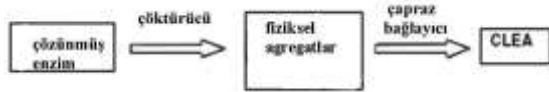


şeklinde düşünülüp, buradaki S<sub>1</sub>-P<sub>1</sub> dönüşmesi de % 100 kabul edilerek S<sub>1</sub>=P<sub>1</sub>=S olarak Michealis-Menten kinetik modeli çift enzim için aşağıdaki şekilde ampirik model aşağıda sunulmuştur, burada K<sub>m1</sub> ve K<sub>m2</sub> birinci ve ikinci enzime ait Michealis-Menten sabitleridir. Bu modelin çözümünde her iki enzim için substrat tüketiminin n<sub>1</sub> ve n<sub>2</sub> gibi belirli oranlardaki üstel değişimi de aşağıdaki gibi kabul edilmiştir

$$v = v_m * \frac{[S^{n1}]}{K_{m1} + [S^{n1}]} * \frac{[S^{n2}]}{K_{m2} + [S^{n2}]} \quad (8)$$

## 2. YÖNTEM

Sunulan çalışmada, Glukozoksidaz ve peroksidaz enzim sistemi çoklu enzim agregatı olarak sentezlenmiştir. Enzimlerin çözünmez agregatlarını oluşturmak için çözünmüş durumdaki enzim, uygun bir proteinik besleyici varlığında bifonksiyonel çapraz bağlayıcı ile muamele edilmiştir. Bu işlem protein yapısındaki molekül içi ve moleküller arası etkileşimleri değiştirecek, fiziksel olarak çözünmez enzim agregatlarını oluşturacaktır. En verimli agregat oluşumunu sağlayabilmek için enzim sistemlerinin optimizasyonunda bazı değişkenler (başlangıç enzim derişimi, proteinik besleyici derişimi, çapraz bağlayıcı derişimi, ortam pH'ı, kullanılan tampon türü) kullanılmıştır.



Denklem 8'de verilen kinetik parametrelerinin optimizasyonunda çift enzim davranışının tek enzim davranışı olarak kabulü ve bu kabul sonucu tek enzimli Michealis-Menten kinetik modelinin doğrusallaştırılması ile bulunan değerler hesaplama döngüsü için başlangıç değerleri olarak değerlendirilmiştir. Bu işlem sırasında kinetik parametreleri de içeren optimizasyon fonksiyonu J,

$$J = \sqrt{\sum_{i=1}^n (S_{i-deneysel} - S_{i-hesaplanan})^2} \rightarrow Minimum \quad (9)$$

şeklinde yazılır. [S] substrat konsantrasyonuna bağlı olarak yazılan bu denklikte reaksiyon hızı  $v=d[S]/dt$  dir ve daha sonra çizilen S-t grafiği yani derişime ilişkin simülasyon eğrisi yine en küçük kareler yöntemiyle optimize edilir. S-t grafiğinin çizimi  $t=0$  ve  $S=S_0$  da  $dS/dt=v$  diferansiyel eşitliğinin bir çözümü olup kinetik modelin parametrelerinde içeren J'yi minimum yapan değerlerin bulunması ile mümkündür. Bu optimizasyon probleminin çözümü de ancak Euler gibi sayısal bir yöntemle bu diferansiyel denklemin verilen başlangıç koşulları çözümü çerçevesinde bir optimizasyon döngüsüyle gerçekleştirilebilir. Böylece kinetik parametre değerleri doğrusal olmayan etkileri de içerecek şekilde bulunmuş olur ve çözüm için kullanılan Euler yöntemi kısaca aşağıdaki denklikle ifade edilmektedir [8]:

$$S_{i+1} = S_i + R_i * \Delta t \quad (10)$$

Simülasyon eğrilerinin deneysel ölçüm değerleriyle uyumu aşağıdaki gibi hesaplanmıştır.

$$U = 1 - \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (S_{i-deneysel} - S_{i-hesaplanan})^2}{(\sum_{i=1}^n S_{i-deneysel})^2}} \quad (11)$$

Simülasyon için hazırlanan yazılım algoritması aşağıda ayrıntılı olarak verilmiştir.

```

% Mugla Universitesi Fen Fakultesi Kimya Bolumu
% 2012
%
=====
clear all, clc, clf
%'
C:\...Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_03_Si
mulasyon0_03_GP02.m'

% Grafik Koordinatlari Icin Deneysel Olcum Verilerinin
Alinmasi (TOPLAM)
Enz_Mod_Yas_01_01_01= ...

xlsread('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_01
_Veri_Tablo_03GODPOD.xls');
% -----
% Grafik Icin Zaman-Donusen Glukoz Miktar Degerlerinin
Olusturulmasi
tc_Bas_01(1:6,1:1)=Enz_Mod_Yas_01_01_01(1:6,1:1);
Delt=1;
Yc_Bas_01(1:6,1:1)=tc_Bas_01;
Vc_Bas_01(1:6,1:1)=tc_Bas_01;
Cc_Bas_01(1:6,1:1)=tc_Bas_01;
Vv_Bas_01(1:6,1:1)=tc_Bas_01;
for j=2:6
for i=1:6
Yc_Bas_01(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01(i:i,j);
Cc_Bas_01(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01(7:7,j);
Enz_Mod_Yas_01_01_01(i:i,j);
end
end
C0=0.01; Kod=1;
tYc=Yc_Bas_01(1:6,1:1);sYc=Yc_Bas_01(1:6,Kod+1:Kod+1);
tCc=Cc_Bas_01(1:6,1:1);sCc=Cc_Bas_01(1:6,Kod+1:Kod+1);
tYc,sYc,tCc;sCc;
% -----
% Grafik Koordinatlari Icin Deneysel Olcum Verilerinin
Alinmasi (GOD)
Enz_Mod_Yas_01_01_01g= ...
xlsread('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_01
_Veri_Tablo_03GODPODg.xls');
% -----
% Grafik Icin Zaman-Donusen Glukoz Miktar Degerlerinin
Olusturulmasi
tc_Bas_01g(1:6,1:1)=Enz_Mod_Yas_01_01_01g(1:6,1:1);
Delt=1;
Yc_Bas_01g(1:6,1:1)=tc_Bas_01g;
Vc_Bas_01g(1:6,1:1)=tc_Bas_01g;
Cc_Bas_01g(1:6,1:1)=tc_Bas_01g;
Vv_Bas_01g(1:6,1:1)=tc_Bas_01g;
for j=2:6
for i=1:6
Yc_Bas_01g(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01g(i:i,j);
Cc_Bas_01g(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01g(7:7,j);
Enz_Mod_Yas_01_01_01g(i:i,j);
end
end
C0=0.01; Kod=1;
tYcg=Yc_Bas_01g(1:6,1:1);sYcg=Yc_Bas_01g(1:6,Kod+1:Kod+
1);
tCcg=Cc_Bas_01g(1:6,1:1);sCcg=Cc_Bas_01g(1:6,Kod+1:Kod+
1);
tYcg;sYcg;tCcg;sCcg;
% -----
% Grafik Koordinatlari Icin Deneysel Olcum Verilerinin
Alinmasi (POD)
Enz_Mod_Yas_01_01_01p= ...
  
```

```

xlsread('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_01_Veri_Tablo_03GODPODp.xls');
% -----
% Grafik İçin Zaman-Donusen Glukoz Miktar Degerlerinin Olusturulmasi
tc_Bas_01p(1:6,1:1)=Enz_Mod_Yas_01_01_01p(1:6,1:1);
Delt=1;
Yc_Bas_01p(1:6,1:1)=tc_Bas_01p;
Vc_Bas_01p(1:6,1:1)=tc_Bas_01p;
Cc_Bas_01p(1:6,1:1)=tc_Bas_01p;
Vv_Bas_01p(1:6,1:1)=tc_Bas_01p;
for j=2:6
    for i=1:6
        Yc_Bas_01p(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01p(i:i,j);
        Cc_Bas_01p(i:i,j)=Enz_Mod_Yas_01_01_01p(7:7,j);
        Enz_Mod_Yas_01_01_01p(i:i,j);
    end
end
C0=0.01; Kod=1;
tYcp=Yc_Bas_01p(1:6,1:1);sYcp=Yc_Bas_01p(1:6,Kod+1:Kod+1);
tCcp=Cc_Bas_01p(1:6,1:1);sCcp=Cc_Bas_01p(1:6,Kod+1:Kod+1);
tYcp;sYcp;tCcp;sCcp;
% -----
% Hiz Sabiti Degerlerinin Alinmasi
C0Vm_z11_z12_Km_z21_z22_R=xlsread ...
('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_02_Max_Hiz_Kin_Sab_Tablo_02_b3VmKm.xls');
Vm=C0Vm_z11_z12_Km_z21_z22_R(1,1),Kmm=C0Vm_z11_z12_Km_z21_z22_R(1,2)
t0=0; Delt=0.1; mumax=Vm; % Baslangic degerleri Matematik Modelin cozumu icin
% Optimize edilecek parametreler S', mumax ve Km
% -----
% Baslangicdan Zaman-Derisim degerlerinin optimizasyon icin hesaplanmasi
% S1=S2=S % 100 Donusme kabulü % e1 ve e2 enzim etkenli?i <1
t=0; s=0; sb=C0; ss=sb-s; Delt=0.1;
k=0.1; a=20; b1=20; b2=50; n1=0.5; n2=1.5; e1=1;e2=1;
% 'Simulasyon_Sekil_001_a',
t_S_D_K_G(1,1)=t; t_S_D_K_G(1,2)=s; t_S_D_K_G(1,3)=sb;
mumax_Bas=Vm; K_Bas=Kmm; smin=ss*k; % Optimizasyon Icin Baslangic Degerleri
k_Vm=a; k_Km1=b1, k_Km2=b2; % Basit Optimizasyon Taramasi icin
mumax=Vm*k_Vm; Km1=Kmm*k_Km1; Km2=Kmm*k_Km2
% Optimizasyon Icin Hesaplanan Degerler
for i=2:61 % Euler Dongusu
    muS1=(e1*(ss-smin)^n1/(Km1+(ss-smin)^n1));muS2=(e2*(ss-smin)^n2/(Km2+(ss-smin)^n2));
    muS=mumax*muS1*muS2; DelS=muS*Delt; s=s+DelS;
t=t+Delt;
ss=sb-s;
t_S_D_K_G(i,1)=t; t_S_D_K_G(i,2)=s; t_S_D_K_G(i,3)=sb-s;
end
xlswrite('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_03_Simulasyon0_03.xls',t_S_D_K_G);
% -----
t_Sim_Don_Kal_Glu=xlsread ...
('Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_03_Simulasyon0_03.xls');
n_length=length(t_Sim_Don_Kal_Glu);t=t_Sim_Don_Kal_Glu(1:n_length,1:1);
Sim_Don_Glu=t_Sim_Don_Kal_Glu(1:n_length,2:2);
Sim_Kal_Glu=t_Sim_Don_Kal_Glu(1:n_length,3:3);
% Model Cozumun Degerlerinden Simulasyon Grafiginin Cizdirilmesi
figure(1); hold on grid
plot(t,Sim_Don_Glu,'m-', t,Sim_Kal_Glu,'b-', tYc, sYc,'m*', tCc, sCc,'b+');
title ...
(mu=mumax*(e1*S1^n1/Km1+S1^n1)*(e2*S2^n2/Km2+S2^n2)-Vm=0.0062;Kmm=0.0003');
xlabel('Sure (dak)'); ylabel('Glukoz Derisimi (M)');

```

```

legend('Donusen-GOD-POD-0.01-mumax=Vm*a','Kalan - Km1=Kmm*b1 - Km2=Kmm*b2');grid;
gtext('k=0.1; a=30; b1=30; b2=40; n1=0.5; n2=1.5; e1=1;e2=1;');
% Sekil Dosyasinin Saklanması Save ...
% -----
C:\...\Enz_Mod_Yas_01_01_01_GOD_000_Agr_Don_Gul_03_Simulasyon_Sekil_0_01x
% -----
sb=C0; % Simulasyon Degerlerinin Deneysel Degerlere Uyum Optimizasyonu
% Baslangic konsantrasyonundan Zaman-Derisim degerlerinin alınmasi tCc;sCc;
% Simulasyon konsantrasyonundan Zaman-Derisim degerlerinin alınmasi tCc_s; sCc_s;
tCc(1:1,1:1); sCc(1:1,3:1); tCs(1,1)=t_S_D_K_G(1,1);
sCs(1,1)=t_S_D_K_G(1,3);
for i=2:6
    tCs(i,1)=t_S_D_K_G((i-1)*10+1,1); sCs(i,1)=t_S_D_K_G((i-1)*10+1,3);
end
sCc_Top=0;sCs_Top=0;
for i=1:6
    sCc_Top=sCc_Top+(sCc(i)-sCs(i))^2;sCs_Top=sCs_Top+(sCs(i))^2;
end
R2=(1-(sCc_Top^0.5/sCs_Top^0.5)); J=R2;
' Optimizasyon Icin Baslangic Degerleri'
mumax_Bas, K_Bas
' Basit Optimizasyon Taramasi'
k, a, b1,b2, smin, mumax, Km1, Km2, n1, n2, J
% -----

```

### 3 SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Sunulan çalışmada, Glukozoksidaz ve peroksidaz enzim sistemi çoklu enzim agregatı olarak sentezlenmiştir. Elde edilen çiftli enzim sisteminin glukozu indirgenmesi sırasındaki aktivitesi ölçülmüştür. Denemeler sırasında farklı başlangıç enzim derişimlerinde çalışılmıştır. Bu konsantrasyonlardan 0.01 M'lık başlangıç enzim derişiminde yapılan denemelerde dönüşen glukoz ve hidrojen peroksit miktarları ölçülmüş ve bu ölçülen deneysel değerler simule edilerek oluşan tepkime kinetiğine ait parametreler optimize edilmiştir. 0.01 M'lık başlangıç enzim derişiminde yapılan denemelerde ölçülmüş olan dönüşen glukoz ve hidrojen peroksit derişimleri Çizelge 1'de verilmiştir.

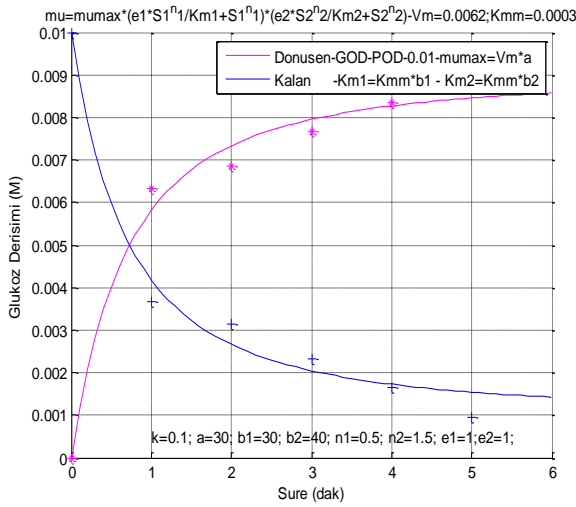
**Çizelge 1. Ölçülen Glukoz ve Hidrojen Peroksit Derişimleri**

Süre (dak)	Toplam Dönüşen Glukoz miktarı (M)	Dönüşen Glukoz miktarı (M)	Dönüşen H2O2 Miktarı (M)
0	0	0	0
1	0.00632	0.00331	0.00301
2	0.00687	0.00365	0.00322
3	0.00767	0.00399	0.00368
4	0.00836	0.00401	0.00435
5	0.00905	0.00436	0.00469

Optimizasyon sonuçları için çizilen simülasyon sonuçları Çizelge 2’de ayrıntılı olarak verilmiş olup en yüksek uyum gösteren simülasyon grafiği de Şekil 3’de verilmiştir.

**Çizelge 2. Optimize edilmiş Michealis-Menten kinetik parametreleri**

No	$v_m$	$K_{m1}$	$K_{m2}$	$n_1$	$n_2$	J
1	0.00217	0.00105	0.075	1	1	0.4203
2	0.00217	0.00105	0.15	1	1	0.4536
3	0.00062	0.0003	0.3	1	1	0.4898
4	0.00217	0.00105	0.075	1	1	0.6786
5	0.00062	0.0003	0.15	0.5	1.5	0.7538
6	0.00062	0.0003	0.12	0.5	1.5	0.9171



**Şekil 3.** Muhtelif optimizasyon sabitleri için simülasyon eğrilerinin uyumu (J = 0.9171)

#### 4. KAYNAKLAR

- [1] Drousiotou A., Touma E., Andreou N., Loiselet J., Angastiniotis M., Verrelli B., Tishkoff S., 2004, Molecular characterization of G6PD deficiency in Cyprus, Blood cells, Molecules and Diseases, 33:25-30
- [2] Brahim S., Narinesingh D., Guiseppi-Elie A., 2002, Bio-smart hydrogels: co-joined molecular recognition and signal transduction in biosensor fabrication and drug delivery, Biosensors and Bioelectronics 17: 973- 981
- [3] Liu T., Yao Z., Ding L., 2004, Development of an amperometric biosensor based on glucose oxidase immobilized through silica sol-gel film onto Prussian Blue modified electrode, Sensors and Actuators B, 101: 155-160
- [4] Berg, J.M. Tymoczko, J.L. Stryer, L., 2002, Biochemistry, fifth ed., W.H. Freeman, NewYork
- [5] Spivey H.O., Ovadi J., 1999, Substrate channeling, Methods 19 (2) () 306–321

- [6] Sheldon, R.A., 2007, Enzyme Immobilization: The Quest for Optimum Performance, Adv. Synth. Catal. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim, 1298-1300 s
- [7] <http://www.chemistry.wustl.edu/~edudev/LabTutorials/Carboxypeptidase/carboxypeptidase.html>, 22.11.2011
- [8] Lübbert, A., Simutis, R.; Volk, N.,S.; Galvanuskas, V., 2000, Biochemical Process Optimization and Control, Hands-on Course, Martin Luther Universität, Germany
- [9] Türker, M., 2005, Biyoreaksiyon Mühendisliği-Biyolojik Proseslerin Modellemesi ve Kinetiği, Su Vakfı Yayınları