

# Canlı Organizma Yaşam Hızına Nasıl Ayak Uyduruyor?



*Enzimler, canlı dokuların bileşiminde yeralan, iz miktarında bulunan fakat çok önemli rolleri olan organik katalizörler. Yapılarını esas olarak proteinler oluşturduğu için onlara katalitik özellikli proteinler de demek olası. Ve canlı hücrenin tüm fonksiyonları enzimlerle sağlandığından, yaşama bir anlamda birbirini izleyen enzimatik tepkimeler bütünü de denilebilir. O halde, enzimler olmadan biyokimyasal değişmelerin hemen hepsi yaşam hızına ayak uyduramaz, başka bir deyişle canlılık olmazdı.*

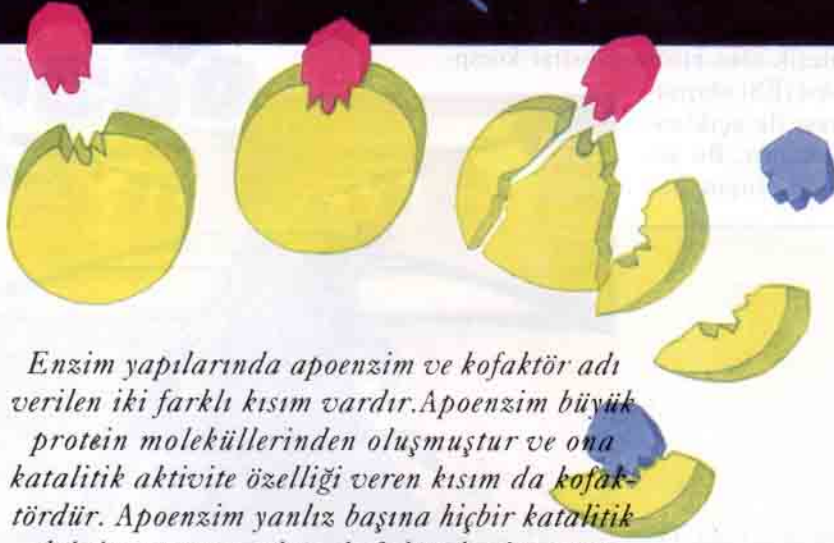
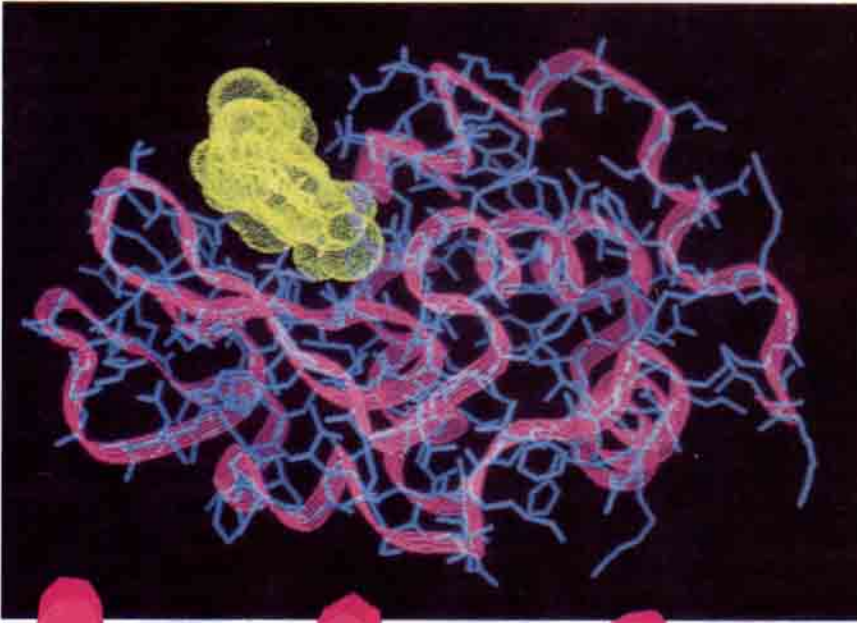
**B**İR BİYOLOJİK sistemde meydana gelen tepkimeleri, laboratuvarında oluşturmak istersek karşımıza, çok yüksek sıcaklık, basınç gibi birtakım fizikokimyasal yöntemlerin uygulanması sorunları çıkar. Bu fizikokimyasal yöntemlerin uygulanması halinde bile, reaksiyonların birçoğu izlenemeyecek derecede yavaş seyrederek. Oysaki biyolojik sistemlerde bu tepkimeler öylesine kolay ve hızlı olmaktadır ki; örneğin karbonhidrat, lipid ve proteinler ancak derişik asit ya da bazik çözeltilerde kaynatılarak, hidroliz edilmesine karşın, bu maddeler sindirim sisteminde çok daha yumuşak koşullarda 37 °C'de hidroliz olabilirler. O halde biyolojik sistemde tepkimelerin kolay ve hızlı oluşuna destek veren ya da aracı olan birşeyler olması gerekir. İşte bu birşeyler olarak tanımlanan, "enzim" adı veri-

len biyolojik katalizörlerdir. Canlı organizmadaki, biyokimyasal değişmeleri katalize ederek, etkilerini gösteren enzimler sayesinde, biyokimyasal değişmelerin hemen hepsi, yaşam hızına ayak uydurmaktadır. Yani enzimler canlılık özelliğinin varolmasını sağlamaktadır.

## Enzimlerin Yapısı

Bazı enzimler sadece proteinden oluşmuş iken bazılarında bileşimce ve ödevce farklı olan iki kısım bulunur. Bunlardan birine APOENZİM, ötekine de KOFAKTÖR ( bazı durumlarda koenzim) adı verilir.

Enzimlerin apoenzim kısmı büyük protein moleküllerinden oluşmuştur. Ve enzimin özelliğini artı öz geliğini sağlayan kısmı da apoenzimdir. Çünkü, apoenzimin protein yapısı



*Enzim yapılarında apoenzim ve kofaktör adı verilen iki farklı kısım vardır. Apoenzim büyük protein moleküllerinden oluşmuştur ve ona katalitik aktivite özelliği veren kısım da kofaktördür. Apoenzim yalnız başına hiçbir katalitik aktivite göstermezken, kofaktörler ise çoğunlukla çok düşük, katalitik aktivite gösterirler.*

yani proteinler içindeki aminoasitlerin türleri ve dizilişleri ile enzimler farklılık gösterir. Enzim molekül ağırlığının büyük oluşunun nedeni de, apoenzimin protein yapısında olmasıdır.

Apoenzime katalitik aktivite özelliği veren kısım, kofaktördür. Kofaktörler, apoenzime bağlı etken gruplar ve apoenzimden ayrı halde bulunan etken molekül ya da iyonlar olarak iki grupta sınıflandırılır.

Apoenzimler yalnız başlarına hiçbir katalitik aktivite gösteremezler. Kofaktörlerin ise yalnız oldukları zaman çoğunlukla enzime kıyasla çok düşük bazı hallerde de hiç katalitik aktiviteleri yoktur. Ancak bir apoenzim ile kofaktör bir arada oldukları zaman gerçek enzim aktivi-

tesi gözlemlenebilir.

Bir enzimin apoenzim ve kofaktör kısımlarının her ikisine birden bazen HALOENZİM adı verilmektedir. Yani bazı enzimlerde protein kısmı yanında bazı metaller (örneğin demir ve kalsiyum) veya protein yapısında olmayan bir başka organik kısım bulunur ki bu tür enzimlere, haloenzim denilir.

Enzimlerin reaksiyonları katalize etmelerinde özellikle pH ve sıcaklık açısından optimum koşullar söz konusudur. Bazı enzimler belli bir optimum pH derecesi, bazılarının ise birden fazla optimum pH derecesi vardır. Ancak birçok enzimin optimum pH derecesi genel olarak 4.5-8.0 arasında bulunmaktadır. Yapılarında protein bulunduğuna göre en-

zimler; protein kısımlarının denatüre olduğu sıcaklık derecelerinde, aktivitelerini tümünden yitirirler. Bu olgudan, örneğin meyve, sebzelerin işlenmesi sırasında, enzim aktivitesinin durdurulmasında yararlanır.

Enzimler protein yapısında olmasına karşın, bunları salt bir protein olarak düşünmek yanlıştır. Çünkü her enzimin kendine özgü üç boyutlu bir yapısı vardır. Proteinlerin yapıtaşları amino asitler olmasına karşın, bir proteine ve enzime karakteristik özelliğini veren proteini oluşturan amino asitlerin sırası ve sayısı, peptid bağı denilen ve iki amino asit arasında oluşan bağların diğer bölgelerle etkileşimi ile protein kendine özgü bir yapı kazanır, bu yapıya konformasyon denilir ve her enzimin spesifik bir konformasyonu vardır. Bir canlıdaki enzimlerin miktar ve çeşitleri de o canlının genetiksel özelliğidir ve genetik materyalleri bir canlıdaki etkisi enzimlerle ortaya çıkmaktadır.

Uzaydaki 3 boyutlu yapısı ile her enzim kendine özgü bir yapı kazanır. Enzim proteininin belirli bir bölgesinde enzimin reaksiyonunu gerçekleştirdiği bir kısım vardır ki bu kısma Aktif Merkez denilir. Bazı enzimlerde birden fazla aktif merkezde olabilmektedir ve enzimin etkilediği substrat önce aktif merkeze bağlanmalıdır.

Enzimler, çeşitli biyokimyasal reaksiyonları katalize ederler ancak her enzimin kendine özgün bir substratı, bir reaksiyonu ve etki ettiği bir bağ vardır. Enzimin etki ettiği bileşiğe o enzimin substratı denilir.

Önceleri enzimler sadece etki ettiği maddenin sonuna (-az) eki getirilerek isimlendirilirdi. Ancak çeşitli kaynaklardan pek çok enzim izole edilince bunların sınıflandırılmasında da sorunlar çıkmaya başlayınca, konu ile ilgili kuruluşlar enzimleri 6 grup altında toplayarak, daha sistematik bir sınıflama yoluna gitmişlerdir. Buna göre enzimler,

- 1- Oksido-redüktazlar
- 2- Transferazlar
- 3- Hidrolazlar
- 4- Liyazlar
- 5- İzomerazlar
- 6- Ligazlar olarak 6 grupta toplanırlar.

Bunlarda kendi içlerinde daha alt gruplara ayrılarak E.C. harfleri ve 4 rakamla kodlanırlar (Örneğin E.C. 304-22.2, papain) E.C.'den sonraki ilk rakam enzimin grubunu, ikinci rakam grup içerisindeki alt grubu üçüncü rakam daha alt grubu ve dördüncü rakam ise enzimin numarasını bildirir.

Bu gruplardan oksido redüktazlar, indirgenme yükseltgenme reaksiyonlarını katalize ederek bir maddeyi yükseltirken diğerini indirger ve bu yolla canlıya bir çok önemli özellik kazandırır. Transferazlar ise iki substrat arasında (H+) dışındaki grup transfer eden enzimlerdir. Hidrolazlar büyük moleküllü maddeleri bir su molekülü vererek daha küçük birimlerine parçalarlar ve bu grup enzimlere nişasta; selüloz vb. gibi doğal polimer maddeleri parçalayan enzimler örnek olarak verilebilirler. Liyazlar ise substrattan

grupların uzaklaştırılmasını hidroliz reaksiyonlarından başka bir yolla yapar ve çift bağ oluşumunu katalizler; İzomeraz grubu enzimler, maddelerin izomerlerini oluştururlar ve çeşitli izomerlerin birbirlerine dönüşümünü katalize ederler. Ligaz grubu enzimler ise canlılarda iki grubun veya bileşiğin birbirine bağlanmasını enerji taşıyan moleküllerin hidrolizi ile birlikte yapan enzimlerdir. Ligaz enzimlerine sentetazlar da denilmektedir.

Enzimatik reaksiyonlar çok hızlı reaksiyonlardır ve enzimler bazı reaksiyonların hızlarını  $10^{10}$  - $10^{12}$  kez hızlandırmaktadır. Bu kadar hızlı olmalarının nedeninde enzimin konum olarak çok yakına gelmesi ve bir ara bileşik olan enzim-substrat kompleksi (ES) oluşması ile açıklanmaktadır. Bu şekilde oluşan ES-

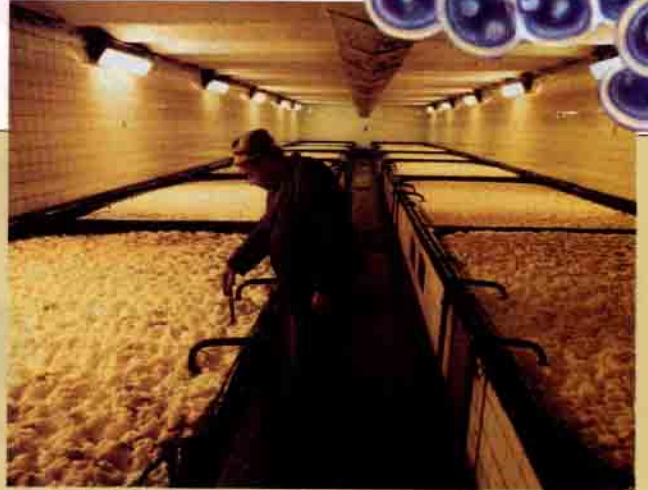
kompleksinde enzim substratına bütün yönlerden etkileyerek reaksiyonları hızlandırmaktadır.

Anlaşılabileceği üzere, canlı organizmadaki her kimyasal tepkime belli bir enzimin yardımı ile yürür. Enzimlerin bu özellikleri, onların tıp, biyokimya, biyoloji bilimlerinde olduğu kadar, endüstride de kullanımına kapı açmıştır. Çünkü enzimlerin büyük bir kısmı, biyolojik ve katalitik aktivitelerini kaybetmeden, hücrelerden izole edilebilmektedir. Böylece enzimlerin endüstri koşullarında da kullanılabilme olanağı ortaya çıkmıştır. Nitekim enzimler, gıda endüstrisinde; ekmeçilikte,

## Enzimlerin Kullanımı

Sedat Dönmez  
A.Ü. Ziraat Fakültesi

Enzimler yaşayan her canlıda bulunmaktadır. Örneğin bir mikroorganizma hücresinde veya mikroskopik bir canlıda bile 1000 çeşit protein olduğu ve bunda büyük kısmının enzimler olduğu bilinmektedir. Bu nedenle enzimleri her canlıdan elde etmek olasıdır, ancak enzimin elde edileceği kaynağın pahalı olması doğal olarak maliyete etkili olacağından ucuz kaynaklar kullanılmaktadır. Yani bitkisel, hayvansal veya mikrobiyel olsun enzim elde edilecek kaynak veya hammadde ucuz olmalı, her zaman kolaylıkla bulunabilmeli ve en önemlisi istenilen enzim diğer madde veya proteinlerden kolayca ayrılabilir. Zamanımızda ister endüstriyel olsun ister klinik tıp ve eczacılıkta kullanılsın, bitkisel, hayvansal kaynaklar ve mikroorganizmalardan enzimler elde edilebilmektedir. Örneğin, protein parçalayan enzimlerden olan papain, papaya bitkisinden, fisin incir bitkisinden, nişasta parçalayan alfa-amilaz maltlanmış arpa dan elde edilmektedir. Tripsin büyük baş hayvanların pankreaslarından pepsin ise tavuk ve sığırların bazı sindirim organlarından sağlanmaktadır. Yumurta beyazından lizozim denilen bir enzim ve henüz süt emmekte olan buzağuların 4. midelerinden ise "peynir mayası"



dediğimiz bir proteaz enzimi veya rennin, endüstriyel ölçekte üretilmektedir.

Enzim kaynağı olarak mikroorganizmalar, kolay çoğaltılabilmeleri gelişmelerinin zamana bağlı olmaması ve enzim oluşumunun kolay kontrol edilebilmesi vb. nedenlerle potansiyel kaynak olarak düşünülürler. Bitkilerden elde edilen proteazlar yanında, bakterilerden de proteaz ve amilazlar, glikoz-izomeraz gibi endüstriyel önemli enzimler elde edilmektedir. Ayrıca, glikoz oksidaz, katalaz, lipaz, laktaz vb. daha birçok enzim küf mantarlarından elde edilebilmektedir.

Enzim üretiminde en önemli aşama enzim kaynağının saptanmasıdır. Bundan sonraki aşama kaynaktan enzimin alınmasıdır. Mikroorganizmalarla enzim üretiminde istenilen enzimi oluşturan mikroorganizma saptandıktan sonra bunun çeşitli yollarla çoğaltılması ve yeterli oranda çoğalmış olan mikroorganizma süspansiyonundan enzim proteininin ayrılması gerekmektedir. Eğer istenilen enzim hücre dışına salgılanıyorsa gelişme ortamından, eğer hücre dışına salgılanmayıp hücre içerisinde kalıyorsa başka yollarla alınabilmektedir.

bir, meyve suyu ve şarap üretiminde, süt endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Tekstil endüstrisinde de, dokuma sırasında, pamuk ipikleri bir nişasta çözeltisinden geçirilerek sertleştirilmekte ve böylece kolay işlenmesi sağlanmakta, daha sonra kalan nişasta ise enzimlerle (amilaz) giderilmektedir.

Enzimlerin kullanım alanları bu kadarla sınırlı değil; yazının ilerleyen bölümlerinde bu konuya tekrar değineleceği için, bu konuyu burada kesip, enzimlerle ilgili bir başka konuya geçerek, enzim yetersizliğine bağlı olarak ortaya çıkan metabolizma bozukluklarına sözü getirelim.

Her kimyasal tepkime belli bir enzimin yardımı ile yürür dedik biraz yukarıdaki satırlarda. İşte herhangi bir enzim, doğuştan gelen ve DNA yapısındaki bir hataya bağlı olan genetik bir nedenle yapılmıyorsa, yardımcı olduğu tepkimede

yürümez. Sonuçta da enzim yetersizliğinden dolayı, birçok biyokimyasal anormallikler ortaya çıkar. Sindirim ve sinir sistemindeki bozukluklar, zamanında önlem alınmamışsa, dönüşü olmayan sakatlıklar, zeka geriliği hatta ölüme bile yol açabilir. Ve bu enzim hastalıklarında en çok resesif genle aktarıldığından, en çok akraba evliliklerinden doğan çocuklarda görülür.

Enzim yetersizliğine bağlı bozukluklar, Wachtel tarafından 170 olarak belirtilmiş. TÜBİTAK Marmara Araştırma Enstitüsü Uzmanlarından Huriye Wetherilt de, bir makalesinde, görülme sıklığı ve diyet uygulamaları yönünden en çok üzerinde durulan bozuklukları, protein, karbonhidrat metabolizmaları ile sindirim sisteminde görülen aksamlar olarak belirtmiş ve bu bozuklukların giderilmesi için dikkat edilecek hususları da; enzimi yetersiz

olan besin öğelerinin alınmaması veya sınırlanması ancak sınırlamaların da normal büyüme ve gelişmeyi etkilemeyecek şekilde olması gerektiği şeklinde açıklamıştır. Ayrıca biyokimyasal hatanın tam olarak teşhis edilmesi, bozukluğun nedeninin ve düzeyinin bilinmesi, arazlar doğrudan bir enzimin yetersizliğinden mi ileri geliyor ya da enzimle beraber çalışan bir ko faktörün eksikliğinden mi kaynaklanıyor, tespit edilmesi gibi hususların altı çizilmiş. Yine geçtiğimiz günlerde Cumhuriyet gazetesinde yer alan bir haberde enzimlerle ilintiliydi. Haberin başlığı, "Akdeniz'de bakla yemek ölüme bile yol açıyor" şeklinde idi. Konunun özü ise glikoz 6 fosfat dehidrogenaz enziminin, Çukurova yöresindeki insanların % 8 'inde bulunmaması. Bu enzim ise kandaki oksijen miktarının ayarlanmasında rol oynadığından, eksik olan bünyeler-

Bundan sonraki işlem ise pek çok çeşit ve özellikteki protein karışımından istediğimiz enzimin alınmasıdır. Her enzimin kendine has fiziko-kimyasal özellikleri vardır. Bilinen bu özelliklerden yararlanarak, örneğin molekül ağırlığı, elektriksel yüküne göre uygulanan çeşitli yöntemlerle istenilen enzimi diğerlerinden ayırmak olanaklıdır. Bugün tıp, eczacılık, tarım, hayvancılık, çevre, gıda, kağıt, tekstil vb. bir çok alanda enzimler kullanılmaktadır. Son yıllarda biyoteknoloji alanındaki çok önemli gelişmeler enzim kullanım alanlarını da artırmaktadır. Zamanımızda enzim kullanımı en fazla olan alan gıda endüstrisidir. Proteazlar ve amilazlar bu alanda en çok kullanılan enzimlerdir. Eczacılıkta da enzimler kullanılmaktadır. Bu alandaki en iyi örneği hazım kolaylaştırıcı bazı ilaçların bileşimindeki besinlerimizin temel bileşenlerinden olan protein parçalayan proteaz, nişastayı parçalayan amilaz, selüloz parçalayan seluloz, yağları parçalayan lipaz ve bazen laktozu parçalayan laktoz enzimleridir. Enzimlerin eczacılıktaki kullanımına bir diğer örnek penisilin amidaz'dır. Bir küf mantarından elde edilen penzilpenisilin'den biryan zincirin penisilin-amidaz enzimi ile ayrılmasıyla oluşan 6-APA maddesi bir çok penisilin türevi antibiyotikğin temel maddesini oluşturmakta ve bundan yarı-yapay antibiyotikler elde edilmektedir. Aynı yolla elde edilen 7-aminodeasetoksisephalosporanik asitten (cephalexin) grubu antibiyotiklerin elde edilebildiği bildirilmektedir. Enzim kullanımı en fazla olan endüstrilerden birisi de deterjan endüstrisidir. Deterjanlar, kullanılacakları alana göre bileşimleri de-

ğişen kompleks karışımlardır. Bazı deterjanlar bakterilerden elde edilen ve alkali koşullarda aktivite gösteren alkali-proteaz enzimlerini içerirler, bazı deterjanlar ise amilaz ve lipazlarda kullanılmaktadır. Bunların etkisi ile, genellikle protein nişasta ve yağların oluşturduğu kirlilik deterjan kullanımı ile daha etkili olarak ortamdaki uzaklaştırılabilmektedir. Deri işlemede veya deri endüstrisinde de enzimlerden yararlanılmaktadır. Bu dalda bakteriyel proteazlar deri dokusu dışındaki proteinlerin ve yağların uzaklaştırılmasında aynı şekilde bazı proteazlar derideki kılların ayrılmasında ve daha sonra uygulanan işlemlerle derinin daha yumuşak bir yapı kazanmasına neden olmaktadır. Ayrıca, deri endüstrisinin daha az kirletici atık oluşturmasına neden olmaktadır. Bunlardan başka alanlarda da enzim uygulamaları vardır. Bunlardan en önemlilerinden birisi de enzim elektrotlarıdır. Kandaki şeker, üre, vb. bazı maddeler çok çabuk ve büyük bir doğrulukla bu amaçla hazırlanmış elektrotlarla ölçülebilmektedir. Bazı atıkların arıtılmasında enzimlerin önemli rolleri vardır, örneğin çeşitli selülozlu atıklarda karbon kaynağı olarak yararlanılmasında, kalitesiz yağlardan enzim uygulamaları ile daha kaliteli yağların elde edilmesinde enzimlerden yararlanılmaktadır.

Yapılan pek çok araştırma sonucunda enzimlerin kullanım alanlarında giderek artmaktadır. Son yıllarda rekombinant DNA-teknolojisindeki gelişmelere paralel olarak yeni ve istenilen özellikteki enzimin eldesinde mümkün olmaktadır, buna bağlı olarak da enzim kullanımı giderek yaygınlaşacaktır.

de, anti-oksijen taşıyan bir madde- nin vücuda girmesi durumunda kan hücreleri hızla ölüyor. Tabii anti-oksijen taşıyan baklada bu üzücü olayın ortaya çıkmasına yol açıyor.

Enzimlerin sorumlu olduğu hastalıklara birkaç örnek daha verelim.

#### *Glikoz 6-fosfat Yetersizliği*

Nedeni: Karaciğerde glikoz kana salgılanmaz

Belirti ve arazları: Hipoglisemi, Mental gerilik, Büyüme ve gelişme geriliği

#### *Galaktozemi*

Sorumlu enzim: Galaktoz-glikoz transferaz enzimi

Nedeni: Laktozun bileşiminde bulunan galaktoz, glikoza dönüşmez, hücrelerde birikir

Belirti ve arazları: Süt'e karşı kusma, ishal, fiziksel ve mental gelişme bozukluğu, sarılık, enfeksiyonlara dayanıksızlık, ölüm

#### *Laktoz, intoleransı*

Sorumlu enzim: Laktaz (B-D-Galaktozidas)

Nedeni: Laktoz, glikoz ve galaktoza parçalanamadığından, emilemez

Belirti ve arazları: Karın ağrıları, ishal, kramp, migren, büyüme ve gelişme geriliği

#### *Çölyak*

Sorumlu enzim: Bilinmiyor

Nedeni: Buğday ve çavdar proteini kompleks olan gluten doğuştan hassas bireylerin ince bağırsak hücrelerine toksik etki yapar, besin öğeleri, özellikle yağlar emilemez

Belirti ve arazları: İshal, kusma, büyüme geriliği, karaciğer bozukluğu, malnütrisyon, sinir sistemi bozuklukları

## Enzim Araştırmaları

Enzimlerin insanlar tarafından kullanılmaları tarih öncesi devirlere kadar uzanmakta. İlk çağlardan beri üretildiği bilinen ekmek, şarap, yoğurt, peynir gibi gıda maddelerinin üretiminde enzimler önemli rol oynamışlar. Ünlü tarihçi Heradot, incir bitkisinden elde edilen bir sıvı ile süttten peynir yapıldığını bildiriyor. Ve daha sonra bildirilen bu sıvıda fi-



sin adı verilen bir enzimin bulundu- ğu saptanmış. Enzimler üzerindeki ilk bilgiler ise 1570'li yıllarda elde edilmiş. Daha sonraları bu konuda yapılan çalışmalar artmış hatta Pasteur ve Liebing gibi bir çok ünlü araştırmacının katkıları ile enzimler hakkında pek çok temel bilgi sağlanmıştır.

1838 yılında Alman kimyacı Ber- jelius, reaksiyon hızı üzerine etki yapan maddelere katalizör ya da katalizatör adını veriyor. 1838'de Gagnard ve Schaw adlı iki bilgin, birbirlerinden habersiz olarak fer- mantasyon olayını inceliyorlar ve bu olayın maya adı verilen bazı mikro- organizmalar aracılığıyla meydana geldiğini saptıyorlar. 1879'da Küh- ne, biyolojik reaksiyon hızlarına etki eden maddeleri öteki katalizatörler- den ayırt etmek için Yunanca, ma- yada bulunan anlamına gelen enzim kelimesini öneriyor. 1883 yılında Payen ve Person nişastanın çözü- nürleştirilmesinde, malt özütünün içinde bulunan diastaz enziminin etken olduğunu saptıyorlar. 1885 yı- lında Blumenthal, peynir yapımında kullanılmak üzere ilk kez rennin enziminin özütünü teknolojik bo- yutlarda üretmeyi başarıyor. 1897'de Büchner, maya hücrelerinden bazı enzimleri ayırmayı başararak, yeni bir araştırma alanı açıyor. 1915'te ise Rohm, lipaz ve proteaz enzimlerinin çamaşır yıkama sularına katılarak çok etken bir temizleyici olarak kul- lanılabileceğini saptıyor. 1926 yılı- nda ABD'nin Cornell Üniversitesi profesörlerinden James B. Sumner, ilk kez üreaz enzimlerinin kristalle- rini elde ederek, molekülünün bü- yük bir kısmının protein yapısında olduğunu gösteriyor. 1930'da ise

Rockefeller Enstitüsünde Northrop, Kunitz, Herriott ve Amson gibi bil- ginlerden oluşan araştırma grubu, sı- rası ile pepsin, tripsin, kimotripsin ve karboksipeptidaz enzimlerini kristalize etmeyi başardılar. 1940 yı- lından sonra enzim araştırmaları, inanılmaz bir hızla ilerleyerek bir çok yeni enzim bulunmasına neden oldu. 1930 yılında 80 adet enzim ta- nınırken, 1968'lerde bu rakam 1300'e, 1982'de ise 2000'e yükseldi. Günümüzde ise 2500 enzimin oldu- ğu bilinmektedir ve yine enzimlerle ilgili çalışmalar hızla devam etmek- tedir. Bu süreç içerisinde, enzim saflaştırma yöntemlerinin yanında, enzim yapıları ile kinetik karakter- leri de derinlemesine inceleniyor. Peterson ve Sober, iyon değiştirici selüloz, Ornstein ve Davis de poli- akrilamid jel elektroforezini geliştire- rek enzim saflaştırılmasında yeni yöntemler ortaya sürüyor, 1967'de ise x-ışınları yöntemi ile ribonükleaz enziminin üç boyutlu yapısı aydınlan- yıyor. Ve bu gibi çalışmaların sonu- cu enzim teknolojisi hızla gelişirken özellikle enzim immobilizasyonun- da yapılan ataklarla enzimler, besin, ilaç, kimya, tıp, klinik biyokimya gi- bi birçok alanda yeni uygulama alanları buluyor.

Gülşün Akbaba

#### KAYNAKLAR:

- Pekin B. Biyokimya Mühendisliği, İzmir 1979
- Pekin B. Biyoteknoloji ve Enzim Teknolojisi, İzmir 1982
- Wetherill H. Enzim Yetersizliğine Bağlı Metabolizma Bozukluk- larında Diyet Uygulamaları, Gıda Sanayi Dergisi, Mart 1989
- Cumhuriyet Gazetesi Sanat Kültür Magazin, 10 Kasım 1993
- Dönmez S. Gıda Sanayinde Kullanılan Enzimler ve Ülkemizde- ki Durumu, Gıda Sayı 4, 1986.
- Wingard, L.B.- Katchalski-Katzir, E.- Goldstein, L. Enzyme Technology, London, 1979
- Wingard, L.B., Enzyme Engineering, New York, London, 1972
- Lehinger, A.L. Biochemistry, New York, 1977
- Mathews, K. and Holde, K.E. Biochemistry, New York, 1990
- Wiseman A. Handbook of Enzyme Biotechnology, New York- Ontario-Brisbane, 1985
- Wiseman, A. Principles of Biotechnology, New York, 1983

# Biyosensörler

Erhan Pişkin

H. Ü. Kimya Mühendisliği Bölümü

Biyosensörler, gaz veya sıvı ortamlarda bulunan maddelerin nitel ve/veya nicel olarak tayin ve izlenmesinde kullanılan cihazlardır. Biyosensörler üç temel bileşenden oluşur; (i) biyoajan, (ii) çevirici (transducer) ve (iii) elektronik bölüm. Bir biyosensörün en önemli bileşeni tayin edilecek maddeye duyarlı, onunla son derece seçimli olarak etkileşen biyoajandır. Biyosensörlerde, başta enzim ve enzim sistemleri olmak üzere, immunolojik faktörler (antibadiler, antijenler ve diğer immun-kompleksler), biyolojik membran bileşenleri (reseptörler), mikroorganizmalar ve hayvansal ve bitkisel doku parçaları biyoajan olarak kullanılmaktadır. Çevirici tayin edilecek madde ile biyoajan etkileşmesi sonucu ortaya çıkan sinyali (elektrokimyasal, elektriksel, optik, manyetik, kütle ve ısıl değişiklikler) elektronik bölümde işlenecek şekilde, bir elektronik sinyale dönüştüren bileşendir. Biyosensörün üçüncü bölümünde, elektronik bölümde, transistörden gelen elektronik sinyal yükseltir, depolanır görüntülenir.

Biyoajanın tayin edilecek madde ile etkileşimi başlıca şu iki şekilde olur; (i) reaksiyonu katalizleme ve (ii) bağlanma. Birinci durumda biyoajan tayin edilecek madde ile ilgili bir reaksiyonu katalizler (biyokataliz olarak davranır). Enzim elektrodları buna tipik örneklerdir. Biyoajanla tayin edilecek maddenin etkileşiminin ikinci şekli bağlanmadır. Buna tipik örnekler immunosensörlerdir. Burada biyoajan olarak, örneğin antibadiler kullanılır. Antibadiler, canlılarda genellikle vücudun savunma sistemiyle ilgili olarak, antijen adı verilen yabancı cisimlerle son derece seçimli olarak reaksiyona girmek üzere vücut tarafından üretilen proteinlerdir.

Bir biyosensörde başlıca şu beş temel özellik aranır; (i) seçicilik, (ii) kararlılık, (iii) duyarlılık, (iv) cevap süresi ve (v) doğrusallık. Biyosensörlerin seçiciliğini sağlayan biyoajan ile tayin edilecek madde arasındaki son derece seçici olan etkileşimdir. Bu özellik biyosensörlerin diğer sensörlere (örneğin kimyasal sensörler) göre önemli avantajıdır.

Kararlılık, biyosensörlerin önemli bir dezavantajı olarak değerlendirilebilir. Biyoajanlar biyolojik maddelerdir. Biyolojik sistemdeki fonksiyonların ancak üç boyutlu yapılarını korudukları süre gösterebilirler. Örneğin, enzimler proteinlerdir. Bir protein bir veya birden fazla poliaminoasit zincirinin üç boyutlu katlanması ile spesifik fonksiyon kazanır. Enzim örneğinde, bu yapının bozulma derecesine bağlı olarak enzim aktivitesini kısmen veya tamamen kaybedebilir. Başka bir ifadeyle, örneğin biyosensör uygulamasında biyoajan (enzim) biyokataliz görevini yapamaz. Özellikle enzimler, antibadiler ve çevre koşullarından (sıcak-

lık, pH, iyon gücü, kimyasallar, vb.) önemli oranda etkilenir. Biyosensörlerin kararlılığı yönünden bunların özel koşullarda saklanması ve kullanılması gerekir.

Biyosensörlerin duyarlılıkları diğer sensörlere (örneğin kimyasal sensörler) göre çok yüksektir. Enzim elektrodlarla  $10^{-6}$  mol/litre konsantrasyonlara kadar inilebilmektedir. Kofaktör ve koenzim içeren enzim sistemleri ile hem ölçüm limitini daha aşağıya çekmek hem de olası girişimleri elimine ederek sensör seçiciliğini artırmak olasıdır.

Biyosensörün cevap süresi türüne göre birkaç saniyeden saat mertebesine kadar değişmektedir. Cevap süresinin kısa olmasının önemli bir avantaj olduğu açıktır. Cevap süresi biyoajan türü, biyoajanın sensörle entegrasyon yöntemi ve sensörün diğer bileşenleri ile ilgilidir. Genellikle saf olarak kullanıldıklarında biyolojik moleküllerin (enzimler, antibadiler, vb.) reaksiyonları çok hızlıdır, biyosensör cevap süresini etkilemez. Ancak, enzimler yerine mikroorganizmalar veya hücre parçaları kullanıldığında sensör cevap süresi uzar. Bunun nedeni, bu yapılar içindeki difüzyon kısıtlamalarıdır.

Biyosensör cevap süresini etkileyen ikinci parametre biyoajanın sensörle entegrasyonudur. Günümüzde ticari olarak satılan biyosensörlerin çoğu birinci generasyon biyosensörlerdir.

İkinci generasyon biyosensörlerde biyoajan tercihen kovalent bağlar ile veya fiziksel adsorpsiyonla çevirici yüzeyine bağlanmıştır. Difüzyon kısıtlamalarının ortadan kaldırıldığı bu yaklaşımda cevap süresi önemli ölçüde kısalmıştır.

Üçüncü generasyon biyosensörlerde bir adım daha ileri gidilmiş ve biyosensörde çevirici de aradan kaldırılarak biyoajan doğrudan elektronik element (örneğin bir silikon çip) üzerine takılmıştır. Bu sensörler çok hızlı cevap verir, boyutları çok küçüktür, çok sayıda maddenin aynı anda tayini ve kontrolü olasıdır.

Doğrusallık bir biyosensörde aranan önemli özelliklerden biridir. Ölçülecek maddenin ortamdaki konsantrasyonu ile alınan cevabın (voltaj, akım miktarı, kütle, optik yoğunluk, renk, vb. değişimleri) arasındaki ilişkinin doğrusal olarak değişmesi gerekir. Başka bir ifadeyle biyosensörler ancak doğrusal oldukları konsantrasyon aralığında kalibre edilebildiklerinden ancak bu bölgede doğru sonuç verirler. Doğrusallık, biyoajan türü, çevirici ve elektronik bölümlerin yapısı ve tüm elemanların birbiri ile entegrasyonu ile ilgilidir. Doğrusallık sorunu halen tam olarak çözülememiştir. Biyosensörlerin doğrusal davrandıkları sınırların genişletilmesi devam eden araştırmaların hedeflerinden biridir.

Günümüzde biyosensörler, temel ve klinik tıpta biyoaktif maddelerin tanı, tayin ve izlenmesi; biyoteknoloji ve gıda endüstrisinde üretimin kontrolü ve ürün analizi; endüstriyel gaz ve sıvıların analizi; çevre kirliliği analizi ve kontrolünde; biyoloji, kimya, ziraat, veterinerlik ve diğer birçok alanda çeşitli analizlerde yaygın olarak kullanılmaktadır.

