

**MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYON YÖNTEMİ İLE PEPTİDLERİN FARKLI
ÇÖZÜCÜLER İÇİNDEKİ YAPILARININ İNCELENMESİ**

Yıldız BERK

**Bülent Ecevit Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Anabilim Dalında
Yüksek Lisans Tezi
Olarak Hazırlanmıştır**

**ZONGULDAK
Haziran 2012**

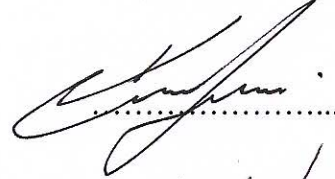
KABUL:

Yıldız BERK tarafından hazırlanan “MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYON YÖNTEMİ İLE PEPTİDLERİN FARKLI ÇÖZÜCÜLER İÇİNDEKİ YAPILARININ İNCELENMESİ” başlıklı bu çalışma jürimiz tarafından değerlendirilerek, Bülent Ecevit Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak oybirliği ile kabul edilmiştir. 15/06/2012

Başkan: Prof. Dr. M. Haluk GÜVEN (BEÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Kadir DEMİR (BEÜ)



Üye : Yrd. Doç. Dr. Yunus E. YANDI (BEÜ)



ONAY:

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım. .../.../2012



Prof. Dr. Özden ÖZEL GÜVEN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

“Bu tezdeki tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu; ayrıca bu kuralların ve ilkelerin gerektirdiği şekilde, bu çalışmadan kaynaklanmayan bütün atıfları yaptığımı beyan ederim.”



Yıldız BERK

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYON YÖNTEMİ İLE PEPTİDLERİN FARKLI ÇÖZÜCÜLER İÇİNDEKİ YAPILARININ İNCELENMESİ

Yıldız BERK

Bülent Ecevit Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Fizik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Kadir DEMİR

Haziran 2012, 97 sayfa

Bu tez çalışmasında son zamanlarda protein bazlı ilaç üretiminde sıklıkla kullanılan ve deneysel yöntemlerle ikincil yapıları belirlenmiş olan, Salmon Calcitonin (sCT) (pdb kodu 2GLH) peptidinin olası üç boyutlu konformasyonlarının Moleküler Dinamik Simülasyon (MD) tekniği ile belirlenmesi ve bu konformasyonlar üzerine çözücü ve sıcaklığın etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla seçilen beş farklı çözücü ortamında (SPC, TIP3p, TIP4p, TIP5p ve METHANOL), 300 K sabit sıcaklık ve 1 atm sabit basınç şartlarında MD simülasyonları gerçekleştirilmiş, sCT peptidinin olası üç boyutlu konformasyonları ve bunların ikincil yapı değişimleri tespit edilmiştir. Sonuçlar sCT peptidinin ağırlıklı ikincil yapılarının alfa-heliks, rastgele sarmal, beta dönüşleri ve kıvrılmalar şeklinde olduğunu ve bunların oranlarının seçilen çözücüye bağlı olduğunu göstermiştir. Bu sonuçlarla literatürdeki Nükleer Manyetik Rezonans (NMR)

ÖZET (devam ediyor)

ve Circular Dichroism (CD) spektral yöntemleri ile elde edilmiş deneysel sonuçlar arasında uyum olduğu gözlenmiştir.

Diğer yandan sıcaklık etkisinin araştırılması amacıyla, iki farklı çözücü ortamında aynı şartlar altında, 200–500 K arasındaki farklı sıcaklıklarda MD simülasyonları gerçekleştirilmiş ve elde edilen sonuçlar, sıcaklıkla üç boyutlu konformasyonların farklı ikincil yapılar şeklinde dönüştüğünü ancak bu dönüşüm türünün seçilen çözücüye bağlı olduğunu ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: Moleküler dinamik simülasyon, minimizasyon, protein ve peptid, moleküler modelleme, su modelleri, ikincil yapılar, kuvvet alanları.

Bilim Kodu: 404.03.01

ABSTRACT

M. Sc. Thesis

THE INVESTIGATION OF THE STRUCTURES OF PEPTIDES IN DIFFERENT SOLVENTS BY MOLECULAR DYNAMIC SIMULATION METHOD

Yıldız BERK

Bülent Ecevit University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Physics

Thesis Advisor: Asst. Prof. Kadir DEMİR

June 2012, 97 pages

In this study by using molecular dynamic simulation (MD) technique, the determination of possible three dimensional conformations of Salmon Calcitonin peptide (sCT) (pdb 2GLH) having secondary structures identified through experimental methods and recently used frequently in the production of protein-based drugs has been aimed. In addition to this, the effects of solvent and temperature on these conformations have been analyzed.

For this purpose, the MD simulations have been run for five different solvent (SPC, TIP3p, TIP4p, TIP5p and METHANOL) under the conditions of constant temperature (300K) and pressure (1 atm). Then the possible three dimensional conformations of sCT peptide and the variations of their secondary structures during the simulations have been identified. The results have shown that the percentage-weighted secondary structures of peptide are observed as alpha-helix, random coil, turn and bend segments and, their percentages are dependant on the solvent used. It has been noticed that the results obtained from MD simulations

ABSTRACT (continued)

are consistent with experimental results like those of nuclear magnetic resonance (NMR) and circular dichroism (CD).

Besides in order to investigate the effect of temperature on the secondary structures, the MD simulations ranging from 200 K to 500 K have been run under the same conditions in two different solvents. Accordingly, the results have indicated that the secondary structures of three dimensional conformations have turned into different secondary structures with the change in temperature and the type of this transformation depends on the solvent selected.

Key Words: Molecular dynamic simulations, minimization, protein and peptide, molecular modeling, water models, force fields, secondary structures.

Science Code: 404.03.01

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmamın hazırlanmasında bana yol gösteren, çalışmam süresince öneri ve yardımlarını esirgemeyen tecrübe ve bilgisi ile yanımda olan çalışmamın gerçekleştirilmesi için gerekli ortamı hazırlayan Danışman Hocam Sayın Yrd. Doç Dr. Kadir DEMİR'e (BEÜ) teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca çalışmam süresince benden yardımını esirgemeyen Arş. Grv. Nesrin KILIÇ'a (BEÜ) teşekkür ederim.

Ve yaşamı boyunca hep yanımda olan yakın zaman önce kaybettiğim yaşamını ailemizin mutluluğuna adayan sevgili BABACIĞIM, varlığının özlemi ve hasretin benimle birlikte vuslata erinceye kadar büyücek ruhun şad mekânın cennet olsun.

Ve bu güne kadar bana her türlü desteği veren sevgili anneme, ablalarım maddi ve manevi desteklerini her zaman üzerimde hissettiğim ağabeylerim Kasım BERK, Cumali BERK ve Mustafa BERK'e sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca arkadaşlıkları ve samimiyetleriyle zor zamanlarımda yanımda olan değerli arkadaşlarım Ayşe KARATAŞ, Serya ÖZDEŞ, Songül KARABULUT, Tayyibe BİLDİRİCİ ve Kamer ALHAN'a çok teşekkür ederim.

Çalışmamda kullanılan teknik imkanlar için Zonguldak Karaelmas Üniversitesi 2009-13-03-03 nolu Bilimsel Araştırma Projesine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
KABUL.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvii
BÖLÜM 1 GİRİŞ	1
BÖLÜM 2 KURAMSAL TEMELLER	5
2.1 AMİNOASİTLER.....	5
2.1.1 Aminoasitlerin Fiziksel Özellikleri	9
2.1.2 Aminoasitlerin Kimyasal Özellikler	9
2.1.3 Peptit Bağı.....	9
2.2 PROTEİNLERİN YAPISI	10
2.2.1 Proteinlerin Yapı ve İşlevleri	12
2.2.2 Birincil Yapı.....	12
2.2.3 İkincil Yapı.....	13
2.2.4 Üçüncül Yapı.....	14
2.2.5 Dördüncül Yapı	15
2.2.6 Protein Katlanması.....	17
2.2.7 Protein Kararlılığı	18
2.3 PROTEİN YAPILARININ BELİRLENMESİ	18
2.4 MOLEKÜLER MODELLEME	19

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
2.4.1 Etkileşme Terimleri ve Kuvvet Alanları.....	20
2.4.2 Su Modelleri.....	24
BÖLÜM 3 SİMÜLASYON YÖNTEMLERİ.....	27
3.1 SİMÜLASYON.....	27
3.2 SİMÜLASYON TEKNİKLERİ.....	28
3.2.1 Monte Carlo Yöntemi (MC).....	29
3.2.2 Moleküler Dinamik Yöntemi (MD)	31
BÖLÜM 4 MOLEKÜLER DİNAMİK	35
4.1 MOLEKÜLER DİNAMİK HESAPLAMA YÖNTEMİ	35
4.2 MOLEKÜLER DİNAMİK TEKNİĞİNDE SINIR KOŞULLARI	37
4.3 MOLEKÜLER DİNAMİKTE KULLANILAN ALGORİTMALAR.....	39
4.3.1 Verlet Algoritması	41
4.4 ETKİLEŞME HESAPLARI İÇİN KULLANILAN ALGORİTMALAR.....	42
4.4.1 Bağlı etkileşimler.....	43
4.4.2 Bağlı olmayan etkileşimler	43
4.5 ENERJİ MİNİMİZASYONU.....	44
4.5.1 Steepest Descent Algoritması.....	45
4.5.2 Conjugate Gradient Algoritması.....	45
4.6 MOLEKÜLER DİNAMİKTE SICAKLIK-BASINÇ KONTROLÜ	45
4.6.1 Hız Ölçeklendirmesi Metodu	45
4.6.2 Berendsen Sıcaklık Çiftlenimi.....	46
4.6.3 Genişletilmiş Sistem Metodu	47
4.6.4 Parinello-Rahman Basınç Çiftlenimi	48
BÖLÜM 5 SİMÜLASYON ÇALIŞMALARI.....	51
5.1 MATERYEL VE METOD.....	52
5.2 HESAPLAMA DETAYLARI.....	53

İÇİNDEKİLER (devam ediyor)

	<u>Sayfa</u>
5.3 SİMÜLASYON SONUÇLARI.....	55
5.3.1 Çözücü Etkisinin Araştırılması	55
5.3.2 Sıcaklık Etkisinin Araştırılması.....	73
 BÖLÜM 6 SONUÇ VE TARTIŞMA	85
 KAYNAKLAR	89
ÖZGEÇMİŞ	97

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Standart aminoasidin yapısı.....	5
2.2 Standart amino asitin kenar zincirleri ve kimyasal gösterimleri.....	7
2.3 Standart aminoasitlerin yapısal özelliklerine göre gruplandırılması.....	8
2.4 Peptit bağının oluşumu.....	10
2.5 Aminoasitlerin oluşturduğu bir polipeptit zincirinin şematik gösterimi.	11
2.6 Birincil yapı.....	13
2.7 Bazı proteinlerin alfa Helix ve β yaprağı ikincil yapıları.....	13
2.8 Üçüncül yapı (PDB Kodu: 1F09).....	15
2.9 Dördüncül Yapı (PDB Kodu:1BRS).	15
2.10 Protein Yapıları.....	16
2.11 Lennard-Jones Potansiyeli.....	23
2.12 Literatürdeki bazı su modellerinin şematik gösterimleri.....	25
2.13 Methanol' ün kimyasal yapısı.....	26
4.1 Peryodik sınır koşullarının uygulanması.....	38
5.1 Tüm çözücülerde sCT peptitinin T=300 K sıcaklık ve P=1 atm basınç altında MD simülasyonu boyunca sıcaklık (a) ve basıncın (b) zamanla değişimi.	56
5.2 sCT peptitinin SPC de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi SPC çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası SPC çözücüsünde.....	58
5.3 sCT peptitinin TIP3p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP3p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP3p çözücüsünde.	59
5.4 sCT peptitinin TIP4p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP4p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP4p çözücüsünde.	60
5.5 sCT peptitinin TIP5p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP5p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP5p çözücüsünde.	61

ŞEKİLLER DİZİNİ (devam ediyor)

No	Sayfa
5.6 sCT peptitinin METHANOL de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi METHANOL çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası METHANOL çözücüsünde.	62
5.7 Farklı çözücülerde sCT peptitinin MD simülasyonu boyunca RMSD değerlerinin zamanla değişimi (T=300 K)	63
5.8 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).....	65
5.9 sCT Peptitinin TIP3p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).....	66
5.10 sCT nin TIP4p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).	67
5.11 sCT nin TIP5p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).....	68
5.12 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).....	69
5.13 sCT peptitinin SPC çözücüsünde farklı sıcaklıklardaki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu enerji değerleri.....	74
5.14 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ortalama enerji değerlerinin sıcaklıkla değişimi.	74
5.15 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=200 K ve P=1 atm).....	75
5.16 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=350 K ve P=1 atm).....	76
5.17 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=450 K ve P=1 atm).....	77
5.18 sCT peptitinin METHANOL çözücüsünde farklı sıcaklıklardaki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu enerji değerleri.....	78
5.19 sCT peptitinin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ortalama enerji değerlerinin sıcaklıkla değişimi.	79
5.20 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=200 K ve P=1 atm).....	80
5.21 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=350 K ve P=1 atm).....	81
5.22 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=450 K ve P=1 atm).....	82

ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>No</u>	<u>Sayfa</u>
2.1 Aminoasitlerin standart kodları ve özellikleri.....	6
2.2 Çeşitli su modellerinin karşılaştırılması	25
5.1 Simülasyon Kutusundaki Çözücü Moleküllerinin Sayısı	54
5.2 sCT nin farklı çözücülerdeki ikincil yapı yüzdeleri (T=300 K ve P=1 atm).	72
5.3 Sıcaklığa bağlı olarak hesaplanan ikincil yapı yüzdeleri.....	83

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

r^{-6}	: Lennard –Jones potansiyel çekim kısmı
r^{-12}	: Lennard – Jones itme kısmı
r_{ij}	: i ve j atomları arasındaki uzaklık
q_i, q_j	: i ve j atomları üzerindeki kısmi yükler
ε	: Ortamın elektrik geçirgenliği
α	: Burulma açısı
CD	: Circular Dichroism
E	: Enerji
F	: Kuvvet
k_B	: Boltzman sabiti
MC	: Monte Carlo
MD	: Moleküler Dinamik
μVT	: Büyük Kanonik Küme
NMR	: Nükleer Magnetik Rezonans
NPT	: İzobarik Küme
NVN	: Mikro Kanonik Küme
NVT	: Kanonik Küme
p	: Momentum
r	: Konum
RMSD	: Ortalama Kare Yerdeğiştirme
SASA	: Erişim Yüzey Alanı
sCT	: Salmon Calcitonin
T	: Sıcaklık
V	: Hacim
Z	: Üleşim Fonksiyonu
τ	: Çiftlenim Parametresi

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Doğada bulunan dört temel biyomolekülden biri olan proteinler, canlılar için birçok yaşamsal faaliyetten sorumlu biyolojik moleküllerdir. Proteinler statik değil dinamik halledirler ve işlevlerini yerine getirmek üzere konformasyon değişiklikleri yapabilirler. Her protein işlevini yansıtan benzersiz bir yapıya sahiptir. Canlı yaşamı ile ilgili hemen hemen her konuda proteinlerin hayati öneme sahip olması nedeniyle, bunların kararlı üç boyutlu yapılarının anlaşılması özellikle sağlık ve ilaç endüstrisi alanlarında çok önemli gelişmeler sağlamaktadır. Proteinlerin üç boyutlu yapılarındaki olası bozukluklar, işlevlerini yerine getirememesine, bundan dolayı da hastalıklar ve genetik bozukluklar gibi sorunlara neden olabilmektedir. Bu sebeple son zamanlarda yapılan tedavi edici protein bazlı ilaç üretimlerinde proteinlerin üç boyutlu yapılarının belirlenmesi ve bu moleküllerin katlanma mekanizmaları üzerine yapılan çalışmalar hız kazandırmıştır.

Proteinlerin neden olduğu hastalıkların proteinlerin yanlış katlanması ve yanlış bir araya gelmelerinden kaynaklandığının anlaşılmasıyla biyolojik sistemlerin incelenmesi, biyoinformatik teknolojilerin ve yeni deneysel yöntemlerin gelişimi ile yeni bir boyut kazanmış olsa da, proteinlerin karmaşık yapılarını ve etkileşim mekanizmalarını tam olarak tasvir edebilen bir etkileşim potansiyeli hala geliştirilememiştir. Bunun nedeni proteinlerin çok karmaşık bir molekül olmaları, gerek içerdikleri farklı 20 aminoasit gerekse içinde bulundukları hücre ortamından dolayı olabildiğince farklı ve çok özel dinamik süreçler içermesidir.

Protein ve peptidlerin “Folding ve unfolding” yapılarının anlaşılması ve bu sistemlerin kararlı konformasyonlarının belirlenmesi özellikle ilaç dizaynı için önemli bir katkı sağlayacağı gibi endüstriyel kullanımı en yaygın olan polimerlerden, biyosensörlere, gıda güvenliği ve teknolojisine kadar geniş bir alanda değerlendirme olanağı sağlamaktadır. Bu kadar geniş bir yelpazede değerlendirme olanaklarının mevcut olması da doğal olarak farklı disiplinler arasında ortak çalışmaları beraberinde getirmiştir.

Bir proteinin termodinamik özellikleri ile kararlı yapılarının belirlenmesinde deneysel yöntemler önemli bir yer tutar. Özellikle 3 boyutlu yapılarının belirlenmesinde X-ışınları, Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) ve Circular Dichroism (CD) gibi değişik spektral yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber, herhangi bir peptit veya proteinin dinamik davranışı ya da meydana gelen katlanma olayının anlaşılmasında yeterli bilgi deneysel yöntemlerden elde edilemeyebilir. Ya da, sentezlenen herhangi bir peptit veya proteinin yaşam ömrü kısa olması durumunda deneysel yöntemlerin kullanımı kısıtlanabilir. Bu gibi durumlarda sistemin anlaşılması için kuramsal yöntemlere başvurulması kaçınılmaz olur. Diğer taraftan protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Tamamı ile yeni matematiksel yaklaşımlarla bu sistemler izah edilmeye çalışılmasına rağmen, en önemli bilgilerin simülasyon çalışmaları ile elde edileceği bilinmektedir (Hao and Scheraga 1994, Hansmann and Okamoto 1993, Okamoto 1998). Bu nedenledir ki son otuz yıldır proteinlerin düşük enerjili konformasyonları simülasyon teknikleri ile örneklenmeye çalışılmaktadır (Meirovitch et al. 1997, Baysal and Meirovitch 1997).

Bilindiği gibi, kuantum mekaniksel çoklu parçacık problemlerinden doğan ‘ab-initio’ hesaplarının yanı sıra fenomenolojik potansiyeller/kuvvet alanları çoğunlukla protein veya peptitlerin modellenmesinde kullanılmaktadır. Protein veya peptit dizilimlerinin hem termodinamik yapıları hem de katlanma özelliklerini çalışmak için literatürde oluşturulmuş birçok kuvvet alanı bulunmaktadır. Bunların en çok bilinenleri AMBER (Cornell et al.1995), CHARMM (MacKerrell et al.1998) , GROMOS (van Gunsteren et al.1996) ve ECEPP/2 (Hassmann 2002) potansiyel enerji fonksiyonlarıdır. Bu fonksiyonlar, küçük moleküllerin deneysel verilerine ve bazı terimler için kuantum kimyasal hesaplara uyumundan parametrize edilmiştir. En genel anlamda, bu fonksiyonlara göre bir çözücüdeki proteinin enerjisi $E=E_p+E_{\text{çözücü}}$ şeklinde iki terimin toplamıdır: E_p , proteinin kendi konformasyonel enerjisi, $E_{\text{çözücü}}$, proteinin içinde bulunduğu çözücüyle etkileşme enerjisidir. Proteinler genellikle sulu çözeltide olduğundan, bu konformasyonlara çözücünün önemli ölçüde etkisi vardır. Bu sebeple bir çözeltideki proteinin davranışı vakum ortamından oldukça farklıdır. Proteinler/peptitler konformasyonel enerjileri en düşük olacak şekilde konformasyon alma eğilimi gösterirler. Diğer yandan çözücü de protein/peptid olası en düşük çözelti serbest enerjisine sahip olacak konformasyonu almaya zorlar. Proteinlerin çözücü içinde bulunuyor olmaları ve buna bağlı çözücü modellenmesinde çok sayıda serbestlik derecesi içermesinden

dolayı hesaplanabilirliği oldukça zahmetlidir. Dahası konfigürasyon uzayını araştırmak için geleneksel Monte Carlo (MC) tekniği kullanıldığında, su moleküllerinin varlığı çok düşük kabul edilebilme oranına yol açar ve bu yüzden çok daha yavaş olan Moleküler Dinamik (MD) metodlara (Alder and Wainwright 1957) başvurmak zorunda kalınır. Diğer taraftan, suyun evrensel bir çözücü olması, biyomolekülün dinamiği ve yapısında önemli bir rol oynamasından dolayı su içerisinde bulunan bir peptit veya proteinin, protein-protein ve protein-su etkileşmelerinin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için çok sayıda su molekülünü temsil edecek modeller geliştirilmiştir. Bu modellerin başlıcaları, “five-site rigid nonpolarizable model of liquid” (TIP5P) (Mahoney and Jorgensen 2000), “four-point transferable intermolecular potential” (TIP4P) (Jorgensen et al. 1985), “three-point potential” (TIP3P) (Jorgensen et al. 1983)”, “single-point charge” (SPC) (Brensdén et al. 1981) ve “extended single-point charge” (SPC/E) (Brensdén et al. 1981) su modelleridir. Bu modeller temelde suyun deneysel olarak gösterdiği özellikleri taşıyabilmektedir. Literatürde bu modeller “explicit” su modelleri olarak bilinmektedir.

Proteinlerin kararlı yapılarının belirlenmesinde ki tüm bu çalışmalar ışığında son zamanlarda, birçok hastalığın tedavisinde kullanılan tedavi edici protein ilaçları, biopharmaceutical tıpta geniş bir potansiyele sahip hale gelmiştir ve bu tip ilaçların sayısının arttırılmasına yönelik çalışmalar halen sürdürölmektedir. Bu ilaçların geliştirilmesinde karşılaşılan en büyük problem proteinlerin kararlılığıdır. Proteinlerin veya peptitlerin doğal fonksiyonel katlanma yapıları çeşitli çevresel koşullarda (ph, sıcaklık, basınç, yarı-ömür, çözücü ortam gibi) kolaylıkla bozulabilmektedir. Tedavi edici protein ilaçlarının aktivitesi çoğunlukla onların konformasyonel yapısına bağlı olduğundan, kararsızlığı azaltmak ve önlemek için protein ilaçlarının üretimi boyunca doğal konformasyonunun dolayısıyla dengenin sağlanması gerekmektedir. Bu anlamda protein bazlı ilaçların üretiminde doğal konformasyonların korunması, ilaçların saklanması ve taşınması biopharmaceutical endüstrinin en temel sorunlardan birisidir (Rathore et al. 2008, Basharov 2003, Krishnamurty et al. 2002, Frokjaer et al. 2005). Bu amaçla tasarlanan peptid bazlı ilaç dizaynlarının kararlı ikincil yapıları ve bunların dış etkenlerle değişimlerini ortaya koyan deneysel çalışmalar (spektral yöntemler) literatürde geniş yer bulmaktadır (Andreotti et al. 2006, Lee et al. 2009, Lee and Lin 2011). Bunun yanında, protein ve peptidlerin bilgisayar simülasyon teknikleriyle de ikincil yapıları incelenabilmektedir. Geliştirilen bu tekniklerden elde edilen sonuçlar deneysel verilerle oldukça uyumaktadır. Bu amaçla çok daha hızlı ve ucuz bir yöntemle, deneysel olarak

izlenmesi zor bir etki veya katkı, simülasyonlar vasıtasıyla elde edilerek değerlendirilme olanağı sağlanmaktadır.

Bu tez çalışmamızda, klinik tedavilerde yüksek oranda kullanılan ve postmenopausal (menopoz döneminin son evresi), osteoporosis (kemik erimesi), hypercalcemia (kemik hastalığı) (Inzerillo et al.1999, Findlay and Sexton 2004) gibi birçok hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahip olan, ikincil yapısı ve biyoaktifliği deneysel olarak tespit edilmiş (Andreotti et al. 2006, Lee et al. 2009, Lee and Lin 2011), Calcitonin (CT) peptidinin bir tipi olan Salmon Calcitonin (sCT) (pdb kodu 2GLH) peptidinin ikincil yapısı, Moleküler Dinamik Simülasyon (MD) metodu ile incelenmesi amaçlanmıştır. sCT peptidinin NMR ve CD gibi deneysel yöntemlerle elde edilmiş kararlı yapılarında, diziliminin ikincil yapılarının ağırlıklı olarak heliks, rastgele sarmal ve beta-dönüşleri yapıları gösterdiği literatürdeki çalışmalarda ifade edilmiştir (Motta et al 1991, Andreotti et al 2006). Çalışmamızda sCT peptidinin olası konformasyonlarının ikincil yapılarının MD tekniği ile incelenmesi, bu yapıları çözücü ve sıcaklığın etkisinin araştırılması ve elde edilen sonuçlarla deneysel sonuçların karşılaştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla, ilk olarak tezimizin ikinci bölümünde, aminoasitler ve proteinlerin genel yapıları ve özellikleri hakkında bilgiler verilmiştir. Yine bu bölümde protein yapılarının belirlenmesi yöntemleri ve moleküler modelleme ile ilgili genel bilgilere yer verilmiş olup moleküler modelleme kavramı, moleküler modellemenin biyomoleküllerin yapılarının anlaşılmasındaki yeri ve önemi anlatılmış ve moleküler modellemede kullanılan etkileşim terimleri ve kuvvet alanları gibi kavramlar açıklanmaya çalışılmıştır. Üçüncü bölümde, simülasyon kavramı, kullanılan başlıca simülasyon teknikleri gibi konular işlenmiştir. Dördüncü bölümde, MD hesaplama yöntemi, sınır koşulları, kullanılan algoritmalar, sıcaklık ve basınç kontrol yöntemleri gibi konular ayrıntıları ile sunulmuştur. Yapılan MD simülasyonlarının detayları ve elde edilen sonuçlar ise beşinci bölümde verilmiştir. Son olarak, altıncı bölümde bulunan sonuçlar değerlendirilmiş ve yorumlanmıştır.

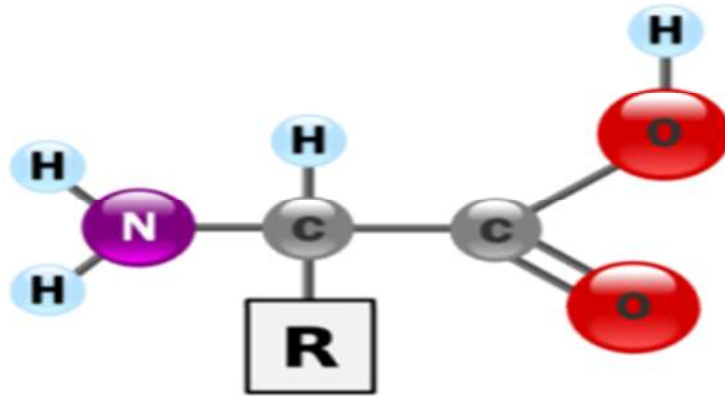
BÖLÜM 2

KURAMSAL TEMELLER

2.1 AMİNOASİTLER

Aminoasitler proteinleri oluşturan temel yapıtaşlarıdır. Aminoasitlerin kovalent bağlarla uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirlerine “peptid” uzun polimer zincirlerine ise “polipeptid” ya da “protein” denir. Aminoasitlerin türleri, protein zincirindeki diziliş sıraları ve her bir aminoasitin bir diğeri ile yaptığı etkileşimleri, proteinin üç boyutlu yapısını ve üstlendiği fonksiyonların temelini oluşturmaktadır. Doğada 300’e yakın farklı aminoasit bulunmaktadır. Ancak proteinlerin yapısına katılan sadece 20 temel aminoasit bulunur. Proteinlerin yapısında bulunan bu 20 temel aminoasit standart aminoasitler olarak bilinirler. Bunlar kolaylık açısından üç harfli kısaltmalar ve tek harfli sembollerle gösterilirler. Çizelge 2.1’de bu gösterimlerin tümü ve aminoasitlerin bazı özellikleri bir arada sunulmuştur.

Bir aminoasit; amino grubu ($-NH_2$), karboksil grubu ($-COOH$) ve her aminoasit için farklı özellikte olan yan zinciri (Rezidü, R) olarak adlandırılan gruptan oluşmaktadır. Şekil 2.1’de standart bir amino asiti meydana getiren atomlar ve gruplar gösterilmektedir.

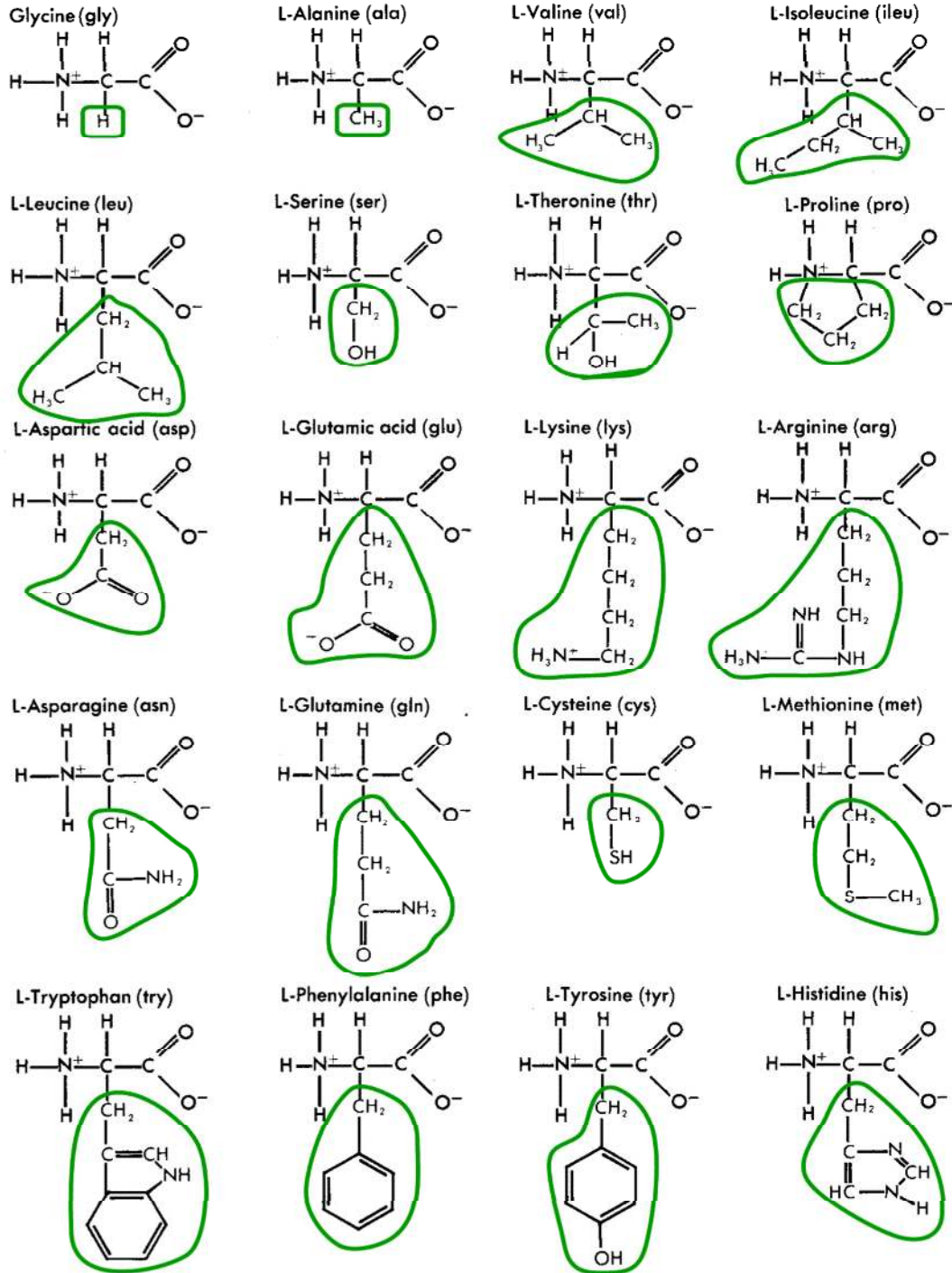


Şekil 2.1 Standart aminoasidin yapısı.

Çizelge 2.1 Aminoasitlerin standart kodları ve özellikleri.

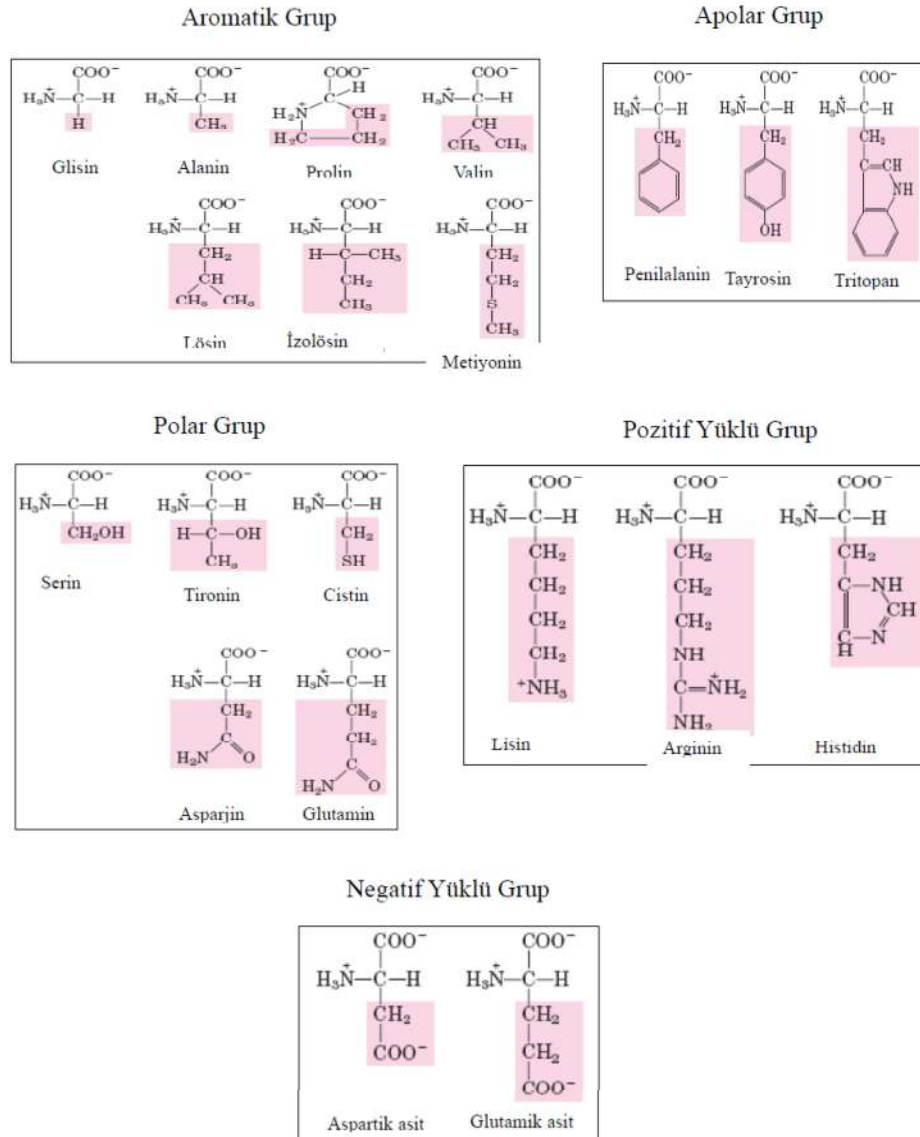
Aminoasit	3-Harfli Gösterimi	1-Harfli Gösterimi	Yanzincir Polaritesi	Yan zincir Asiditesi/ Bazisitesi	Hidropati Endeksi
Alanin	Ala	A	Apolar	Nötr	1.8
Arginin	Arg	R	Polar	Kuvvetli bazik	-4.5
Asparagin	Asn	N	Polar	Nötr	-3.5
Aspartik asit	Asp	D	Polar	Asidik	-3.5
Sistein	Cys	C	Apolar	Nötr	2.5
glutamik asit	Glu	E	Polar	Asidik	-3.5
Glutamin	Gln	Q	Polar	Nötr	-3.5
Glisin	Gly	G	Apolar	Nötr	-4
Histidin	His	H	Polar	Hafif bazik	-3.2
İzolösin	Ile	I	Apolar	Nötr	4.5
Lösin	Leu	L	Apolar	Nötr	3.8
Lizin	Lys	K	Polar	Bazik	-3.9
Metiyonin	Met	M	Apolar	Nötr	1.9
Fenilalanin	Phe	F	Apolar	Nötr	2.8
Prolin	Pro	P	Apolar	Nötr	
Serin	Ser	S	Polar	Nötr	-8
Treonin	Thr	T	Polar	Nötr	-7
Triptofan	Trp	W	Apolar	Nötr	-9
Tirozin	Tyr	Y	Polar	Nötr	-1.3
Valin	Val	V	Apolar	Nötr	4.2

Bütün aminoasitler kenar zincirleri (R) dışında aynı yapıyı tekrar ederler. Bu yapı “protein omurgası” (backbone) olarak adlandırılır. Aminoasitler sahip oldukları kenar zincirine (R) göre birbirlerinden farklılaşırlar. Şekil 2.2’de 20 standart amino asitin kenar zincirleri (R) ve kimyasal gösterimleri bir arada verilmiştir.



Şekil 2.2. Standart amino asitin kenar zincirleri ve kimyasal gösterimleri.

Aminoasitlerin sahip oldukları kenar zincirlerin özellikleri, proteinlerin üstlendikleri fonksiyonların farklılaşmasını sağlar. Kenar zincirler diğer aminoasitlerin kenar zincirleriyle etkileşerek hidrofobik bölgeler, elektrostatik bağlar, hidrojen bağları veya disülfid bağları oluşturmaktadırlar (Smith et al. 2007). Kenar zincirleri yapısal özelliklerine göre farklılaşmaktadırlar. Bu özelliklerine göre aminoasitlerin sınıflandırılması ise Şekil 2.3'te gösterildiği gibidir.



Şekil 2.3 Standart aminoasitlerin yapısal özelliklerine göre gruplandırılması.

Standart aminoasitler içerisinde dikkat çekici bir aminoasit olan Glisin, en basit yapıya sahip olan aminoasittir ve protein yapılarının oluşmasında önemli bir rol oynamaktadır. Ayrıca yüklü kenar zincirine sahip olan Lisin, negatif yüklü kenar zincirine sahip olan aminoasitler ile oluşturduğu bağlar sayesinde protein kararlılığına katkıda bulunmaktadır.

2.1.1 Aminoasitlerin Fiziksel Özellikleri

Aminoasitler genellikle suda, seyreltik asit ve bazlarda çözünürler, buna karşın etil alkol ve diğer organik çözeltilerde çözünmezler. Glisin aminoasiti dışında bütün aminoasitlerin karbon atomları asimetriktir. Aminoasitler amfoter özellik gösteren maddelerdir, yani asidik ortamda baz, bazik ortamda asit gibi davranan maddelerdir. İzoelektrik noktada iyonlaşmış bulunan pozitif ve negatif gruplar denge halindedir. Bir elektrik akımı uygulandığında aminoasit molekülleri ne negatif ne de pozitif kutba göç ederler.

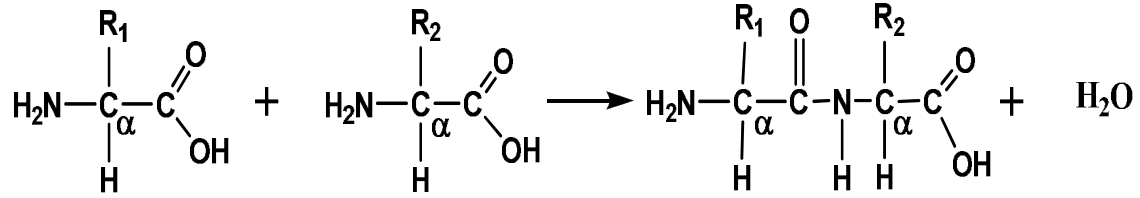
2.1.2 Aminoasitlerin Kimyasal Özellikler

Bir aminoasidin $-COOH$ grubu ile bir başka aminoasidin $-NH_2$ grubu birleşerek aralarında peptid bağı yaparlar. Böylece aminoasitler birbirleriyle birleşerek peptid zincirleri oluştururlar. Peptid zincirleri ise proteinlerin primer yapılarıdır. Bunun yanında aminoasitler susuz HCl karşısında etil ve metil alkolle esterler yaparlar. Aminoasit esterlerine alkolik veya andhidroz amonyakla muamele edilirse aminoasitlerin amidleri meydana gelirler. Diğer taraftan, aminoasitlerin amin gruplarına bir solüsyon içerisinde metil iyodür veya dimetil sulfat ile muamele edilirse, kolaylıkla metilleşebilirler. Prolin ve hidroksprolin dışındaki aminoasitler nitröz asitlerle reaksiyona girerek azot açığa çıkmasını sağlarlar. Aminoasitlerin bu özelliklerinden yararlanarak protein miktar tayini yapılabilir. Aminoasitlerin formaldehit ile muamelesiyle aminoasit miktarı da tayin edilebilir.

2.1.3 Peptid Bağı

İki aminoasit molekülü peptid bağı denilen kovalent bağlanmayla dipeptid oluşturabilirler. Üç aminoasit birleşirse tripeptid oluşur. On-onbeş aminoasite kadar oluşan peptidlere oligopeptid denir. Daha büyük zincirler için polipeptid ifadeleri kullanılır. Protein ve polipeptid ifadeleri birbirleri yerine kullanılabilirse de genelde polipeptitler 100 den az aminoasit içerirler.

Bir peptid bağı şu şekilde oluşur; bir aminoasitin merkezi karbon atomuna bağlı karboksil grubu ile diğer amino asitin hidroksil grubu birbirine bağlanır. Bu arada bir adet su molekülü açığa çıkar (Şekil 2.4). Doğadaki peptidler iki aminoasitten birkaç bin aminoasite kadar değişik uzunlukta olabilirler. Bazı proteinler tek bir polipeptid zincirlerinden ibaretken bazıları birden fazla polipeptidin kovalent olmayan bağlarla birleşmesiyle oluşur.



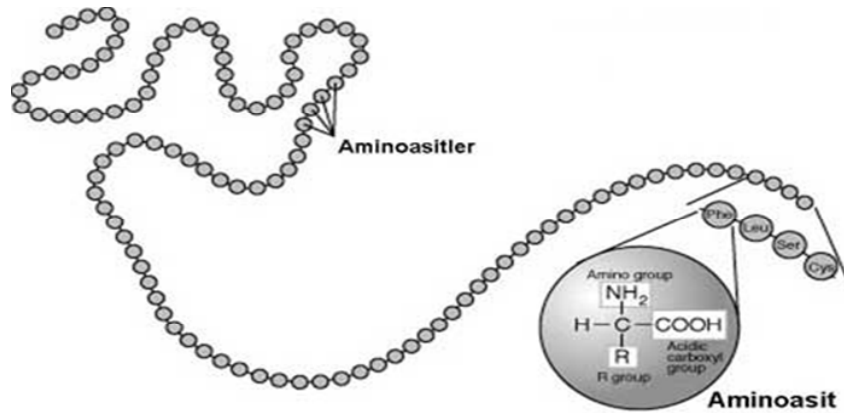
Şekil 2.4 Peptit bağının oluşumu

2.2 PROTEİNLERİN YAPISI

Proteinler, aminoasitlerin zincir halinde birbirine bağlanmasıyla oluşan büyük organik bileşiklerdir. Bu zincirde bir aminoasitin karboksil grubunun bir diğerinin amino grubuna bağlanmasıyla oluşan bağ peptid bağı olarak adlandırılır (Şekil 2.4). Her proteindeki aminoasit dizisinin sırası bir gen tarafından tanımlanır ve genetik kod ile kodlanmıştır. Genetik kod 20 farklı aminoasit tanımlasa da proteindeki aminoasitler traslasyon sonrası değişimle kimyasal olarak değişime uğrarlar. Bu değişimler ya proteinin işlev görmeye başlamasından önce gerçekleşir ya da kontrol mekanizmalarının parçası olarak, proteinin işlevini değiştirmek için olur. Proteinler belli işlevleri yerine getirmek için beraberce de çalışabilirler ve bazıları bir araya gelip kararlı kompleksler oluşturabilirler. Polasakkaritler, nükleikasitler, yağlar gibi biyolojik makromoleküllere benzer şekilde, proteinler de canlı organizmaların temel bileşenlerindendirler ve hücrelerin içindeki her süreçte yer alırlar. Çoğu proteinler biyokimyasal tepkimelerde katalizör işlevi olan enzimlerdir ve metabolizma için yaşamsal bir rôle sahiptirler.

Proteinler, 20 farklı aminoasitten oluşmuş lineer polimerlerdir. Tüm aminoasitler, bir alfa karbonuna bir karboksil grubu ve bir amino grubu ve bir yan zincirin bağlanıyor olması gibi ortak yapısal özelliklere sahiptirler. Bir tek Prolin yan zincirinde amino grubuyla halka

oluşturması yüzünden biraz farklılık gösterir. Standart aminoasitlerin yan zincirlerinin farklı kimyasal özellikleri proteinlerin üç boyutlu yapısını belirler ve dolayısıyla protein işlevine etki eder. Bir polipeptit zincirindeki aminoasitler bir dehidrasyon tepkimesi sonucu oluşan peptit bağı ile birbirine bağlanırlar. Protein zincirine dâhil olmuş aminoasit birimlerine “kalıntı”(rezidü); karbon, azot ve oksijen atomlarından oluşan tekrarlayan diziyi de “ana zincir” ya da “protein omurgası” denir. Peptid bağının iki rezonans formu vardır ve bunlar ona kısmi çift bağ özelliği kazandırarak, eksenini etrafında dönmesini engeller. Bu yüzden de alfa karbonlar eşdüzlemseldir. Peptid bağdaki diğer iki dihedral açı protein omurgasının yerel şeklini belirler. Her bir aminoasitin kimyasal yapısı nedeniyle protein zincirinin iki yönü vardır. Proteinin serbest bir karboksil ucuna sahip olan ucu “karboksil ucu” (C ucu) ya da “karboksil terminali” (C terminali); serbest bir amino grubu olan uca ise “amino ucu”(N ucu) ya da “amino terminali” (N terminali) olarak adlandırılır. Protein, polipeptid ve peptid sözcüklerinin kullanımında bir muğlâklık vardır. Protein genelde kararlı bir şekle sahip olan bütün biyolojik moleküller için kullanılır. Peptid ise genelde kararlı üç boyutlu yapıya sahip olmayan, kısa aminoasit oligomerleri için kullanılır. Ancak bu iki terim arasındaki sınır belirsizdir ve genelde 20–30 kalıntı dolayındadır. Polipeptid ise, uzunluğundan bağımsız olarak, herhangi bir aminoasit zinciri için kullanılır ve sıklıkla da tanımlı tek bir biçim olmadığına işaret eder. Şekil 2.5’te aminoasitlerin oluşturduğu bir polipeptid zinciri şematik olarak gösterilmektedir.



Şekil 2.5 Aminoasitlerin oluşturduğu bir polipeptid zincirinin şematik gösterimi.

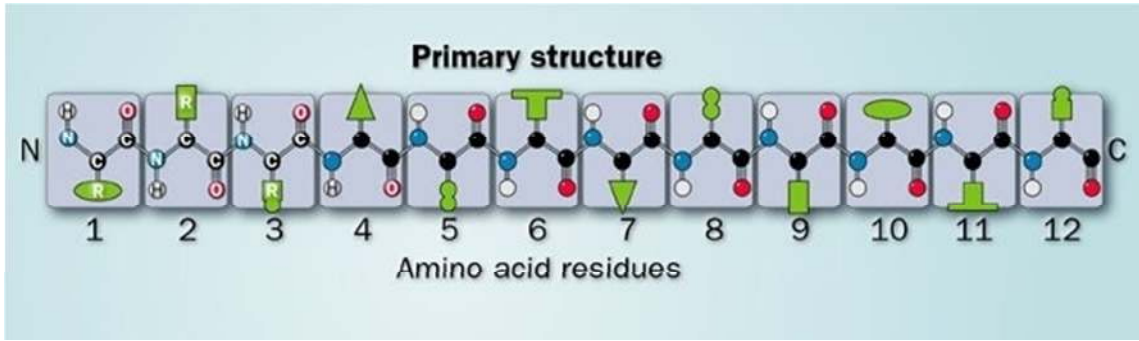
2.2.1 Proteinlerin Yapı ve İşlevleri

Canlı organizmaların dört temel biyolojik makromolekülünün üçü polimer (aynı türden tekrarlayan birimler) yapıdadır. Bunlardan biri olan proteinler, aminoasitlerin polimerleridir. Diğer biyolojik makromoleküllerden DNA ve RNA nükleotidlerin, polisakkaritler ise şekerlerin polimerleridir. Dördüncü tür biyolojik makromolekül olan lipidler ise polimer yapıda değildirler. Proteinler bütün canlılarda çok önemli işlevler yürütürler. Birçok biyolojik reaksiyon, “enzim” adı verilen proteinler tarafından kontrol ve katalize edilir. Bu haliyle proteinler metabolizma için yaşamsal bir role sahiptirler. Başka proteinlerin ise yapısal ve mekanik işlevleri vardır. Örneğin hücre iskeletindeki proteinler, hücre şeklinin korunması, kas kasılması, hücre ve çevresi arasında madde alış verişleri işlevlerinde rol alırlar. Bunların yanı sıra hücre haberleşmesi, bağışıklık yanıtı, hücre tutunması ve hücre bölünmesi döngülerinde yine proteinler yer almaktadırlar. Her proteinin kendisine has özelliklerinin olmasını sağlayan özel aminoasit dizilimleri vardır ve protein işlevlerinin çoğu, kendisini oluşturan aminoasitlerin özelliklerinin tayin edilmesiyle anlaşılabilir.

Proteinler canlı hücreler içerisinde çok sayıda göreve sahip biyomoleküllerdir. Proteinlerdeki bu görev çeşitliliğinin sebebi ise; birincil (primer), ikincil (sekonder), üçüncül (tersiyer) ve dördüncül (kuarterner) yapı olarak tanımlanan dört hiyerarşik yapısal organizasyona sahip olmalarıdır (Onat vd 2002). Çoğu protein katlanarak kendine has üç boyutlu bir yapıyla şekil alır. Proteinin doğal olarak katlanıp oluşturduğu bu şekle onun doğal hali denmektedir.

2.2.2 Birincil Yapı

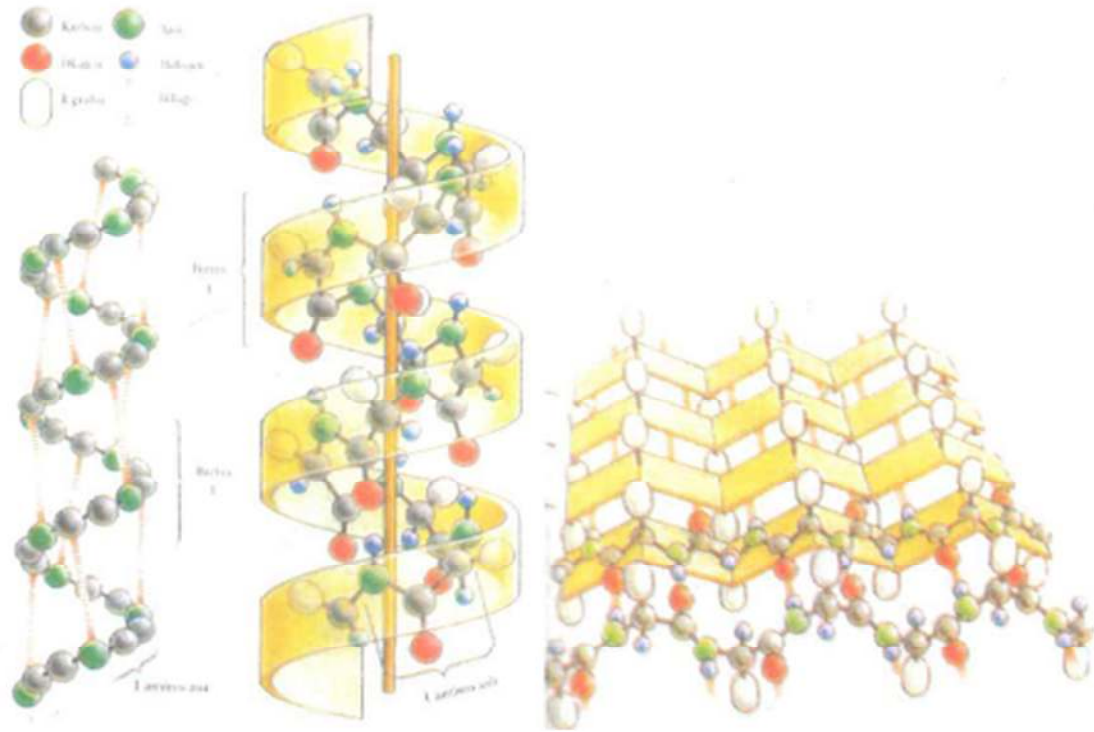
Birincil (primer) yapı, polipeptit zinciri boyunca aminoasitlerin lineer bir şekilde dizilimidir (Şekil 2.6). Primer yapı genetik olarak kontrol edilmekte olan tek yapı olup, bir proteinin ikincil, üçüncül ve dördüncül yapılarını belirlemektedir (Onat vd 2002).



Şekil 2.6 Birincil yapı

2.2.3 İkincil Yapı

İkincil (sekonder) yapı, peptid zincirinin yaptığı hidrojen bağlarına göre belirlenir. Proteinlerdeki ikincil yapılar genel olarak α -Heliks, β -yaprağı ve rastgele sarmallar olmak üzere üç şekilde bulunabilir. Bunlardan α -Heliks, β -yaprağı Şekil 2.7 verilmiştir.

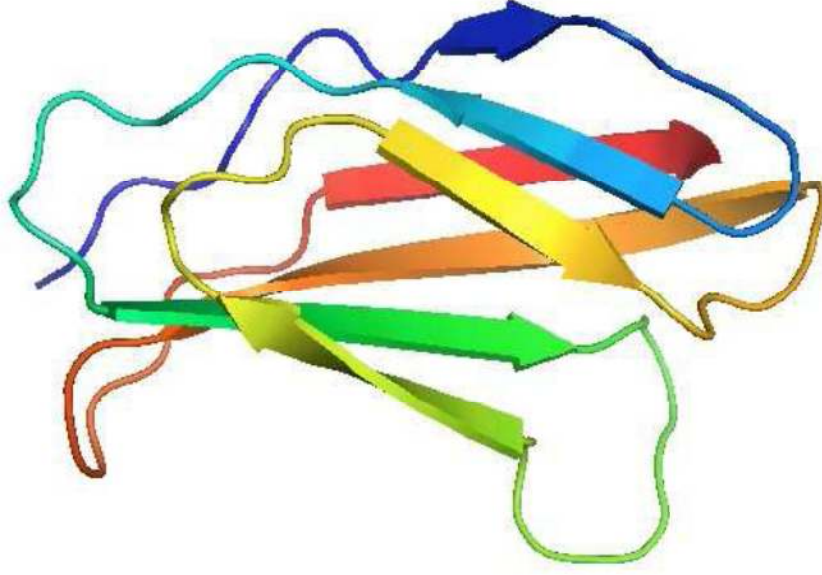


Proteinlerin ikincil yapıları, protein zincirinin uzaydaki organizasyonu ile ilgilidir. Bunlardan α -heliks olarak adlandırılan yapıda, tek bağları etrafında iç dönmeler nedeniyle, protein zinciri bir vida sarmalı biçiminde kıvrılabilmektedir. Zinciri sarmal biçiminde tutan asıl etken ise, bir peptit bağındaki N-H grubu ile bir diğer peptit grubundaki C=O grubu arasında kurulan hidrojen bağlarıdır. Hidrojen bağları sarmaldaki birinci peptit bağını dördüncüye, ikinci peptit bağını beşinciye sıralamasıyla..... blayarak sarmalın halkalarını sabitleştirir. Peptid bağlarına ait dipol momentler aynı yönde ve sarmal eksenine paraleldir. Proteinlerde sık rastlanan bir diğer ikincil yapı ise beta yaprağı (β -sheet) olarak adlandırılır. Bu yapı oldukça düz ve açılmış olarak aynı yönde veya zıt yönlerde uzanan peptit zincirleri arasında kurulan hidrojen bağları sayesinde ortaya çıkar. Rastgele sarmal (random coil) olarak adlandırılan bir diğer yapı kolay değişebilirlik ve bükülebilirlik göstermektedir. Ortamın sıcaklığı veya iyonik içeriği değiştirilirse proteinlerin ikincil yapısı, özellikle α -heliks yapısı bozulmaktadır.

Proteinlerin ikincil yapılarında çok sayıda kuvvet mevcuttur. Bu kuvvetler, proteinin kararlılığını ve esnekliğini artırmaktadır. Bu kuvvetler, hidrofobik etkileşmeler, zıt yüklü gruplar arasındaki elektrostatik etkileşmeler, birbirine yakın bulunan atomların yörüngelerinde bulunan aynı yüklü dipollerin birbirini itmesi ve zıt yüklü dipollerin birbirini çekmesi şeklinde oluşan Van der Waals etkileşmeleridir.

2.2.4 Üçüncül Yapı

Üçüncül (tersiyer) yapı, ikincil yapının kazanmış olduğu atomların konumlarından kaynaklanan birbirine yaklaşan veya uzaklaşan aminoasitlerin etkileşmeleri sonucu ani dönüşler sonrası oluşan üç boyutlu yapıdır (Şekil 2.8) ve bu yapı proteinin fonksiyonel karakterini belirlemektedir (Murray et al. 2004).



Şekil 2.8 Üçüncül yapı (PDB Kodu: 1F09)

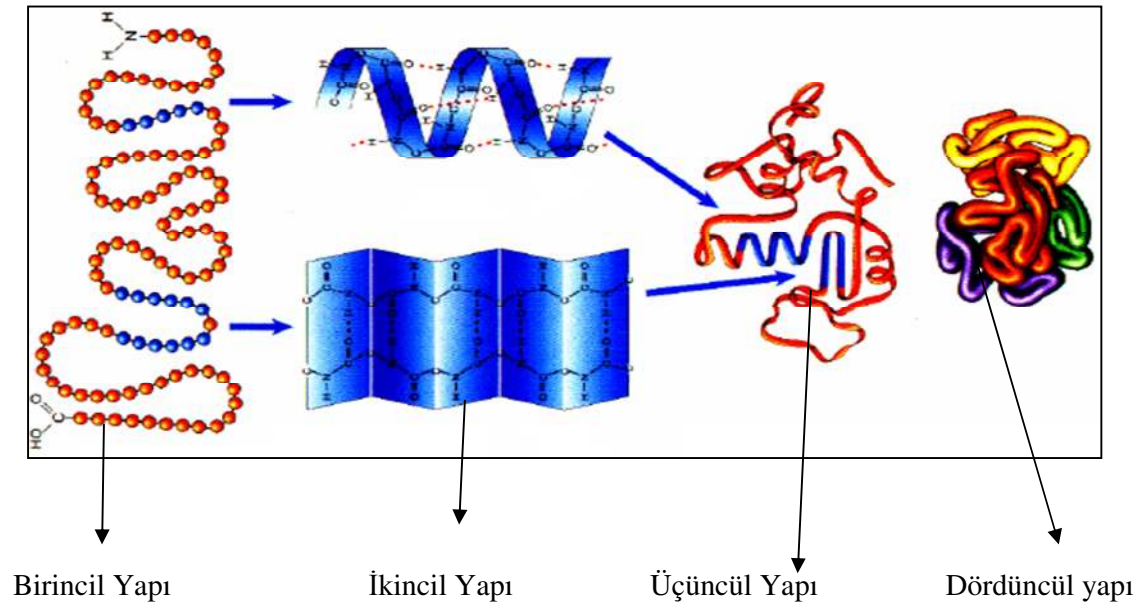
2.2.5 Dördüncül Yapı

Poliipeptitten oluşmuş iki ya da daha fazla proteinin bir araya gelerek oluşturdukları yapısal organizasyonlardı (Şekil 2.9). Bu yapıları, proteinlerin birbiri ile benzer ya da benzer olmayan alt birimlerinin bir araya gelmesi olarak da tanımlayabiliriz.



Şekil 2.9 Dördüncül Yapı (PDB Kodu:1BRS).

Proteinlerin yapı ve işlevlerinde suyun da çok önemli etkisi vardır. Yirmi aminoasit rezidüsünden bir kısmı polar veya hidrofilik bir kısmı ise hidrofobik özelliğe sahiptir. Bu sebeple, bükülebilir bir protein zinciri hidrofobik etkileşimlerle katlanır. Bu sırada, hidrofobik rezidüler su ile temas etmeyecek bir şekilde, oluşan küresel yapının merkezine doğru toplanırlar. Böylece su üçüncül yapının oluşumunu büyük ölçüde etkilemiş olmaktadır. Sonuç olarak ikincil yapı peptit bağları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmasına rağmen üçüncül yapı yan zincirlerin kendi aralarında ve çevre ile etkileşimlerinden kaynaklanır. Yapıyı oluşturan bu seviyelere ek olarak, proteinlerin birbiriyle ilişkili olan bir yapıdan başka bir yapıya geçmeleri de protein yapısının bir diğer boyutunu oluşturur. Biyolojik olarak çok önemli olan bu yeniden yapılanmaların üçüncül veya dördüncül yapılarına proteinin "konformasyonları" denir ve bunlar arasındaki geçişlere konformasyonel değişim adı verilir. Bu tür değişimler çoğu zaman bir substrat molekülün bir enzime bağlanmasıyla tetiklenir. Tipik olarak görülen üçüncül yapılarla ilintili olarak proteinler küresel (globüler) proteinler, lifsel (fibröz) proteinler ve zar (membran) proteinleri olarak kabaca üç ana sınıfa ayrılabilirler. Canlılarda dinamik işlevsel özelliklere sahip küresel proteinler suda çözünürler ve bunların çoğu enzimdir. Canlıların daha çok yapısı ile ilgili olan lifsel proteinler ise suda çözünmezler. Bunların yanı sıra zar proteinleri çoğunlukla reseptör olarak görev yaparlar veya suda çözünen küçük moleküllerin hücre zarından geçmeleri için kanal oluştururlar. Şekil 2.10 da proteinlerin tüm ikincil yapılarına örnekler birarada verilmiştir.



Şekil 2.10 Protein Yapıları.

Proteinler/peptidlerin oldukça esnek bir yapıya sahip olmalarından dolayı faz uzayları anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olur. Diğer taraftan proteinler/peptidler genellikle sıvı içerisinde bulunduklarından, içlerinde bulundukları sıvının bu konformasyonlara etkisi kaçınılmazdır. Bu nedenle, bir proteinin çözelti içerisinde sahip olacağı konformasyonu vakum ortamındakinden oldukça farklı olacaktır. Vakum ortamında protein veya peptitlerin konformasyon enerjileri mümkün olan en düşük enerji seviyesinde bulunma eğilimindedir. Buna karşın protein veya peptidler çözelti ile etkileşim içinde olursa daha da düşük enerjili konformasyonlara sahip olacaktırlar.

2.2.6 Protein Katlanması

Bir polipeptid zincirinin kendine has olan bir karakteristikte kazandığı şekillenim sürecine protein katlanması denir. Proteinler genellikle çeşitli fonksiyonlarını yerine getirebilmek için katlı duruma geçmeye ihtiyaç duyarlar. Proteinlerin aminoasitlerden oluşan tek boyutlu zincir yapısından, üç boyutlu fonksiyonel yapısına nasıl ulaştığı ilgi çekici bir sorudur. Anson ve Mirsky (1931), proteinin denaturasyonunun iki durumlu yani ya “var” ya “yok” olarak adlandırılacak bir süreç olduğunu ve moleküler geçişler sonucunda kimyasal olarak birçok değişikliğin ortaya çıktığını ifade etmişlerdir. Daha sonra Anfinsen, proteinlerin aminoasit dizilimlerinin proteinlerin katlanma mekanizmasını belirlediğini ortaya koymuştur (Anfinsen 1973). Bu çalışmalardan sonra Levinthal (Levinthal 1968) proteinlerin katlanmış yapılarına çok hızlı bir şekilde nasıl ulaştıkları sorusuna cevap aramış ve bir proteinin rastgele bir şekilde doğru katlanmış yapısına ulaşabilmesi için geçmesi gereken sürenin, kâinatın şimdiki yaşından daha fazla olduğunu Levinthal Paradoksu ile ileri sürülmüştür.

Protein katlanmasını, en temel hali ile iki durum davranışına sahip protein sistemleri anlatmaktadır. Bu davranışta katlanma yolu boyunca açık, katlı ve çok az sayıdaki ara durumlara ait belli bir makroskobik durumla tutarlı mikroskobik durumların tümünü gösteren popülasyon yoğunluklarının dağılımı mevcuttur (Jackson 1998). Birçok farklı yapıdaki, farklı dizilimdeki ve farklı kararlılıktaki küçük proteinlerin katlanma durumları incelendiğinde, çoğunlukla iki durumlu katlanma davranışı gösterdikleri bilinmektedir. Ayrıca basit iki durum davranışı gösteren proteinlerin sınırlı sayıda bir araya gelmiş ara durumlar aracılığı ile katlandığı da gösterilmiştir (Fersht 2000).

2.2.7 Protein Kararlılığı

Proteinler için kararlılık, sahip oldukları en düşük enerjili durumu koruma eğilimidir. Bir proteinin en kararlı hali, termodinamik açıdan en düşük serbest enerjiye sahip olduğu katlanmış yapısıdır. Termodinamik kararlılık ise, proteinin doğal yapısını geri dönüşümlü olarak, hızlı, kooperatif ve iki fazlı bir mekanizma ile kaybetmesi ve yeniden kazanmasıdır (İşcan 2007). Proteinlerin doğal yapılarında kararlılığı sağlayan etkenler arasında iyonik ilişkiler, dipol-dipol etkileşimi, hidrofobik molekülleri bir arada tutan kuvvetler, hidrojen ve disulfid bağları bulunmaktadır. Termodinamik açıdan yapılan yaklaşımlar hidrojen bağlarının proteinlerin üç boyutlu yapısının kararlılığında büyük bir etkiye sahip olmadığı proteinin doğal ve denature konformasyonlarının serbest enerjilerindeki çok küçük değişikliklerle açıklanmaktadır. Bunun nedeni, molekül içinde bozulan bir hidrojen bağının yerini molekül içinde bulunduğu çözücü ile yaptığı yeni bir hidrojen bağının almasıdır (İşcan 2007). Proteinlerin kararlılığı açık ve katlı durumlar arasındaki serbest enerjideki farklılık olarak tanımlanabilmektedir. Kararlılığın katlanma mekanizması içerisinde serbest enerji bariyer yüksekliği, geçiş durum topluluğu konumu gibi farklı durumlar altında değişim gösterdiği bilinmektedir.

2.3 PROTEİN YAPILARININ BELİRLENMESİ

Bir proteinin veya onun parçası olan komplekslerinin yapısının keşfi, onun işlevi hakkında önemli ipuçları verebilmektedir. Canlı yaşamını ilgilendiren hemen hemen her konuda proteinlerin hayati öneme sahip olması nedeni ile proteinlerin kararlı üç boyutlu yapılarının anlaşılması sağlık ve endüstri alanında çok önemli gelişmeler sağlamaktadır. Yapıyı belirlemek için kullanılan en yaygın deneysel teknikler X ışını kristalografisi ve NMR spektroskopisidir. Her ikisi de atomik çözünürlükte bilgi sağlarlar. Yapı belirlemede kullanılan bir diğer deneysel teknik ise Kriyoelektron Mikroskopisidir (Branden and Tooze 1999). Kriyoelektron mikroskopisi çok büyük protein kompleksleri ve virüsler hakkında daha düşük çözünürlüklü yapısal bilgi üretmekte kullanılır. Bunun bir çeşitlemesi sayılan elektron kristalografisi de çözünürlüklü bilgi üretebilir. Çözülmüş yapılar genelde Protein Data Bank (PDB) adlı veri tabanına kaydedilir, bu ücretsiz kaynaktan binlerce proteinin yapısal verileri proteindeki her atomun kartezyen koordinatları olarak elde edilebilir.

Yapısı çözülmüş protein sayısından çok daha fazla sayıda gen vardır. Ayrıca, yapısı çözülmüş proteinler, yapı çözmede kullanılan başlıca deneysel tekniklere kolayca tabi tutulabilenler ağırlıklıdır. Özellikle, globüler proteinlerin X-ışını kristlografisi için kristalleştirilmeleri nispeten kolaydır. Buna karşın membran proteinlerinin kristalleştirilmesi zordur ve PDB’ de az sayıda temsil edilirler. Yapısal genomik girişimleri bu yetersizliklerin üstesinden gelmek amacıyla belli katlama sınıflarına ait yapıları sistematik olarak çözmektedirler. Protein yapı tahminleme yöntemleri, deneysel olarak yapısı belirlenmemiş proteinler hakkında makul yapıları üretmeyi amaçlar. Bununla beraber incelenen yapıların yarılanma ömürleri çok kısa olduğunda veya deneysel yöntemlerle uygulanması zor olan bir etki göz önünde tutulduğunda, X-ışınları ve NMR gibi spektral yöntemler ile yapısal incelemeler yapılamamaktadır.(Gonen et al. 2005). Bu koşullar altında yapı belirlenmesinde simülasyon çalışmalarına başvurulur.

2.4 MOLEKÜLER MODELLEME

Günümüzün en güncel problemlerinden biri proteinler/peptidlerin katlanabilirliğinin anlaşılması ve kararlı yapılarının belirlenmesi işlemleridir. Protein yapılarının değişim gösterip katlanarak oluşturduğu üç boyutlu yapıya proteinin “doğal hali” ya da “katlanmış” denir (Dobson et al.1999, Radford 2000). Proteinler/peptidlerin katlanmış yani doğal hallerinin yapılarının anlaşılması ve bu sistemlerin kararlı konformasyonlarının belirlenmesi özellikle ilaç dizaynı için önemli bir katkı sağlayacağı gibi endüstriyel kullanımı en yaygın olan polimerlerden, biyosensörlere, gıda güvenliği ve teknolojisine vücuttaki birçok biyokimyasal tepkimelerin mekanizmalarının açıklanmasına kadar geniş bir alanda değerlendirme olanağı sağlamaktadır. Bilindiği üzere proteinler bir biyopolimer olup temelde doğada bulunan 20 farklı aminoasit gruplarının bir araya gelmesinden oluşmaktadırlar. Protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Tamamı ile yeni matematiksel yaklaşımlarla bu sistemler izah edilmeye çalışılmasına rağmen, en önemli bilgilerin simülasyon çalışmaları ile elde edileceği bilinmektedir (Hao and Scheraga 1994, Hansmann and Okamoto 1993, Okamoto 1998). Bu nedenle son otuz yıldır proteinlerin düşük enerjili konformasyonları simülasyon teknikleri ile örneklenmeye çalışılmaktadır (Meirovitch et al. 1997, Baysal and Meirovitch 1997). Proteinler/peptidlerin doğal 3 boyutlu konformasyon yapısının termodinamik olarak kararlı olduğu düşünüldüğünde sistemin serbest enerjisinin en düşük değeri ile tanımlanan yerel minimumun değerinin belirlenmesi gerekecektir. Genel anlamda,

fiziksel niceliklerin nümerik hesaplamaları sistemin faz uzayının nasıl bir kapsamda incelendiğine dayanır. Proteinlerin/peptidlerin oluşturduğu sistemlerin enerji düzeylerinin yüksek enerji bariyerleri ile ayrılmış çok sayıda yerel minimumlara sahip olması, güçlü optimizasyon yöntemlerinin kullanılmasını gerektirmektedir. Burada problem birçok yerel minimumlar arasından gerçek global minimum enerji seviyesine ulaşp ulaşamadığının belirlenmesidir.

Protein/peptid gibi biyolojik sistemlerin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için modellenmesi gerekir. “Moleküler Modelleme” olarak adlandırılan bu yöntemde amaç kısaca moleküllerin 3 boyutlu yapılarını, tepkimelerini bulmak ve göstermektir. Aslında, bir kâğıt üzerinde moleküllerin yapılarını çizmemiz, mekanizmalarını göstermemiz en basit anlamda molekül modellemeye örnektir. Kâğıt üzerinde iki boyutlu ve de gerçeğe pek yakın olmayan çizimleri bir yana bırakırsak, bilgisayarlar yardımıyla moleküllerin değişik yöntemlerle çözülmesi ve moleküllerin 3 boyutlu yapısını ortaya çıkarmaya gerçek moleküler modelleme diyebiliriz. Moleküler modellemede temel düşünce, sistemi oluşturan atom ve moleküllerin bilinen temel etkileşme terimlerine bağlı olarak sistemi tanımlayabilmektir. Genellikle moleküler modelleme gerçek bir sistemin fiziksel özelliklerini tahmin etmenin yanı sıra yeni materyallerin dizaynı için günümüzde yoğun olarak kullanılmaktadır.

2.4.1 Etkileşme Terimleri ve Kuvvet Alanları

Moleküler modellemede, kuantum mekaniksel çoklu parçacık problemlerinden doğan ‘*ab initio*’ hesaplarının yanı sıra fenomenolojik potansiyeller/kuvvet alanları kullanılmaktadır. *ab-initio* metodu, kuantum mekaniğinin temel kanunlarına dayanır ve temel eşitlikleri çözmek için yaklaşık teknikleri ve matematiksel yaklaşımları kullanır (Burkert and Allinger 1982). Bu yöntemler ile molekül yapısı ve buna bağlı özellikler hesaplanabilir ve bir tepkime mekanizması tam olarak modellenebilir. Moleküler dinamik veya yarı deneysel metotlara benzemeyen *ab-initio* metotlarında deneysel parametre kullanılmaz. *ab-initio* hesaplamalarında iki farklı matematiksel yaklaşım kullanılır; “Hartree-Fock Self Consistent Field” (HF-SCF) ve “Density Functional Theory” (DFT). HF modelinde, elektron-elektron etkileşimleri için ortalama bir potansiyel temel alınır. Bu yaklaşım, molekül frekanslarının hesaplanması ve molekül geometrisinin tayini için uygundur. DFT modelinde, molekül dalga fonksiyonları yerine, elektron ihtimaliyet yoğunluğu (ρ) hesaplanır ve bu molekül özelliklerinin tayininde çok daha doğru sonuçlar verir. *ab-initio* yöntemlerinde hesaplama

süresi moleküler dinamik yöntemlere göre çok daha uzundur. GAUSSIAN, HYPERCHEM ve CACHE *ab-initio* yöntemlerinin kullanıldığı bazı paket programlardır (Hehre et al.1986). Diğer taraftan, moleküler modelleme yönteminde incelenecek sistemin etkileşme potansiyellerinin belirlenmesi sistemi doğru olarak tanımlama açısından büyük önem taşır. Atom ve moleküllerin etkileşimlerini tanımlamak için çoğunlukla kuvvet alanları kullanılmaktadır. Kuvvet alanları sistem içerisindeki moleküller arası ve molekül içi kuvvetleri tanımlarlar. Kuvvet alanları bağların ve açılarının “referans” veya “denge” değerlerinden sapması ve bağlar döndükçe enerjinin nasıl değiştiğini anlatan bir fonksiyon ve sistemin bağ yapmayan bölümleri arasındaki etkileşimi açıklayan terimleri de içermektedir. Daha gelişmiş kuvvet alanları, ekstra terimler içerebilir fakat genellikle bu bileşenlerden oluşmaktadır. Kuvvet alanları temel olarak üç kısımdan oluşur. Bunlar sırasıyla bağ olmayan terimler, bağ olan terimler ve özel terimlerdir.

Böyle bir kuvvet alanının fonksiyonel bir formu;

$$V(r) = \sum_{bağ} \frac{k_i}{2} (l_i - l_{i,0})^2 + \sum_{açı} \frac{k_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{burkulma} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(\alpha_i)) + \sum_{i=0}^N \sum_{j=i+1}^N 4\varepsilon_{ij} \left(\left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right) \quad (2.1)$$

Olarak ifade edilebilir. Eşitlik 2.1’de $V(r)$ parçacığın r pozisyonunun fonksiyonu olan potansiyel enerjidir ve ilk üç bileşen bağ olan etkileşimlerin, diğer bileşenler ise bağ olmayan etkileşimlerin potansiyel enerjiye olan etkisini ifade eder. İlk terim bağlı atom çiftleri arasındaki etkileşmeyi gösterir. Burada k_i kuvvet sabitini, l_i iki atom arasındaki bağ uzunluğunu gösterirken, başlangıç bağ uzunluğu $l_{i,0}$ ile temsil edilir. İkinci terim yine bağlı çiftlerinin bağ açılarının değişiminin potansiyel enerjiye etkisini açıklar. θ_i iki atom arasındaki açıyı, $\theta_{i,0}$ ise başlangıçtaki bağ açısını gösterir. Üçüncü terimde ifade edilen burkulma potansiyeli ise bağların dönmesiyle enerjinin nasıl değiştiğini gösterir. Burada α_i burulma açısıdır.

Bağımsız moleküller ve atomlar, ayrı moleküler türlerin yapısını belirlemede önemli bir rol oynayan bağ-olmayan kuvvetlerle etkileşirler. Bu etkileşimler atomlar arasındaki belirli bir

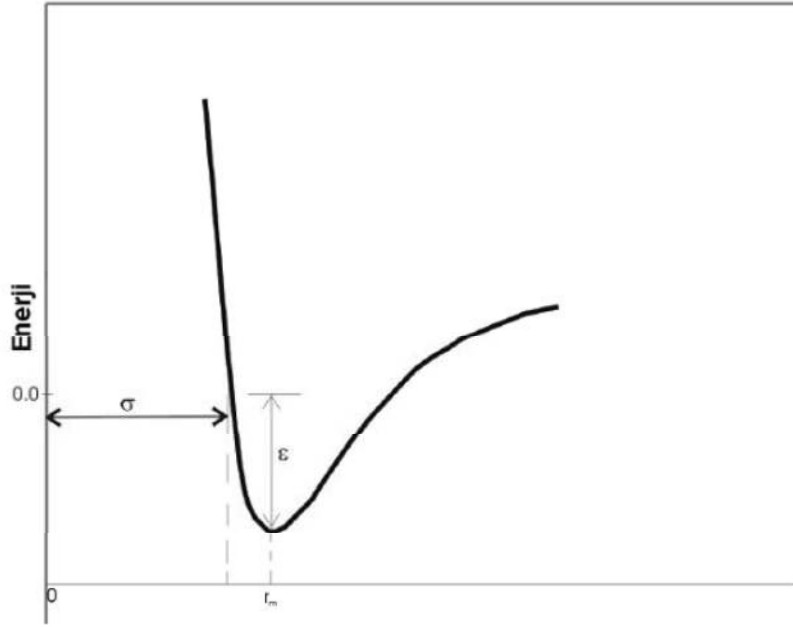
bağ ilişkisine bağlı değildir. Bunlar, uzaklığa bağlı etkileşimlerdir ve genellikle uzaklığın tersinin belirli bir kuvvetinin bir fonksiyonu olarak modellenirler. Bir kuvvet alanındaki bağ-olmayan terimler genellikle iki grupta incelenir; bunlardan biri elektrostatik etkileşimler, diğeri ise Van der Waals etkileşimlerdir. Elektronegatif elementler, daha az elektronegatif olanlara göre elektronları daha çok çekerler ve bir molekülde eşit olmayan bir yük dağılımına sebep olurlar. İki molekül arasındaki elektrostatik etkileşim, uç yük çiftlerinin arasındaki etkileşimlerin toplamı olarak aşağıdaki Coulomb yasası ile hesaplanır.

$$V = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (2.2)$$

Burada q_i elektrostatik yükü, ϵ_0 ortamın elektriksel geçirgenlik katsayısını r_{ij} de i . ve j . yükler arasındaki uzaklığı göstermektedir. Diğer yandan Van der Waals etkileşimleri doğadaki önemli etkileşimlerden biridir. Modellenmek istenen sistem için belirlenmesi gereken, çok sayıdaki Van der Waals potansiyel fonksiyonlarından en çok bilineni Lennard-Jones fonksiyonudur. İki atom arasındaki etkileşim için Lennard-Jones fonksiyonu şu formu alır.

$$V(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (2.3)$$

Lennard-Jones 12-6 potansiyeli sadece iki ayarlanabilir parametre içermektedir: çarpışma çapı (σ) ve kuyu derinliği (ϵ). Bu parametrelerin grafiksel olarak gösterimi Şekil 2.11'daki gibidir. Lennard-Jones potansiyeli, r^{-6} ile değişen bir çekim kısmı ve r^{-12} ile değişen bir itme bölümüyle karakterize edilmektedir.



Şekil 2.11 Lennard-Jones Potansiyeli

Moleküler modelleme ile protein veya peptit dizilimlerinin hem termodinamik yapıları hem de katlanma özelliklerini çalışmak için literatürde oluşturulmuş kuvvet alanlarından en çok bilinenleri; AMBER (Cornell et al. 1995), GROMOS (van Gunsteren et al. 1996), CHARMM (MacKerrell et al. 1998), GROMACS (van der Spoel et al. 2005) ve ECEPP/2 (Hansmann 2002) potansiyel enerji fonksiyonlarıdır. Bu fonksiyonlar, küçük moleküllerin deneysel verilerine ve bazı terimler için kuantum kimyasal hesaplara uyumundan parametrize edilmiştirler.

En genel anlamda, bu fonksiyonlara göre bir çözücündeki proteinin enerjisi;

$$E = E_p + E_{\text{çözücü}} \quad (2.4)$$

Şeklinde iki terimin toplamıdır. E_p proteinin kendi konformasyonel enerjisi, $E_{\text{çözücü}}$ ise proteinin içinde bulunduğu çözücüyle etkileşme enerjisidir.

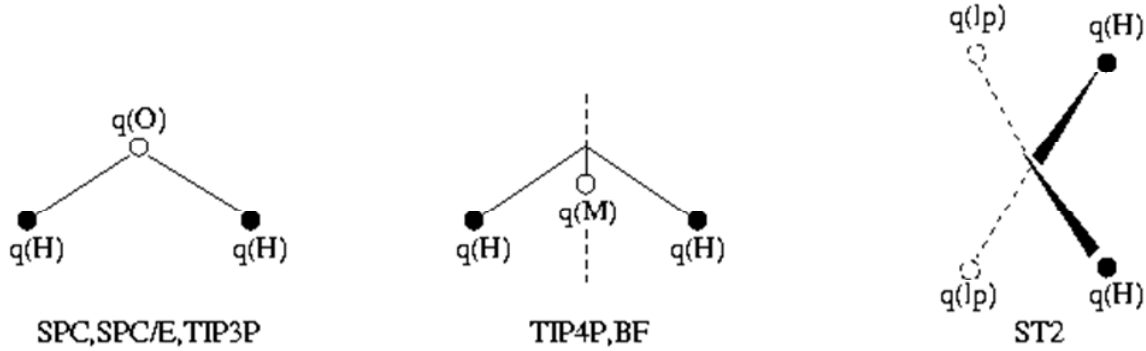
2.4.2 Su Modelleri

Proteinler çözücü içinde bulunurlar. Modellenen sistemin gerçeğe yakın olması için molekül-çözücü etkileşimlerinin de göz ardı edilmemesi gerekir. Bu nedenle çözücülerin de protein gibi modellenmesi gerekmektedir. Çözücülerin modellenmesi çok sayıda serbestlik derecesi içereceğinden oldukça zordur. Dahası konfigürasyon uzayını araştırmak için geleneksel Monte Carlo (MC) tekniğinin kullanılması, su moleküllerinin varlığının çok düşük kabul edilmesine yol açar ve bu yüzden daha yavaş olan Moleküler Dinamik (MD) metotlara başvurmak zorunda kalınır. Molekül-çözücü etkileşiminin önemi sebebiyle birçok çözücü etkisi yaklaşımı geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlardaki ana fikir hesaplamalara çözünmeyi katmadan bir çözücünün etkisini karşılayabilecek uygun bir metot geliştirmektir. Çözücü katkısını karşılayan, yaygın olarak kullanılan metotlardan biri, çözücünün protein moleküllerine erişim yüzey alanlarıyla (SASA) orantılı olarak ifade edilen modeldir. Bu modelde, protein-çözücü etkileşimi her bir atom türünün çözücüye maruz kalan yüzey alanıyla orantılı olduğu katkıların toplamı olarak karakterize edilebilir. Bu model basitliği ve uygulama kolaylığından dolayı oldukça popülerdir. Bu yaklaşımda $E_{\text{çözücü}}$ çözünme enerjisi A_i i atom tipinin SASA' sı ve σ_i atom tipine bağlı ve çözücünden gelen tüm katkıları içeren orantı sabiti olmak üzere,

$$E_{\text{çözücü}} = \sum_i \sigma_i A_i \quad (2.5)$$

ifadesiyle verilir. i parametre setinin (ASPs: Atomic Solvation Parameters) seçimi, bir çözücü modeli tanımlar ve halen literatürde çeşitli ASP setleri bulunmaktadır. Bu setlerden bazıları, çözücü bir organik sıvıdan suya değiştirildiğinde, basit model bileşenlerinin serbest enerjilerinde deneysel olarak gözlenen değişimlere, en küçük kareler yöntemiyle uyumundan türetilmiştir. Diğerleri ise kuvvet alanları varlığında yapılan MD simülasyonlarıyla, çözücü vakumdan ya da oktanoldan suya değiştirildiğinde, model bileşenlerinin transfer serbest enerjisi tarafından hesaplanmıştır (Eisenberg and McLachan 1986, Ooi et al. 1987, Eisenberg et al. 1989, Kim 1990, Vila et al. 1991, Wesson and Eisenberg 1992, Schiffer et al. 1993). Bu setler Juffer ve arkadaşları (Juffer et al. 1995) tarafından çalışılmış ve setlerin proteinin serbest enerjisine oldukça anlamlı katkılar verdiği gözlenmiştir.

Diğer taraftan, suyun evrensel bir çözücü olması ve biyomoleküllerin dinamiği ve yapısında önemli bir rol oynamasından dolayı su içerisinde bulunan bir peptit veya proteinin, protein-protein ve protein-su etkileşmelerinin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için çok sayıda su molekülünü temsil edecek modeller de geliştirilmiştir. Bu modellerin başlıcaları, “five-site rigid nonpolarizable model of liquid (TIP5p) (Mahoney and Jorgensen 2000)”, “four-point transferable intermolecular potential (TIP4p) (Jorgensen et al. 1985)”, three-point potential (TIP3p) (Jorgensen et al. 1983)”, single-point charge (SPC) (Brensdén et al. 1981) ve extended single-point charge (SPC/E) (Brensdén et al. 1981) su modelleridir. Bunlar temel olarak aynı olmakla beraber su molekülünü tam olarak temsil edebilen yük merkezlerinin yerlerinde (Şekil 2.12) ve kullandığı etkileşim parametrelerinde (Çizelge 2.2) farklılıklar vardır.



Şekil 2.12 Literatürdeki bazı su modellerinin şematik gösterimleri.

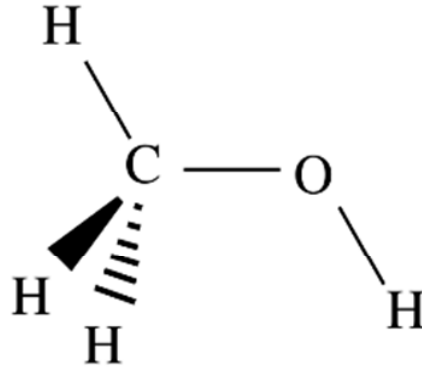
Çizelge 2.2 Çeşitli su modellerinin karşılaştırılması (Jorgensen et al., 1983).

Model	$R_{O-H}(A^0)$	θ_{HOH}	$q(H)$	$q(O)$	$q(M)$	$r(OM)A^0$
SPC	1.0	109.5	0.41	-0.82	0.0	0.0
TIP3p	0.957	104.5	0.417	-0.834	0.0	0.0
TIP4p	0.957	104.5	0.52	0.0	-1.04	0.15
TIP5p	0.957	104.5	0.241	0.0	-0.241	0.70

Hem Çizelge 2.2 hem de Şekil 2.12’de gösterilen $q(O)$ ve $q(H)$ oksijen ve hidrojen atomunun yüklerine, $q(M)$ ise keyfi M atomunun yüküne karşılık gelmektedir. Ayrıca Çizelge 2.2’de yer alan $r(OH)$, $r(OM)$ ve θ , ilgili atomlar arasındaki uzaklık ile çizelgede gösterilen atomlar arasındaki açı değerlerini göstermektedir.

Bütün bu popüler su modelleri, oda sıcaklığı ve 1 atm basınç altında suyun karakteristik özelliklerini temsil edebilen modellerdir. Literatürde bu modeller “explicit” su modelleri olarak bilinirken farklı ASP setleri ise “implicit” su modelleri olarak bilinmektedir. Moleküler dinamik simülasyonunda tek su molekülünü sunmak için genellikle Simple Point Charge (SPC) su modeli kullanılır. SPC su modeli su molekülünün 3 nokta yük merkezine sahip olduğunu ve hidrojen atomlarının pozitif yükte olduğunu ve oksijenin ise negatif yüklü olduğunu kabul eder. Bu hipotez su molekülünün yanlış dipol momente sahip olacağını tahmin ettiği için hidrojen-oksijen-hidrojen arasındaki deneysel olarak bulunan bağ açısının 104.45° ’den -109.42° ’ye değiştirilmesiyle düzeltilir. Bu değişiklik suyun deneysel değerine yakın olarak sürekli dipol momente sahip olmasını sağlar.

Bu su modellerinden farklı olarak çalışmamızda da kullandığımız Methanol (CH_3OH) 1 atm de 64.6°C de kaynayan akışkan bir sıvı olup en basit yapıya sahip bir alkoldür (Şekil 2.13). Bütün organik çözücülerde her oranda çözünür. Endüstride çözücü olarak bazı boyaların elde edilmesinde kullanılır.



Şekil 2.13 Methanol’ ün kimyasal yapısı

BÖLÜM 3

SİMÜLASYON YÖNTEMLERİ

3.1 SİMÜLASYON

Teknolojik gelişmelerin hızla devam ettiği günümüzde bilim hayatında simülasyon, önemi gittikçe artan bir konudur. Simülasyon, gerçek bir sistemi temsil eden modelin oluşturulması işlemidir. Bir sistemin ya da bir sürecin bilgisayar yardımıyla modelini kurmak, bu modelle hem sistemin davranışını incelemek hem de sistemin değişik şartlar altında işleyişini belirlemektir (Shannon 1975). Geçmişte fiziksel bilimler sadece deney ve teori ile karakterize ediliyordu. Deneyde sistem ölçümlere maruz bırakılıp sayısal biçimde ifade edilen sonuçlar elde edilirdi. Teoride ise, matematik denklem takımları ile sistemin bir modeli kurulur, daha sonra model sistemin davranışını tasvir eden denklemlerin çözümünü kolaylaştıracak şekilde geçerli hale getirilirdi. Deneyin olumsuz yanı, her sisteme uygulanabilirliğinin zorluğudur. Fakat gerçek değerlere çok yakın sonuçlar verir. Teorinin olumsuz yanı ise, model kurulurken karmaşıklıkları gidermek için çok fazla yaklaşımlar ve sadeleştirmeler yapılmasıdır. Fakat sistemler için basit ve kullanışlı ifadeler üretir. Yüksek hızlı bilgisayarların gelişimi ile birlikte, teori ile deney arasına “bilgisayar deneyi” denilen yeni bir unsur girmiştir.

Bilgisayar deneyinde modeli hala teorikçiler kurarlar, hesaplamaları ise belirli bir yönergeyi izleyen makineler yaparlar. Yönerge bir programlama dili olabilir. İşte bilgisayar deneyleri olarak tarif ettiğimiz şey aslında bilgisayar simülasyonlarıdır. Simülasyon bazen bir deney, bazen de bir teori olarak görülür. Bir yandan hala teorik olarak kurulmuş modellerle uğraşıyorken öte yandan deneysel fizikçinin yaptığı gibi sistemi istenildiği şekilde değiştiriyor, sonrada sonuçları analiz ediyoruz. O halde simülasyonu ne teori ne de deney sınıfına sokabiliriz. Bilgisayar simülasyonlarını düşünce deneyleri, yani gerçekte olması tam olarak mümkün olmayan fakat sonuçları ile olayları anlamamızı büyük ölçüde kolaylaştıran teorik bir sistem olarak düşünebiliriz (Fruio 1997). Simülasyon sadece deneyle teori arasında bir link değil, aynı zamanda yeni alanlarda gelişimini sürdüren güçlü bir araçtır. Yani

bilgisayar simülasyonu, sistemin mikroskobik detaylarından (atomların kütleleri, atomlar arası etkileşim, moleküler geometri vs.) deneyin makroskobik verilerine (durum denklemi, yapısal düzen parametresi vs.) doğru bir geçiş sağlar (Alder and Wainwright 1957). Endüstrideki birçok maddenin gelişimi ile bu maddelerin deneysel ortamlarda kullanılabilirliğinin zorluğu da göz önünde bulundurularak bilgisayar simülasyonlarına olan ihtiyaç artmıştır. Fiziksel alanda da mikro yapıdaki kimyasal olayların ve fiziksel özelliklerin simülasyon tekniği ile incelenmesi önemli bir adım olmuştur. Günümüzde özellikle atomik düzeyde simülasyon yoğun madde fiziği ve malzeme biliminin birçok alanında gittikçe önem kazanan bir araç haline gelmiştir (Kart vd 2005). Fiziksel bir sistemin bilgisayar ortamındaki simülasyonu, onun en basit modelidir. Sisteme en yakın benzetimi elde edebilmek için, sistemin gereksinimlerini karşılayacak en doğru yöntemi oluşturmak gerekir. Bilgisayar temelli simülasyonda karşılaşılan en büyük problem, maddelerin yapısal özellikleri ve tam doğrulukta bir termodinamik ile çok hızlı oluşabilen atomik etkileşmeler için uygun yöntemi bulabilmektir. Deneysel yaklaşımlardan bağımsız olarak oluşturulmuş bu yöntemler maddelerin yapısal, termodinamik ve dinamik özelliklerinin hesaplanabilmesi için uygun olmalıdır. Maddelerin bu özelliklerini ve eğilimlerini belirlemeye imkân veren klasik yaklaşımı temel prensip olarak kabul etmiş birçok metot vardır. Moleküler Dinamik (MD), Moleküler Mekanik (MM), Monte Carlo (MC), Örgü Optimizasyonu, Enerji Minimizasyonu (EM) gibi yöntemler bunlara örnek olarak gösterilebilirler (Fruio 1997).

3.2 SİMÜLASYON TEKNİKLERİ

Bilgisayar simülasyon yöntemleri problem çözmede son derece etkilidir. Bu sebeple farklı amaçları gerçekleştirmek için değişik alanlarda uygulanabilen ve günümüzde pek çok alanda yaygınlaşan bir araç olmuştur. Simülasyon teknikleri ekonomi, pazarlama, eğitim, politika, sosyal bilimler, davranış bilimleri, ulaşım gibi pek çok değişik alanda kullanılmaktadır. Bilimsel amaçlı olarak simülasyonun ele alınışı 1944 yılına rastlar. İlk simülasyon çalışması Von Neuman ve Slam tarafından II. Dünya savaşı sırasında yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda bilgisayarların kullanım alanlarına girmesiyle açıkça anlaşılamayan, deneysel olarak ortaya konması mümkün olmayan bir çok teorik çalışma simülasyon teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Bilgisayar simülasyonları yardımıyla analitik çözümü tam olarak yapılamayan problemlerin çözümleri yapılabilmekte, karmaşık sistemlerin incelenmesini ve bunların davranışlarının açıklanması mümkün kılınmaktadır. Kuramsal fizik alanında ortaya atılan varsayımların gerçekte tutarlılığı simülasyon hesaplarıyla kolayca ispatlanabilmektedir.

Bilgisayar simülasyonları Monte Carlo (MC) ve Moleküler Dinamik (MD) olmak üzere iki ana gruba ayrılabilir. Bunlara ek olarak iki özelliği de barındıran karma teknikler de vardır. Biz bu tez çalışmamızdaki konumuz itibari ile MD üzerine yoğunlaşacağız. MD' nin MC üzerine en belirgin avantajı (transport sabitleri, zamana bağımlı tepkilerin pertürbasyonları ve spektrumlar gibi) sistemin dinamik özelliklerini bulmakta yardımcı olmasıdır: Bir sistemin simülasyonu, bu sistemi temsil edebilecek bir model oluşturma işlemidir. Model, incelenecek herhangi bir sistemin temsidir ve sistemi açıklamak, anlamak veya geliştirmek için kurulur. Modeller, temsil ettiği sistem üzerinde hesaplamaların ve işlemlerin yapılarak incelenmesine olanak sağlar. Bu sayede gerçek sistemin davranışları ve yapısı hakkında bilgiler edinilir (Gibson et al. 1960). Modeller, matematiksel veya fiziksel modeller olarak sınıflandırılabilir. Bir matematiksel model, sistemi temsil etmek için sembolik notasyon ve matematiksel denklemleri kullanır. Simülasyon modeli, belirli tipte bir matematiksel sistem modelidir.

Simülasyon modelleri deterministik ve stokastik olarak iki ayrı grupta sınıflandırılabilir. Davranışı daha önceden tahmin edilebilen rastsal değişken içermeyen ve gelecekte ne tür davranışlara gireceği bilinen modeller deterministik modellerdir. Bu modelde sistemdeki mekanizma açık ve belirgin bir şekilde tanımlanır. Deterministik modellerde değişkenler rastsal değildir. Davranışı daha önceden bütünüyle kestirilemeyen en az bir tane rastsal değişken içeren modellere stokastik model denir. Stokastik simülasyon modeli girdi olarak bir veya daha fazla rastsal değişkeni göz önüne almaktadır. Sonuçlar rastsal olduğu için, bu sonuçlar modelin gerçek karakteristiklerinin tahminleri olarak göz önüne alınabilirler. Bu tip modellerde süreç, olasılık dağılımları ile temsil edilebilmektedirler. Stokastik modeller deterministik modellerden daha karmaşık olduğu için bu modellere çözümler bulmak ve bulunan çözümlerin analitik olarak yeterli olması deterministik modellere kıyasla daha güçtür.

Moleküler Dinamik deterministik, Monte Carlo simülasyonu ise stokastik simülasyon modelidir.

3.2.1 Monte Carlo Yöntemi (MC)

Monte Carlo simülasyon yöntemi bir problemi çözmek için rastgele sayıları kullanan nümerik bir tekniktir. Bu yöntem ile gerçek bir durumun stokastik modelini oluşturup, bu model üzerinden örnekleme deneyleri hazırlanır. Monte Carlo yöntemi; Von Neumann, Ulam ve Metropolis tarafından 2.dünya savaşı sonunda atom bombasının geliştirildiği Los Alamos Ulusal Labratuvarında, bombanın patlamasından sonra dağılan nötronlara karşı kalkan

modellemek için geliştirilmiştir. Monte Carlo yöntemi üzerine ilk yayın 1949 yılında Metropolis ve Ulam tarafından yayınlanan bilimsel makaledir (Metropolis et al. 1949).

İstatistik fiziğin ilgi alanlarından birisi de makroskobik gözlenebilir niceliklerin ortalama değerlerini hesaplamaktır. Kanonik bir toplulukta $A(x)$ gözlenebilir niceliğinin ortalaması;

$$\langle A(x) \rangle = \frac{1}{Z} \int dx \exp[-H(x)/k_B T] A(x) \quad (3.1)$$

şeklinde tanımlanır. Burada Z ;

$$Z = \int dx \exp[-H(x)/k_B T] \quad (3.2)$$

ile verilen üleşim fonksiyonu, k_B Boltzmann sabiti ve T sıcaklıktır. Bu ifadelerde x , bir noktayı faz uzayında tam olarak belirlemek için gerekli koordinatlar takımını gösterir. N parçacıklı bir sistem için bu ifadelerde dx aşağıdaki gibi gösterilebilir.

$$dx = dx_1 dy_1 dz_1 \dots dz_N dp_{x_1} dp_{y_1} dp_{z_1} \dots dp_{z_N} \quad (3.3)$$

Normalize Boltzmann faktörü ise;

$$P(x) = \frac{1}{Z} \int dx \exp[-H(x)/k_B T] \quad (3.4)$$

termal dengede x konfigürasyonunun meydana geldiği istatistiksel ağırlığı anlatan olasılık yoğunluğu rolünü oynar.

Monte Carlo yöntemi Eşitlik 3.1'e yaklaşma fikrinden başlar; burada istatistiksel örnek olarak kullanılan $\{x_1, x_2, \dots, x_M\}$ faz uzayı noktalarının karakteristik bir alt kümesini kullanarak sonlu bir integrasyon ile $p(x)$ ağırlıklı tüm $\{x\}$ durumları üzerinden integral alınır. Açıkça $M \rightarrow \infty$ limitinde,

$$\langle A(x) \rangle = \frac{\sum_{i=1}^M \exp[-H(x_i)/k_B T] A(x_i)}{\sum_{i=1}^M \exp[-H(x_i)/k_B T]} \quad (3.5)$$

toplamı Eşitlik 3.1'e yaklaşır.

Monte Carlo simülasyonu gerçekleştirmek için rastgele, birbirinden bağımsız, reel ve düzgün olarak dağılmış (sıfırdan bire kadar) bir dizi sayı gereklidir. Metodun bir probleme uygulanması, problemde bu sayıları kullanarak defalarca simüle edilip, hesap edilmek istenen parametrenin bu simülasyonların sonuçlarına bakılarak yaklaşık olarak hesaplanması fikrine dayanmaktadır.

Günümüzde Monte Carlo metotları; nümerik integrasyonu, stokastik optimizasyon sistem analizi, kısmî diferansiyel denklemler, integral denklemler, ekonomik modelleme, matematiksel finans, kuantum mekaniği, istatistiksel fizik, nükleer ve katı hal fiziği, sosyal bilimler dallarında kullanılmaktadır (Breismeister 1993). Monte Carlo benzetiminde bir deneyin sonucunu tahmin etmek için rastgele örneklemeden yararlanılır. Monte Carlo Yönteminde izlenen adımlar şunlardır. Probleme ait önemli değişkenler belirlenip, bu değişkenlerin olasılık dağılımları saptanır. Olasılık dağılımları değişken değerlerinin özel bir alanla sınırlandırılmış olması, eşit şanslara sahip olması veya aynı olasılıklara sahip olması durumunda mevcuttur. Her bir değişken için rastgele sayı aralıkları belirlenir, rastgele sayılar seçilir veya üretilir. Seçilen rastgele sayılar kullanılarak denemeler gerçekleştirilir.

Bu sayılar iki önemli şartı sağlamaktadırlar;

- 1- Bütün değerlerin meydana gelmesi eşit şansa sahiptir.
- 2- Bütün yeni değerler bütün önceki elde edilen değerlerden bağımsızdır.

3.2.2 Moleküler Dinamik Yöntemi (MD)

Moleküler dinamik çok parçacıklı sistemlerin, faz uzayında gösterilen noktalar boyunca, klasik mekanik yasaları temel alınarak elde edilmiş hareket denklemlerinin bir bilgisayar yardımıyla çözülmesini sağlayan simülasyon tekniğidir. Moleküler dinamik metodu ilk kez Alder ve Wainwright tarafından 1950'nin sonlarında sert küre yaklaşımında etkileşimleri incelemek için kullanılmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalarda en büyük sıçrama ise 1964'te gerçekleşmiştir. Rahman (Rahman 1964) sıvı argon için gerçekçi bir potansiyel kullanarak ilk simülasyonu gerçekleştirmiştir. Günümüzde MD metotları ile çalışmaların yoğun olarak devam ettiği görülmektedir. MD, etkileşen atomların zaman içindeki gelişimini, onların hareket denklemlerinin çözümü ile izleyen bir bilgisayar simülasyon tekniğidir. Temeli, moleküler mekanik yönteminde olduğu gibi, dinamik klasik mekanik yasalarıdır. İlk konumlarla hızlar verildiğinde, sistemin daha sonraki zaman içerisindeki gelişimi prensip

olarak belirlenebilir. Bu durumu simülasyon tekniği içerisinde bir düşünce deneyi gibi tasvir edecek olursak, atomlar bilgisayarın içine doğru hareket edecekler, birbirleri ile çarpışacaklar, çevreleri ile etkileşime girecekler (sistem sıvı ise), komşu atomları ile uyum halinde dalga içinde salınacaklar, serbest bir yüzey varsa belki de buharlaşarak sistemden uzaklaşacaklardır. Yani gerçek bir maddedeki atomların yaptıklarına benzer davranacaklardır (Fruio 1997).

Moleküler dinamik simülasyon metodu, fiziksel bir sistemin mikroskobik yapısını sistem birkaç veya çok parçacıklı olsa dahi çok iyi bir şekilde tanımlar. Sistemin tanımlanması Hamiltoniyen, Lagrangien veya Newton hareket denklemleriyle yapılabilir. Moleküler dinamikte bu tanımladığımız hareket denklemleri bir bilgisayar yardımıyla sayısal olarak çözülür. Bunun için denklemler, bilgisayarda sayısal değerlendirmeye uygun şemalara dönüştürülür. Hareket denklemleri içinde yer alan kuvvet terimleri parçacıkların birbirleriyle etkileşmelerini temsil eden bir potansiyel enerji fonksiyonundan türetilir. Moleküler dinamik hesaplamalarında sistemin faz uzayında minimum enerjili bir konuma yerleşmesi ve burada dengelenmesi amaçlanır. Faz uzayında denge durumuna yerleşen sistem gerçek bir sistemin pek çok özelliğini doğru olarak yansıtabilir. Moleküler dinamik yönteminin bu özelliğinden yararlanılarak bilgisayar üzerinde gerçek deneylere benzer sayısal deneyler yapılabilir (Demircioğlu 2007). Moleküler dinamik yöntemi, genellikle analitik çözümü tam olarak yapılamayan problemlerin sayısal çözümlerini elde etmeyi ve belirli sistemler için kurulan modellerin deneysel çalışmalar ile karşılaştırılmalarını amaçlar. Moleküler dinamik hesaplamalarında iyi tasarlanmış modeller kullanılarak, bir sistemin deneysel olarak gözlenmesi zor veya imkânsız davranışlarını da incelemek mümkündür (Fruio 1997). Moleküler dinamik, istatistik mekanik yolu ile yoğun madde fiziğine bağlanır. Moleküler dinamik simülasyon ile hareket denklemlerinin çözümü sayesinde atomların konumları ve hızları da dahil olmak üzere atomik düzeyde pek çok bilgi verir. Bu edinilen bilgilerin basınç, enerji, ısı kapasitesi gibi birçok mikroskobik verilere çevrilmesi istatistik mekanik yasaları ile sağlanır. Bu durumda istatistik mekanik, moleküler dinamiğin temelidir. Moleküler dinamik simülasyonda, mikroskobik simülasyonlar ile bir sistemin makroskobik özellikleri üretilmeye çalışılır. İki sistem arasındaki ilişki istatistik mekanik yardımı ile kurulur. Termodinamik ile de, gözlenebilir fiziksel niceliklerin deney sonuçları ile ilişkisi incelenir (Ercolessi 1997).

Moleküler dinamik yönteminde bir başka önemli nokta faz diyagramlarıdır. Bir madde bağ kuvvetleri etkisinde denge halinde bulunan atomlar topluluğundan oluşur. Özellikleri ve kompozisyonu homojen olan ve maddenin diğer bölgelerinden fiziksel olarak ayırt edilebilen

kısım faz olarak adlandırılır. Faz diyagramı ise, bir malzemenin sıcaklık, basınç ve element oranı gibi değişkenlere bağlı olarak sistemin çeşitli şartlarda hangi fazlarda bulunduğunu değerlerle ve çizgilerle gösteren faz haritalarıdır. Moleküler dinamik hesaplamalarla sistem üzerindeki çevre şartlarını değiştirebilir ve faz diyagramlarından sistemin bu değişimlere nasıl tepkiler verebileceğini belirleyebiliriz. Ayrıca sistemdeki değişimlerin ne şekilde yapabileceğine dair bir ön bilgi de faz diyagramlarından elde edilebilir (Cebe 1995).

Bu durumda sistemimizi, MD simülasyon metodu ile inceleme aşamasında bazı temel adımlara dikkat edilmesi gerekir. Bunlar;

- i) Sistemi inceleyebileceğimiz uygun bir metodun seçilmesi.
- ii) Sistemin içerisindeki atomik etkileşimleri tamamen tanımlayan bir potansiyel fonksiyonunun seçilmesi.
- iii) Sistemde ölçülebilen nicelikleri ya da ölçmek istediğimiz nicelikleri hesaplayabilecek bilgisayar programının hazırlanıp işletilmesi.
- iv) Sistem için ön bilgilerin belirlenmesi.

Moleküler dinamik birçok uygulama alanında geçmişten günümüze varlık göstermektedir. Bunları aşağıdaki gibi sınıflandırmak mümkündür.

- a) **Temel araştırmalar:** Dengelenme, Moleküler kaosun denenmesi testi, kinetik teori, difüzyon, transport özellikleri, boyuta (size) bağlılık, modellerin ve potansiyel fonksiyonlarının test edilmesi.
- b) **Faz geçişleri:** Birinci-ve ikinci-mertebeden faz geçişleri, aynı anda (bir arada) olan fazlar, düzen parametreleri, kritik olaylar.
- c) **Kollektif davranışlar:** Uzay-zaman-korelasyon fonksiyonunun bozunması, dönme ve ötelemenin eşleşmesi, titreşim, spektroskopik ölçümler, yönelme mertebesi, dielektrik özellikler.
- d) **Karmaşık sıvılar:** Camların yapısı ve dinamiği, moleküler sıvılar, saf su ve sulu çözeltiler, sıvı kristaller, iyonik sıvılar, sıvı ara yüzeyleri, filmler ve çok ince tabakalar.
- e) **Polimerler:** Zincirler, halkalar ve dallanmış moleküller, zarlar, denge konfigürasyonları, rölaksasyon ve taşınma süreçleri.
- f) **Katılar:** Kristal kusuru oluşumu ve hareketi, kırılma, tane sınırları, yapısal dönüşümler, radyasyon zararları, elastik ve plastik mekaniksel özellikler, sürtünme, şok dalgaları, moleküler kristaller, cluster'lar, epitaksiyel büyüme.

- g) **Biyomoleküller:** Proteinlerin yapısı ve dinamiği.
- h) **Akışkan dinamiği:** Laminer akış, sınır tabakaları, Newtonian olmayan sıvıların reolojisi, kararsız akış vs (Rapaport 2004).

BÖLÜM 4

MOLEKÜLER DİNAMİK

4.1 MOLEKÜLER DİNAMİK HESAPLAMA YÖNTEMİ

Moleküler Dinamik yöntemi, genellikle analitik çözümü tam olarak yapılamayan problemlerin sayısal çözümlerini elde etmeyi ve belirli sistemler için kurulan modellerin deneysel çalışmalar ile karşılaştırmalarını amaçlar. Moleküler dinamik hesaplamalarında iyi tasarlanmış modeller kullanılarak, bir sistemin deneysel olarak gözlenmesi zor veya imkânsız davranışlarını da incelemek mümkündür. Bir sistemin ‘termodinamik durumu’ genellikle, sıcaklık(T), basınç(P) ve parçacık sayısı(N) gibi parametreler ile tanımlanır.

Diğer termodinamik özellikler ‘hal denklemi’ ve temel termodinamik denklem bağıntılarından türetilir. Bir sistemin ‘mekanik’ veya ‘mikroskobik durumu’ atomik konumlar (q) ve momentumlar (p) yardımı ile tanımlanır. p ve q ’ya faz uzayı denilen çok boyutlu uzayda koordinatlar olarak bakılır. N parçacıklı sistemde bu uzay $6N$ boyutlu olur. Γ ile belirtilebilen faz uzayında tek bir nokta, sistemin durumunu tasvir eder. Bir küme, belirli bir termodinamik durumu sağlayan faz uzayındaki noktalar topluluğudur. Moleküler dinamik simülasyonları faz uzayında zamanın fonksiyonu olarak noktalar dizisi oluşturur. Bu noktalar aynı kümeye ait olur ve sistemin farklı yapılarına ve momentumlarına karşılık gelir. Bir küme, farklı mikroskobik durumlara sahip olan fakat makroskobik veya termodinamik durumları özdeş olan sistemler topluluğudur. Farklı kümeler farklı karakteristiklere sahip olurlar

Moleküler Dinamikte kullanılan kümeler sistemin bulunduğu koşullara göre değişir. Moleküler Dinamikte kullanılan başlıca kümeler;

i) Mikroskobik küme (NVE): Termodinamik durum sabit sayıda atomlu (N), sabit hacimli (V) ve sabit enerjilidir (E). Bu izole bir sisteme karşılık gelir (Verlet 1967).

ii) Kanonik küme (NVT): Bu küme, termodinamik durumun sabit atom sayısı (N), sabit hacim (V) ve sabit sıcaklık (T) ile karakterize edildiği bir sistemler topluluğudur (Verlet 1967, Allen and Tildesly 1992).

iii) İzobarik-İzotermal küme (NPT): Bu kümede atom sayısı (N), basınç (P) ve sıcaklık (T) sabittir (Verlet 1967).

iv) Büyük Kanonik küme (μVT): Bu kümede ise termodinamik durum, sabit hacim (V), sabit sıcaklık (T) ve kimyasal potansiyel (μ) ile karakterize edilir.

Moleküler dinamikte genellikle fiziksel bir niceliği ölçmek, sistemin fiziksel özelliklerinin zaman ortalamalarını almak anlamına gelir. Fiziksel nicelikler genellikle konum ve hızın fonksiyonu olarak yazılırlar. İstatistik mekanikte, enerji, hız, ivme gibi gözlenebilen niceliklere karşılık gelen ortalamalar doğrudan küme ortalamalarının alınmasıyla hesaplanır. Küme ortalaması eş zamanlı olarak incelenen sistemin çok sayıda kopyası üzerinden alınan ortalamadır ve aşağıdaki gibi hesaplanabilir.

$$\langle A \rangle_{küme} = \int \int dp^N dr^N A(p^N, r^N) \rho(p^N, r^N) \quad (4.1)$$

Burada $A(p^N, r^N)$ ilgilenilen niceliktir ve sistemin konumları (r) ve momentumları (p)'nin cinsinden ifade edilir. $\rho(p^N, r^N)$ ise olasılık yoğunluğudur ve şöyle verilir;

$$\rho(p^N, r^N) = \frac{1}{Z} \exp \left[\frac{-H(p^N, r^N)}{k_B T} \right] \quad (4.2)$$

Burada H Hamiltonyen, T sıcaklık, k_B Boltzmann sabiti ve Z üleşim fonksiyonudur.

Üleşim fonksiyonu;

$$Z = \int \int dp^N dr^N \rho(p^N, r^N) \exp \left[\frac{-H(p^N, r^N)}{k_B T} \right] \quad (4.3)$$

ifadesiyle hesaplanır fakat bu integral sistemin mümkün olan bütün durumları üzerinden alındığından hesaplanması oldukça zordur.

Küme ortalamasının alınmasının başka bir yolu, ilgilenilen A niceliğinin zaman ortalamasını belirlemektir. Çünkü “Ergodic Hipotezi’ne” göre incelenen herhangi bir niceliğin zaman ortalaması küme ortalamasına eşittir.

$$\langle A \rangle_{\text{küme}} = \langle A \rangle_{\text{zaman}} \quad (4.4)$$

Zaman ortalaması ise aşağıdaki biçimde verilebilir.

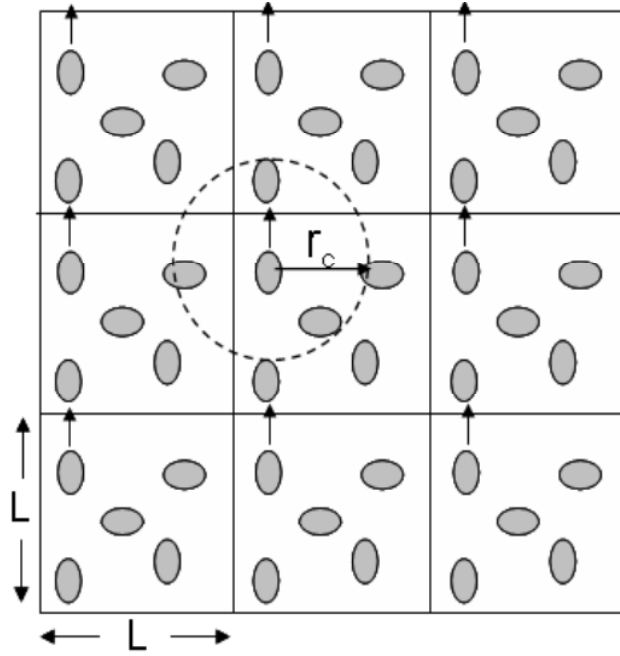
$$\bar{A} = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_0^T A(p(t)^N, r(t)^N) dt \gg \frac{1}{M} \sum_{t=1}^M (p(t)^N, r(t)^N) \quad (4.5)$$

Burada t simülasyon zamanı, M simülasyondaki zaman adımı sayısı, $A(p^N, r^N)$ ise A ’nın ani değeridir. Zaman ortalamasının hesaplamasında temel mantık sistemin süresiz olarak gelişimine izin verilip bu sayede mümkün olan bütün durumlardan geçmesini sağlamaktır. Buna göre Moleküler Dinamik (MD) simülasyonlarını amaçlarından biri bu eşitliği sağlayacak şekilde yeterince temsili parçacıklar oluşturmaktır.

4.2 MOLEKÜLER DİNAMİK TEKNİĞİNDE SINIR KOŞULLARI

MD tekniği atomik veya moleküler sistemlerin makroskobik özelliklerini incelemeyi amaçlar. MD tekniği ile çok parçacıklı sistemlerin yapısal ve termodinamiksel özellikleri incelenebilmektedir. Ancak incelenen sistemlerin yüzey etkileşimleri yani atomların içinde bulundukları kutunun duvarlarıyla olan etkileşimleri sistemin özelliklerini büyük oranda etkilemektedir. Hacimsel fazda çalışmak istediğimizde bu yüzey etkileşmelerinin etkisini önlemek için, N -parçacıklı sistemi bir hacim içinde kabul eden sınır koşulları seçilir. Bu ise genellikle “Periyodik sınır koşullarının” uygulanması ile mümkündür.

Bunun için Şekil 4.1’deki gibi iki boyutlu bir sistem düşünülür. Periyodik sınır koşullarına göre, V hacmini kaplayan N tane atomun bulunduğu hücreye “ana hücre” denir. Bu sistemde ana hücre ortadaki hücredir ve iki boyutta çalışıldığından bu hücreye komşu 8 adet hücre vardır. Komşu hücreler, ana hücreye bu hücre ile aynı boyut ve geometrik şekle sahiptir. Bu sanal hücrelerde de N tane atom bulunmaktadır, bunlara ana hücredeki atomların görüntü atomları denir.



Şekil 4.1 Periyodik sınır koşullarının uygulanması

Ana hücredeki bir i parçacığı r_i konumunda ise, L hücre büyüklüğü ve n tamsayı olmak üzere;

$$R(r_i) = R(r_i + nL) \quad (4.6)$$

konumlarında görüntü atomları bulunur. Böylece ana hücre, tüm doğrultularda görüntülenerek periyodik hale getirilir. Periyodik sınır koşullarının kullanıldığı simülasyon modellerindeki mantık Şekil 4.1’de gösterildiği gibi ana hücreden diğer bir komşu hücreye hareket eden parçacığa karşılık, sanalı da aynı hareketi yapar. Sonuç olarak ana hücredeki parçacık sayısı değişmez, bütün parçacıklar birbirleriyle etkileşir ve böylece ana hücre için sınır koşulları ortadan kalkmış olur. Periyodik sınır koşulları kullanılarak hücredeki atomlar arası etkileşimler hesaplanırken “kısa mesafelerdeki” etkileşimleri göz önünde tutulur. Bunun anlamı, ana hücredeki bir i atomunun toplam potansiyel enerjisi bir “ $rcut$ ” kesim mesafesinden küçük uzaklıklarda bulunan komşu atomlarla yaptığı etkileşimlerden oluşur. Periyodik sınır koşulları kullanıldığında $rcut$ ’ın periyodik hücre boyutunun yarısından küçük olması ($rcut < L/2$) önemlidir. Çünkü bu durumda i atomunun en yakın komşularla yaptığı etkileşimler dikkate alınmaktadır. Periyodik sınır koşulları, korunum yasalarını

sağlamaktadır. Sistemin toplam atom sayısı sabit ve sanal atomlar ana hücredeki atomlarla özdeş olduğundan kütle korunmaktadır.

4.3 MOLEKÜLER DİNAMİKTE KULLANILAN ALGORİTMALAR

Moleküler Dinamik, moleküler modellemede temel olarak kullanılan tekniklerden bir tanesidir. Moleküler Dinamik tekniğinde, bir sistemdeki moleküller arası ve molekül içi etkileşimleri gözönüne alınarak, Newton hareket denkleminin çözümünden her bir atom üzerindeki kuvvet hesaplanıp, sistemdeki atomların ivmeleri belirlenir. Hareket denkleminin integrasyonundan parçacığın zaman içinde değişen ivmesi, hızı ve yerini belirten yörüngesini elde edilir. Daha sonra yörüngeden istenilen özelliklerin ortalama değerleri belirlenebilir. Bu metot belirleyicidir (deterministik). Çünkü herhangi bir anda her bir atomun yeri ve hızı biliniyorsa, sistemin durumu geçmişte veya gelecekteki herhangi bir zaman için de belirlenebilir.

N tane atomdan oluşan bir sistem için Newton hareket denklemi Eşitlik 4.7' deki gibi yazılabilir.

$$m_i \frac{d^2 r_{i(t)}}{dt^2} = F_i(t) \quad (i= 1,2,3 \dots N) \quad (4.7)$$

Bu eşitlik de, r_i ve m_i , i . atomunun pozisyonunu ve kütesini ifade etmektedir. F_i ise t zamanındaki i . atom üzerine uygulanan kuvveti gösterir. Kuvvet, potansiyel enerjinin gradyanı olarak ifade edilebildiğinden;

$$\vec{F}_i = -\vec{\nabla}_i V(r_1, r_2, \dots, r_N) \quad (4.8)$$

Bu iki denklem birleştirilirse;

$$-\frac{\partial V}{\partial r_i} = m_i \frac{d^2 r_{i(t)}}{dt^2} \quad (4.9)$$

Eşitliği elde edilir. Hareket denkleminin basit çözümünden de aşağıdaki 4.10 eşitlikleri elde edilir.

$$\vec{a} = \frac{\vec{F}}{m}$$

$$\vec{v} = \vec{a}t + \vec{v}_0 \quad (4.10)$$

$$\vec{r} = \frac{1}{2}\vec{a}t^2 + \vec{v}_0t + \vec{r}_0$$

Bu denklemlerden görüleceği gibi yörüngenin hesaplanması için atomların başlangıç yerlerinin, başlangıç hız dağılımlarının ve potansiyel enerjinin gradyantından belirlenebilen ivmelerinin bilinmesine ihtiyaç vardır. Hareket denklemi belirleyicidir. Atomların başlangıçtaki yerleri ve hızları biliniyor ise her hangi bir zamandaki hız ve yerleri belirlenebilir. Simülasyonda atomların yerleri ve yapıları deneysel yapılardan belirlenebilir. Hızların başlangıç dağılımları genellikle rastgele dağılımlardan elde edilir. Rastgele hız dağılımlarının büyüklükleri istenilen sıcaklığı sağlamalı ve bütün momentumların toplamı sıfır olmalıdır.

Moleküler Dinamik yönteminde başlangıç konfigürasyonları sayısal algoritmalar tarafından belirlenmektedir. Başlangıç konfigürasyonları simülasyonun sonucu açısından önemlidir. Uygun olmayan bir konfigürasyondan başlanıldığında doğru sonuçlar elde etmek için çok uzun zaman dilimlerine ihtiyaç duyulmaktadır. Moleküler Dinamik yöntemi birçok kümeye uygulanmasına rağmen, Büyük Kanonik kümeye uygulamaları sınırlıdır. Bunun nedeni Büyük Kanonik kümenin hesaplanmasında kullanılan moleküllerin ilave edilmesi ve yok edilmesi yöntemi moleküler dinamikte Newton denkleminin integrasyonunda kesiklik meydana getirmektedir (Halie 1992).

Her bir kümede MD yöntemi için kullanılan algoritmalar, hareket denklemini zamana göre integre ederek moleküllerin pozisyonları hesaplamaktadır. Bunların temeli, bir “t” anında parçacığın bilinen konum, hız ve diğer dinamik bilgilerini kullanarak “ $t + \Delta t$ ” anındaki bilgilerini hesaplamaktır. Hareket denklemi standart sonlu fark algoritmaları kullanılarak çözülebilmektedir.

Bu yöntemin uygulanmasında temel esaslar;

1. İntegrasyon küçük zaman aralıklarına bölünür.

2. Bir parçacığa t zamanında etkiyen kuvvet, atomların pozisyonlarına göre kuvvet alanından hesaplanır.
3. Kuvvetten ivme belirlenir.
4. Buradan Δt süre sonraki konum ve hız belirlenir.
5. t ile t+ Δt zaman aralığında kuvvetin sabit kaldığı kabul edilir.

Moleküler Dinamik simülasyon tekniği kullanılarak incelenen sistemi oluşturan parçacıkların hareketlerini gösteren denklemlerin çözümünde çeşitli algoritmalarından faydalanılmaktadır. Bu algoritmalar; Verlet algoritmasının çeşitli varyasyonlarından oluşmaktadır ve en çok kullanılanları Verlet, Verlet Hız, Leap-Frog ve Beeman Algoritmalarıdır.

4.3.1 Verlet Algoritması

Verlet algoritması basit ve simetrik bir algoritmadır. Verlet algoritmasının başlangıç noktası Taylor serisidir. Taylor serisini kullanarak (Verlet 1967) Δt zamanı kadar öncesi ve sonrasını yazarsak aşağıdaki eşitlikler elde edilir.

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \frac{d\vec{r}}{dt} \Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2\vec{r}}{dt^2} \Delta t^2 + \dots \quad (4.11)$$

$$\vec{r}(t - \Delta t) = \vec{r}(t) - \frac{d\vec{r}}{dt} \Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2\vec{r}}{dt^2} \Delta t^2 + \dots \quad (4.12)$$

Eşitlik 4.11 ve 4.12 toplanıp düzenlendiğinde ise eşitlik 4.13elde edilir.

$$\vec{r}(t + \Delta t) = 2\vec{r}(t) - \vec{r}(t - \Delta t) + \frac{1}{2!} \frac{d^2\vec{r}}{dt^2} \Delta t^2 + \dots \quad (4.13)$$

Eşitlik 4.13 Verlet algoritması olarak bilinmektedir ve hızlar gerekmeden, moleküllerin pozisyonlarını belirler. Ancak kinetik enerjiyi belirlemek için hızların hesaplanması gerekmektedir. Eşitlik 4.13 kullanılarak hızlar hesaplanabilir.

$$\vec{V}(t) = \frac{\vec{r}(t+\Delta t) - \vec{r}(t-\Delta t)}{2\Delta t} \quad (4.14)$$

Verlet algoritması uygulanması kolay olmasına rağmen $t=0$ olduğu durumda hesaplama yapabilmek için $t = -\Delta t$ zamanındaki pozisyonlara ihtiyaç vardır.

Ayrıca hızların hesaplanmasında da bir dezavantaja sahiptir. Hızları hesaplarken o anda mevcut olan hızları hesaplar. Fakat bir sonraki pozisyonların belirlenmesi bir sonraki hızlara bağlıdır. Bunu geliştirmek için birçok modifikasyonlar yapılmıştır. Verlet algoritmasının dışında Leap - Frog Verlet algoritması ve Hız-Verlet algoritması en çok bilinen integrasyon yöntemleridir.

Orijinal Verlet ve Leap-Frog Verlet algoritmalarında kuvvet hesabı ilerleyen aşamada gerçekleşirken Hız-Verlet algoritmasında ise aynı aşamada gerçekleşir. Bu da hız hesabının pozisyon hesabı ile senkronize olmasını sağlar.

Hız-Verlet algoritmasında Δt süre sonundaki atomların koordinatları, $\Delta t/2$ ve Δt süreleri sonundaki atomların hızları sırasıyla aşağıdaki eşitlikleri yardımıyla hesaplanmaktadır.

$$\vec{r}(t + \Delta t) = \vec{r}(t) + \Delta t \vec{v}(t) + \frac{\Delta t \vec{a}(t)}{2} \quad (4.15)$$

$$\vec{v}(t + \Delta t) = \vec{v}(t + \Delta t/2) + \frac{\Delta t \vec{a}(t + \Delta t)}{2} \quad (4.16)$$

$$\vec{r}(t + \Delta t/2) = \vec{v}(t + \Delta t/2) + \frac{\Delta t \vec{a}(t)}{2} \quad (4.17)$$

Bunların dışında Moleküler Dinamik yönteminde kullanılan daha birçok integrasyon yöntemleri mevcuttur.

4.4 ETKİLEŞME HESAPLARI İÇİN KULLANILAN ALGORİTMALAR

Kuvvet alanı (force field) molekül içi ve moleküller arası etkileşimleri hesaplamak için kullanılır. Kuvvetler ve enerjiler temel olarak; bağlı etkileşimler (bonded interaction), bağlı olmayan etkileşimler (non-bonded interaction) ve özel etkileşimler olmak üzere üç tür etkileşimle hesaplanır.

4.4.1 Bağlı etkileşimler

Etkileşim fonksiyonlarını uygulamak yerine, bağ uzunluğu ve bağ açısı Gromacs'da, geleneksel “Shake” (Ryckaert et al. 1977) veya “Lincs” (Hess et al. 1997) algoritması kullanarak sınırlandırılabilir.

- **Shake Metodu**

Shake algoritması moleküler dinamik simülasyonu boyunca bağ geometri sınırlamalarını uyarlamak için geliştirilen ilk algoritmalarından biridir. Genellikle büyük moleküller için kullanılır. Tekrarlanabilir bir metottur. Sıralı olarak bütün bağlar gerçek uzunluklarına ayarlanır. Shake metodu basit ve nümerik olarak kararlıdır. Çünkü belirlenmiş tolerans içindeki bütün sınırlamalar ilk duruma getirilebilir. Eğer yer değistirmeler çok büyükse Shake metodu sonuç vermeyebilir. Shake metodunun tekrarlanabilir doğasından dolayı paralelize etmek zordur. Bu yüzden daha hızlı ve güvenilir sınırlama algoritmalarına ihtiyaç vardır.

- **Lincs Metodu**

Lincs algoritması, sınırlandırılmamış güncellemeden sonra bağları kendi gerçek uzunluklarına eşitleyen bir algoritmadır.

Tekrarlamalı bir metot değildir ve genellikle iki adımda kullanılır. Shake metoduna göre daha kararl ve hızlıdır fakat bu metot, sadece bağ sınırlamaları ve izole edilmiş aç sınırlamaları ile kullanılabilir. Kararlılığından dolayı bilhassa Brownian dinamiği için kullanışlıdır. Lincs algoritması moleküler dinamikte Leap-Frog veya Verlet tipi (MD) algoritması için uygun olarak hazırlanmıştır.

4.4.2 Bağlı olmayan etkileşimler

Uzun-mesafe Coulomb etkileşimleri 3 boyutlu “Ewald” toplamı (Ewald 1921) tekniği ile çözölür. Çünkü Ewald toplamı, çoğu sistem için daha güvenilir enerji tahminleri verir. Yüklardan oluşan sistemin elektrostatik potansiyeli, kısa ve uzun mesafe katkıların toplamı olarak ifade edilir. Şunu da hatırlatmak gerekir ki; elektrostatik kısım için olduğu gibi, kısa mesafeli potansiyeller için de r_{cut} değeri kesme (cut-off) olarak kullanılır. Seçilen değer potansiyelin elektrostatik olmayan kısmının doğasını hesaba katmaz.

4.5 ENERJİ MİNİMİZASYONU

Bir proteinin doğal konformasyonu, termodinamik açıdan en küçük serbest enerjiye sahip durumdaki kararlı yapıdır. Bu sebeple Moleküler Dinamik tekniğinde enerji minimizasyonu modellenmenin doğru yapılabilmesi açısından son derece önemlidir.

Minimizasyondaki amaç, modellenen sistemdeki enerjiyi temsil eden bir $f(x)$ fonksiyonunda tüm x değerleri için $f(x_0) \leq f(x)$ ifadesini sağlayan bir x_0 değeri bulmaktır. Enerji minimizasyonu için birçok algoritma bulunmaktadır. Bu algoritmalarındaki temel düşünce alt sınır içeren ve türevi hesaplanabilen sürekli fonksiyonlarda uygun doğrultu ve adım büyüklüğünde ilerleyip minimumlarının bulunmasıdır.

4.5.1 Steepest Descent Algoritması

Steepest Descent, algoritması minimizasyon için en etkin algoritma olmamasına karşın güçlü ve uygulanması kolay bir algoritmadır. Öncelikle bir “ r ” konum vektörü tanımlanıp kuvvet F , ve potansiyel enerji U hesaplanır.

Atomların yeni konumları şu denklem ile bulunur;

$$r_{n+1} = r_n + \frac{F_n}{\max(|F_n|)} \quad (4.18)$$

r_n ; maksimum yer değiştirme

F_n ; kuvvet veya potansiyel enerjinin gradyanı

$\max(|F_n|)$ ise kuvvetin maksimum büyüklüğüdür.

Atomların yeni konumlarının hesaplanmasından sonra, kuvvet ve enerji bu yeni konuma göre tekrar hesaplanır;

Yeni konuma göre hesaplanan potansiyel enerji bir önceki potansiyel enerjiden küçükse yani $V_{n+1} < V_n$ ise yeni pozisyon kabul edilir değilse yeni pozisyon reddedilir. Algoritma belirlenen iterasyon sayısına ulaştığında son bulur.

4.5.2 Conjugate Gradient Algoritması

Conjugate Gradient metodu Steepest Descent metoduna göre daha yavaştır. Conjugate Gradient metodunda kuvvet vektörü, potansiyel enerjinin gradyanının eksi işaretlisi olarak tanımlanmıştır. Gradyant vektörü verilen fonksiyonun en büyük artış yönünü gösterir. Bu nedenle, kuvvet vektörü potansiyel enerjideki en büyük azalış yönünü gösterir. Potansiyel enerjinin minimumu, gradyanti sıfıra eşitleyerek elde edilen denklemin r^N için çözümü ile bulunur.

$$r_{m+1} = r_m + \alpha_m d_m \quad (4.19)$$

Burada d_m adım (araştırma) yönüdür ve α araştırma yönünde potansiyel enerjiyi minimize eden sayıdır. α 'nın çözümü, noktasında potansiyel enerjinin gradyanının araştırma yönüne dik olmasını gerektirir.

4.6 MOLEKÜLER DİNAMİKTE SICAKLIK-BASINÇ KONTROLÜ

Moleküler Dinamikte sıcaklığı sabit tutmak için birçok neden vardır. Biyolojik yapılar sıcaklık değişimi ile farklı davranışlar gösterebilirler. Bu nedenle modelleme sonunda elde edilecek sonuçların analizlerinin doğru yapılabilmesi için simülasyon boyunca sıcaklığın kontrol edilmesi gerekir. Standart Moleküler Dinamik mikrokronik kümede yapılır fakat incelenen fiziksel sistemin belirli bir sıcaklık altındaki davranışları incelemek için bir sıcaklık termostatu kullanmak kaçınılmazdır. Termostatlar fiziksel sistemin istenilen sıcaklıklarda ve istenilen kümede incelemek için tasarlanmıştır.

Sistemin sıcaklığını kontrol etmenin pek çok yolu vardır. Sıcaklık kontrolü için literatürde bulunan en kolay yollardan birisi “hız ölçeklendirmesi” yapmaktır.

4.6.1 Hız Ölçeklendirmesi Metodu

İncelenen sistemin sıcaklığı sistemin ortalama kinetik enerjisi ile ilişkilidir.

$$\langle KE \rangle = \frac{3}{2} k_B N T \quad (4.20)$$

Dolayısıyla sıcaklığı kontrol altına almak için hızı kontrol altına almak gereklidir. Herhangi bir “t” zamanında sistemin sıcaklığı “T(t)” ise ve parçacıkların hızlarını bir “λ” faktörü ile çarparsak;

$$\Delta T = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{2}{3} \frac{m_i}{Nk_B} (\lambda v_i)^2 - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{2}{3} \frac{m_i}{Nk_B} (v_i)^2 \quad (4.21)$$

$$\Delta T = (\lambda^2 - 1)T(t) \quad (4.22)$$

Eşitlik 4.21 ve Eşitlik 4.22’de verilen formlar oluşacaktır. Her iki eşitlikten de “λ ” faktörü,

$$\lambda = \sqrt{\frac{T_{yeni}}{T(t)}} \quad (4.23)$$

olarak bulunacaktır. Sıcaklığı istenilen değerde tutmak için parçacıkların hızlarını her adımda “λ” faktörü ile çarpmamız gerekir. Bu yönteme “hız ölçeklendirme metodu” denir. Bu yöntemin dezavantajı kanonik kümede sıcaklık dalgalanmalarına izin vermemesidir.

4.6.2 Berendsen Sıcaklık Çiftlenimi

Sıcaklığı kontrol etmek için alternatif bir diğer yöntem ise, incelenen sistemi ile sabit bir sıcaklıkta bulunan ısı tankı ile etkileşimde tutarak sıcaklığı istenilen değere getirmektir (Berendsen et al. 1984).

Sıcaklık değişim oranı, sistem ile ısı tankı arasındaki sıcaklık farkı ile orantılıdır.

$$\frac{dT(t)}{dt} = \frac{1}{\tau} (\tau_{bath} - T(t)) \quad (4.25)$$

“τ” çiftlenim parametresidir. Bu parametrenin büyüklüğü sistem ile ısı tankı arasındaki etkileşimin boyutunu belirler.

Sıcaklıktaki değişim;

$$\Delta T = \frac{\delta t}{\tau} (\tau_{\text{bath}} - T(t)) \quad \text{bu durumda} \quad (4.26)$$

$$\lambda^2 = 1 + \frac{\partial t}{\partial \tau} \left(\frac{T_{\text{bath}}}{T(t)} \right) - 1 \quad (4.27)$$

" τ " çiftlenim parametresi büyük ise sistem ile ısı tankı arasındaki çiftlenim zayıf, küçük ise güçlü olur. " $\tau = \delta t$ " ise algoritma basit hız ölçeklendirme yöntemine dönüşür.

4.6.3 Genişletilmiş Sistem Metodu

"Hız Ölçeklendirme" yöntemleri tam olarak kanonik küme oluşturamaz. Bu yöntemler sonucunda incelenen fiziksel sistem istenilen sıcaklık değerine getirilse de çözücü ve çözünen sıcaklıkları birbirinden az da olsa farklılık gösterir.

Simülasyon çalışmamızı kanonik kümede gerçekleştirmek için "genişletilmiş sistem metodunu" kullanırız. Genişletilmiş Sistem Metodu Nose-Hoover tarafından geliştirilmiş bir metottur. Bu metot, incelenen fiziksel sistemle birleşik ve ek serbestlik derecesine sahip bir ısı deposuyla etkileşim mantığına dayanır. Bu ısı banyosunun potansiyel enerjisi ;

$$U = (f + 1)k_B \quad \text{dir.} \quad (4.28)$$

Kinetik enerjisi ise;

$$K = \left(\frac{Q}{2} \right) \left(\frac{ds}{dt} \right)^2 \quad (4.29)$$

Q boyutu (enerji) $\times$ (zaman)² olan ekstra serbestlik derecelerinin kütlesidir ve gerçek sistemle ısı deposunun çiftlenim büyüklüğünü belirler.

İncelediğimiz gerçek fiziksel sistem ile bu sisteme ısı deposu entegre ederek oluşturduğumuz genişletilmiş sistemimizin hızları arasında bir ilişki vardır.

Gerçek sistemimizde bulunan parçacıkların hızlarını;

$$\vec{V}_i = s \frac{d\vec{r}_i}{dt} \quad (4.30)$$

şeklinde tanımlarız. Gerçek sistemimizdeki zaman adımı dt , genişletilmiş sistemimizdeki zaman adımına dt' dersek.

$$dt = s dt' \quad (4.31)$$

Ek serbestlik derece sayısı olan “ s ” değişebilir. “ s ” ek serbestlik değeri değiştikçe parçacık hızlarını bağlı olarak gerçek sistemimizdeki sıcaklık değişir. Bu sayede gerçek sistemimiz ile ısı deposu arasında ısı geçişi olacak ve sistem istenilen sıcaklığa erişecektir.

4.6.4 Parinello-Rahman Basınç Çiftlenimi

Moleküler Dinamik yönteminde, sabit hacim yerine sabit basınç altında simülasyon yapmak istenilen bir durumdur. Bu durumda, basınç değişimi de sıcaklık değişimi gibi simülasyon sonucunu etkileyeceğinden, kontrol altına alınması gereken bir parametredir. 1980 yılında basıncı sabitlemek için Parinello ve Rahman (PR) (Parinello and Rahman 1981) tarafından anizotropik sistemlere uygulanabilecek bir yöntem geliştirilmiştir.

Bu yöntemde, yalıtılmış N parçacıklı sistem için toplam iç enerji ve simülasyon kutusunun hacmi bağımsız değişkenler olarak alınır. Kutunun kenarları $b=(A,B,C)$ şeklinde bir matris oluşturacak biçimde $A(t)$, $B(t)$ ve $C(t)$ ile tanımlanan lineer bağımsız ve zamanın fonksiyonu olan üç vektörle ifade edilir. Parinello ve Rahman yaklaşımında kutu içindeki bir i atomunun hareket denklemi (Haile 1992).

$$\frac{d^2b}{dt^2} = VW^{-1}b^{I-1}(P_{ref} - P_{dış}) \quad (4.32)$$

ile verilir. Burada, V simülasyon kutusun hacmi, P_{ref} istenilen basınç değeri, $P_{dış}$ sisteme uygulanan dış basınçtır. W matrisi denklem 4.33 ile ifade edilir ve sistem ile basınç tankının etkileşiminin büyüklüğünü belirler,

$$(W^{-1})_{i,j} = \frac{4\pi^2 \beta_{i,j}}{3T_p^2 L} \quad (4.33)$$

Parinello-Rahman yaklaşımı ile simülasyonda basınç zaman sabiti τ_p izotermal sıkıştırılabilirlik β , belirlemekle sistemin basıncı kontrol altına alınır.

BÖLÜM 5

SİMÜLASYON ÇALIŞMALARI

Son zamanlarda, insan hastalıklarının tedavisinde kullanılan tedavi edici protein ilaçları, biopharmaceutical tıpta geniş bir potansiyele sahip hale gelmiştir (Pharm Technol Europe 2006, Jenksin N Cytotechnology 2007) ve bu tip ilaçların sayısının artırılmasına yönelik çalışmalar halen sürdürülmektedir. Bu ilaçların geliştirilmesinde karşılaşılan en büyük problem proteinlerin kararlılığıdır (Rathore et al. 2008). Proteinlerin veya peptitlerin doğal fonksiyonel katlanma yapıları çeşitli çevresel koşullarda (ph, sıcaklık, basınç, yarı-ömür, çözücü ortam gibi) kolaylıkla bozulabilmektedir. Tedavi edici protein ilaçlarının aktivitesi çoğunlukla onların konformasyonel yapısına bağlı olduğundan, kararsızlığı azaltmak ve önlemek için protein ilaçlarının üretimi boyunca doğal konformasyonunun dolayısıyla dengenin sağlanması gerekmektedir. Bu anlamda protein bazlı ilaçların üretiminde doğal konformasyonların korunması, ilaçların saklanması ve taşınması biopharmaceutical endüstrinin en temel sorunlardan birisidir (Rathore et al. 2008, Basharov 2003, Krishnamurty et al. 2002, Frokjaer et al. 2005). Bu amaçla tasarlanan peptid bazlı ilaç dizaynlarının kararlı ikincil yapıları ve bunların dış etkenlerle değişimlerini ortaya koyan deneysel çalışmalar (spektral yöntemler) literatürde geniş yer bulmaktadır. Bunun yanında, protein ve peptidlerin bilgisayar simülasyon teknikleriyle de ikincil yapıları incelenebilmektedir. Geliştirilen bu tekniklerden elde edilen sonuçlar deneysel verilerle oldukça uyuşmaktadır. Bu amaçla çok daha hızlı ve ucuz bir yöntemle, deneysel olarak izlenmesi zor bir etki veya katkı, simülasyonlar vasıtasıyla elde edilerek değerlendirilme olanağı sağlanmaktadır.

Tez çalışmamızda, klinik tedavilerde yüksek oranda kullanılan (Chesnut et al. 2008) ve postmenopausal (menopoz döneminin son evresi), osteoporosis (kemik erimesi), hypercalcemia (kemik hastalığı) (Inzerillo et al.1999, Findlay and Sexton 2004, Chesnut et al. 2008) gibi birçok hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahip olan, ikincil yapısı ve biyoaktifliği deneysel olarak tespit edilmiş (Andreotti et al. 2006, Lee et al. 2009, Lee and Lin 2011), Calcitonin (CT) peptidinin bir tipi olan Salmon Calcitonin (sCT) (pdb kodu 2GLH)

peptidinin ikincil yapısı, Moleküler Dinamik Simülasyon (MD) metodu ile incelenmiştir. 32 yüksüz aminoasitten oluşan sCT peptidinin aminoasit dizilimi, 3 harfli gösterim kullanılarak aşağıda verilmiştir.

Cys-Ser-Asn-Leu-Ser-Thr-Cys-Val-Leu-Gly-Lys-Leu-Ser-Gln-Glu-Leu-His-Lys-Leu-Gln-Thr-Tyr-Pro-Arg-Thr-Asn-Thr-Gly-Ser-Gly-Thr-Pro

5.1 MATARYEL VE METOD

Moleküler Dinamik Simülasyon yöntemiyle incelemeye çalıştığımız sCT' nin başlangıç yapısı olarak, protein data bankta (pdb kodu:2GLH) mevcut olan ve NMR ile elde edilmiş (Andreotti et al. 2006) yapı kullanılmıştır. Literatürde SPC, TIP3p, TIP4p ve TIP5p olarak adlandırılan ve detayları Bölüm 2.4.2'de "Su Modelleri" başlığı altında anlatılan, dört farklı su modeli ve Methanol ortamında gerçekleştirilen simülasyonlarımızın sonuçlarından analiz edilen sCT peptidinin sıcaklık ve basınç değişimleri, üç boyutlu konformasyonel yapıları, RMSD değerleri ve ikincil yapıları deneysel sonuçlar ile karşılaştırılmış ve çözücünün etkisi ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bunun yanında bazı çözücülerde sıcaklık etkisi de analiz edilerek deneysel sonuçlarla karşılaştırılmıştır. Elde edilen sonuçlar Bölüm 5.3'te sunulmuştur.

Çalışmamızdaki tüm simülasyonlar GROMACS (van der Spoel et al.2005, van Gunsteren et al. 1996) paket programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. "Groningen Machine for Chemical Simulations"ın baş harflerinden oluşan GROMACS (Gromacs, <http://www.Gromacs.org>) ilk olarak Groningen Üniversitesi'nin Biyofiziksel Kimya Bölümü tarafından geliştirilen açık kaynak kodlu bir yazılım paketidir. Gromacs projesi aslında 1990'ların başında halka mimarisine dayanan moleküler simülasyonlar için paralel bilgisayar sistemi oluşturmak amacıyla dizayn edilmiştir. GROMACS protein, lipid, polimer gibi biyomolekülleri simüle etmeye yarayan bir programdır. Birçok sistem üzerinde derlenebilir ve standart mesaj geçiş arayüzü olarak adlandırılan MPI (MessagePassing Interface) kullanılarak paralel olarak çalıştırılabilir. Bununla birlikte GROMACS birden fazla kuvvet alanını destekler ve açık kaynak kodlu doğasından dolayı oldukça esnek bir programdır.

Bu programda enerjileri hesaplamak için OPLS-AA/L kuvvet alanı (Force Field) kullanılmıştır. Sistemi ele alırken NPT (parçacık sayısı, basınç ve sıcaklık sabit) toplulukta

simülasyonlar yapılmıştır. Çözücüü temsil etmek için dört farklı su modeli; five-site rigid nonpolarizable model of liquid liquid (TIP5p) (Mahoney and Jorgensen 2000)”, “four-point transferable intermolecular potential (TIP4p) (Jorgensen et al. 1985)”, three-point potential (TIP3p) (Jorgensen et al. 1983) ve single-point charge (SPC) (Brensdn et al.1981) su modelleri ve bunlara ek olarak Methanol seçilmiştir. Her simülasyon için bir protokol izlenmiştir. Biyomolekülleri oluşturan atomların hızları $T = 300$ K için, Maxwell-Boltzman hız dağılım fonksiyonu ile belirlenmiştir. MD simülasyonu için atomların konumlarının ve hızlarının belirlenmesi için standart Verlet algoritması kullanılmış ve moleküler dinamik zaman adımı 2 fs olarak seçilmiştir. Yapılan simülasyon çalışmalarında periyodik sınır koşullarını kullanabilmek ve sistemin büyüklüğünü sınırlamak için incelenen yapılar bir simülasyon kutusuna yerleştirilmiştir. Bu sayede sadece kutu içerisindeki kuvvetlerin hesaplanması amaçlanmıştır. Simülasyon kutusunun şekli ve büyüklüğü, simülasyon zamanını önemli ölçüde etkileyeceğinden kutunun boyutları minimum olacak şekilde belirlenmiştir

5.2 HESAPLAMA DETAYLARI

Öncelikle, peptidimizin Protein Data Bank’tan elde edilen yapısı (Andreotti et al.2006) başlangıç yapısı olarak belirlenmiştir. Bu yapıda terminal uçları NH_3^+ ve COO^- olarak seçilmiş daha sonra peptidimiz bir kenarı 5 nm olan kübik bir simülasyon kutusuna yerleştirilmiş ve içerisine çözücü eklenmiştir. Her bir çözücüdeki molekül sayıları Çizelge 5.1’ de verildiği gibidir. Simülasyon kutusuna yerleştirilen peptit ve çözücü sahip oldukları yüksek enerjiden dolayı kararlı durumda olamayacaklarından, peptit sisteminin yakın van der Walls temaslarını yok etmek için yerel tarama tekniklerinden sırasıyla “Steepest Descent” ve “Conjugate Gradient” algoritmaları kullanılarak enerji minimizasyonu işlemi gerçekleştirildi. Minimizasyon işleminde enerji gradyanı $100 \text{ kJmol}^{-1}\text{nm}^{-1}$ olarak seçildi ve 1000 adımda tamamlandı. Bu sırada kutu içindeki yapının atomları ile simülasyon kutusu arasındaki uzaklık minimum 1 nm olarak belirlendi. Enerji minimizasyonundaki amaç; tüm kinetik enerjiyi sistemden atıp, yapıdaki termal gürültüyü azaltırken, sistemin potansiyel enerjisinde de bir azalma olmasını sağlamaktır. Farklı çözücülerdeki tüm minimizasyon simülasyonlarında Particle Mesh Ewald (PME) (Darden et al. 1993, Essman et al. 1995) metodu ve uzun erimli (long-range) etkileşimleri belirtmek için 0.9 nm cut-off ve van der Walls yarıçapı kullanıldı. LINCS (Hess et al. 1997) algoritması peptidlerdeki kovalent bağları sınırlandırmak için kullanıldı. Periyodik sınır şartları uygulandı. Simülasyon çalışmalarında, başlangıç şartları sistemin faz uzayındaki beklenen yörünge konumu civarında

bulunamayabilir. Sistemin istenilen enerji değerine (faz uzayındaki yörüngesine) ayarlanması, sisteme enerji vererek veya sistemden enerji alarak sağlanabilir. Enerji verme veya alma işlemi genellikle, termostat parametresi olarak adlandırılan bir değer ile atom hızları çarpılarak sağlanır. Bu işlemin yapıldığı süreç, moleküler dinamikte dengeleme süreci veya termalizasyon olarak adlandırılır ve bu bölgedeki sisteme dengeleme fazı denir (Haile 1992). Bu doğrultuda, sistemin enerji minimizasyonunun ardından termalizasyon adımına geçildi. Termalizasyon adımı yapılırken sisteme konum sınırlaması işlemi de yapıldı. Konum sınırlaması (position restrain) sabit pozisyonda tutulan özelleşmiş atomların harmonik etkileşimleridir. Çözücü eklenen sistemimizde konum sınırlaması ile, su moleküllerinin simülasyon kutusu içerisinde serbestçe dolaşmasına imkan verilirken atom pozisyonları da sınırlandırılarak, makromoleküllerin içinin su ile kaplanması sağlandı. NPT toplulukta yapılan simülasyonlarda simülasyon boyunca çözelti ve peptid çalışılan sıcaklıkta bir ısı deposuyla ve 1 bar basınçlı basınç termostatıyla temas ettirildi. Tüm simülasyonlar için toplam 200 ps termalizasyon yapıldı. Termalizasyon boyunca peptidin atomik konumları sabit tutulurken su moleküllerinin hareketine izin verildi. Bu aşamada sıcaklık ve basınç sırasıyla v- rescale (Bussi et al. 2007) ve Berendsen (Berendsen et al. 1984) termostlarla kontrol edildi. Minimizasyon ve termalizasyonlar sonucu elde edilen son yapı alınarak 2 fs lık zaman aralıklı 5.000.000 adımlı ürün simülasyonuna tabi tutuldu.

Çizelge 5.1 Simülasyon Kutusundaki Çözücü Moleküllerinin Sayısı

Çözücü	Kutu İçerisindeki Molekül Sayısı
SPC	6625
TIP3p	6625
TIP4p	6582
TIP5p	6221
METHANOL	2903 (+ 2 adet Cl^{-1} iyonu)

Ürün simülasyonlarında sıcaklık ve basıncı kontrol etmek için, v- rescale ısı banyosu ve Parrinello- Rahman (Parrinello and Rahman 1981) basınç tankı kullanıldı. Sıcaklık ve basınç çiftlenim sabitleri sırasıyla 0.1 ve 0.5 ps olarak ayarlandı. 10 ns' lik ürün simülasyon aşamasından sonra elde edilen sonuçlar analiz edildi. Çözücülerdeki peptidin ikincil yapıları, DSSP (Kabsch and Sander 1983) ikincil yapı analiz programı kullanılarak elde edildi. Peptitin 3 boyutlu konformasyonlarının görsel sunumu için ise “Visual Molecular Dynamics” (VMD)

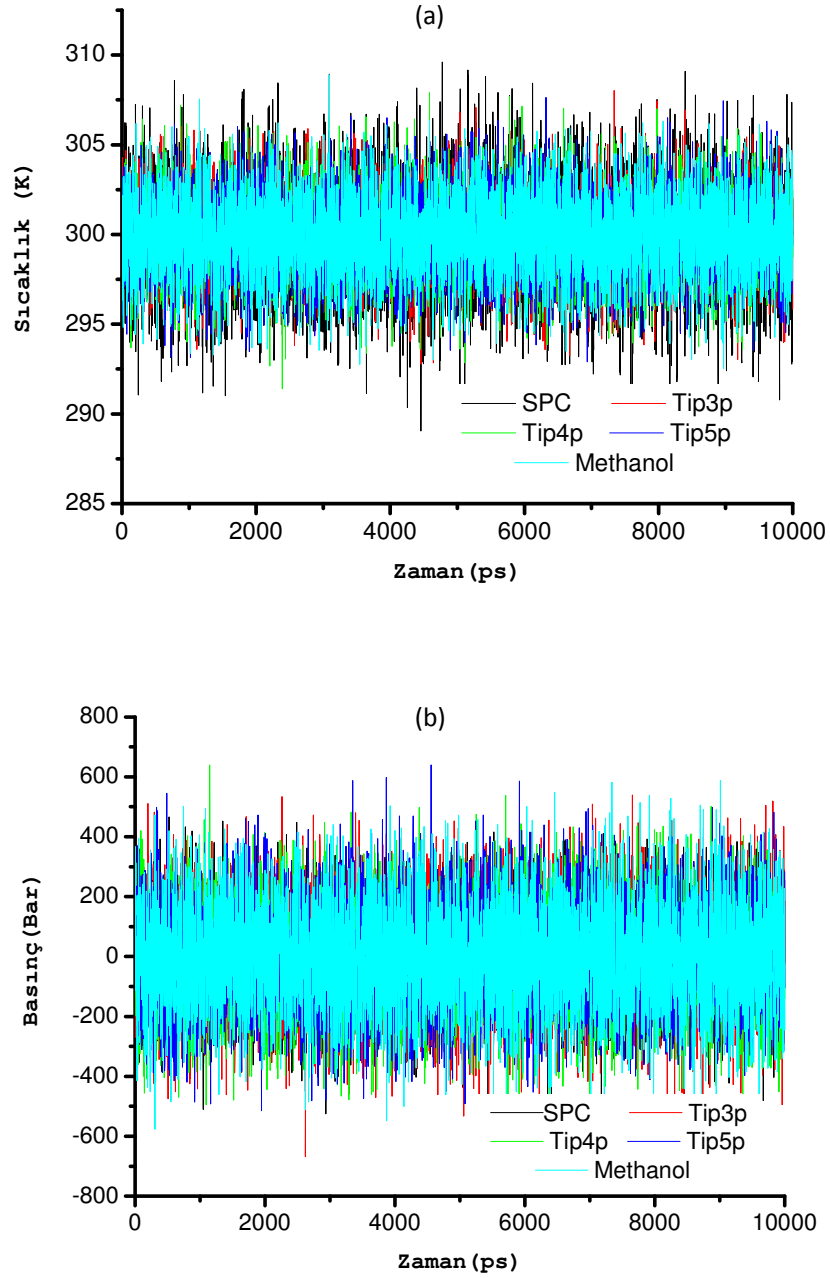
paket programı (Humphrey et al. 1996) kullanılmıştır. Diğer analizler GROMACS'ın alt programları ile gerçekleştirilmiştir.

5.3 SİMÜLASYON SONUÇLARI

5.3.1 Çözücü Etkisinin Araştırılması

Sistemin ilk olarak, oda sıcaklığında ($T=300K$) beş farklı çözücü ortamındaki ikincil yapıları incelenmiş, çözücü farklılığının peptidin ikincil yapısında meydana getirdiği değişimler ortaya konulmaya çalışılmıştır. Bölüm 5.1 ve 5.2' de detaylı olarak anlatıldığı gibi, her aşamada enerji minimizasyonları yapılmıştır. Peptit ve çözücü moleküllerinin bulunduğu kutu içerisinde peptit-kutu, peptit-çözücü, çözücü-kutu arasında oluşabilecek istenilmeyen etkileşimleri veya kutu içerisinde çözücü ve protein arasında başlangıçta oluşacak boşlukları ortadan kaldırmak için tüm sistem minimize edilmiştir. Minimize edilmiş olan sistemde üretim aşamasına geçmeden önce çözücünün 300 K de dengeye gelmesinin sağlanması için peptit diziliminin sahip olduğu konformasyon sabit tutularak sadece çözücü hareketi sağlanmıştır. Çözücünün dengeye gelmesi sağlandıktan sonra, peptidimizin son konformasyonu, üretim aşamasında başlangıç konformasyonu olarak kullanılarak Moleküler Dinamik Simülasyonlar gerçekleştirilmiştir. Üretim aşaması ise hem peptit hem de suyun hareketi serbest bırakılarak 300 K ve 1 atm (1.013 bar) basınçta 10 ns sürede gerçekleştirilmiştir.

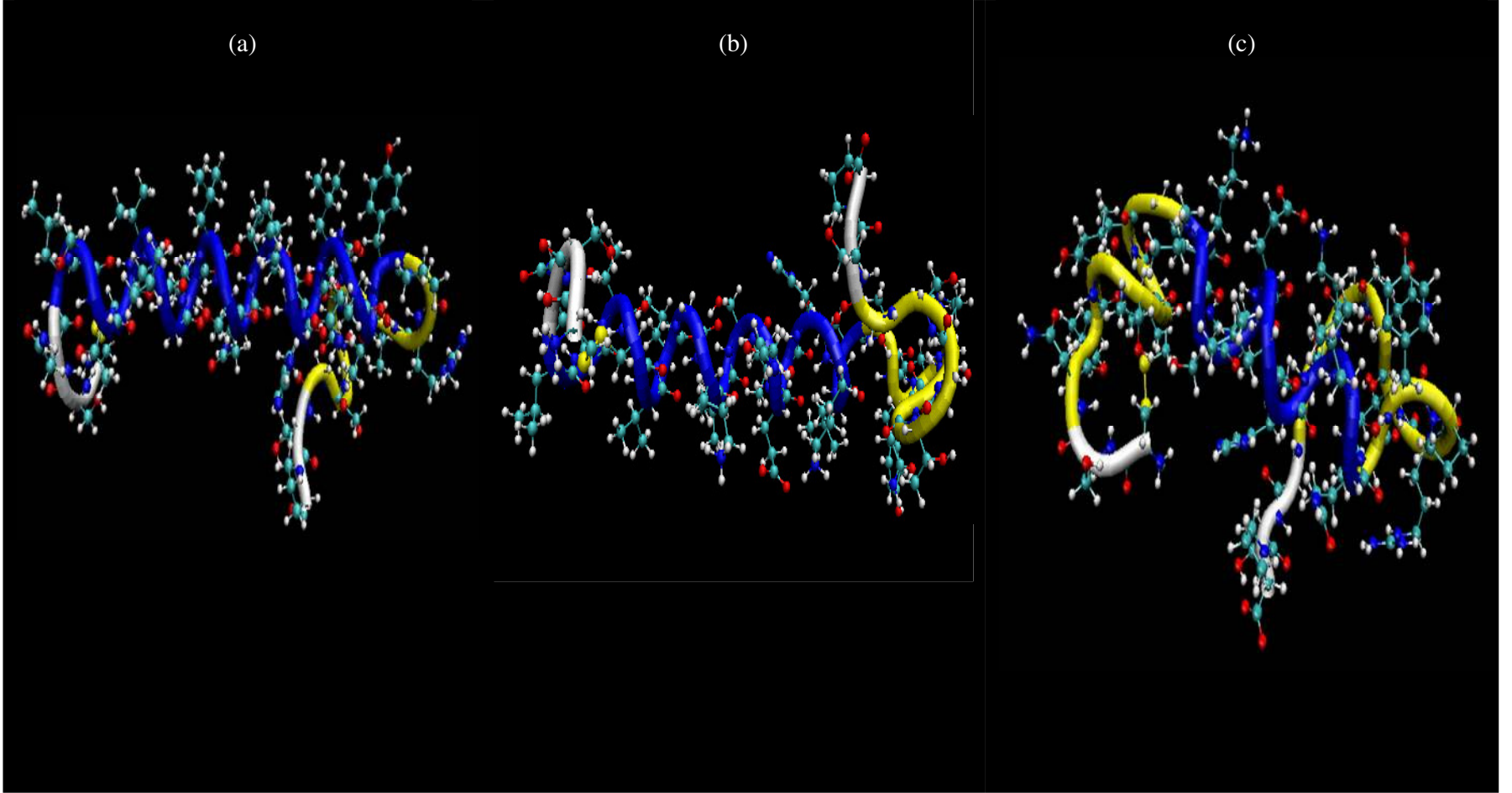
NPT kümesinde yapılan simülasyonlarda, basınç ve sıcaklığın zamana bağlı değişimlerinin biyomoleküllerin davranış biçimlerine etkisi son derece önemli olduğundan, bu değerlerin simülasyonlarımız boyunca belirlediğimiz değerler civarında olup olmadığının kontrolü gerekmektedir. Şekil 5.1' de tüm simülasyonlarımız için üretim aşamasında, sıcaklık-zaman ve basınç-zaman değişimleri çizdirilerek bir arada verilmiştir.



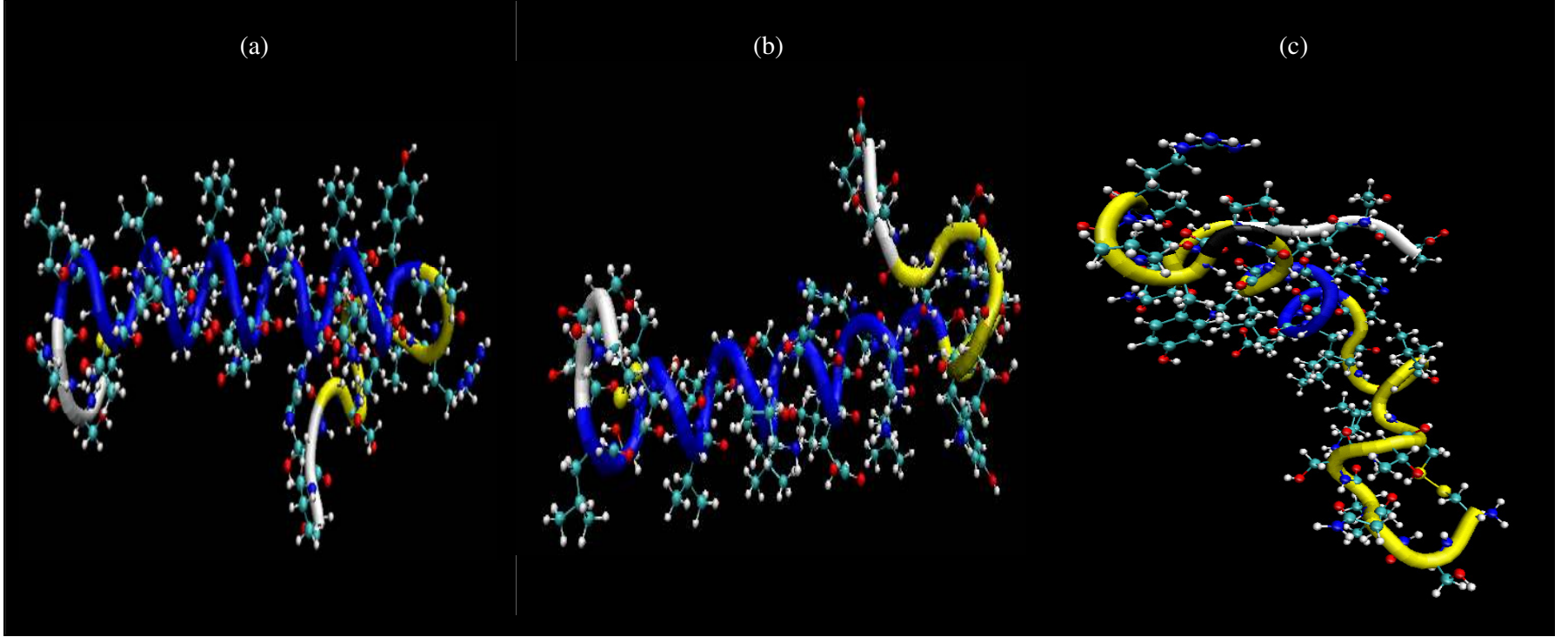
Şekil 5.1 Tüm çözücülerde sCT peptitinin $T=300$ K sıcaklık ve $P=1$ atm basınç altında MD simülasyonu boyunca sıcaklık (a) ve basıncın (b) zamanla değişimi.

Şekilden görüldüğü gibi tüm çözücülerde yapılan simülasyonlarda sıcaklık $T=300$ K ve basınç $P=1.2$ Bar etrafında dalgalanmaktadır. Bu da bizim belirlediğimiz sıcaklık ve basınç değerleriyle uyuşmaktadır. Bu sebeple simülasyonlarımız boyunca sıcaklık ve basınç dengesinin sağlandığını söyleyebiliriz. Bu sonuç belirlenen bu fiziksel niceliklere bağlı olarak elde edeceğimiz sonuçların güvenilirliği açısından önem taşımaktadır.

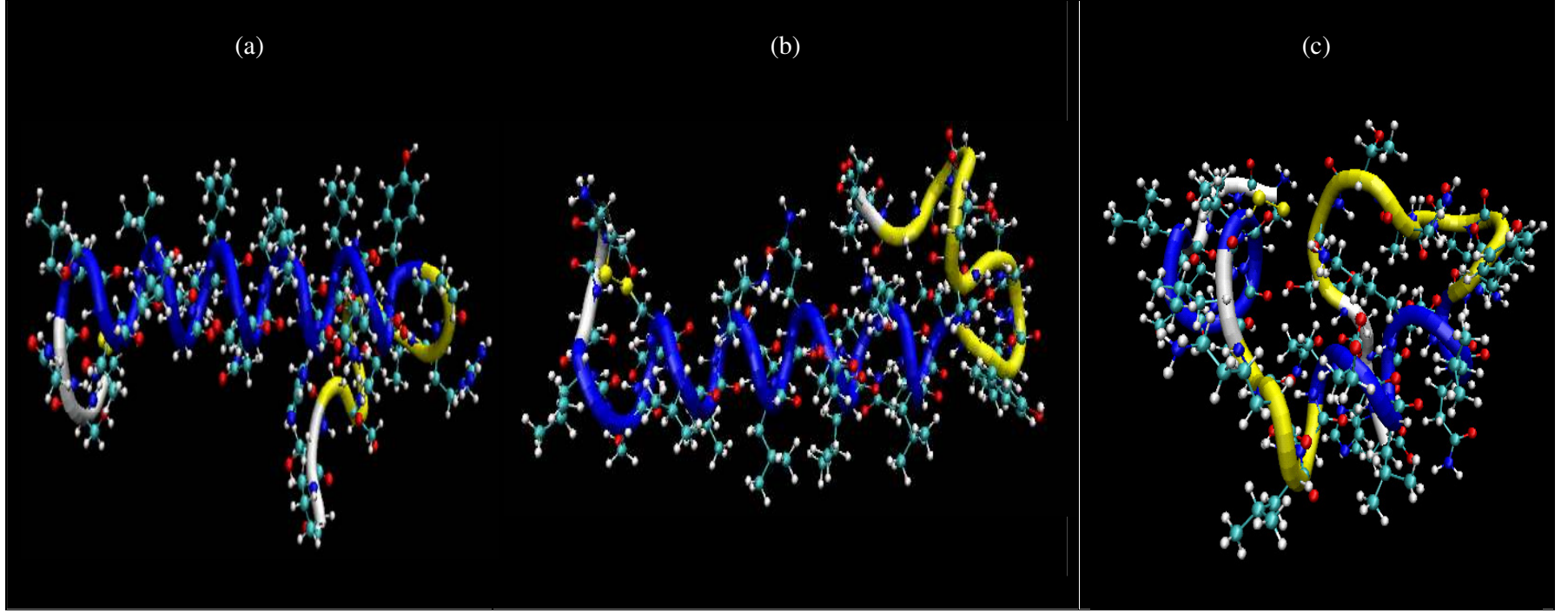
Diğer yandan peptitimizin simülasyon aşamalarında geçirdiği yapısal değişimleri görsel olarak gözlemek amacıyla, Şekil 5.2-6 da sırasıyla, vakumdaki, simülasyon öncesi çözücüdeki ve simülasyon sonundaki ortalama 3 boyutlu konformasyonları bir arada verilmiştir. Şekillerden peptitimizin NMR görüntüsündeki ikincil yapılarının ağırlıklı olarak alfa-heliks şeklinde olduğu, uçların rastgele-sarmal yapı gösterdiği ve 20-25 rezidüleri arasında ise beta dönüşlerinin olduğu görülmektedir. Yine bu ağırlıklı yapının her çözücü içindeki ön minimizasyonlarda büyük oranda korunduğu ve üretim aşamasına giren tüm yapıların hemen hemen benzer olduğu görülmesine rağmen, üretim aşamasında metanol çözücüsü hariç diğer çözücülerde ikincil yapıların farklılaştığı açık olarak görülmektedir. Methanolde ise sCT peptitinin ikincil yapıları başlangıç yapısına oldukça benzer halini korumaktadır.



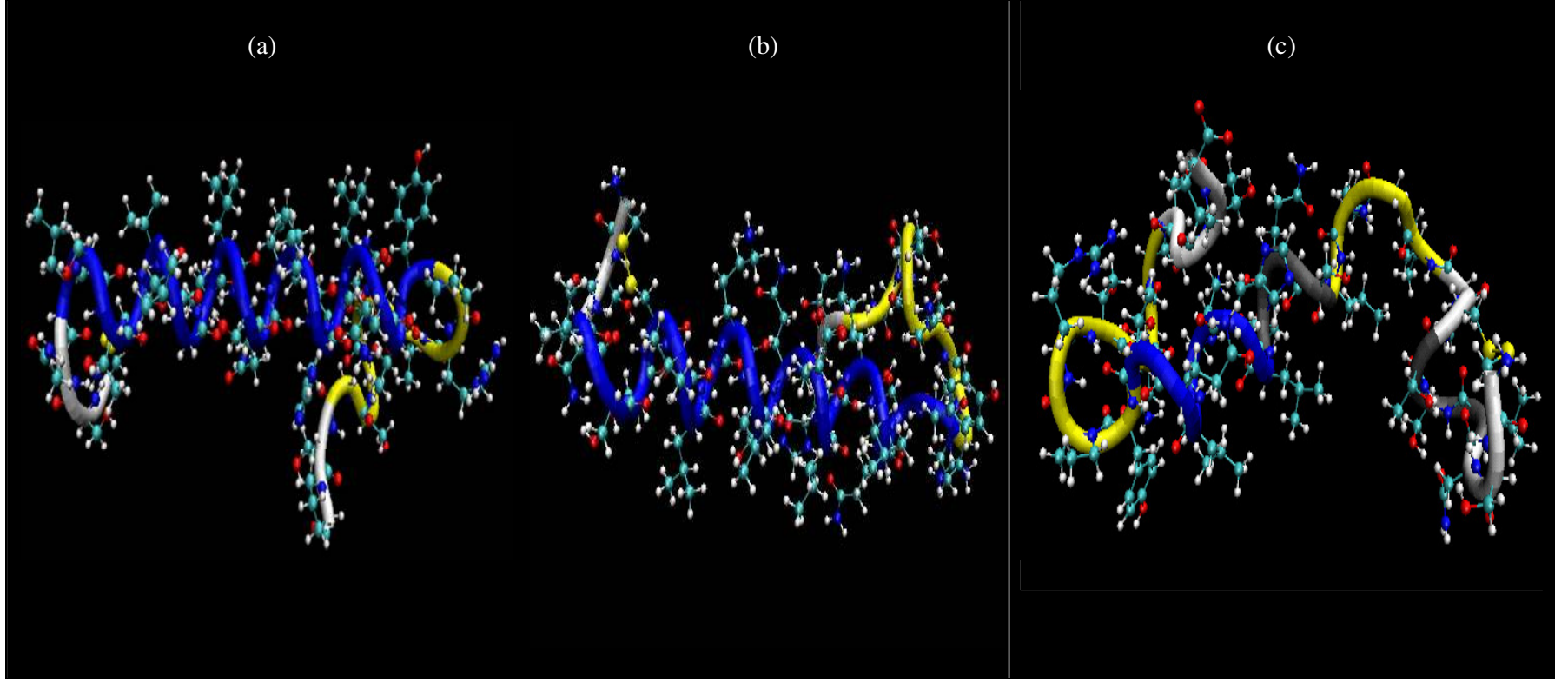
Şekil 5.2 sCT peptitinin SPC de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi SPC çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası SPC çözücüsünde



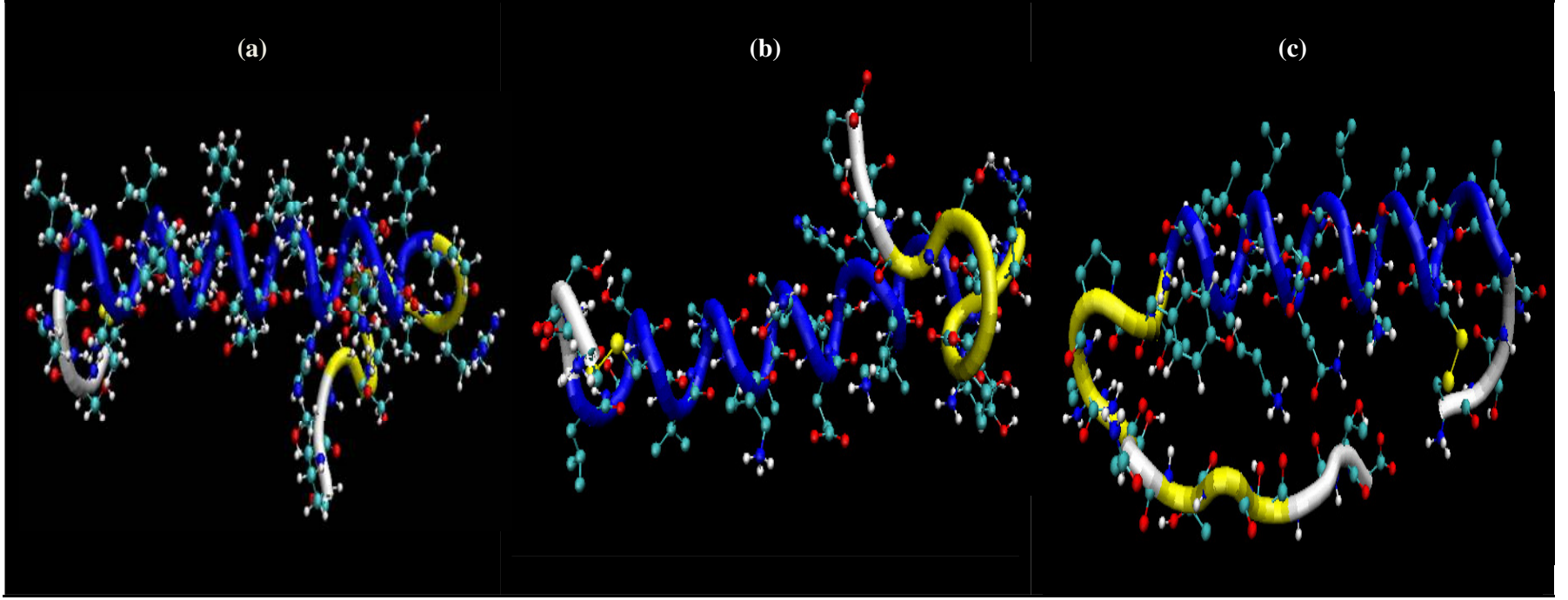
Şekil 5.3 sCT peptitinin TIP3p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP3p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP3p çözücüsünde.



Şekil 5.4 sCT peptidinin TIP4p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP4p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP4p çözücüsünde.

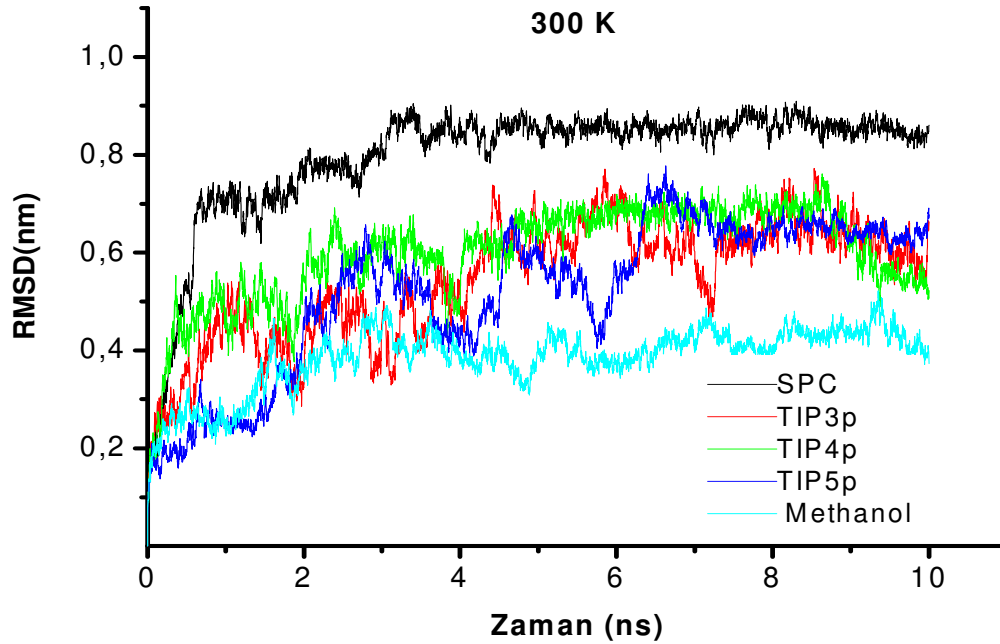


Şekil 5.5 sCT peptidinin TIP5p de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi TIP5p çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası TIP5p çözücüsünde.



Şekil 5.6 sCT peptitinin METHANOL de farklı Simülasyon anlarındaki 3-boyutlu konformasyonları a) simülasyon öncesi vakumda, b) ürün simülasyonu öncesi METHANOL çözücüsünde ve c) ürün simülasyonu sonrası METHANOL çözücüsünde.

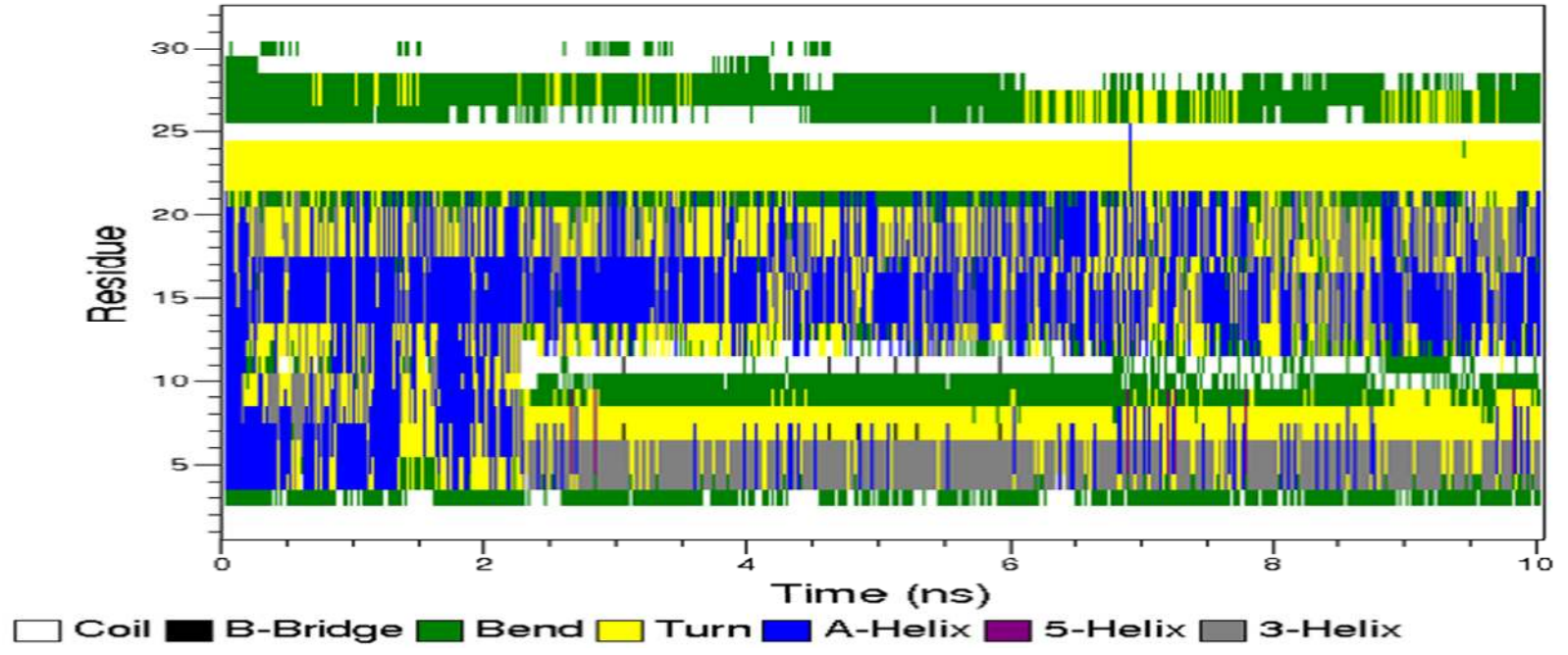
Simülasyon sonuçlarından elde ettiğimiz veriler yardımıyla, peptidimizin oda sıcaklığında, başlangıç konformasyonundaki atomların konum değerleri ile zamana bağlı olarak değişen konum değerlerinin ortalama kare yer değiştirme (RMSD) değerleri, kullanılan 5 farklı çözücü için hesaplanmış ve Şekil 5.7’de bir arada verilmiştir. RMSD değerlerinin zamana bağlı değişiminin incelenmesindeki amaç zaman içerisinde biyomolekülleri oluşturan parçacıkların hareketlerini incelemek ve yapının daha kararlı duruma geçme süresince, yapıyı oluşturan parçacıkların başlangıç konumlarından itibaren dengeye ulaşmaya kadar ne kadar uzaklaştıklarını saptamaktır. Bu uzaklaşmayı hesaplamak için parçacıkların arka arkaya olan her adımı toplanabilir fakat bu durumda sonucun sıfır çıkma olasılığı vardır. Bunun nedeni, bu adımlar ileri artı yönlü olabileceği gibi geriye doğru eksi yöne doğru da olabileceğidir. Eğer, her bir adımın toplamı yerine, karelerinin toplamı alınırsa, sürekli pozitif değerler toplanmış olacağından, bu bize mesafe hakkında daha iyi bir bilgi verecektir. Moleküler bir sistemde, bu yöntemi kullanarak elde edilen verilerle çizilen grafikler yapının zamanla nasıl değiştiği ile ilgili ipuçları verirler.



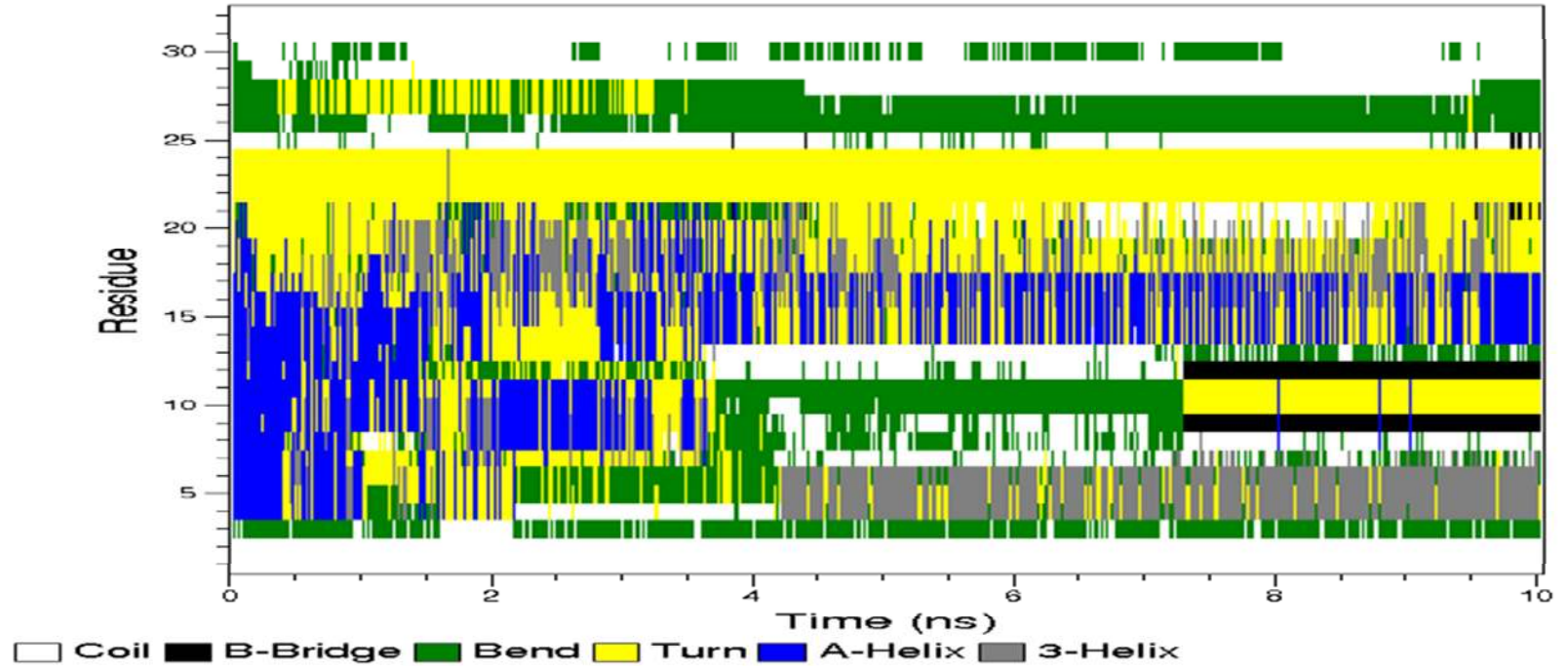
Şekil 5.7 Farklı çözücülerde sCT peptidinin MD simülasyonu boyunca RMSD değerlerinin zamanla değişimi (T=300 K)

Şekil 5.7'den görüldüğü gibi, sCT peptidinin oda sıcaklığındaki beş farklı çözücüdeki MD simülasyonları boyunca RMSD değerlerinde değişik dalgalanmalar olmaktadır. Bu da çözücü farklılığından dolayı beklenen bir sonuçtur. Şekilden, peptidimizin simülasyonu boyunca en yüksek RMSD değerine 0.85 nm civarında SPC su modelinde sahipken, en düşük RMSD değerine ise 0.35 nm civarında Methanol çözücüsünde sahip olduğu görülmektedir. Diğer RMSD değerlerinin bu iki değer arasında sırasıyla büyükten küçüğe TIP4p, TIP3p ve TIP5p çözücülerinde olduğu görülmektedir. TIP3p ve TIP5p çözücülerinde RMSD değerlerindeki yüksek dalgalanmalar peptidimizin dengede olmamasının bir göstergesi olarak düşünülebilir. Yani, dalgalanmaların gerçekleştiği simülasyon zaman adımlarından sonra, aminoasit birimlerinin sahip oldukları baskın yapıların bir başka yapıya dönüşümü söz konusu olabilir. Diğer yandan SPC su modeli ve Methanoldeki RMSD değerlerinde 3 ns den sonra fazla dalgalanma görülmemesi, peptidimizin bu zaman adımından sonra daha kararlı yapılarda olduğunu düşündürmektedir.

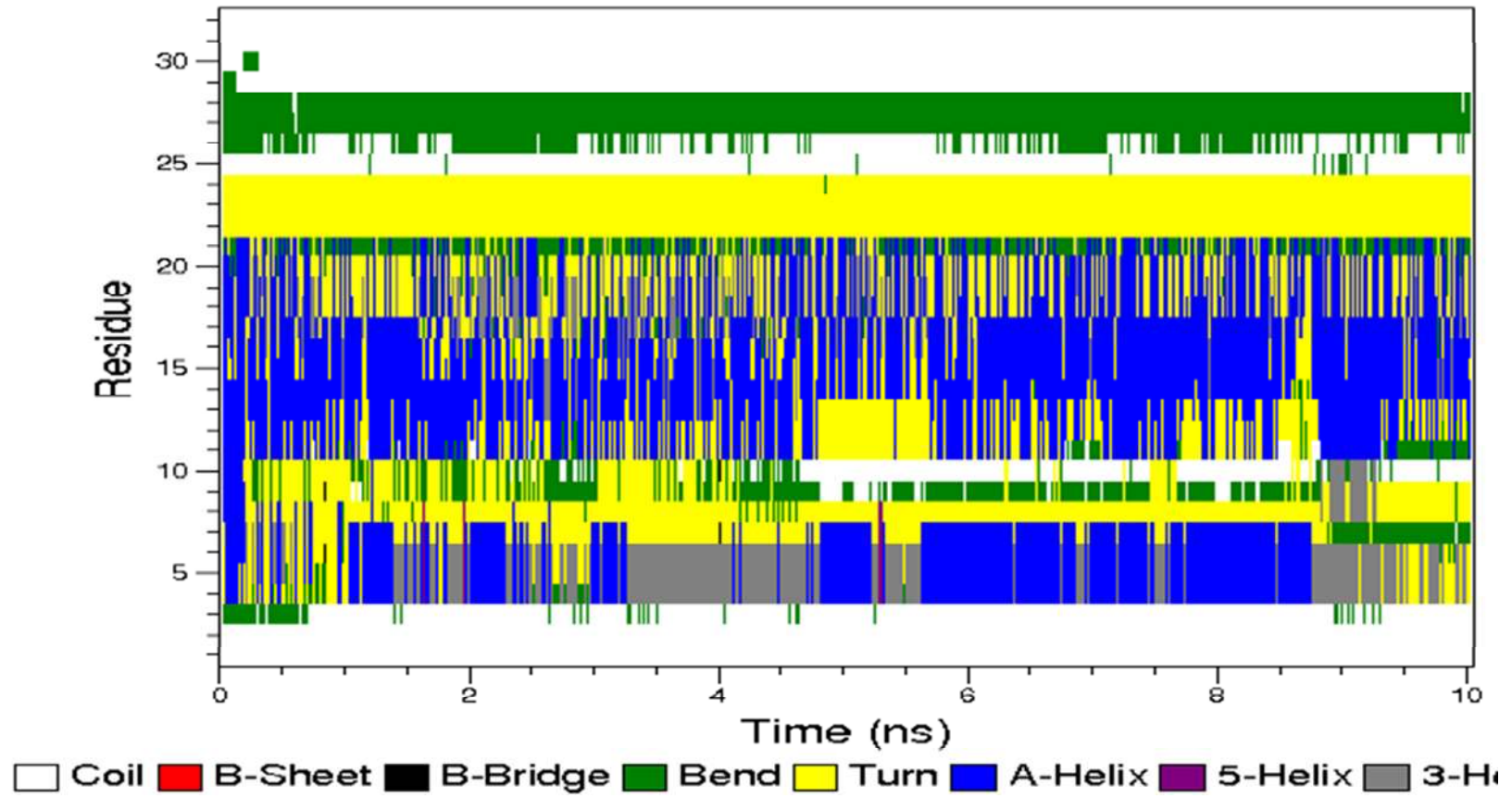
Tek başına RMSD değerlerine bakarak konformasyonel yapıdaki kararlılıktan bahsetmek oldukça güç olduğundan, simülasyon zamanı boyunca peptidimizin ikincil yapı değişimlerine de bakmak gerekmektedir. Bu vesileyle Şekil 5.8-12'de, yine $T=300$ K ve $P=1$ atm şartlarında, farklı çözücülerde gerçekleştirilen sCT peptidinin MD simülasyonu boyunca sahip olduğu konformasyonlardaki ikincil yapıları, DSSP ikincil yapı analiz programı kullanılarak elde edilmiş ve zamana bağlı olarak verilmiştir. Bu şekillerde düşey eksenindeki sayılar peptit diziliminde yer alan aminoasitlerin (rezidü) sıralanışına karşılık gelmektedir. Şekillerdeki renk bilgileri ise ikincil yapıları sembolize etmektedir. Buna göre rastgele sarmal yapılar (random coil) beyaz, beta-dönüşleri (turn) sarı, kıvrılmaları (bend) yeşil, heliksler (helix) ise türüne göre mavi ya da gri, beta-köprüleri (beta-bridge) siyah ve son olarak beta-yaprağı da (beta-sheet) kırmızı ile gösterilmiştir.



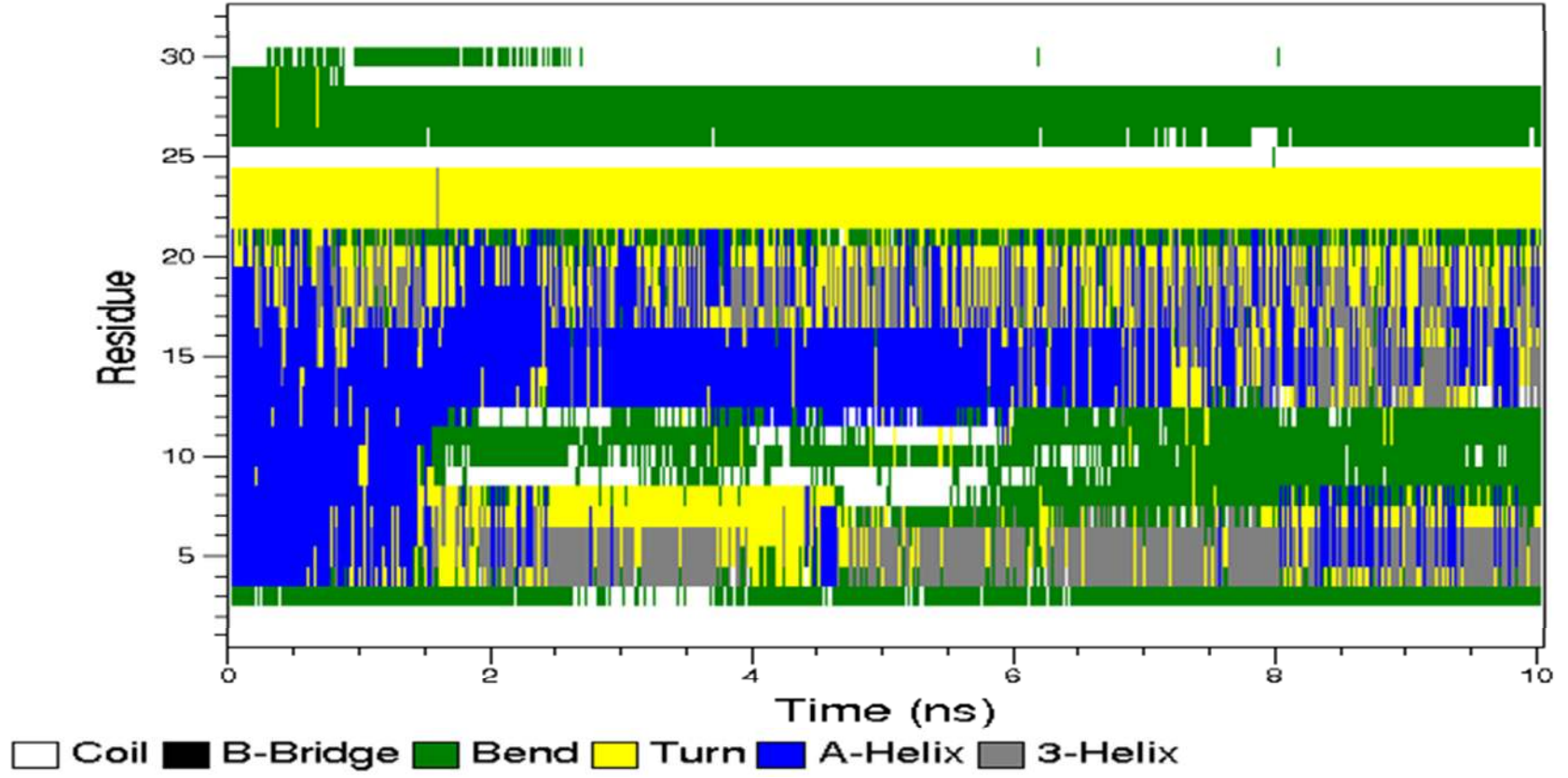
Şekil 5.8. sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).



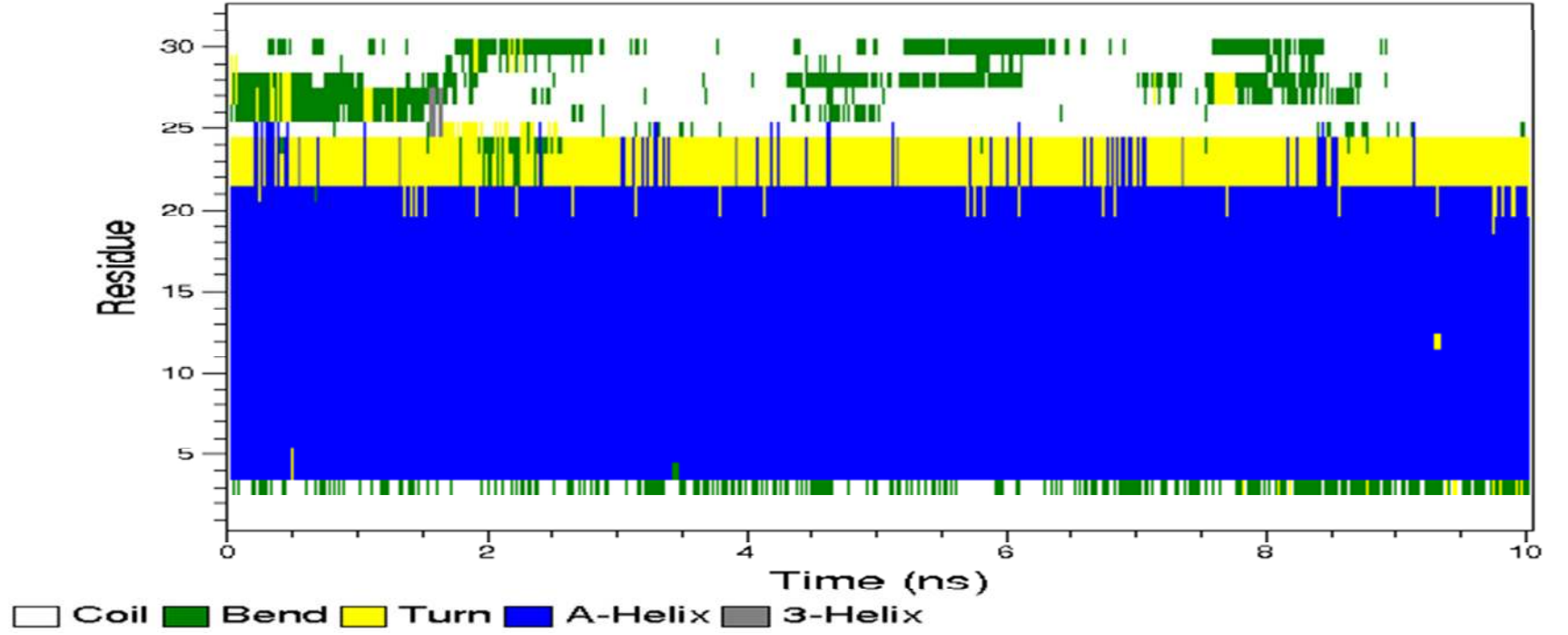
Şekil 5.9. sCT Peptitinin TIP3p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).



Şekil 5.10 sCT nin TIP4p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).



Şekil 5.11 sCT nin TIP5p çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).



Şekil 5.12 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=300 K ve P=1 atm).

Öncelikle Şekil 5.8'den, SPC su modelinde gerçekleştirilen MD simülasyonu süresince peptitidimizin ağırlıklı ikincil yapılarının sırasıyla heliks, rastgele sarmal, beta dönüşleri ve kıvrılmaları şeklinde olduğu görülmektedir. Yapıyı simülasyon zaman aralıklarında rezidü rezidü incelediğimizde, simülasyon boyunca ilk iki ve son iki rezidülerin tümüyle rastgele sarmal yapıda, 21-23 rezidülerinin tümüyle beta dönüşleri yapısında ve 3 rezidüsünün ise tamamen beta kıvrılma yapısında kaldığı görülmeye rağmen, başlangıçta alfa-heliks yapıda olan 4-20 rezidülerinin simülasyon boyunca farklılaşmalar sergilediği, 4-6 segmentlerinin 3-heliks yapıya, 7-8 segmentlerinin beta dönüşleri yapılarına, 9-10 segmentlerinin beta-kıvrılma yapılarına kaydığı, diğerlerinin ise ağırlıklı olarak alfa-heliks yapılarını muhafaza ettikleri görülmektedir. Yine simülasyon sürecinde 5-9 segmentlerinin az da olsa 5-helik yapı da gösterdiği görülmektedir. 11'nci rezidüde, 2.2-10.0 ns arasında ağırlıklı olarak rastgele sarmal yapı karşımıza çıkmaktadır. Uç yapıların polar özelliğinden dolayı rastgele sarmal yapıda olması beklenen bir durumdur.

Şekil 5.9'dan, TIP3p su modelinde peptidimizin MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ağırlıklı ikincil yapılarının sırasıyla, heliks, beta dönüşleri, rastgele sarmal, beta kıvrımları, 3-heliks ve beta köprüsü şeklinde olduğu görülmektedir. Aminoasit dizilimlerini tek tek ele aldığımızda, özellikle 1-2, 25 ve 29-32 rezidülerinin simülasyon boyunca rastgele sarmal yapı formunda kaldığı görülmektedir. Yukarıda bahsedildiği gibi uç yapıların polar özelliğinden dolayı rastgele sarmal yapı sergilemesi doğaldır. 5-17 rezidüler arasında simülasyon boyunca ağırlıklı yapı alfa-heliks olmakla birlikte, özellikle 3.5 ns den sonra 13-17 rezidüleri dışındakilerde farklı yapılar da gözlenmektedir. Başlangıçta tamamen alfa heliks yapıda olan 4-6 rezidülerinde, 4 ns den sonra yapının değişerek 3-helikse dönüştüğü dikkat çekmektedir. Yine başlangıçta tamamen alfa-heliks yapıda olan 9 ve 12 rezidülerinin yaklaşık 2.8-6.7 ns aralığında rastgele sarmal yapı ve sonrasında tamamen beta köprüsü yapısını aldığı görülmektedir. Yine aynı zaman aralıklarında başlangıçta tamamen alfa heliks yapıda olan 10-11 rezidülerinin önce beta kıvrılmaları yapısına sonrasında ise tamamen beta dönüşü yapısına büründüğü görülmüştür. Yapımızda 15-17 rezidülerde hem alfa-helix hem de beta dönüşleri yapısını bir arada görmek mümkün. 20-24 rezidülerde ise tek yapı olan beta dönüşleri görülmektedir. 25 rezidüde ise yine tek yapı olan coil yapı mevcut olup 26-28 rezidülerin ilk 1 ns de beta kıvrılmaları hakim olup 1.5 ve 3.5 ns lerde beta dönüşleri görülmekte ve daha sonra yapı simülasyon boyunca tek yapı olan beta kıvrılmalarına dönüşmektedir.

TIP4p su modelinde yapılan MD simülasyonu boyunca peptidimizin rezidülerinin sergilediği ikincil yapılar incelendiğinde ise Şekil 5.10, yine ağırlıklı yapıların heliks, rastgele sarmal, beta dönüşleri ve kıvrılmaları şeklinde sıralandığı görülmektedir. 1-3, 5 ve 29-32 rezidülerinin genel olarak rastgele sarmal, 22-24 rezidülerinin beta dönüşleri ve 26-28 rezidülerinin ise beta kıvrılmaları formunda kaldığı, başlangıçta tümüyle alfa-heliks yapıda olan 4-20 rezidülerinin simülasyonun ilerleyen zamanlarında 11-20 rezidülerinde bu yapıyı korumalarına karşın, diğer kısımlarda koruyamadıkları, 8-10 rezidülerinin sırasıyla beta dönüşleri, beta kıvrılmaları ve rastgele sarmal yapılara kaydığı görülmektedir. 4-7 rezidülerinde ise ikincil yapıların simülasyon boyunca ağırlıklı olarak alfa-heliks ve 3-heliks arasında gidip geldiği ve hatta çok azda olsa beta-yaprağı ve 5-heliks yapılara bile rastlandığı görülmektedir.

Yine peptidimizin Şekil 5.11’de verilen TIP5p su modelindeki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ikincil yapıları incelendiğinde, 1-2, 25 ve 29-32 rezidülerinin simülasyon boyunca rastgele sarmal yapıda, 3 ve 26-28 rezidülerinin beta kıvrılmaları yapılarında ve 22-24 rezidülerinin ise beta dönüşleri yapılarında kaldığı görülmektedir. Peptidimizde başlangıç olarak 4-19 rezidülerinin ağırlıklı yapısı alfa-heliks olmakla birlikte simülasyonun ilerleyen zaman aralıklarında bu yapılarda farklılaşmalar gözlenmektedir. 4-9 rezidüleri 1.8-4.2 ns aralığında beta dönüşleri ve 3-heliks yapılar arasında gidip gelmektedir. Peptidimiz 10-11 rezidülerinde 1.8-10 ns ler arasında baskın olarak beta kıvrılmaları yapısı hakim olmakla birlikte yer yer rastgele sarmal yapılara da rastlanmaktadır. 12 ve 17 nci rezidülerde 0-6.5 ns boyunca ağırlıklı yapı alfa-heliks yapısıdır. 18-20 rezidüler arasında alfa-helix, rastgele sarmal ve beta dönüşleri yapılarını bir arada görmek mümkündür. 21 nci rezidüde ise ağırlıklı olarak beta kıvrılmaları yapısı görülmektedir.

Son olarak peptidimizin METHANOL çözücüsünde gerçekleştirilen MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ikincil yapıları Şekil 5.12’ de verilmektedir. Şekilden peptidimizin METHANOL çözücüsünde diğer su modellerindekinden çok daha kararlı bir yapı gösterdiği açıkça görülmektedir. Şekle bakarak, tüm simülasyon boyunca üç boyutlu konformasyonel yapının neredeyse tümüyle korunduğu söylenebilir. Yine detaylı incelemede, ilk iki ve son iki rezidülerin polar özelliğinden dolayı rastgele sarmal yapı formunu korumalarının yanında, 4-21 rezidülerinin tüm simülasyon boyunca alfa-heliks yapıda kaldığı, bunun yanında 22-24 rezidülerinin ise yine ağırlıklı olarak beta dönüşleri formunda kalmalarına rağmen az da olsa bazı zaman aralıklarında alfa-heliks yapıya dönüştükleri görülmektedir. 3 ve 26-30 rezidülerinde ise simülasyon boyunca ağırlıklı olarak rastgele sarmal yapıya rastlanmasına

rağmen bu rezidülerde bazı zaman aralıklarında rastgele sarmal yapı ile beta kıvrılma yapıları arasında gidip gelmektedirler.

Yukarıda verilen DSSP analizlerine ek olarak peptidimizin farklı çözülerdeki MD simülasyonları boyunca sahip olduğu ortalama ikincil yapılarının yüzdeleri de hesaplanmış ve bunlar Çizelge 5.2 de bir arada verilmiştir.

Çizelge 5.2 sCT nin farklı çözücülerdeki ikincil yapı yüzdeleri (T=300 K ve P=1 atm).

İkincil yapılar	SPC	TIP3p	TIP4p	TIP5p	METHANOL
Rastgele sarmal (coil) %	26.65	29.86	28.06	24.56	27.96
Beta yaprağı (β-sheet) %	-	-	0.0025	-	-
Beta köprüsü (β –bridge)%	0.13	1.73	0.01	-	-
Beta kıvrılma (bend) %	17.66	18.11	13.32	25.35	6.00
Beta dönüşü (turn) %	25.07	26.89	25.22	19.62	9.10
Alfa-heliks %	19.12	12.89	27.40	19.38	56.79
5-Heliks %	0.19	-	0.10	-	-
3-Heliks %	11.15	10.49	5.84	11.07	0.131

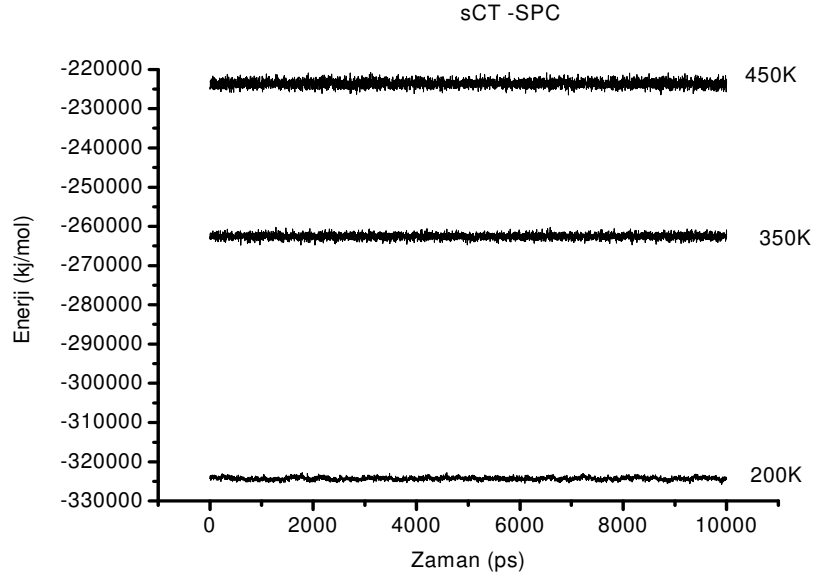
Çizelge 5.2’de görüldüğü gibi, peptidimizin T=300 K’de beş farklı çözücündeki ikincil yapılarının yüzdeleri farklılıklar göstermekle beraber ağırlıklı ikincil yapılar Heliksler, rastgele sarmal, beta dönüşleri ve beta kıvrılmaları şeklindedir. Bunların oranları çözücüyeye göre değişmektedir. SPC, TIP3p ve TIP4p çözücülerinde bu ağırlıklı yapıların yanında az da olsa beta köprüsü yapılarına da rastlanmıştır. Sadece TIP4p de çok az oranda beta yaprağı yapısı görülmektedir.

5.3.2 Sıcaklık Etkisinin Araştırılması

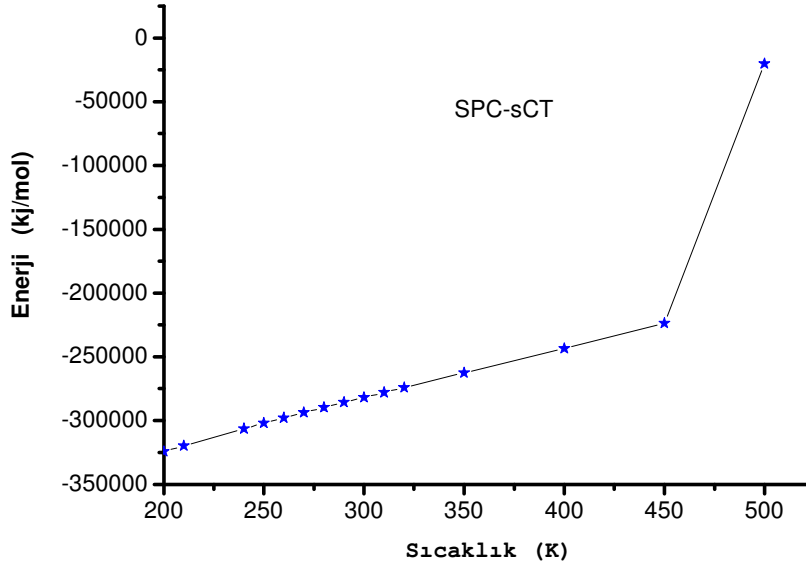
MD simülasyonları boyunca sCT peptidinin elde edilen olası konformasyonlarına sıcaklığın etkisini araştırmak amacıyla SPC ve METHANOL çözücülerinde sıcaklık çalışması da yapılmıştır. Bu çalışmalarda da diğer simülasyonlarımızdaki protokol aynen izlenmiş sadece 200-500 K aralıklarındaki bazı sıcaklıklar için MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir.

SPC çözücüsünde yapılan simülasyonlarda taranan sıcaklıklar sırasıyla 200, 210, 240, 250, 260, 270, 280, 290, 300, 310, 320, 350, 400, 450 ve 500 K sıcaklıklardır. Verilen bu sıcaklıklarda peptidimizin sahip olduğu enerji değerlerinin simülasyon zamanına göre değişimi hesaplanmış ve bunlardan bazıları Şekil 5.13’de bir arada verilmiştir. Diğerleri de bunlara benzerdir ancak şeklin sadeliği açısından sunulmamıştır. Şekilden de görüldüğü gibi sıcaklık artışıyla enerji değerleri de artmaktadır ve bu da beklenen bir durumdur. Yine SPC çözücüsünde her bir sıcaklık için enerji değerlerinin dalgalanmalarından yararlanılarak hesaplanan ortalama enerji değerleri Şekil 5.14’te sıcaklığa bağlı olarak verilmektedir. Şekilden 450 K den sonra enerji değerlerinin farklı bir eğimle arttığı görülmektedir. Bu da bu sıcaklıktan sonra olası bir faz değişimini düşündürmektedir.

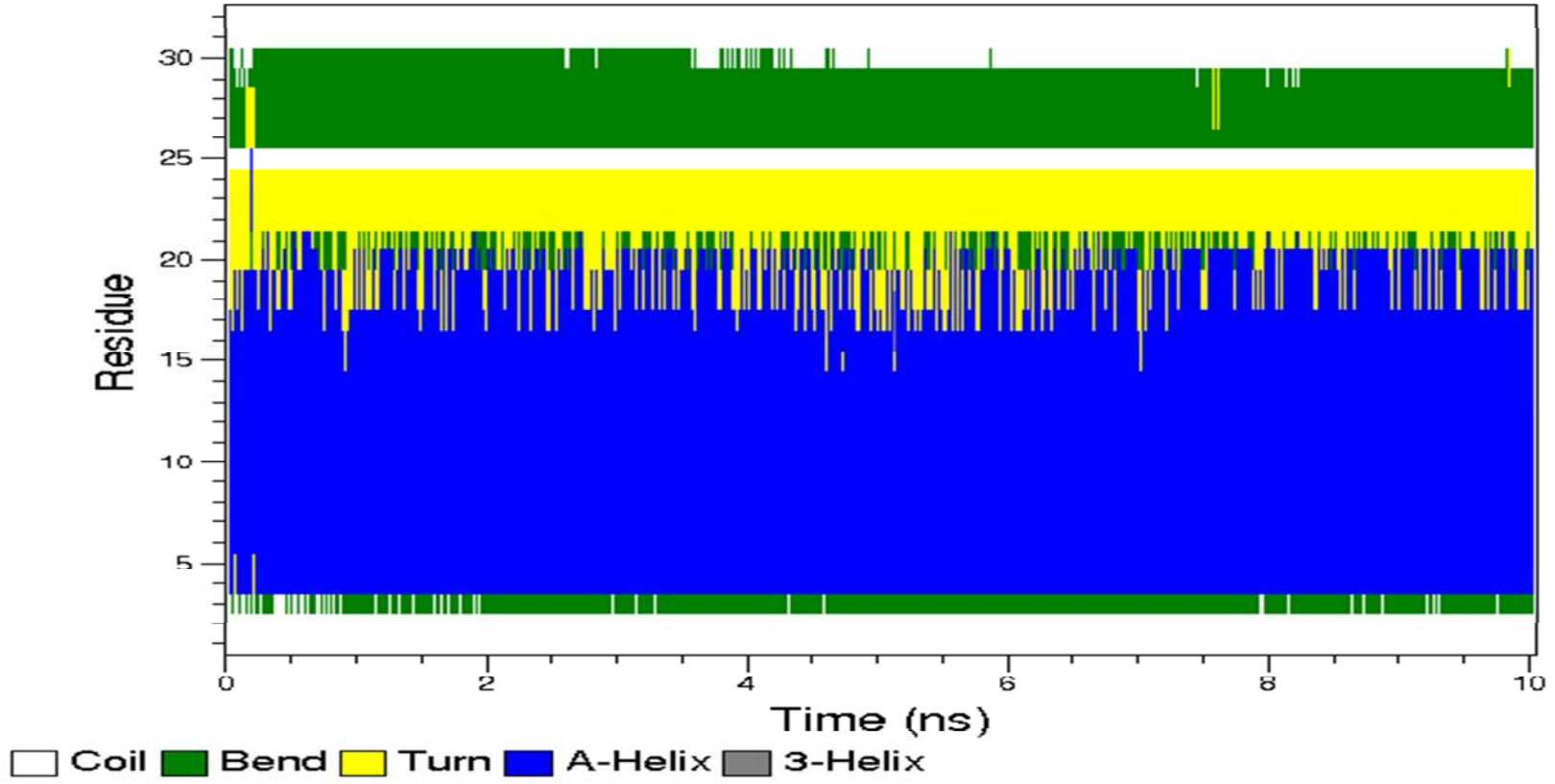
Şekil 5.15-17’de ise sırasıyla 200, 350 ve 450 K sıcaklıklarda SPC çözeltilisindeki MD simülasyonlarından elde edilen ikincil yapıların zamanla değişimi verilmiştir. Bu şekillerden düşük sıcaklıklarda yapının oldukça kararlı olduğu ve NMR yapısını koruduğu ancak sıcaklık artışıyla kararlı alfa-heliks yapıda olan 4-21 rezidülerinin bozularak diğer ikincil yapı türlerine dönüştüğü, ancak hala 22-24 rezidülerinin beta dönüşü yapısını koruduğu, daha yüksek sıcaklıklarda ise bu segmentlerin de bozularak farklı yapı türlerine kaydığı görülmektedir. Bu da Şekil 5.14 te verilen enerji-sıcaklık diyagramında 450 K den sonraki farklı eğimin sebebini açıklamaktadır.



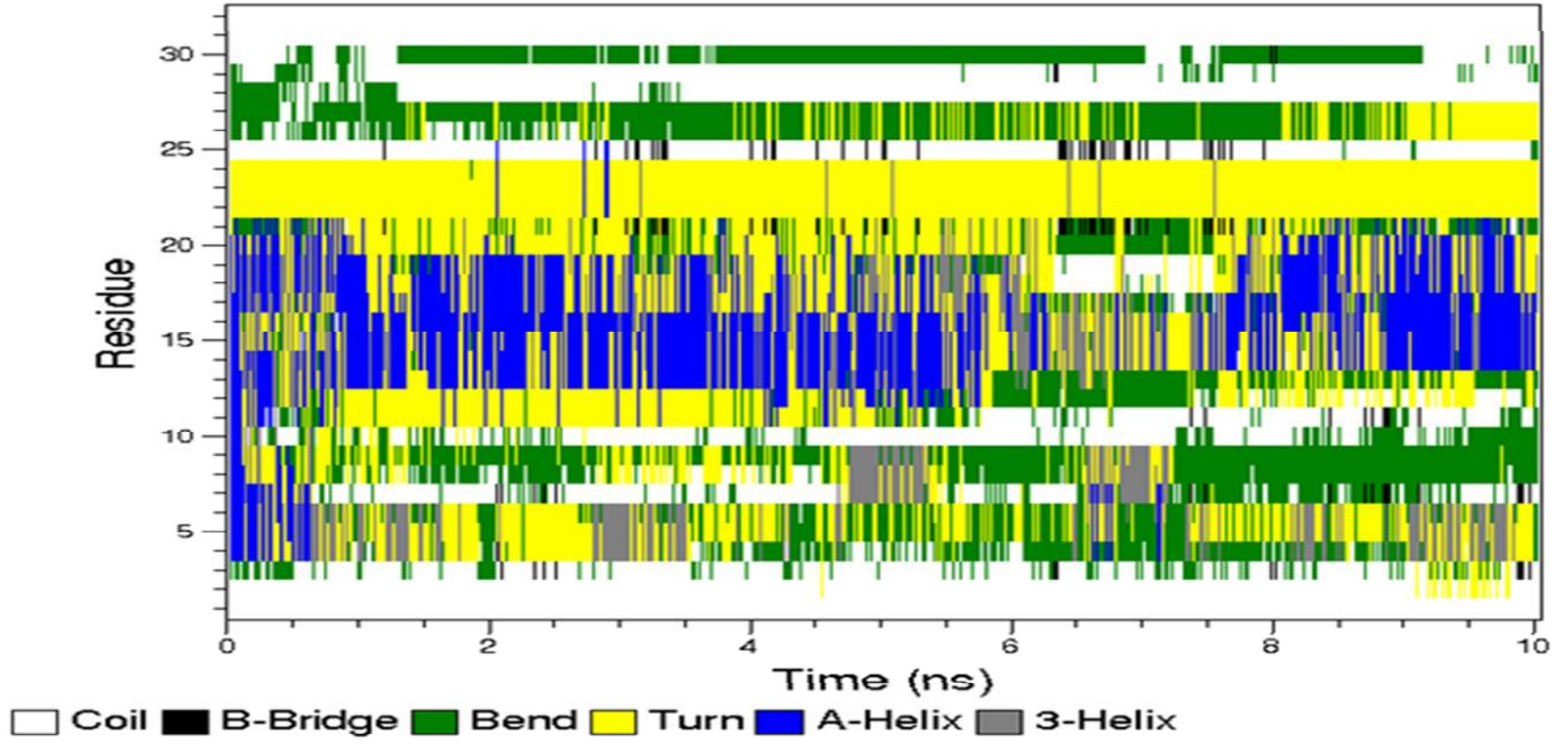
Şekil 5.13 sCT peptitinin SPC çözücüsünde farklı sıcaklıklardaki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu enerji değerleri



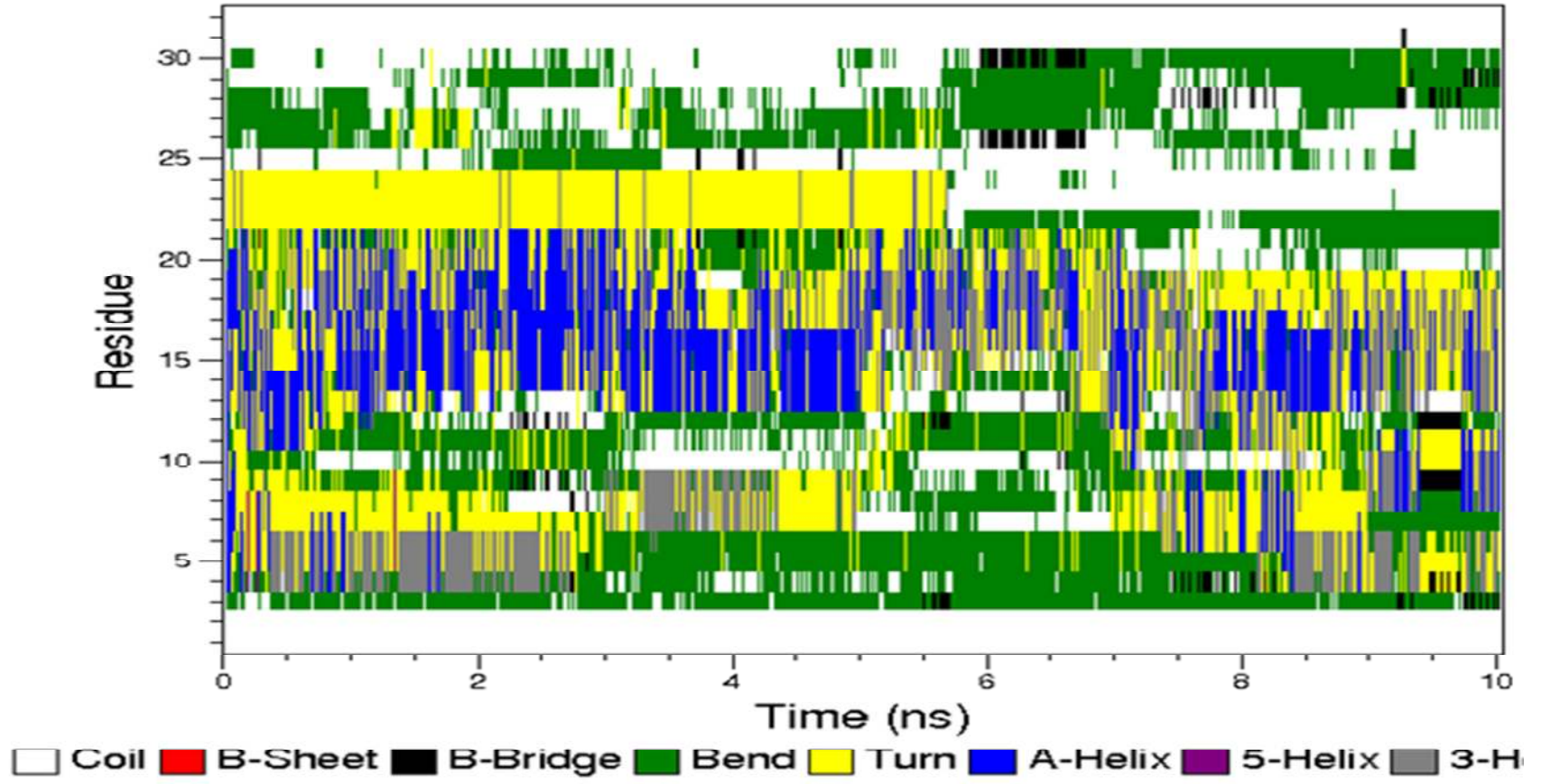
Şekil 5.14 sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ortalama enerji değerlerinin sıcaklıkla değişimi.



Şekil 5.15. sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=200 K ve P=1 atm).

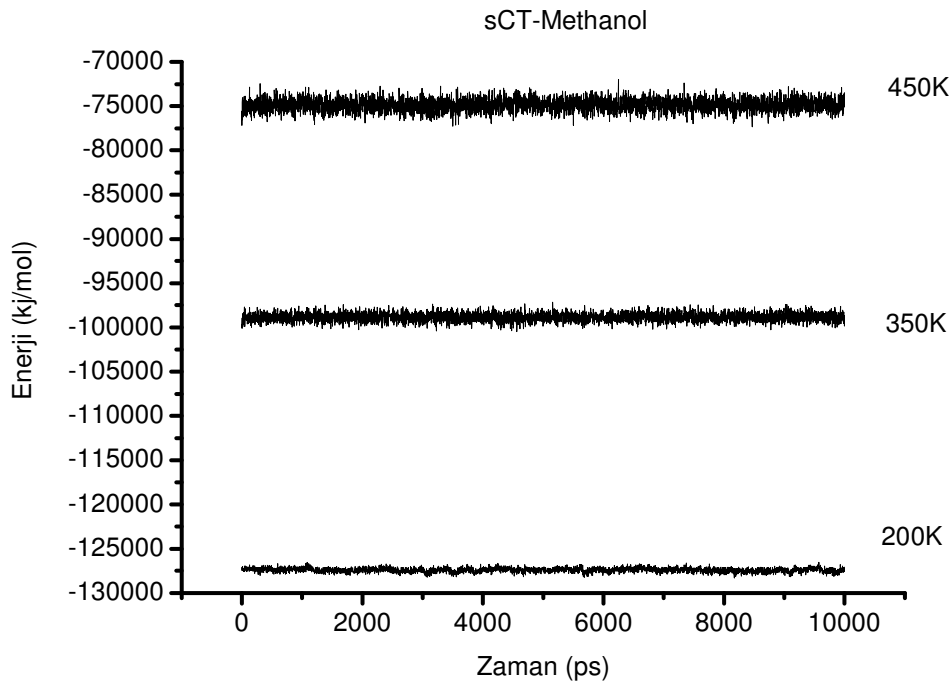


Şekil 5.16. sCT peptitinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=350 K ve P=1 atm).

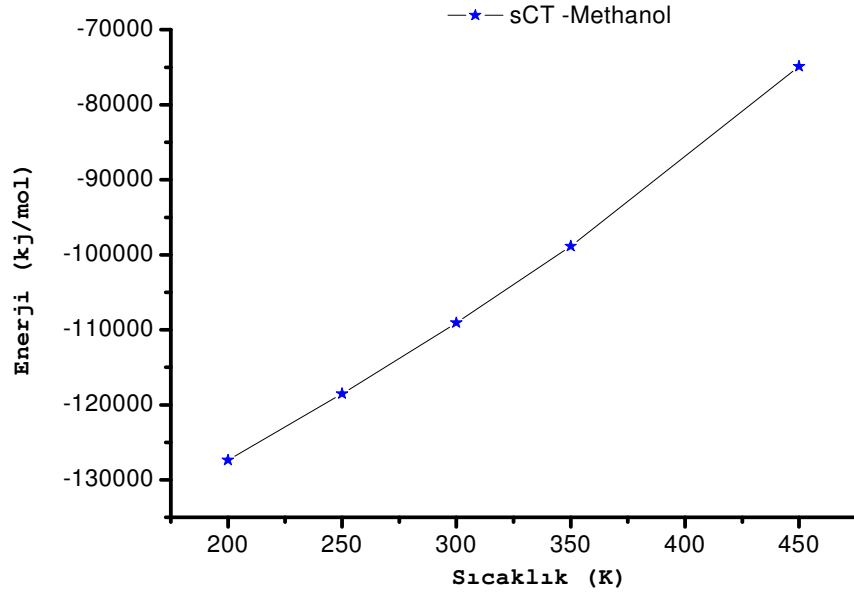


Şekil 5.17 sCT peptidinin SPC çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=450 K ve P=1 atm).

METHANOL çözücüsünde yapılan simülasyonlarda taranan sıcaklıklar ise sırasıyla 200, 250, 300, 350, 400 ve 450 K sıcaklıklardır. METHANOL çözücüsünde peptitimizin oldukça kararlı yapı sergilemesinden dolayı sıcaklık aralıkları daha geniş tutulmuştur. Bu sıcaklıklar için de peptitimizin sahip olduğu enerji değerlerinin simülasyon zamanına göre değişimi hesaplanmış ve bunlardan bazıları Şekil 5.18’de bir arada verilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi sıcaklık artışıyla enerji değerleri de artmaktadır. Yine methanol çözücüsünde her bir sıcaklık için enerji değerlerinin dalgalanmalarından yararlanılarak hesaplanan ortalama enerji değerleri Şekil 5.19’da sıcaklığa bağlı olarak verilmektedir. Burada SPC de görülen ve faz değişimini düşündüren ikinci bir eğime rastlanmamaktadır.

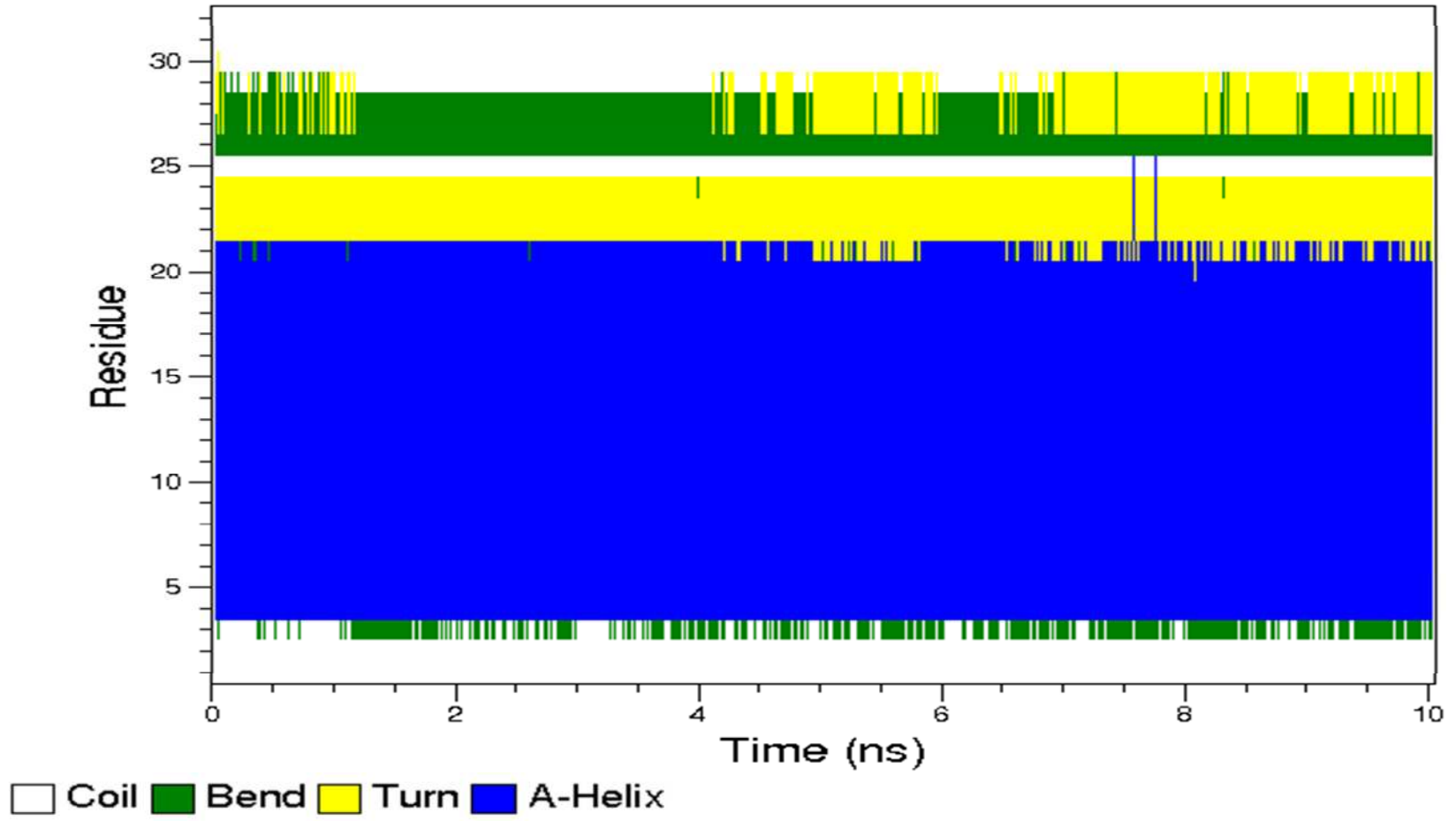


Şekil 5.18 sCT peptitinin METHANOL çözücüsünde farklı sıcaklıklardaki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu enerji değerleri.

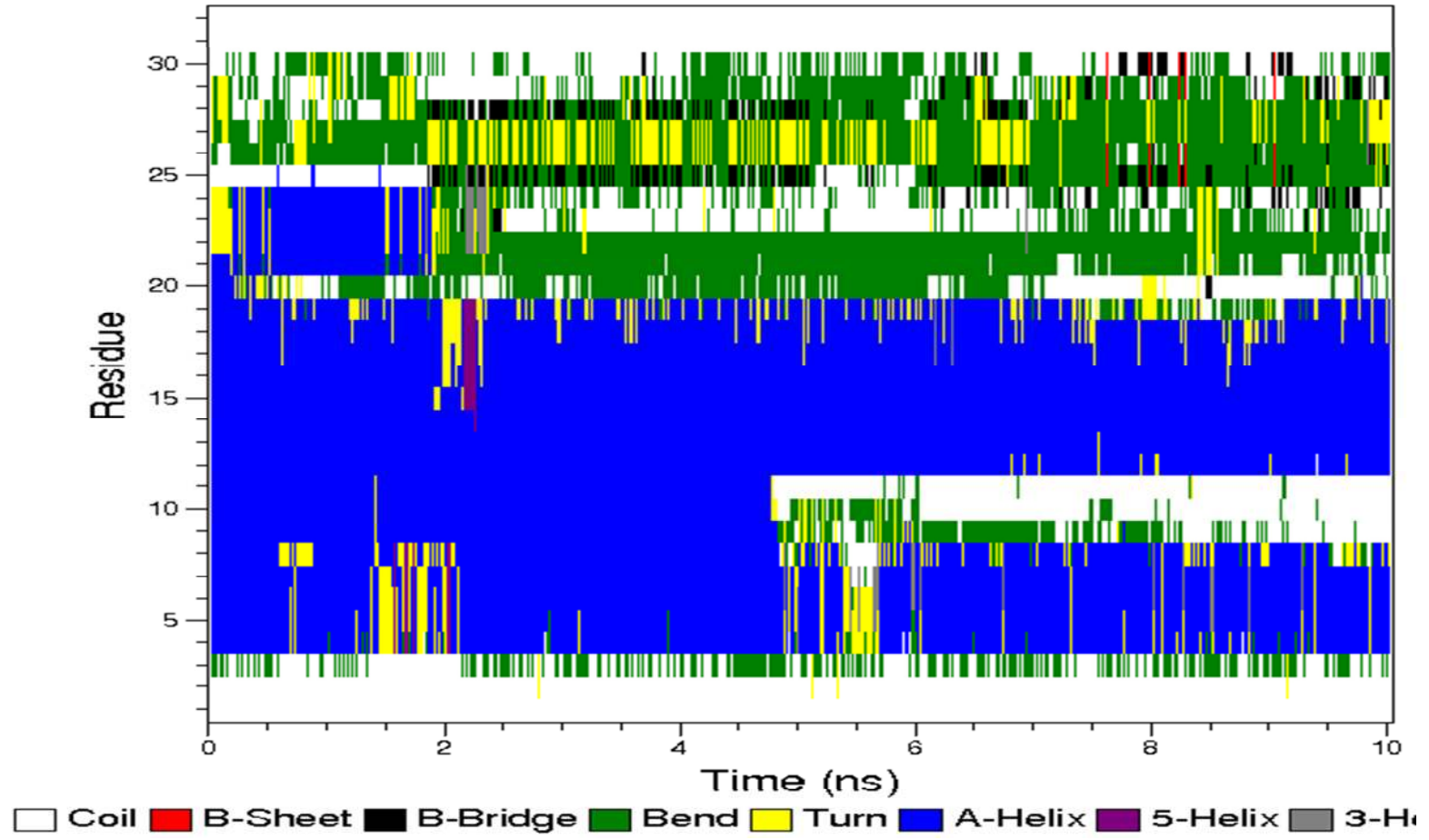


Şekil 5.19 sCT peptitinin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca sahip olduğu ortalama enerji değerlerinin sıcaklıkla değişimi.

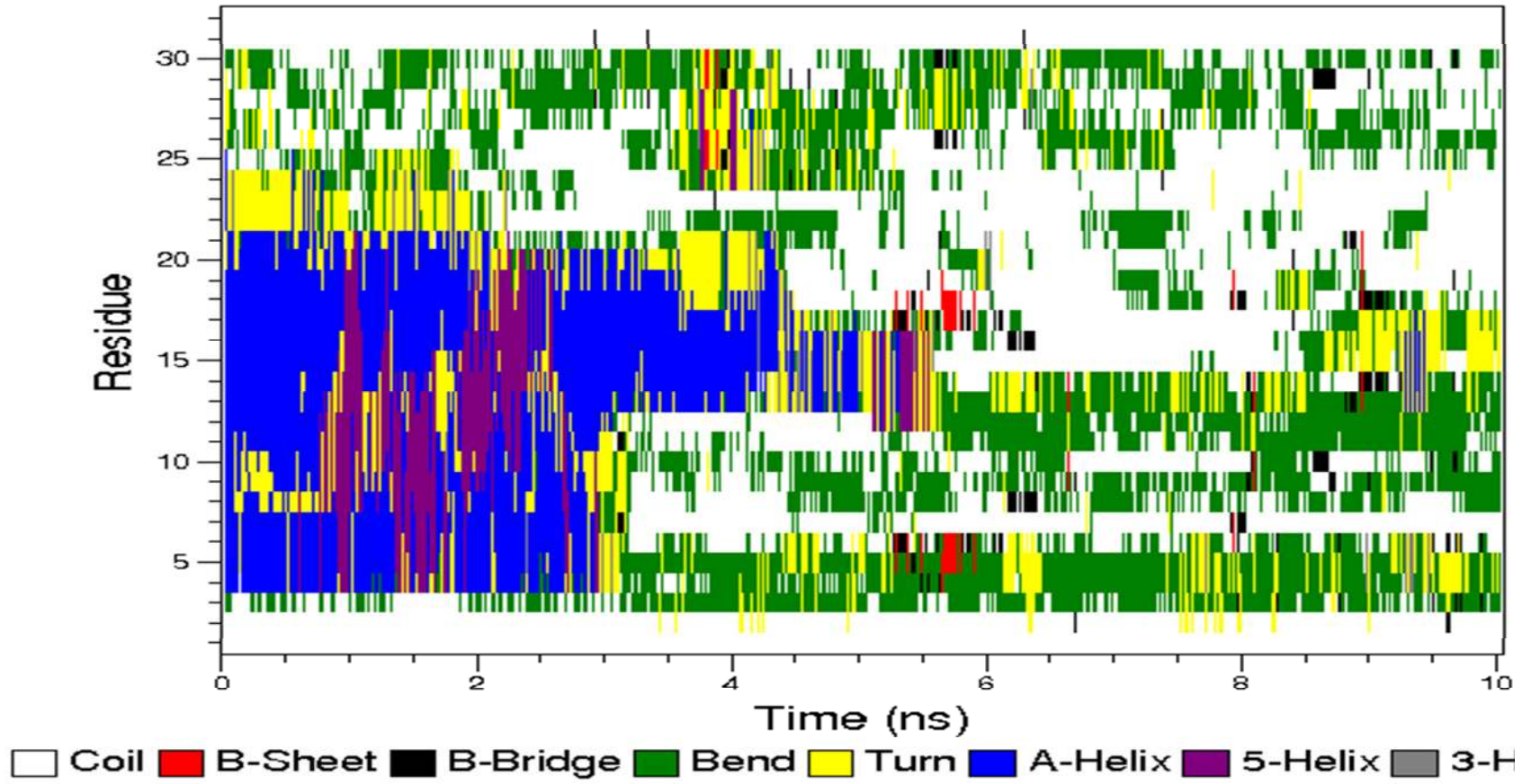
Şekil 5.20-22’de ise sırasıyla 200, 350 ve 450 K sıcaklıklarda METHANOL çözeltisindeki MD simülasyonlarından elde edilen ikincil yapıların zamanla değişimi verilmiştir. Bu şekillerden düşük sıcaklıklarda simülasyon boyunca yapının oldukça kararlı olduğu ve NMR yapısını koruduğu ancak sıcaklık artışıyla kararlı alfa-heliks yapıda olan 4-21 rezidülerinin kısmen bozulmasına rağmen çoğunlukla alfa-heliks yapı sergilediği, beta dönüşü yapısında olan 22-24 rezidülerinin ise 2 ns lik adıma kadar alfa-heliks yapıya bu zamandan sonra ise ağırlıklı olarak beta kıvrımlarına ve rastgele sarmal yapılara dönüştüğü, 25 ve 28 rezidülerinde ise çoğunlukla beta köprüsü yapıları ortaya çıktığı gözlemlenmektedir. Daha yüksek sıcaklıklarda ise yapının düşük sıcaklıklara göre çok daha farklı ikincil yapılara kaydığı, alfa heliks bölgelerinde 5 ns simülasyon adımına kadar 5-heliks yapılar gözlemlendiği ve bu zaman adımından sonra çoğunlukla beta kıvrımları ve rastgele sarmal yapıların ön plana çıktığı ve az miktarda beta köprüsü ve beta yaprağı yapılara da rastlandığı görülmektedir.



Şekil 5.20 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=200 K ve P=1 atm).



Şekil 5.21 sCT nin METHANOL çözücüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=350 K ve P=1 atm)



Şekil 5.22 sCT nin METHANOL çözütüsündeki MD simülasyonu boyunca ikincil yapılarının zamanla değişimi (T=450 K ve P=1 atm).

Yukarıda önemli farklılıkların ortaya konulduğu ve sıcaklık etkisinin incelendiği bu çalışmalarda, çözücüye göre seçilen sıcaklıklarda elde edilen ikincil yapıların yüzdeleri Çizelge 5.3'te bir arada verilmiştir.

Çizelge 5.3 Sıcaklığa bağlı olarak hesaplanan ikincil yapı yüzdeleri

	SPC			METHANOL		
İkincil yapılar	200 K	350 K	450 K	200 K	350 K	450 K
Rastgele sarmal (coil) %	17.91	31.20	31.16	21.58	27.00	44.02
Beta yaprağı (β-sheet) %	-	-	0.039	-	0.13	0.51
Beta köprüsü (β -bridge) %	-	0.77	1.367	-	1.96	1.05
Beta kıvrılma (bend) %	18.35	20.27	27.07	8.60	20.82	25.33
Beta dönüşü (turn) %	14.57	28.34	20.03	14.38	6.59	10.41
Alfa-heliks %	49.15	12.64	10.93	55.43	42.71	13.60
5-Heliks %	-	-	0.036	-	0.29	4.37
3-Heliks %	0.0037	6.76	9.34	-	0.47	0.67

BÖLÜM 6

SONUÇ VE TARTIŞMA

Günümüzde bilgisayar teknolojisindeki hızlı gelişmelere bağlı olarak, kompleks yapı özellikleri gösteren peptit/protein gibi sistemler yoğun araştırma alanlarından biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu sistemler üzerine yapılan çoğu çalışmada güncel deneysel teknikler (X-ışını kristalografisi, NMR spektroskopisi, Kriyoelektron mikroskopisi ve elektron kristalografisi vb. spektral teknikler) kullanılmaktadır. Ancak sentezlenen birçok peptidin yarı ömrü kısa olabileceğinden herhangi bir spektral teknikle inceleme olanağı olmayabilir. Bunun yanında bu sistemler üzerine her hangi bir faktörün etkisinin incelenmesi de deneysel yöntemlerle belirlenemeyebilir. Bu gibi durumlarda ucuz ve hızlı olan simülasyon yöntemlerine başvurulabilmektedir.

Protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Diğer yandan proteinler genellikle sulu çözeltide olduğundan, bu konformasyonlara çözücünün de önemli ölçüde etkisi vardır. Bu sebeple bir çözeltideki proteinin davranışı vakum ortamındakinden oldukça farklıdır. Proteinler/Peptidler konformasyonel enerjileri en düşük olacak şekilde konformasyon alma eğilimi gösterirler ve bunun yanında çözücü de protein/peptid olası en düşük çözelti serbest enerjisine sahip olacak konformasyonu almaya zorlar. Peptid ve çözücü bir arada düşünüldüğünde çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu sistemlerin sahip olacağı faz uzayının doğru olarak örneklenebilmesi ve dolayısıyla doğru istatistiğin oluşturulabilmesi gerekmektedir. Bu yapılırken bu sistemlerin enerji düzeylerinin yüksek enerji bariyerleriyle ayrılmış çok sayıda yerel minimumlara sahip olduğunun da göz ardı edilmemesi gerekmektedir. Çünkü MC veya MD simülasyonlarının en önemli problemlerinden birisi, özellikle düşük sıcaklıklardaki bu çok sayıdaki yerel enerji vadilerinden birine takılıp kalmasıdır.

Bu temel düşünceler ışığında yaptığımız tez çalışmasında, klinik tedavilerde yüksek oranda kullanılan ve postmenopausal (menopoz döneminin son evresi), osteoporosis (kemik erimesi), hypercalcemia (kemik hastalığı) gibi birçok hastalıkların tedavisinde önemli bir yere sahip olan, ikincil yapısı ve biyoaktifliği deneysel olarak tespit edilmiş, Calcitonin (CT) peptidinin bir tipi olan Salmon Calcitonin peptidinin (sCT) ikincil yapısı ve bu yapıya çözücü ve sıcaklık farklılıklarının etkileri Moleküler Dinamik Simülasyon Metodu ile incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında, yukarıda bahsedilen genel simülasyon sorunlarının üstesinden gelebilmek amacıyla, ayrıntıları Bölüm 5'te verilen bir yol haritası (protokol) belirlenmeye çalışılmıştır. Belirlediğimiz bu yol haritasına benzer birçok protokol literatürde de yer almaktadır (Drabik et al. 2001).

300 K sabit sıcaklıkta ve 1 atm sabit basınç altında çeşitli su modelleri ve methanol çözücüsünde gerçekleştirdiğimiz 10 ns lik simülasyon sonuçlarına bakıldığında, sCT peptidinin sahip olabildiği olası konformasyonların ikincil yapılarının ağırlıklı olarak alfa-heliks, rastgele sarmal ve beta kıvrımları şeklinde olduğu ve bu yapıların oranlarının seçilen çözüciye göre değiştiği görülmektedir (Çizelge 5.2). Sadece TIP4p çözücüsünde çok az miktarda beta yaprağı yapısına rastlanmıştır. Tüm simülasyonlarda peptit uçları rastgele sarmal yapıda kalmıştır. Uçlara polar gruplar (NH_3^+ ve COO^-) takılmasından dolayı bu beklenen bir sonuçtur. Bilindiği gibi tüm simülasyonlarımızda çözücülerde yapılan ön minimizasyonlardan elde edilen son yapı ürün simülasyonunun başlangıç yapısı olarak belirlenmiştir. Şekil 5.2-6'ya bakıldığında ürün simülasyonuna giren bu başlangıç yapılarında çözücünden kaynaklanan büyük farklar olmamasına rağmen ürün simülasyonlarında farklılaşmalar ortaya çıkmıştır. Bunun yanında Methanol çözücüsünde simülasyon boyunca yapının daha kararlı kaldığı da gözlemlenmiştir. Andreotti ve arkadaşları 2006 yılında yaptıkları çalışma sCT peptidinin 6-22 rezidülerinin %40 oranından daha fazla miktarda alfa-heliks yapı içerdiğini rapor etmişlerdir. Yine deneysel NMR ve CD sonuçlarından, sulu ortamda, alfa heliks yapısının tüm ikincil yapılara oranının sırasıyla %17 ve % 20 civarında olduğu da rapor edilmiştir (Andreotti et al. 2006). Bizim çalışmamızda ise bu oran seçilen su modeline göre SPC için %19, TIP3p için %13, TIP4p için %27 ve TIP5p için %19 civarında hesaplanmıştır (Çizelge 5.2). Bu bilgiler dikkate alındığında MD simülasyonlarımızdan elde edilen sonuçların literatürdeki deneysel NMR ve CD sonuçlarıyla uyum içerisinde olduğu görülmektedir.

Elde edilen ikincil yapılara sıcaklığın etkisine bakıldığında ise (Çizelge 5.3) çok düşük sıcaklıklarda sCT peptitinin %50 civarında alfa-heliks yapı gösterdiği, sıcaklık artışıyla özellikle bu alfa-heliks yapıların bozularak diğer ikincil yapı türlerine dönüştüğü ve bu dönüşüm türünde yine çözücünün etkisi olduğu görülmektedir. Öyle ki; SPC çözücüsünde 200 K sıcaklıkta % 49 civarında olan alfa-heliks yapı oranı, 350 K de % 13 e düşerken, bozulan bu yapılar dolayısıyla 200 K de sırasıyla %15 ve %18 civarında olan beta dönüşü ve rastgele sarmal yapı oranları 350 K de % 28 ve % 31 civarına yükselmekte iken, Methanolde bu sıcaklık artışıyla beta dönüşü oranının artmayıp tam tersi azaldığı, bunun yanında ise rastgele sarmal yapı oranının sadece 5 puan arttığı, kıvrılma yapılarının ise 12 puan arttığı görülmektedir.

Elde ettiğimiz sonuçlara bakarak, MD simülasyon metodunun peptit/protein gibi karmaşık sistemleri incelemede uygun bir yöntem olduğunu, simülasyonlarımız için takip ettiğimiz protokolün geçerli ve doğru bir yol olduğunu, peptid simülasyonlarında elde edilen olası üç boyutlu konformasyonların çözücü ortamına ve sıcaklığa doğrudan bağlı olduğunu söyleyebiliriz. Bunun yanında SPC ve TIP5 için bulunan sonuçların deneysel sonuçlara daha yakın olduğu görülse de literatürde hangi çözücü modelinin daha üstün olduğuna dair net bilgi mevcut değildir.

KAYNAKLAR

- Anfinsen C B** (1973) Principles that Govern the Folding of Protein Chains. *Science*, 181 (4096): 223–230.
- Andreotti G, Mendez B Lopez, Amodeo P, Morelli Maria A C, Nakamuta H and Motta A** (2006) Structural Determinants of Salmon Calcitonin Bioactivity. *Journal of Biological Chemistry*, 281 (34) : 24193–24203.
- Anson M L and Mirsky A E** (1931) Protein coagulation and its reversal. The Rockefeller *University Press*.
- Adler B J and Wainwright T E** (1957) Phase transition for a hard sphere system. *J.Chem. Phys.*, 27: 1208-1209.
- Allen M P and Tildesley D J** (1992) Computer simulation of liquids, This is a classic how to book, containing a large number of technical details on a vast array of techniques, *Oxford Science Publications*, New York, 62.
- Basharov M A** (2003) Protein Folding. *Cell Mol Med*, 7: 223–237.
- Baysal C and Meirovitch H** (1997) Novel Procedure for Developing Implicit Solvation Models for Peptides and Proteins. *J. Chem. Phys.*, 101: 7368-7369.
- Branden C and Tooze J** (1999) Introduction to Protein Structure 2nd ed. Garland *Publishing New York*.
- Brendsen H J C, Grigera J R and Straatsma J P** (1987) The missing term in effective pair potentials. *J. Phys. Chem*, 91: 6269-6271.
- Brendsen H J C, Postma J P M, van Gusteren W F and Hermans J** (1981) Intermolecular Forces. B. Pullman Ed. Reidel, Dordrecht.
- Brendsen H J C, Postma J P M, van Gusteren W F, Dinola A and Haak JR** (1984) Molecular dynamics with coupling to an external bath. *J. Chem. Phys.*, 81: 13684–13690.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Burkert U and N L Allinger Reminly** (1982) Molecular Mechanics. American Chemical Society, Washington, D.C.
- Bussi G Donadio and D Parrinello M** (2007) Canonical sampling through velocity rescaling. *J. Chem. Phys.*, 126: 014101-014102.
- Briesmeister** (1993) RSIC Computer Code Collection MCNP4A, Monte Carlo N-Particle Transport Cod System, Los Alamos National Laboratory, New Mexico.
- Cebe M** (1995) Fizikokimya 3, *Uludağ Üniversitesi Basımevi*, Tekirdağ, s.115–120.
- Chesnut C H III Azria, M Silverman, S Engelhardt, M Olson and M Mindeholm L** (2008) Salmon calcitonin a review of current and future therapeutic indications. *Osteoporos Int*, s.479–491.
- Cho S, Levy Y and Wolynes P** (2006) P versus Q: Structural reaction coordinates capture protein folding on smooth landscapes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103: 586–591.
- Cornell W D, Cieplak P Bayly C, Gould IR, Merz K M Jr and Ferguson D M, Spellmeyer D C, Fox T, Caldwell J W and Kollman P A** (1995) A Second Generation Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules. *J. Am. Chem. Soc.*, 117: 5179–5197.
- Darden T York and D Pedersen L** (1993) Particle Mesh Ewald: An N-log(N) method for Ewald sums in large systems. *J. Chem. Phys.*, 98: 10089–10092.
- Demircioğlu Z** (2007) “Alüminyum iridyum ve alüminyum rodyum alaşımlarının bazı termoelastik özelliklerinin moleküler dinamik simülasyon yöntemi ile incelenmesi”, Yüksek lisans tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 104 s.
- Drabik P, Liwo A Czaplewski and C Ciarkowski J** (2001) The investigation of the effect of counterions in protein dynamics Simulations. *Protein Eng. Des. Sel*, 14: 747–752.
- Dobson C M and M Karplus** (1999) The fundamentals of protein folding: bringing together theory and experiment. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9: 92–101.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Dowsland K A** (1995) Simulated Annealing. In Modern Heuristic Techniques for Combinatorial Problems (*Editor, Reeves, C.R.*), McGraw-Hill.
- Eisenberg D and McLachan A D** (1986) Solvation energy in protein folding and binding. *Nature*, 319: 199–203.
- Eisenberg D, Wesson M and Yamashita M** (1989) Where metal ions bind in protein. *Chem.Scrip.*, 29: 217 -221.
- Eisenberg D, Wesson M and Yamashita M** (1989) Interpretation of protein Folding and binding with atomic solvation parameters. *Chem. Scripta.*, 29A: 217-219.
- Essman U, Perera L, Berkowitz ML, Darden T, Lee H and Pedersen LG** (1995) A smooth particle mesh Ewald method. *J. Chem. Phys.*, 103: 8577–8593.
- Fruio E** (1997) *Moleküler Dinamik El-Kitabı*, Çeviri Editörleri K.Çolakoğlu, C. Kara Springer College in Computational Physics, ICTP, Trieste, June, 65.
- Ewald P P** (1921) Die Berechnung optischer und elektrostatischer gitterpotentiale. *Ann. Phys.*, 64: 253–287.
- Ercolessi F** (1997) Sprenger Collage in Computational Physics. *ICTP*, Trieste, 35pp.
- Fersht A** (2000). Transition state structure as a unifying basis in protein- Folding mechanism: Contact order, chain topology, stability, and the extended nucleus mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97 (4): 1525–1529.
- Frokjaer S Otzen and D E Nat** (2005) Protein drug stability. *Rev Drug. Discov.*, 4: 298–306.
- Findlay D M and Sexton P M** (2004) Calcitonin. *Growht Factors*, 22: 217–224.
- Gibson J B, Goland A N, Milgram M and Vineyard G H** (1960) Evidence for focusing collisions in irradiated Platinum. *Phys. Rev.*, 120: 1229-1230.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Gonen T, Cheng Y, Sliz P, Hiroaki Y, Fujiyoshi, Harrison S C and Walz T** (2005) Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals. *Nature*, 438: 633–638.
- Hansen J P and Verlet L** (1969) Phase transitions of the Lennard-Jones system. *Phys. Rev.*, 184: 151-153.
- Haile J M** (1992) Moleküler Dynamics Simulation Elementary Methods 2nd ed, John Wiley & Sons Inc, Canada.
- Hansman U H and Okamoto** (1993) Prediction of peptide conformation by multicanonical algorithm: New approach to the multiple-minima problem. *J. Comput. Chem.*, 14: 1333–1338.
- Hansmann U H** (2002) Global optimization by energy landscape paving. *Phys. Rev. Lett.*, 88: 068105-068105.
- Hao M H and Scheraga H A** (1994) Monte Carlo simulation of a first order transition for protein folding. *J. Phys. Chem.*, 98: 4940-4950.
- Hess B, Bekker H, Berendsen H J C and Fraaije J G E M** (1997) LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations. *J. Comput. Chem.*, 18: 1463–1472.
- Hehre Warren J, Leo Radom, Paul V R Schleyer and John A Pople** (1986) Ab Initio Molecular Orbital Theory. *John Wiley & Sons*, New York.
- Humphrey W, Dalke A and Schulten K** (1996) VMD: Visual molecular dynamics, *J. Mol. Graph.*, 14: 33–38.
- İşcan M** (2007.) Protein kararlılığının optimizasyonu. Protein mühendisliği yaz okulu, Didim.
- Inzerillo A M and Zaidi M** (1999) CL curr. *Med Chem*, 6: 1067–1093.
- Jackson S E** (1998). How do small single-domains proteins fold? *Folding & Design*, 3 (4): 81–91.
- Jenkins N** (2007) Modifications of therapeutic protein. *Cytotechnology*, 53: 121–125.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Jorgensen W L and Madura J D** (1985) Temperature and Size Dependence for Monte Carlo Simulations of TIP4P Water. *Mol. Phys.*, 56: 1381-1382.
- Jorgensen WL, Chandrasekha J, Madura JD and Klein ML** (1983) Comparison of simple potential function for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.*, 79: 926–935.
- Juffer A, Eisenhaber F, Hubbard S, Walther D and Argos** (1995) Comparison of atomic solvation parameters sets: applicability and limitations in protein folding and design. *Protein Sci*, 4: 2499–2509.
- Kabsch W and Sander C** (1983) Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen bonded and geometrical feature. *Biopolymers*, 22: 2577–2637.
- Kaya H and Chan H S** (2003) Solvation effects and driving forces for protein thermodynamics and kinetic cooperativity. How adequate is Native-centric Topological Modeling?. *Journal of Molecular Biology*, 326: 911–931.
- Kart H H, Tomak M, Uludoğan M and Çağın T** (2005) Thermodynamical and mechanical properties of Pd-Ag alloys, *Computational Materials Science*, 32: 107–117.
- Kim A** (1990) Amino acid side chain contribution to free energy of transfer of tripeptides from water to octanol distertation (University of California).
- Kirkpatrick S, C D Gelatt and M P Vecchi** (1983) Optimization by Simulated Annealing. *Science*, 220: 671–680.
- Krishnamurthy R and Manning M C** (2002) The stability factor. *Curr Pharm Biotechnol*, 3: 361–371.
- Kubelka J, Hofrichter J and Eaton A W** (2004) The protein folding ‘speed limit’. *Current Opinion in Structural Biology*, 14: 76–88.
- Lee T Huei, Cheg W T Ting and Lin S Yang** (2009) Thermal stability and conformational Structure Of Salmon Calcitonin in solid and liquid states. *Biopolymers*, 93 (2): 200–2007.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Lee T huei and Lin S Yang** (2011) Pluronic F68 enhanced the conformational stability of Salmon Calcitonin in both aqueous solution and lyophilized solid form. *Biopolymers*, 95 (11): 785–791.
- Levinthal Cyrus** (1968) Are there pathways for protein Folding? *Journal the Chimie Physique et de Physico Chimie Biologique*, 65: 44–45.
- MacKerell Jr D Bashford, M Bellott, R L Dunbrack Jr, J D Evanseck, M J Field, S Fischer, J Gao, H Guo, S Ha, D Joseph-McCarthy, L Kuchnir, Kuczera, F T K Lau, C Mattos, S Michnick, T Ngo, D T Nguyen, B Prodhom, W E. Reiher III, B Roux, M Schlenkrich, J C Smith, R Stote, J Straub, M Watanabe, J Wiórkiewicz-Kuczera, D Yin and M Karplus** (1998) All-atom empirical potential for molecular modelling and dynamics studies of proteins. *J. Phys. Chem.*, 102: 3586–3616.
- Mahoney M W and Jorgensen W L** (2000) A five-site model liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, non-polarizable models. *J. Chem. Phys.*, 112: 8910–8922.
- Meirovitch H and Meirovitch E** (1997) Efficiency of Monte Carlo Minimization Procedures and their Use in the Analysis of NMR Data Obtained from Flexible Peptides. *J. Comput. Chem.*, 18: 240-241.
- Metropolis N, Ulam S and Amer J** (1949) The Monte Carlo Method. *Journal of the American Statistical Association*, 44: 335-336.
- Murray R, Granner D, Mayes P and Rodwell V** (2004) *Harper Biyokimya*. Nobel Tıp Kitabevleri, 928, Türkiye.
- Motta A, Pastore A, Goud N A and Castiglione Morelli M A** (1991) Solution Conformation of Salmon Calcitonin in Sodium Dodecyl Sulfate micelle as determined by two-dimensional NMR and distance geometry calculations. *Biochemistry*, 30 (43) :10444–10450.
- Parmar H C** (2006) Optimal Chemotherapy. *Pharm Technol Europe*, 18: 20–22.
- Parrinello M and Rahman A** (1981) Polymorphic transitions in single-crystals: a new molecular dynamics method. *J. Appl. Phys.*, 52: 7182–7190.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Onat T, Emerk K and Sözmen E** (2002) *Dnsan Biyokimyası*. Palme Yayıncılık, 711, Ankara.
- Okamoto Y** (1998) Protein folding problem as studied by new simulation algorithms. *Recent Research Developments in Pure & Applied Chemistry*, 2: 1–23.
- Ooi T, Obatake M, Nemethy G and Scheraga H A** (1987) Accessible surface areas as a measure of the thermodynamic parameters of hydration of peptides. *Prod. Natl. Acad. Sci.*, 84: 3086-3087.
- Radford S E** (2000) Protein folding: progress made and promises ahead. *Trends Biochem Sci*, 25: 611–618
- Rahman A** (1964) Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon. *Phys Rev*, 136: A405-A411.
- Rapaport D C** (2004) *The Art Of Moluculer Dynamics Simulation*, Cambridge University Pres, Cambridge.
- Rathore N and Rajan R S** (2008) Current perspectives on stability of protein. *Biotechnol Prog*, 24: 504–514.
- Ryckaert J P, Ciccotti G and Berendsen H J C** (1977) Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints; molecular dynamics of nalkanes. *J. Comp. Phys.*, 23: 327–341.
- Schiffer C A, Caldwell J W, Kollman P A and Stroud R M** (1993) Protein structure prediction with a combined solvation free energy-molecular mechanics force field. *Mol. Simul.*, 10: 121-122.
- Shannon R E** (1975) *System Simulation: The Art and Science*, Prentice Hall, New Jersey.
- Smith C, Marks A and Lieberman M** (2007) *Mark's Basic Medical Biochemistry A Clinical Approach*. Lippincott Williams & Wilkins, 976, Philadelphia.
- Verlet L** (1967) Computer Experiments on Classical Fluids. I. Thermodynamical Properties of Lennard -Jones Molecule. *Physical Review.*, 159: 98-100.

KAYNAKLAR (devam ediyor)

- Viyenard G H, Gibson J B, Goland A N and Miligram, M** (1960) Temperature Dependence of Elastic Constants of EAM of Metals. *Phys. Rev.*, 120–1229
- Van der Spoel, Lindahl Erik, Hess Berk, Groenhof Gerrit, Mark Elen and Berendsen Herman J C** (2005) GROMACS fast, flexible and free. *J.Comput Chem.*, 26: 1701–17018.
- Van Gusteren, S R Billeter, A A Eising, P H Hünenberger, P Krüger, A E Mark, W P R Scott and I G Tironi** (1996) Biomolecular Simulation: The GROMOS96 Manual and User Guide, *VdfHochSchulverlag AG an der ETH Zürich. Switzerland.*
- Vila J, R L Williams, M Vásquez, and H A Scheraga** (1991) Empirical solvation models can be used to differentiate native from near-native conformations of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Proteins Struct. Funct. Genet.*, 10: 199–218.

ÖZGEÇMİŞ

Yıldız BERK 1985'de Gaziantep de doğdu; ilk, orta ve lise öğrenimini aynı şehirde tamamladı. 2004 yılında ZKÜ Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü'ne girdi; 2009 de mezun olduktan sonra 2010 yılında girdiği ZKÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans yapmaya başladı halen Yüksek Lisans programını sürdürmektedir.

ADRES BİLGİLERİ

Adres: Kıbrıs Mah.Özdemir cad.18 Nolu Sok No:19
Gaziantep/Merkez

E-posta: yildiz.berk@hotmail.com