

ANKARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ELASTİN KÖKENLİ PEPTİT ZİNCİRLERİNİN
YAPISAL GEÇİŞLERİNİN
İNCELENMESİ

Mustafa BİLSEL

FİZİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI

ANKARA
2009

Her hakkı saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

ELASTİN KÖKENLİ PEPTİT ZİNCİRLERİNİN YAPISAL GEÇİŞLERİNİN İNCELENMESİ

Mustafa BİLSEL

Ankara Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Handan A. OLĞAR

Elastin kökenli polipeptitler olarak bilinen $(VPGXG)_n$ polipeptitleri, farklı biyolojik, biyomekanik, biyokimya ve biyofizik özellikleri ile doku mühendisliğinde başta doku, mikrotüp ve nanotüp olmak üzere birçok alanda biyomateryal üretimine uygun yapıları ile dikkat çekmektedir. Bu nedenle, bu tür peptitlerin yapısının anlaşılması önem arz etmektedir.

Bu amaçla, çalışmamızda elastin kökenli polipeptitlerin yapısal özellikleri bilgisayar simülasyonları yöntemiyle incelenmiştir. Simülasyonlarımız, geliştirilmiş küme ailesinin en güçlü algoritmalarından olan multikanonik algoritma ile gerçekleştirilmiştir. Multikanonik yöntem katı halden biyofiziğe çok geniş uygulama alanına sahiptir.

Çalışmamızın ilk kısmında, $n=1$ alınıp X aminoasiti değiştirilerek aminoasitlerin hidrofobisite skalası oluşturulmuş, ardından farklı solüsyonlarda termodinamik büyüklükler hesaplanmıştır. Son olarak, $n=1, 2, 3$ seçilerek küçük moleküllerden büyüklere geçişte yapısal özelliklerdeki farklılıklar belirlenmiştir.

Temmuz 2009, 100 sayfa

Anahtar Kelimeler: Multikanonik simülasyon, protein, elastin türü polipeptitler, termodinamik büyüklükler, hidrofobisite

ABSTRACT

Master Thesis

INVESTIGATION OF THE CONFORMATIONAL TRANSITIONS OF ELASTIN-BASED PEPTIDE CHAINS

Mustafa BİLSEL

Ankara University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Physical Engineering

Supervisor: Ass. Prof. D. Handan A. OLĞAR

$(VPGXG)_n$ polypeptides known as elastin-like polypeptides with different biological, biomechanical, biochemical and biophysical properties stand out suitable structures appropriate for production of several biomaterials, in the first instance, tissue, microtube and nanotube in tissue engineering. Therefore, understanding the structural properties of such peptides comes into prominence.

For this purpose, structural properties of elastin-like polypeptides have been investigated by computer simulation methods in our study. Our simulations have been carried out by multicanonical algorithm, the most powerful algorithm in generalized ensemble family. Multicanonical method has a wide range of application area from solid state to biophysics.

By taking $n=1$ and changing aminoacid X, hydrophobicity scale has been established in the forepart of our study, afterwards the thermodynamical quantities have been determined in different solvents. Finally, by choosing $n=1, 2, 3$ structural properties have been determined when progression from small molecules to larger ones.

July 2009, 100 pages

Key Words: Multicanonical simulation, protein, elastin-like polypeptides, thermodynamical quantities, hydrophobicity

TEŐEKKÖR

Bu alıőmanın tamamlanmasında, bilgi ve önerileri ile yön veren, tezdeki problemlere her an özüm üretebilen, tez dıőı bilimsel faaliyetlerde maddi ve manevi destek ile teşvik eden, çalışmaları hızlandırmada olumlu yaklaşımları ile çalıőmalarını ve bilgi birikimlerini esirgemeyen danışmanım Sayın **Doç. Dr. Handan A. OLĐAR**'a (Ankara Üniversitesi Fizik Mühendisliği Anabilim Dalı) tüm hoşgörü ve iyi niyeti için teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek lisans öğrenimim ve tez çalıőmalarım süresince, desteğini esirgemeyen eşim Durdu BİLSEL'e ve oğlum T. Ege BİLSEL'e gösterdiği sabır için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Her türlü yardımları için arkadaşım Murat OĞUZ ve Züleyha ARTUÇ'a teşekkürlerimi sunarım.

Mustafa BİLSEL

Ankara, Temmuz 2009

İÇİNDEKİLER

| | |
|---|-----|
| ÖZET..... | i |
| ABSTRACT..... | ii |
| TEŞEKKÜR..... | iii |
| SİMGELER DİZİNİ..... | vii |
| ŞEKİLLER DİZİNİ..... | ix |
| ÇİZELGELER DİZİNİ..... | xii |
| 1. GİRİŞ..... | 1 |
| 1.1 Elastin Uygulamaları ve Literatür Çalışmaları..... | 2 |
| 2. KURAMSAL TEMELLER..... | 7 |
| 2.1 Giriş..... | 7 |
| 2.2 Bilgisayar Simülasyonları..... | 8 |
| 2.3 Simülasyon Teknikleri..... | 9 |
| 2.4 Monte Carlo Yöntemi..... | 12 |
| 2.5 Multikanonik Genel Formülasyonu | 14 |
| 2.6 Multikanonik yöntem..... | 15 |
| 2.7 Multikanonik Rekürsiyon..... | 23 |
| 2.8 Proteinlerin Önemi..... | 27 |
| 2.9 Proteinlerin Yapısı..... | 28 |
| 2.10 Protein Türleri..... | 29 |
| 2.11 Aminoasit Türleri..... | 30 |
| 2.12 Protein Katlanması..... | 32 |
| 2.13 Hidrofobik Etki..... | 34 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM..... | 37 |
| 3.1 SMMP (Proteinler için Basit Moleküler Mekanik)..... | 37 |
| 3.2 Konformasyon Uzayı ve Potansiyel Enerji Fonksiyonu..... | 38 |
| 3.3 Erişilebilir Yüzey Alanı Metodu (Accessible Surface Area Method)..... | 42 |
| 3.4 Genelleştirilmiş Kümelerde Monte Carlo Simülasyonu..... | 44 |
| 4. BULGULAR..... | 46 |
| 4.1 Giriş..... | 46 |
| 4.2 Peptitlerin Yapısal Karakterizasyonu..... | 47 |

| | |
|--|-----------|
| 4.3 Simülasyonlardaki Sayısal Detaylar..... | 52 |
| 4.4 Test Simülasyonları..... | 53 |
| 4.5 X Aminoasitinin Yapısal Geçiş Sıcaklığına Etkisi..... | 58 |
| 4.6 Elastin Türü Peptitlere Solüsyon Etkisi..... | 66 |
| 4.7 Rezidü Sayısının Yapısal Geçiş Etkisi..... | 72 |
| 5. SONUÇ..... | 78 |
| KAYNAKLAR..... | 82 |
| ÖZGEÇMİŞ..... | 88 |

SİMGELER DİZİNİ

| | |
|------------------------------|--|
| ASA | Accessible surface area |
| CD | Circular dichroism |
| COO ⁻ | Karboksil grubu |
| C(T) | Özısı |
| d | Başlangıç-bitiş uzaklığı |
| E | Enerji |
| E _{min} | Minimum enerji |
| ECEPP | Empirical Conformational Energy Program for Peptides |
| EKP | Elastin kökenli polipeptit |
| Gly | Glycine |
| K | Kelvin |
| MC | Monte Carlo |
| MD | Moleküler dinamik |
| n(E) | Spektral yoğunluk |
| NH ₃ ⁺ | Amino grubu |
| NMR | Nuclear magnetic resonance |
| p | Olasılık |
| Pro | Proline |
| R | Dönme yarıçapı |
| S | Entropi |
| SA | Simulated annealing |
| SMMP | Simple molecular mechanics for proteins |
| T | Sıcaklık |
| Val | Valine |
| VPGVG | Val-Pro-Gly-Val-Gly polipeptiti |
| VPGXG | Val-Pro-Gly-Xaa-Gly polipeptiti |
| ΔG _t | Transfer serbest enerji |
| ΔH _t | Entalpi |
| ε | Uzaklık bağımlı elektrostatik geçirgenlik sabiti |

| | |
|----------|------------------------------|
| ω | Multikanonik ağırlık faktörü |
| χ | Torsiyon açısı |
| ψ | Torsiyon açısı |
| ϕ | Torsiyon açısı |

ŞEKİLLER DİZİNİ

| | |
|---|----|
| Şekil 2.1 70x70 örgüde 2d 10-durum Potts modeli için multikanonik $P_{mu}(E)$ ve kanonik $P(E)$ enerji dağılımı..... | 17 |
| Şekil 2.2 80^2 örgüde 2d Ising model simülasyonu. $\beta_I=0$ ve $\beta_I=0.4$ değerlerindeki $H_1(E)$ ve $H_2(E)$ kanonik histogramlarının, $H_{mu}(E)$ multikanonik histograma göre değişimi..... | 21 |
| Şekil 2.3 80^2 örgüsünde 10-durum Potts modeli için $b^n(E)$ yinelemeleri..... | 26 |
| Şekil 2.4 Aminoasitlerin L ve D -isomerleri..... | 28 |
| Şekil 2.5 Aminoasit türleri..... | 31 |
| Şekil 2.6 Proteinlerin katlanma mekanizması..... | 32 |
| Şekil 2.7 İki aminoasitten dipeptit oluşması..... | 33 |
| Şekil 3.1 İç koordinatların tanımlanması..... | 38 |
| Şekil 3.2 Dihedral açılarının tanımı. 3-4 bağı ϕ açısıyla 2-3 eksenini etrafında taralı alanla çakışacak şekilde dönmektedir..... | 39 |
| Şekil 3.3. SMMP' de atomların numaralandırılması..... | 41 |
| Şekil 4.1 Tipik bir Ramachandran grafiği..... | 50 |
| Şekil 4.2 Peptit zincirinde β -dönüm yapan $L1$ ve $L2$ rezidülerinin şematik gösterimi..... | 51 |
| Şekil 4.3 $\beta-I$ (a) ve $\beta-II$ (b) türü dönüşler..... | 51 |
| Şekil 4.4 Multikanonik histogramlarının oluşturulması..... | 53 |
| Şekil 4.5 DDE metodunda Ala(10) simülasyonu (a) bizim çalışmamız (b) makale çalışması..... | 55 |
| Şekil 4.6 ASA metodunda Ala(10) simülasyonu (a) bizim çalışmamız (b) makale çalışması..... | 56 |
| Şekil 4.7 Metenkephalin simülasyonu (a) bizim çalışmamız (b) makale çalışması..... | 57 |
| Şekil 4.8 Vakum (a) ve solüsyon (SCH2) (b) ortamlarında özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 58 |
| Şekil 4.9 Vakumda 300 K' de Ramachandran çizimleri..... | 61 |
| Şekil 4.10 Solüsyon içine yapılan simülasyonlardan elde edilen Ramachandran çizimleri..... | 62 |

| | |
|--|----|
| Şekil 4.11 Vakumda (a) ve SCH2 modelinde (b) enerji değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 63 |
| Şekil 4.12 OONS (a) WE92 (b) ve SCH2 (c) modellerinde enerji değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 66 |
| Şekil 4.13 OONS (a), WE92 (b) ve SCH2 (c) modellerinde özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 67 |
| Şekil 4.14 OONS(a), WE92(b) ve SCH2(c) modellerinde d uzaklıklarının sıcaklığa bağlı değişimi..... | 69 |
| Şekil 4.15 WE92 modelinde Glu (a) ve Ala (b) diziliminin düşük sıcaklıklarda konformasyonlarının 3-boyutlu grafiği..... | 70 |
| Şekil 4.16 OONS(a), WE92(b) ve SCH2(c) modellerinde dönme yarıçapı (R) değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 71 |
| Şekil 4.17 $N= 5, 10$ ve 15 uzunluklarındaki rezidüler için SCH2 modelinde (a) enerji ve (b) özısının sıcaklığa bağlı değişimi..... | 73 |
| Şekil 4.18 $N= 5, 10$ ve 15 uzunluklarındaki rezidüler için SCH2 modelinde (a) R yarıçapı ve (b) d uzaklığının sıcaklığa bağlı değişimi..... | 73 |
| Şekil 4.19 VPGVG peptitinin $T=300\pm 10$ K sıcaklıkta Ramachandran grafikleri..... | 74 |
| Şekil 4.20 SCH2 ortamında (VPGVG) ₂ polipeptitinin $T=300\pm 10$ K sıcaklıkta Ramachandran grafikleri..... | 75 |
| Şekil 4.21 (VPGVG) ₂ polipeptitinin farklı ortamlardaki (a) enerji ve (b) özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi..... | 77 |
| Şekil 4.22 (VPGVG) ₂ polipeptitinin farklı ortamlardaki (a) R ve (b) d uzaklıklarının sıcaklığa bağlı değişimi..... | 77 |

ÇİZELGELER DİZİNİ

| | |
|--|----|
| Çizelge 2.1 Aminoasit kısaltmaları..... | 29 |
| Çizelge 2.2 Hidrofobisite skalası..... | 36 |
| Çizelge 4.1 β -I ve β -II türü dönümlerin karakteristik açıları..... | 52 |
| Çizelge 4.2 Vakum ve SCH2 modelinde yapısal geçiş sıcaklıkları ve özısı değerleri...59 | |
| Çizelge 4.3 Peptitlerin vakumda minimum enerji konfigürasyonlarının dihedral açıları..... | 64 |
| Çizelge 4.4 Peptitlerin solüsyonda (SCH2) minimum enerji konfigürasyonlarının dihedral açıları..... | 65 |
| Çizelge 4.5 OONS, WE92 ve SCH2 modellerinde yapısal geçiş sıcaklığı ve özısı değerleri | 68 |

1. GİRİŞ

Elastin kökenli polipeptitler (EKP' ler) olarak bilinen polipeptit dizilimlerinin doku mühendisliğinde önemi giderek artmaktadır. Bunun en önemli nedeni, elastin kökenli polipeptitlerin ve proteinlerin biyomateryal dizaynında kullanılmasıdır. Biyolojik moleküllerin, teorik ve deneysel olarak üç boyutlu doğal yapısının tayini ve bu moleküllerin katlanma mekanizmasının belirlenmesi, birçok interdisipliner bilim dalının en önemli amaçlarından biridir. Bunun bir sonucu olarak elastin hem deneysel, hem simülasyon yöntemleri ve hem de analitik modellerle incelenmektedir.

Bu çalışma, elastin kökenli olarak bilinen üç harfli kodlamada (Val-Pro-Gly-Xaa-Gly)_n ve tek harfli kodlamada (VPGXG)_n sembolü ile gösterilen polipeptit zincirde *X* aminoasitinin hidrofobisitesi ve polaritesi farklı amino asitlerle değiştirilmesi sonucunda elde edilen polipeptitlerin farklı sulu çözeltilerdeki yapısal özelliklerinin incelenmesi ve bu amaçla bilgisayar simülasyonlarının gerçekleştirilmesini içermektedir. Zincirlerin sadece aminoasit dizilişi verilerek tamamen rasgele bir konfigürasyondan başlayarak, bilinen tüm etkileşimlerden sistemin gerçek üç boyutlu şekillenimlerinin bulunması ve termodinamik özelliklerin değerlendirilmesi yapılmıştır.

EKP' lerin simülasyonu multikanonik algoritma ile yapılmıştır. Fiziğin pek çok alanında uygulamaya açık olan multikanonik yöntem, bazı ferromagnetizma ve spin camı modellerinde test edilmiştir. Bu yöntemin en büyük avantajı, belli bir sıcaklık aralığında örnekleme yaptığından, tek bir simülasyon ile istenilen sıcaklıktaki termodinamik niceliklerin hesaplanmasına olanak vermesidir (Arkin 2008).

Tez kapsamında gerçekleştirilen çalışmalar aşağıdaki başlıklar altında özetlenebilir:

1. (VPGXG)_n polipeptit zincirinde *X* aminoasiti değiştirilerek yapısal geçiş sıcaklık değişiminin incelenmesi,
2. Farklı su modellerinde yapısal geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi,
3. Yapısal geçiş sıcaklığının altında ve üstünde konformasyonların karakterize edilmesi,
4. Polipeptitlerin katlanmasında en önemli etken olan hidrofobisitenin karşılaştırması,
5. Yapısal geçiş sıcaklıklarının gerçek deneylerle karşılaştırılması.

Simülasyonlar Fortran programlama dilinde yazılmış, açık-kodlu, SMMP (Proteinler için Basit Moleküler Mekanik-Simple Molecular Mechanics for Proteins) programı ile gerçekleştirilmiştir. Program, standart geometri modeli kullanarak konformasyonları belirlemektedir. Standart geometri modelinde, protein iç koordinatlarına göre tanımlanmaktadır ve bu koordinatların Metropolis kriterlerine göre değiştirilmesi ile yeni konfigürasyonlar oluşturulmaktadır. Detaylar, Materyal ve Yöntem bölümünde anlatılmıştır.

Protein-su etkileşmesi, programda yer alan dahili solüsyon modelleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu modeller yaygın olarak kabul gören, çözücü-erişilebilir alanı (solvent accessible area) metodu kullanarak, protein-su etkileşim enerjisini hesaplamaktadır. Programda, Multikanonik Monte Carlo algoritması kullanılmaktadır. Bu yöntemin en büyük avantajı, belli bir sıcaklık aralığında örnekleme yaptığından, tek bir simülasyon ile istenilen sıcaklıktaki termodinamik niceliklerin hesaplanmasına olanak vermesidir.

Tekrar ağırlıklandırma yöntemi ile enerji, özısı, dönme yarıçapı (radius of gyration) ve başlangıç-bitiş uzaklığı (end-to-end distance) gibi önemli fiziksel nicelikler incelenmiştir.

1.1 Elastin Uygulamaları ve Literatür Çalışmaları

EKP' ler doku mühendisliğinde önemli ve ilgi uyandıran biyomateryallerdir. Bu ilgi, EKP' lerin dikkat çeken bazı özelliklerinden kaynaklanmaktadır. EKP' ler dokulara ve organlara esneklik sağlamakla sorumludur, bu nedenle esnekliğin gerekli olduğu kan damarları, lifler, ciğer ve ciltte bol miktarda bulunmaktadır. EKP' lerin önemli bir özelliği, fizyolojik şartlar altında kendini yenileme (self-assembly) potansiyelidir. Bu özelliği ile doku mühendisliği alanında mikrotüpler ve nanotüp üretimi için oldukça elverişlidirler. EKP' ler ile üretilen diğer biyomateryallerden bazıları; hidrojel (Wright *et al.* 2002), plaka (Mithieux *et al.* 2004), nanoparçacık (Herrero-Vanrell *et al.* 2005), sünger türü (sponge-like) izotropik ağlar (Bellingham *et al.* 2003) ve nanoporous materyallerdir (Reguera *et al.* 2004). Elde edilen elastin suda çözünmemektedir ve 70

yıllık yarı ömürlü en kararlı proteinlerden birisidir (Powell *et al.* 1992). Elastin türevli peptitlerin biyolojik aktivitesi üzerine çeşitli çalışmalar yapılmış ve halen de yeni çalışmalar yapılmaktadır.

EKP' ler, VPGXG pentapeptitinin tekrarlı dizilimleridir ve pentapeptitteki *X* aminoasiti yerine Pro hariç tüm aminoasitler getirilerek elde edilmektedir. Elastin suda çözünmeyen, hidrofobik ve yaygın olarak atomlar arası zincirlerin oluşturduğu çapraz örgülerle fiber yapılar kurar. Dokuların türüne bağlı olarak fiberler değişik miktarlarda bulunmaktadır. EKP' ler birçok biyolojik işlevde rol oynamaktadır ve en önemli fonksiyonları dokulara esneklik sağlamalarıdır. EKP' ler yapısında 750 aminoasit içerebilen ve Gly ile Pro açısından zengin proteinlerdir. Oluşturdukları esnek fiberler, aynı kesitteki kauçuktan 5 kat daha fazla esneme kapasitesine sahiptir. EKP molekülleri normalde kıvrımlı bir yapıdadır, ancak bir kuvvete maruz kaldıklarında düzleşir, kuvvet ortadan kalktığında ise doğal şekillerine tekrar dönerler.

EKP' ler kritik yapısal geçiş sıcaklığına sahiptir ve bu sıcaklığın altında çözünebilirken, üstündeki değerlerde ise çözünmeyen yapıya sahiptir. Kompozisyonundaki *X* in değiştirilmesi ve solüsyonun pH, iyonik direnç (ionic strength) ve konsantrasyon gibi parametrelerinin değiştirilmesi ile kritik yapısal geçiş sıcaklığı değiştirilebilmektedir.

EKP' ler birçok sebepten dolayı biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır: (1) yapısal geçiş sıcaklıkları 0-100 °C arasına ayarlanabilmektedir, bu sayede ilaç dizaynı (drug delivery) ve protein izolasyonu (protein purification) gibi alanlarda kullanılmaktadırlar. (2) Elastin kökenli polipeptitler sentezlenebilmektedir. (3) Laboratuvar ortamında gram/litre oranında kullanılabilir olmaları, sentetik polimerlere göre daha az maliyet getirmektedir. (4) Elastin kökenli polipeptitlerin biyolojik işlevlerde zehir veya zararlı etkisi yoktur. (5) Canlı doku uygulamalarında rahatlıkla kullanılabilirlerdir.

Elastin kökenli polipeptitlerden oluşturulan biyomateryaller geniş bir uygulama alanına sahiptir. Cilt kontraksiyonu (Lame *et al.* 1998), doku ve damar nakli (Boland *et al.*

2004), kalp kapakçığı (Neuenschwander and Hoerstrup 2004), elastik bağlantı dokusu (Xu *et al.* 2005) bunlardan en önemlileridir.

Özetle EKP' ler, biyomateryal ve doku mühendisliği alanlarında gelecek vaat etmektedir. İlginç biyolojik, biyomekanik, biyokimya ve biyofizik özellikleri ile doku üretimi çalışmalarına yeni yaklaşımlar getirmektedirler. EKP' ler doku mühendisliğinde, mikrotüp ve nanotüp olmak üzere birçok alanda biyomateryal üretiminde kullanılmak için uygundur. Deri ve kan damarı ile ilgili uygulamalarda elastin kökenli peptitlerden yapılmış biyomateryallerin kullanımı ile ilgili çalışmalar hızla devam etmektedir.

Dan Urry büyük EKP' leri ilk defa sentezlemiş ve circular dichroism (CD) (Urry *et al.* 1974) ve NMR (Urry *et al.* July 1975, Urry *et al.* June 1975) teknikleri ile üzerinde çalışmalar yapmıştır. Elastin kökenli büyük polimerlerin daha düşük kritik solüsyon sıcaklığına sahip oldukları ve bu sıcaklıkta ısıtıldıklarında su ve organik zengini olarak ayrıldıkları belirtilmiştir. Bu olaya “ters sıcaklık geçişi” adını vermiştir (Urry *et al.* 1976). Urry ve arkadaşları tekrarlı-elastin kökenli polipeptitlerin fiziksel özelliklerinin, tekrar eden peptitin aminoasit içeriğine bağlı olduğunu göstermişlerdir. Bu polipeptitlerin belirgin özelliklerinden birisi de T_i yapısal geçiş sıcaklığıdır. (Val-Pro-Gly-Xaa-Gly)_n tabanlı polipeptitlerin T_i sıcaklıkları, Xaa pozisyonuna farklı aminoasitler konularak değiştirilebilir. Örneğin hidrofobik bir aminoasit olan Trp' nin geçiş sıcaklığı daha hidrofilik Glu aminoasitinden daha düşüktür (Urry 1997). Fonksiyonel materyal hazırlanmasında, moleküler polimer ve çapraz örgülü sistemler tercih edilmektedir ve bu konuda bazı çalışmalar yapılmıştır. Urry *et al.* tarafından (Val-Pro-Gly-Val-Gly)_n, (Gly-Val-Gly-Val-Pro)₂₅₁ ve (Gly-Val-Gly-Ile-Pro)₂₆₀ polimerleri γ -radyasyonu ile çapraz örgüye dönüştürülmüştür. EKP' ler büyük miktarlarda üretilebilmektedir. Birkaç biyoelastik materyal, doku uygulamalarında test edilmiştir. McMillan daha iyi çapraz örgülü sistem elde edebilmek için (Val1 -Pro2 -Gly3 -Val4 -Gly5)_n sentetik elastin dizilimini denemiştir. Bu dizilimde Val rezidüsü her beşli tekrarda Lys ile yer değiştirmektedir (McMillan *et al.* 1999). (Val1 -Pro2 -Gly3 -Val4 -Gly5)_n elastin kökenli dizilimde her yedi tekrarda bir Val4 rezidüsünün yerine Lys veya Gln konulmasıyla hidrojel yapılmaktadır.

Büyük EKP'lerin izotropik yapıda (Aaron and Gosline 1980) ve yüksek mobilitide (Torchia and Piez 1973) oldukları gösterilmiştir. Spektroskopik çalışmalar (Urry *et al.* 1985) büyük EKP'lerin sudaki konformasyonlarının heterojen yapıya sahip olduğuna işaret etmektedir. Bu konformasyonlar, α -sarmalı (helix), β -plakası (plate), β -dönme (turn), γ -loop gibi çeşitli farklı yapısal elementleri aynı anda bulundurmaktadır. Bu yapıların bulunma olasılığı sıcaklıkla değişmektedir (Urry *et al.* 1985). Küçük EKP'lerin (birden birkaç VPGVG birimine kadar), sulu çözeltilerde makroskobik faz ayrımı bulunmamıştır. Yapısal geçiş sıcaklığı geçildiğinde küçük elastin peptitlerin konformasyon değişimleri büyük polimerlerle benzerdir, fakat daha geniş bir aralıkta olduğu gözlenmiştir (Reiersen *et al.* 1998, Nicolini *et al.* 2004). Basit elastin kökenli peptit zincirleri ısıtıldığında yapısındaki düzenliliğinin arttığı görülmüştür (Urry and Parker 2002, Urry 1997, Reiersen *et al.* 1998, Urry *et al.* 1985, Nicolini *et al.* 2004).

(VPGVG)_n polipeptidinin elastik özelliklerini belirlemek için Wasserman ve Salemme (Wasserman and Salemme 1990) tarafından moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Simülasyonlar süresince β -yaprakçık yapısı kararlı kalmıştır. Yazarlar elastik davranışa etki eden temel katkı faktörünün, proteinin entropik kuvvetleri olduğunu belirtmişlerdir.

EKP'lerin su içindeki konformasyonel değişimi üzerinde en önemli çalışmalardan biri GVG(VPGVG) (Rousseau *et al.* 2004, Schreiner *et al.* 2004) ve (VPGVG)_n (Li *et al.* 2001) polipentapeptit zincirleri hakkında yapılan çalışmadır. GVG(VPGVG) molekülünde kompakt ve genişleyen iki temel yapı bulunmuştur. Çalışılan tüm sıcaklık aralığında genişleyen yapı 280-380 K arasında baskın olarak görülürken kompakt yapı 330 K civarlarında en yüksek popülasyona sahiptir (Rousseau *et al.* 2004, Schreiner *et al.* 2004). Su-peptit hidrojen bağları dinamiğinin sıcaklığa olan bağlılığı, 330 K sıcaklığı civarında nitelik bakımından değişmektedir. Daha büyük yapıdaki (VPGVG)_n polipentapeptidinin başlangıç konformasyonlarında β -yaprakçığı görülmesine karşın düzenli yapı gözlenmemektedir (Li *et al.* 2001). Buna karşın yüksek sıcaklıklarda daha kompakt bir yapıdadır.

Arkın tarafından iki farklı çalışmayla EKP' ler detaylı olarak incelenmiştir. İlkinde, elastin kökenli proteinlerde sıklıkla tekrar eden Val1-Pro2-Gly3-Val4-Gly5 pentapeptit dizilimi ile Val1-Gly2-Val3-Pro4-Gly5-Val6-Gly7-Val8-Pro9 tropoelastin diziliminin multikanonik yöntemle simülasyonları gerçekleştirilmiştir (Arkın 2004). Simülasyon sonuçları, oda sıcaklığında termodinamik olarak kararlı konfigürasyonların X-ışını difraksiyon (Cook *et al.* 1980) ve CD (Tamburro *et al.* 1990) deneyleriyle benzer olduğunu göstermiştir, bir başka deyişle multikanonik simülasyon tekniği ile gerçek deney sonuçlarına ulaşılmıştır. Diğer çalışmada ise yine Val1-Pro2-Gly3-Val4-Gly5 pentapeptit incelenmiş (Arkın 2005), tüm sıcaklık değerlerinde olası konfigürasyonlar taranmış ve Ramachandran grafikleri ile peptitin ikincil yapısı analiz edilmiştir. Sıvı teriminin moleküle esneklik getirdiği, vakum içinde çok sınırlı bir bölgeye hapsolmuş bulunan konfigürasyonların sıvı içinde değiştiği gözlenmiştir. Sıvı içinde pentapeptitin sahip olduğu en düşük enerjili değeri ve bu enerji değerine karşılık gelen konfigürasyonunun yani molekülün doğal yapısı bulunmuştur.

2. KURAMSAL TEMELLER

2.1 Giriş

Son 30 yılda protein katlanması problemini çözmek amacıyla çok sayıda güçlü simülasyon algoritmaları geliştirilmiştir. Çok sayıda minimum enerji durumun içinden global minimum enerjili konfigürasyonun nasıl bulunacağı sorusuna yıllarca cevap bulunmaya çalışılmıştır. Protein katlanması mekanizmasının tam olarak anlaşılması için konfigürasyon uzayı hakkında yeterli bilgi birikiminin olması gerekmektedir.

Elastin türü molekülleri incelediğimiz çalışmamızda, yukarıdaki gereksinimleri karşılamak amacıyla, geliştirilmiş küme metotları kapsamında yer alan multikanonik metot kullanılmıştır. Bu metodun en önemli özelliği, sıcaklık bağımlı Boltzmann ağırlık faktöründen farklı bir ağırlık faktörü kullanarak potansiyel enerji uzayında gelişigüzel yürüyüş (random walk) imkanı sağlamasıdır. Gelişigüzel yürüyüş, simülasyonların herhangi bir enerji bariyerinden atlmasına izin vermekte, bu sayede diğer geleneksel metotlara göre daha geniş bir konfigürasyon uzayı örneklenebilmektedir. Tek bir simülasyonla, global minimum enerjili konfigürasyonun yanı sıra tekrar-ağırlıklandırma teknikleri kullanılarak fiziksel büyüklüklerin kanonik küme beklenen değerleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak hesaplanabilmektedir (Arkin and Çelik 2002).

Bu bölümde, öncelikle bilgisayar simülasyonları hakkında genel bir bilgi verilecek, ardından önde gelen simülasyon tekniklerinden geliştirilmiş küme metodu ve moleküler dinamik metodundan kısaca bahsedilecektir. Bu kapsamda, multikanonik metodun yanı sıra diğer geliştirilmiş küme metotları da sunulacaktır. Genel bakışın ardından multikanonik yöntem, formülasyonu ve rekürsif bağıntıları ile birlikte detaylı olarak anlatılacaktır.

Bölümün ikinci kısmında proteinlerin yapıtaşları olan aminoasitlerin türleri ve yapısı, proteinin katlanma mekanizmasındaki aşamalar ve katlanmada en önemli itici rolü oynayan hidrofobik etkiden bahsedilecektir.

2.2 Bilgisayar Simülasyonları

Bilgisayar simülasyonları, bilimsel problemlere kesin çözüm bulunmasında önemli bir rol oynamaktadır. Simülasyon sonuçları ile gerçek deney sonuçlarının karşılaştırılması sonucunda uygulanan model iyi ise deneylere yeni öneriler getirilebilir ve model başka problemlerin çözümünde de kullanılarak yeni çözümler üretilebilir. Teorik ve deneysel sonuçlar arasında köprü rolü oynayan bilgisayar simülasyonlarının bu iki yönü bilimde çok önemli bir yer tutmaktadır. Bilgisayar simülasyonları ile sistemin mikroskobik detaylarından başlanarak makroskobik özelliklerine ulaşılabilir. Bunların yanı sıra, çok yüksek sıcaklık veya basınç altında deney yapmak zor, hatta imkansız olmasına rağmen bilgisayar simülasyonlarında kusursuz bir şekilde gerçekleştirilebilmektedir. Ayrıca moleküler olayların hızı, deneysel olarak incelenmesinde zorluklar çıkarmakta iken problemin simülasyonlarla çözülmesi mümkün olmaktadır. Moleküler skaladan galaksilere kadar geniş bir spektrumda fiziksel, kimyasal ve biyolojik olaylar bilgisayar modellemeleri ile çalışılabilmektedir (Allen and Tildesley 1997).

Moleküler simülasyon, teorik kimya ve deney sonuçlarını esas alan bir dizi bilgisayar programlama tekniği olarak düşünülebilir. Molekül ve molekül sistemlerinin fiziksel, kimyasal ve biyokimyasal analizlerini yapmakta kullanılmaktadır. Teorik ve deney arasında köprü kurarak aşağıdaki işlevleri gerçekleştirmeyi hedef almaktadır:

1. Bir modelden sonuç çıkarma
2. Sistemin deneysel sonuçlarını karşılaştırma
3. Model için teorik önerilerde bulunma
4. Deneysel gözlemleri anlama ve açıklama
5. Atomik ve moleküler seviyedeki mikroskobik özellikler ile makroskobik özellikler arasında bağ kurma
6. Gerçek deneylerde gözlemlenme imkanı olmayan bilgileri edinme

Sonuç olarak, gerçek moleküllerin biyokimyasal ve fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi işleminin bilgisayar kullanılarak gerçekleştirilmesi moleküler simülasyon olarak tanımlanabilir. Moleküler simülasyon ile yapılabilecekler:

1. Moleküllerin yapıları araştırılabilir ve görüntülenebilir.
2. Moleküllerin temel özelliklerinden biri olan enerji düzeyleri simülasyonlarla hesaplanabilir. Teorik enerji hesaplama yöntemleri üç başlık altında toplanabilir: empirik, yarı empirik ve ab initio (kuantum mekaniksel). Enerji minimizasyonu ise moleküler yapının geometri optimizasyonudur.
3. Molekülün farklı konformasyonlarının minimum enerjisi bulunabilir. Konformasyon analizi molekül içi bağ açılarının (dihedral açılar) rotasyonunun tekrarlanması ile moleküler sistemin en düşük enerjisinin bulunmasına dayanır.
4. Kaynama noktası, molar hacim, yoğunluk, termodinamik nicelikler, manyetik duyarlılık, dipol moment, elektrostatik potansiyel, erişilebilir yüzey alanı gibi nicelikler interpolasyon, ekstrapolasyon ile veya direk hesaplama yöntemleri ile hesaplanabilir.

2.3 Simülasyon Teknikleri

Atom ve moleküllerin bilgisayar simülasyonlarında yaygın olarak bilinen iki teknik kullanılmaktadır: Monte Carlo (MC) ve Moleküler Dinamik (MD). Monte Carlo metodu Metropolis metodunun (Metropolis *et al.* 1953) bir uygulaması iken Moleküler Dinamik Newton' un ikinci hareket yasasının integrasyonunu esas almaktadır (Rahman 1964). Son yıllarda biyomoleküler sistemlerin simülasyonlarında MC metodu sıklıkla kullanılmaktadır.

MD metodu gücünü tartışma götürmeyen Newton yasalarından almaktadır. Diğer bir özelliği ise, simülasyonlarda zamanın açık bir şekilde yer alması sayesinde zaman bağımlı özellikleri kolayca hesaplayabilmektedir. Fakat konfigürasyon uzayı örneklemede zamanın kullanılması örnekleme miktarına sınır getirmektedir. Ayrıca fiziksel bir prensipten bahsediliyorsa konfigürasyon uzayının da fiziksel olması gerekmektedir, yani parametreler sürekli olmalıdır.

Diğer taraftan, Monte Carlo yöntemi fizik yasalarına bağımlı değildir, böylelikle birtakım pratik uygulamalar kullanarak örnekleme etkinliğini önemli derecede artırır. Bu avantajının kullanımı sınırsız değildir, şöyle ki

a) pratik uygulamalar bulmak her zaman kolay değildir

b) zaman bağımlı nicelikler dolaylı yollarla bulunur

c) Her bir adımda sistemin sadece küçük bir parçasını değiştiren MC metotlarının, kompleks Hamiltona sahip bazı sistemlerde etkin bir kullanımı bulunmamaktadır

Son on yılda geliştirilmiş yada multikanonik adı altında bir dizi simülasyon tekniği ortaya çıkmıştır. Bu metotlar kavramsal olarak iki ayrılır: simulated annealing (SA) ve şemsiye örnekleme. SA metodu Kirkpatrick (Kirkpatrick *et al.*1983) tarafından potansiyel yüzeyde global minimumu bulmak için geliştirilen bir metottur. Söz konusu yüzey uzayı, düşük sıcaklıklarda Metropolis yürüyüşleri (algoritması) ile taranmaktadır. Şemsiye örnekleme, serbest enerji simülasyonlarında örnekleme miktarını artırma özelliğine sahiptir (Patey and Valleau 1975, Torrie and Valleau 1977).

Genelleştirilmiş kümelerde üleşim fonksiyonu

$$Z = \int_{-\infty}^{+\infty} n(E) \exp(-E / kT) dE \quad (2.1)$$

bağıntısı ile tanımlanmıştır. Burada $n(E)dE$ terimi E enerjili konfigürasyon uzayının hacmidir. Bu denklem, T sıcaklığında Boltzmann dağılımı ile verilen gelişigüzel bir örneğin olasılığı $n(E)\exp(-E/kT)$ ile orantılı olduğu anlamına gelmektedir. Üstel çarpan, verilen bir sıcaklıkta simülasyon tarafından ziyaret edilen enerjilerin limitini belirlemektedir. SA metodu, geniş bir aralıkta örnekleme yapabilmek için yüksek sıcaklıktan sıfıra doğru sistemi taşımaktadır. Genelleştirilmiş kümelerde termodinamik niceliklerin düzgün dağılımlı örneklemesini sağlamak için simülasyonlar, ek olarak ağırlık fonksiyonu içermektedir.

Lyubartsev (Lyubartsev *et al.* 1992) tarafından geliştirilen genişletilmiş kümeler metodu ve Marinari ve Parisi (Marinari and Parisi 1992) tarafından geliştirilen SA metotlarının her ikisi de $\exp(-g(T))$ ek ağırlıkları içermektedir. Bu metotlar, $F(T)$ terimi T sıcaklığında Helmholtz serbest enerjisi olmak üzere, $g(T)=F(T)/kT$ olması durumunda sıcaklık uzayında düzgün dağılım örnekleme sağlamaktadır.

Çalışmamızda kullanılan Berg (Berg and Neuhaus 1992) tarafından geliştirilen multikanonik yaklaşımda ise enerji uzayında düzgün dağılım sağlayan ek $\omega(E)=1/n(E)$ ağırlıkları içermektedir. Bölüm 2.6' da bu yaklaşım detaylı olarak anlatılmaktadır.

$1/k$ kümesindeki ek $\omega(E)$ ağırlığı içeren ve $\omega_{1/k}(E) = \alpha \int_{-\infty}^E n(E') dE'$ koşulunun sağlanması durumunda entropi uzayında düzgün dağılım sağlayan yaklaşım Hesselbo ve Stinchcombe (Hesselbo and Stinchcombe 1995) tarafından geliştirilmiştir.

Hansmann ve Okamoto bu metotların teorik (Hansmann and Okamoto 1996) ve sayısal karşılaştırmasını, üzerinde çok çalışılan metenkephalin molekülü (Hansmann and Okamoto 1997) ile gerçekleştirmiştir. Hansmann tarafından yapılan metenkephalin çalışması, elastin simülasyonları öncesinde simülasyon düzeneğimizin testini gerçekleştirmek için yapılmıştır ve sayısal sonuçlar tezimizin Bulgular ve Tartışma başlıklı dördüncü bölümünde yer almaktadır. Hansmann ve Okamoto çalışmaları geleneksel MC metotlarının hepsinin eşit derecede düzgün çalıştığını göstermiştir.

Bu metotların tümünün ortak yönü, ideal ağırlık fonksiyonunun önceden bilinmemesidir. Ağırlık fonksiyonları iterasyon ile önceden belirlenmesinin ardından tek bir simülasyon ile fiziksel büyüklüklerin beklenen değerleri istenilen sıcaklık aralığında başarılı bir şekilde hesaplanabilmektedir.

Sonraki yıllarda Wong ve Liang (Wong and Liang 1997) tarafından genelleştirilmiş küme algoritmaları genişletilmiştir. Bu kapsamda, sistemin her bir durumu için ağırlık faktörleri dikkate alınmıştır. Bu ağırlıklar, sistemin enerji bariyerlerini aşabilmesini sağlamaktadır.

2.4 Monte Carlo (MC) Yöntemi

Monte Carlo metotları, rasgele sayılar kullanarak konformasyon uzayını modellemekte kullanılan sayısal tekniklerdir. “Monte Carlo” ismi şans oyunlarına benzerliği yüzünden konulmuştur. Günümüzde farklı Monte Carlo simülasyon metotları, atmosfer çalışmaları, nükleer fizik, trafik akışı ve tabii ki biyokimya ve biyofizik gibi değişik alanlarda kullanılmaktadır.

Genel olarak Monte Carlo metodu iki basamaktan oluşur:

1. yeni konformasyon üretmek
2. yeni konformasyonun kabul edilebilirliğine karar verilmesi

Monte Carlo metodunda verilen herhangi bir konformasyondan sonra “zar atılır”, yani bilgisayar gelecek konformasyona karar vermek için rasgele bir sayı seçer. Bir durumdan diğerine geçişin detayları çalışma konusuna göre farklılık göstermektedir. Örneğin, polipeptitlerdeki torsiyon açılarının değişimi aşağıdaki basamakları içerir. İlk olarak, zar atılarak polipeptit omurgasındaki aminoasitlerin konumları rasgele seçilir. Sonra aminoasitteki değişken torsiyon açılarından (φ , ψ veya χ) biri gelişiğüzle değiştirilerek bir konformasyon elde edilir. Ardından başka bir açı yine rasgele değiştirilerek yeni bir konformasyon elde edilir.

Bu aşamada yeni konformasyonun kabul edilebilirliğine karar verilir. Yeni konformasyon reddedilirse, kabul edilir bir konformasyon bulunana kadar yukarıdaki işleme tekrar edilmelidir. Eğer kabul edilirse, bulunan konformasyon yeni olarak alınır ve işleme kaldığı yerden devam edilir. Aşağıdaki sıcaklık bağımlı Metropolis olasılığı yeni konformasyonların kabul edilebilirlik şartıdır:

$$p = \begin{cases} e^{-\beta\Delta E}, & e^{-\beta\Delta E} < 1 \\ 1, & e^{-\beta\Delta E} \geq 1 \end{cases} \quad (2.2)$$

Burada $\beta = 1/kT$ ve ΔE potansiyel enerjideki değişmedir. Yani, yeni konformasyonun enerjisi eskiden daha düşük ise, $\Delta E < 0$, daima kabul edilir. Fakat yeni konformasyonun enerjisi eskiden yüksek ise, $\Delta E > 0$, kabul edilebilirliği Boltzmann faktörüne bağlıdır. $\Delta E > 0$ yüksek enerji durumunda, bilgisayar $[0,1]$ aralığında rasgele bir r sayı seçer ve bu sayı p olasılığı ile 2.2 denklemindeki Metropolis kriterine göre karşılaştırılır. Eğer $r < p$ ise kabul edilir, aksi durumda reddedilir.

Monte Carlo simülasyonlarında sıcaklık önemli bir rol oynar. Genel olarak, Monte Carlo simülasyonları, düşük enerji durumlarına yaklaşma eğilimindedir. Fakat yüksek sıcaklıklarda (küçük β değerlerinde) yüksek enerji değerlerine gitme olasılığı vardır. Bu olasılık, düşük sıcaklıklarda küçüktür ve $T \rightarrow 0$ limitinde ortadan kalkar. Sonuç olarak, konformasyon uzayının genel modellenmesi için yüksek sıcaklık Monte Carlo simülasyonları sıklıkla kullanılır. Yukarıda bahsedildiği üzere, Monte Carlo simülasyonları birçok farklı alanda popülerdir. Bunun nedeni, kullanımının kolay olması ve iyi bir yakınsama özelliğine sahip olmasıdır. Bununla beraber, kabul edilen zar atışlarının tüm atışlara oranı olarak tanımlanan kabul edilebilirlik oranının Monte Carlo metodunda düşük olması bu metodun verimliliğini düşürmektedir.

Monte Carlo işlemi rasgele sayılarla yürüdüğü için, rasgele sayı üreticinin kalitesi simülasyonlarda önemli bir olgudur. Rasgele sayı üreticilerin, $[0,1]$ aralığında düzgün dağıtılmış rasgele sayılar ürettiği varsayılmaktadır. Fakat gerçekte bilgisayar hiçbir şekilde rasgele sayı üretmez, çünkü sayı üretmek için belirli bir algoritma kullanmaktadır ve bu algoritmanın da sonlu bir periyodikliği vardır. Yüksek kalitedeki bir algoritma yeterli bir periyodikliğe sahip olmakta ve dağılım gerçekten de rasgele görünmektedir. Günümüzde birçok rasgele sayı üretici algoritma vardır (Flannery *et al.* 1989), bunlar kullanılmadan önce test edilmelidir. Pratikte 10,000 veya üzeri sayılı basit bir histogram dağılımının düzgün olup olmadığı bize sayı üreticinin kalitesi hakkında fikir verir.

2.5 Multikanonik Genel Formülasyonu

T sıcaklığında kanonik algoritma ile yapılan simülasyonlarda her bir durum, Boltzmann faktörü ile ağırlıklandırılmaktadır.

$$\omega_B(E, T) = e^{-\beta E} \quad (2.3)$$

$\beta = 1/k_B T$ sıcaklığı k_B Boltzmann sabiti ile tanımlanmaktadır. Bu ağırlık faktörü bilinen çan eğrisi şeklini vermektedir. $n(E)$ terimi durumların yoğunluğu olmak üzere enerjinin kanonik dağılım olasılığı,

$$P_B(E, T) \propto n(E) \omega_B(E, T) \quad (2.4)$$

Multikanonik algoritmada ise enerjinin olasılık dağılımı sabit olarak tanımlanmıştır.

$$P_{mu}(E, T) \propto n(E) \omega_{mu}(E, T) = \text{sabit} \quad (2.5)$$

Her bir durum için E enerjili multikanonik ağırlık faktörleri,

$$\omega_{mu}(E) \propto n^{-1}(E) = e^{-S(E)} \quad (2.6)$$

Burada $S(E)$ mikrokanonik entropidir ($k_B=1$) ve

$$S(E) = \ln n(E) \quad (2.7)$$

bağıntısı ile tanımlanabilir. 2.5 denkleminde belirtilen düzgün olasılık dağılımı, multikanonik simülasyonlar ile enerji bariyerlerine takılmadan geniş bir enerji uzayında tarama imkanı sağlamaktadır. Kanonik simülasyonlardan farklı olarak, multikanonik simülasyonlarda $\omega_{mu}(E)$ multikanonik ağırlık faktörü başlangıçta bilinmemektedir ve simülasyon öncesinde bu ağırlık faktörü belirlenmelidir. Multikanonik uygulama, 3 aşama içermektedir. İlk aşamada multikanonik parametre hesaplanır (Berg 1992,

Hansmann and Okamoto 1994). Bu ağırlık faktörü ile yüksek oranda istatistiksel veri kullanılarak tüm enerji aralıklarında veri toplanır. Son olarak, simülasyonların analizi ile sadece minimum enerji değil, geniş bir sıcaklık aralığında kanonik dağılım elde edilir. Tekrar ağırlıklandırma (reweighting) tekniği kullanılarak herhangi bir A fiziksel büyüklüğünün beklenen değeri

$$\langle A \rangle_T = \frac{\int dE A(E) P_B(E, T)}{\int dE P_B(E, T)} \quad (2.8)$$

denklemleri ile hesaplanabilir.

2.6 Multikanonik Yöntem

Kanonik simülasyonlar, sabit bir T sıcaklığında hesaplama yaparken, multikanonik simülasyonlar bir sıcaklık aralığında niceliklerin beklenen değerlerini ağırlıklandırma teknikleri kullanarak hesaplamaktadır. Kanonik Monte Carlo simülasyonları, Boltzmann ağırlık faktörleri kullanarak k konfigürasyonlarını

$$\omega_B(E^{(k)}) = e^{-\beta E^{(k)}} \quad (2.9)$$

ağırlıkları ile verilen Boltzmann dağılımına göre modellemektedir. Burada k konfigürasyonunun enerjisi $E^{(k)}$ ve $\beta = 1/T$ olarak tanımlanmış ve Boltzmann sabiti $k_B=1$ olacak şekilde birimler seçilmiştir. Enerjinin olasılık dağılımı,

$$P(E) = c_\beta \omega_B(E) = c_\beta n(E) e^{-\beta E} \quad (2.10)$$

olarak elde edilir. $n(E)$ spektral yoğunluk olarak tanımlanmış ve E enerjisindeki konfigürasyonların sayısını belirtmektedir. c_β katsayısı $\sum P(E)=1$ koşulunu sağlamak için gerekmektedir. L örgü büyüklüğünü karakterize etmek üzere birinci derece yapısal geçiş noktaları için, $P(E) = P(E;L)$ enerji dağılımlarını çift tepeli yapan $\beta^c(L)$ kritik

noktaları mevcuttur. $E^1_{max} < E^2_{max}$ noktasındaki maksimumlar $P_{max} = P(E^1_{max}) = P(E^2_{max})$ şeklinde eşit yüksekliktedir. Bu değerler arasında bir yerde bir E_{min} minimum enerjisi bulunmaktadır. Ancak büyük sistemlerde MC simülasyonları 2.10 denklemine göre, $E=E_{min}$ konfigürasyonlarına pratikte hiç uğramayacaktır. Örgü boyutuna bağlı olarak, simülasyonlardaki bu üstel bozulmayı karakterize etmek için süper kritik yavaşlama terimi kullanılmaktadır. Uygun enerji aralığı seçilip,

$$\omega_{1/n}(k) = \omega_{1/n}(E^{(k)}) = 1 / n(E^{(k)}) \quad (2.11)$$

ağırlıklarına

$$\omega_{mu}(E^{(k)}) = e^{-b(E^{(k)})E^{(k)} + a(E^{(k)})} \quad (2.12)$$

yaklaşımı ile bu problemin üstesinden gelinbilir. Burada E enerjisine ait sıcaklık $b(E)$, sıcaklıktaki sapma eğilimi ise $a(E)$ ile gösterilmiştir. $1/n(E)$ terimi daha önceden şemsiye örnekleme (umbrella sampling) metodunda (Torrie and Valleau 1977) kullanılmıştır. $b(E)$ fonksiyonunun bileşenlerine fazla bağlı olmaması, ağırlık faktörleri hesaplarken önemlidir. Denklem 2.12' de verilen parametreler multikanonik yaklaşımda tipiktir. Bu yaklaşımla, $P(E)$ kanonik enerji dağılımı yerine, yeni bir multikanonik dağılım elde edilir:

$$P_{mu}(E) = c_{mu}n(E)\omega_{mu}(E) \approx c_{mu} \quad (2.13)$$

2.10 denkleminde istenen kanonik dağılım tekrar ağırlıklandırma ile elde edilir:

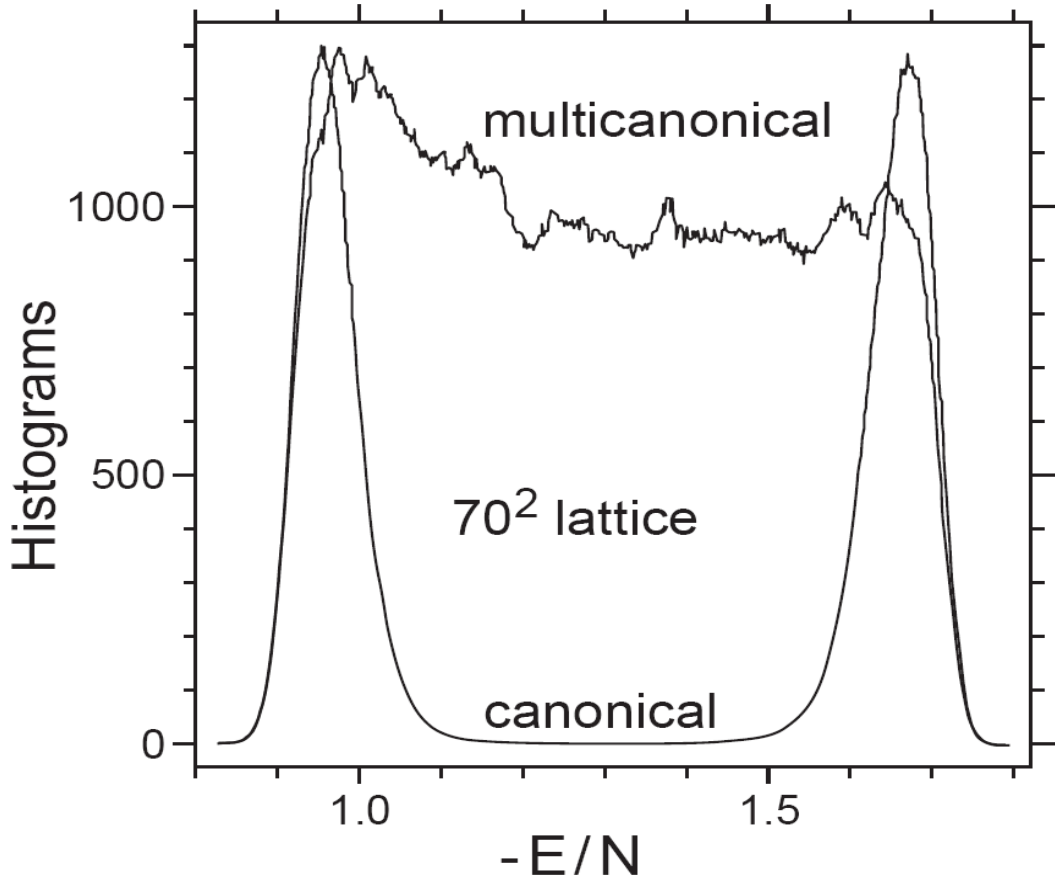
$$P(E) = \frac{c_{\beta}}{c_{mu}} \frac{P_{mu}(E)}{\omega_{mu}(E)} e^{-\beta E} \quad (2.14)$$

Multikanonik metot iki basamaktan oluşmaktadır:

i) Ağırlık faktörlerinin elde edilmesi

ii) Bu ağırlık faktörleri ile Markov zincirli Monte Carlo simülasyonu yapılması. Fiziksel büyüklüklerin beklenen kanonik değerlerinin tekrar ağırlıklandırma ve standart Jackknife metotları ile hesaplanması.

2d 10-durum Potts modeli için bulunan multikanonik ve ağırlıklandırılmış kanonik enerji histogramları Şekil 2.1’ de gösterilmiştir.



Şekil 2.1 70x70 örgüde 2d 10-durum Potts modeli için multikanonik $P_{mu}(E)$ ve kanonik $P(E)$ enerji dağılımı

Gibbs kanonik kümesiyle tanımlanan sistemlerin multikanonik simülasyonları, fiziksel niceliklerin beklenen değerlerini hesaplamayı amaçlamaktadır. Ayrık sistemlerde $\beta=1/T$ sıcaklığında A fiziksel niceliğinin beklenen değerleri

$$A = A(\beta) = \langle A^{(k)} \rangle = Z^{-1} \sum_{k=1}^K A^{(k)} e^{-\beta E^{(k)}} \quad (2.15)$$

bağıntısı ile tanımlanır. Burada

$$Z = Z(\beta) = \sum_{k=1}^K e^{-\beta E^{(k)}} \quad (2.16)$$

ile tanımlanan Z parametresi üleşim fonksiyonudur. $k=1, \dots, K$ toplamı sistemin tüm konfigürasyonlarını (yada mikro durumlarını) kapsamakta ve k mikro durumunun enerjisi $E^{(k)}$ olarak gösterilmiştir.

Burada harici manyetik alandaki d -boyutlu örgülerdeki Potts modeli üzerine odaklanacağız. Genelleştirilmiş Potts modellerinde sistemin enerjisi

$$E^{(k)} = E_o^{(k)} + M^{(k)} \quad (2.17)$$

bağıntısı ile hesaplanmaktadır. Burada

$$E_o^{(k)} = - \sum_{\langle ij \rangle} J_{ij} (q_i^{(k)}, q_j^{(k)}) \delta(q_i^{(k)}, q_j^{(k)}) \quad (2.18)$$

bağıntısı ile tanımlanmakta ve $\delta(q_i, q_j)$

$$\delta(q_i, q_j) = \begin{cases} 1, & q_i = q_j \\ 0, & q_i \neq q_j \end{cases} \quad (2.19)$$

koşulunu belirtmektedir. $M^{(k)}$ terimi ise

$$M^{(k)} = H \sum_{i=1}^N \delta(l, q_i^{(k)}) \quad (2.20)$$

bağıntısıyla bulunmaktadır. $\langle ij \rangle$ en yakın örgü üzerinden alınan toplamı ve $q_i^{(k)}$ ise i konumundaki k konfigürasyonunun durumunu belirtmektedir. $q_i^{(k)}$ Q-durumu Potts modelinde $1, \dots, q$ arasında değer alır. $q_i=1, \dots, q$ ve $q_i=1, \dots, q$ olmak üzere $J_{ij}(q_i, q_j)$ fonksiyonları i ve j konumlarındaki eşleşmeleri belirten sabitlerdir. Örgüdeki i ile N arası toplam 2.20 denkleminde belirtilmiştir. Herbir k konfigürasyonu (sistemin mikro durumları) tüm durumların özgün yapısını tanımlamaktadır, başka bir deyişle durumların herbir düzeni özgün bir konfigürasyonu belirtir:

$$k = \{q_1^{(k)}, \dots, q_N^{(k)}\} \quad (2.21)$$

Her bir konumda q durumu varsa, toplam mikro durum sayısı

$$Z(0) = K = q^N \quad (2.22)$$

olarak hesaplanır. Burada Z denklem 2 de tanımlanmıştır. Köşe uzunlukları L_n ($n=1, \dots, d$) olan bir örgüde, konumların sayısı

$$N = \prod_{n=1}^d L_n \quad (2.23)$$

ile bulunur.

Kanonik Gibbs kümesi örnekleme Metropolis (Metropolis *et al.* 1953) tarafından bir yaklaşımla açıklanmıştır. Bu yaklaşım, doğadaki termal sapmalar ve Boltzmann katsayısı ile ağırlıklandırılmasına benzetilmektedir. Verilen bir k konfigürasyonundan yeni bir k' konfigürasyonu türetilmesi

$$p^0(k', k) = p^0(k, k'), \quad \sum_{k'} p^0(k', k) = 1 \quad (2.24)$$

geçiş matrisinin yardımı ile yapılmaktadır. Yeni konfigürasyon kabul edilmesi veya reddedilmesine

$$p^0(k', k) = \min[1, \omega(k', k)] \quad (2.25)$$

$$\omega(k', k) = \frac{\omega(k')}{\omega(k)} \quad (2.26)$$

olasılığının hesaplanması ile karar verilir. Burada $\omega(k)$ multikanonik ağırlık faktörüdür. Sonuç olarak, yeni bir k' konfigürasyonunun kabul edilip edilmemesi 2.11 denklemindeki kurala göre belirlenir. Böylelikle N güncellemeli adımlarla tüm konfigürasyonlar taranmış olur. Denklem 2.24 ve 2.25' in birleştirilmesiyle $k \rightarrow k'$ geçiş olasılığı

$$k' \neq k \text{ için} \quad p(k', k) = p^0(k', k) p^a(k', k) \quad (2.27)$$

ve

$$p(k, k) = 1 - \sum_{k' \neq k} p(k', k) \quad (2.28)$$

bağıntısı elde edilir.

Metropolis işlemi, A fiziksel niceliğinin gerçek deneylerle ölçülen değerleri gibi k_i ($i=1, \dots, n$) denge konfigürasyonları oluşturur. Örnek olarak, kanonik kümede E enerjisini düşünecek olursak, $E^i = E^{(k)_i}$ enerji değerlerinin aritmetik ortalaması enerjinin beklenen değeridir ve denklem 2.15' de verilmiştir.

$$\bar{E} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n E^i \quad (2.29)$$

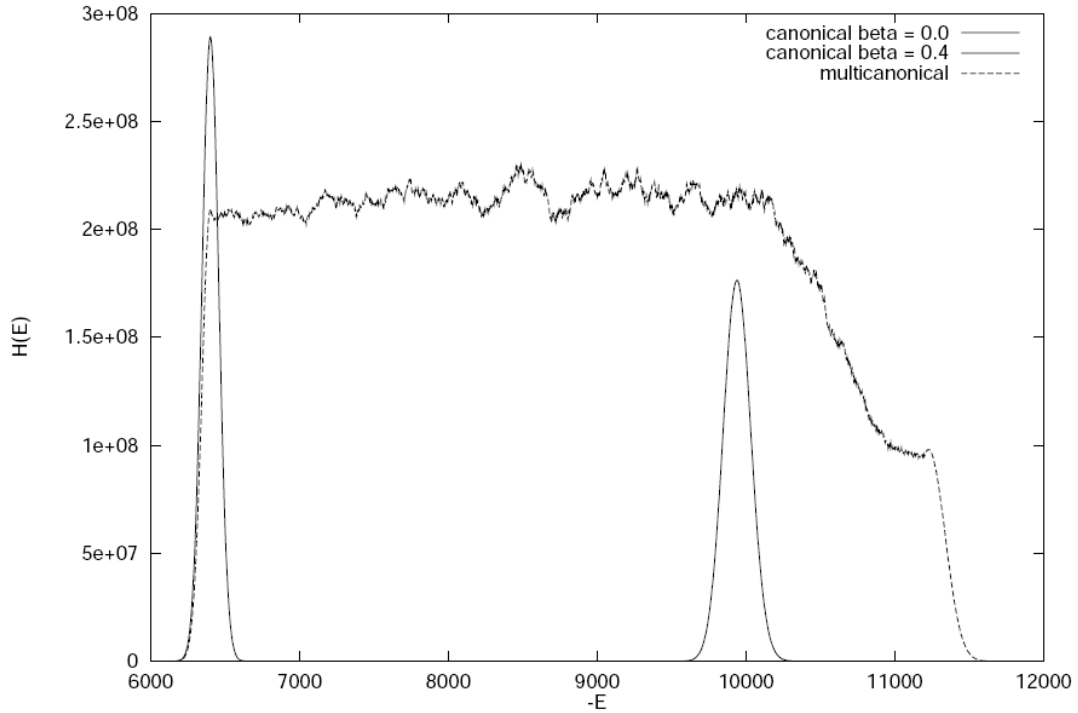
Sistem dengeye ulaştığında, ω ağırlıklı Metropolis işlemi multikanonik kümede konfigürasyonlar oluşturacaktır. Kanonik kümeye tekrar ağırlıklandırma yöntemi

uygulanırsa 2.14 denklemini

$$\bar{E}(\beta) = \frac{\sum_{i=1}^n E^i \omega_{mu}^{-1}(E^i) e^{-\beta E^i}}{\sum_{i=1}^n \omega_{mu}^{-1}(E^i) e^{-\beta E^i}} \quad (2.30)$$

formuna dönüşür.

Karşılaştırma yapabilmek için $i=1,2$ seçilerek verilen $H_i=H_{\beta_i}$ kanonik histogramları ($\beta_1 < \beta_2$) ile $H_{mu}(E)$ multikanonik histogramları Şekil 2.2' de gösterilmiştir. Tamamen farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen kanonik simülasyonlar çakışmamakta, fakat multikanonik simülasyon her iki kanonik simülasyon arasında köprü bağlantısı oluşturarak $\beta_1 \leq \beta \leq \beta_2$ aralığında beklenen kanonik değerleri hesaplamaya olanak sağlamaktadır.



Şekil 2.2 80^2 örgüde 2d Ising model simülasyonu. $\beta_1=0$ ve $\beta_2=0.4$ değerlerindeki $H_1(E)$ ve $H_2(E)$ kanonik histogramlarının, $H_{mu}(E)$ multikanonik histograma göre değişimi

$\beta=1/T$ sıcaklığındaki kanonik MC simülasyonları çok sayıda termodinamik büyüklüğü hesaplama imkanı sağlarken, bazılarını gerçekleştirememektedir. Hesaplanabilenlerden birisi E enerjisidir ve onun bir türevi olan özısı

$$C_v = -\frac{\partial E}{\partial T} = \beta^2 \frac{\partial E}{\partial \beta} = \beta^2 (\langle E^{(k)} E^{(k)} \rangle - \langle E^{(k)} \rangle \langle E^{(k)} \rangle) \quad (2.31)$$

bağıntısı ile hesaplanmaktadır. Fakat kanonik simülasyonlar birçok önemli nicelik açısından başarısızdır, en belirgin olanı da üleşim fonksiyonu $Z(\beta)$ ' nin kendisidir. Üleşim fonksiyonu ile ilgili Helmholtz serbest enerjisi

$$F(\beta) = -\beta^{-1} \ln Z(\beta) \quad (2.32)$$

ve entropi

$$S = \frac{E - F}{T} \quad (2.33)$$

Bunun nedeni, kanonik örneklemenin $H(E)$ histogramı $P(E)$ olasılık yoğunluğunun şeklini belirlemekte fakat c_β normalizasyon sabitini hesaplamamaktadır.

Bunun yerine üretilen histogramların normalizasyon sabiti basitçe üretilen histogramların tersidir. Multikanonik simülasyondan sonra kanonik olasılık yoğunluğu

$$P(E) = \frac{c_\beta}{c_{mu}^n} \frac{H_{mu}(E)}{\omega_{mu}(E)} e^{-\beta E} \quad (2.34)$$

bağıntısı ile hesaplanmaktadır.

2.7 Multikanonik Rekürsiyon

Bu bölümde önceden spin cam simülasyonlarında (Berg *et al.*1994) test edilen rekürsiyon bağıntısından bahsedeceğiz. 2.11 denklemindeki ağırlıkları ile ilgili en belirgin rekürsiyon bağıntısı şu şekildedir: n ($n=0, 1, 2, \dots$) simülasyonu $\omega^n(k)$ ağırlığı ile yapılarak $H^n(E)$ histogramlarını oluşturur. $n+1$ simülasyonunun ağırlığı

$$\omega^{n+1}(k) = \frac{\omega^n(k)}{H^n(E^{(k)})} \quad (2.35)$$

bağıntısı ile bulunur. $b(E)$ mikrokanonik sıcaklığı ve $a(E)$ parametresi cinsinden rekürsiyon bağıntısı

$$\omega(k) = e^{-S(E^{(k)})} = e^{-b(E^{(k)})E^{(k)} + a(E^{(k)})} \quad (2.36)$$

Burada $S(E)$ mikrokanonik entropidir ve

$$b(E) = \frac{\partial S(E)}{\partial E} \quad (2.37)$$

bağıntısı ile tanımlanmıştır. Minimum enerjinin ε olduğunu kabul edelim ve

$$b(E) = [S(E + \varepsilon) - S(E)] / \varepsilon \quad (2.38)$$

olarak seçelim.

$$S(E) = b(E) E - a(E) \text{ özdeşliği}$$

$$S(E) - S(E - \varepsilon) = b(E) E - b(E - \varepsilon)(E - \varepsilon) - a(E) + a(E - \varepsilon) \quad (2.39)$$

şeklinde yazılabilir ve

$$a(E - \varepsilon) = S(E) - S(E - \varepsilon) \quad (2.40)$$

ifadesi yerleştirilirse

$$a(E - \varepsilon) = a(E) + [b(E - \varepsilon) - b(E)] E \quad (2.41)$$

bağıntısı elde edilir. $a(E_{max})=0$ olarak tanımlanarak $a(E)$ sabitlenmiştir. Özet olarak, verilen bir $b(E)$ için $a(E)$ gelişigüzel seçilebilir. Simülasyon başlangıcında

$$b^0(E) = a^0(E) = 0 \quad (2.42)$$

alınır. $H(E)=0$ olmasını engellemek için $H(E)$

$$H(E) \rightarrow \bar{H}(E) = \max[h_0, H(E)] \quad (2.43)$$

ile yer değiştirilir, burada $0 < h_0 < 1$ aralığındadır. Bu yer değiştirme ile 3.2 denklemi $b(E)$ için bir denkleme dönüştürülebilir. ω_0^{n+1} ağırlığını

$$\omega_0^{n+1}(E) = e^{-S_0^{n+1}(E)} = c \frac{\omega^n(E)}{H^n(E)} \quad (2.44)$$

olarak kabul edersek aşağıdaki bağıntıyı elde ederiz

$$S_0^{n+1}(E) = -\ln c + S^n(E) + \ln \bar{H}^n(E) \quad (2.45)$$

Bu denklemi 3.5 denkleminde yerine koyarsak

$$b_0^{n+1}(E) = b^n(E) + [\ln \bar{H}^n(E + \varepsilon) - \ln \bar{H}^n(E)] / \varepsilon \quad (2.46)$$

bağıntısını elde ederiz. $b_0^{n+1}(E)$ için istatistiksel ağırlık varyansla ters orantılıdır.

$$g_0^n(E) = \frac{H^n(E + \varepsilon)H^n(E)}{H^n(E + \varepsilon) + H^n(E)} \quad (2.47)$$

sabiti seçilerek $b_0^{n+1}(E)$ ile $b_0^n(E)$ arasında

$$b^{n+1}(E) = \bar{g}^n(E)b^n(E) + \bar{g}_0^n(E) + \bar{b}_0^{n+1}(E) \quad (2.48)$$

ilişkisi kurulabilir. Buradaki normalize ağırlıkları

$$\bar{g}_0^n(E) = \frac{g_0^n(E)}{g^n(E) + \bar{g}_0^n(E)} \quad (2.49)$$

ve

$$\bar{g}^n(E) = 1 - \bar{g}_0^n(E) \quad (2.50)$$

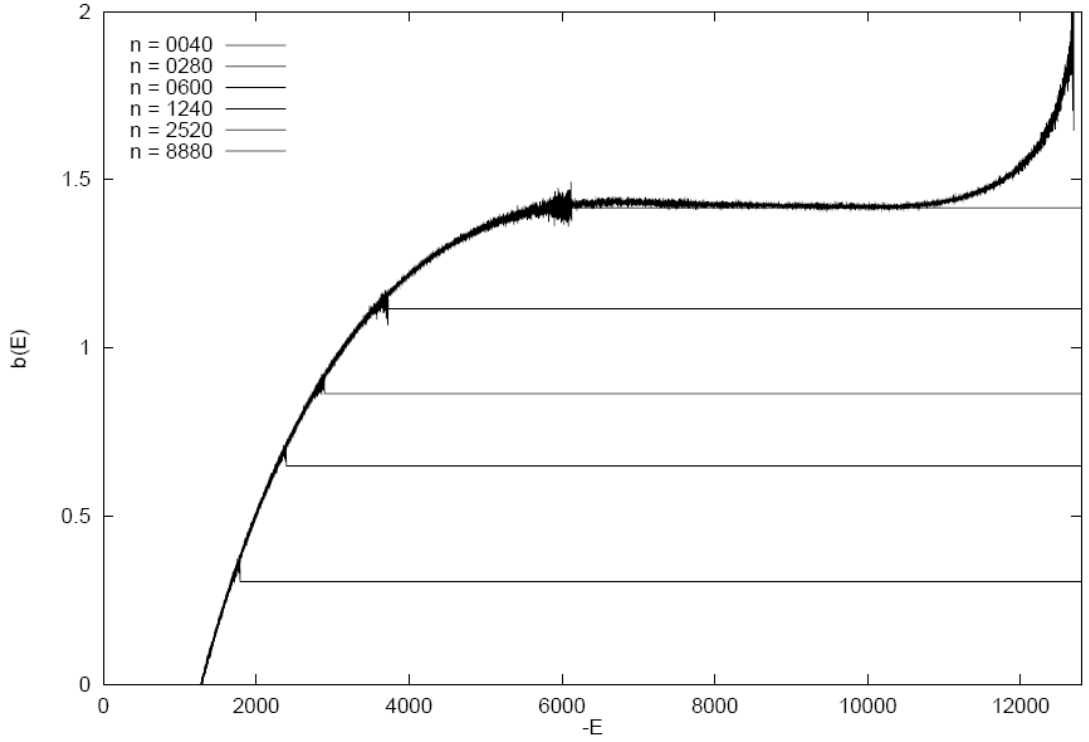
aşağıdaki rekürsiyon ifadesi ile hesaplanır.

$$g^{n+1}(E) = g^n(E) + g_0^n(E), \quad g^0(E) = 0 \quad (2.51)$$

2.46 denklemindeki $b_0^{n+1}(E)$ tanımını 2.48 denklemine yerleştirerek $b_0^{n+1}(E)$ terimini yok edebiliriz.

$$b^{n+1}(E) = b^n(E) + \bar{g}_0^n(E)[\ln \bar{H}^n(E + \varepsilon) - \ln \bar{H}^n(E)] / \varepsilon \quad (2.52)$$

80² örgüde 2d 10-durum Potts modeli için rekürsiyon işleminin nasıl çalıştığı Şekil 2.3' de anlatılmıştır. Yatay düz çizgiler rekürsiyon adımlarından sonra ortaya çıkabilecek $b(E)$ tahminlerini göstermektedir. Ardışık rekürsiyon adımları binli MC taramaları ile ayrılmıştır.



Şekil 2.3 80^2 örgüsünde 10-durum Potts modeli için $b^n(E)$ yinelemeleri

Son olarak 2.52 denklemini, komşu iki ağırlık faktörünün oranı olarak direk yineleme bağıntısına dönüştürülürse

$$R^n(E) = e^{\varepsilon b^n(E)} = \frac{\omega^n(E)}{\omega^n(E + \varepsilon)} \quad (2.53)$$

ve buradan da

$$R^{n+1}(E) = R^n(E) \left[\frac{\overline{H}^n(E + \varepsilon)}{\overline{H}^n(E)} \right] \overline{g}_0^{-n}(E) \quad (2.54)$$

bağıntısı elde edilir.

2.8 Proteinlerin Önemi

Proteinler canlılardaki işlevselliği en fazla olan ve tüm biyolojik süreçlerde kritik fonksiyonları yerine getiren akıllı moleküllerdir. Katalizör görevi üstlenmek, oksijen gibi molekülleri taşımak ve depolamak, bağışıklık sistemini oluşturmak, sinir sistemi uyarılarını nakletmek, büyümeyi sağlamak ve kontrol etmek proteinin önemli fonksiyonlarındanıdır.

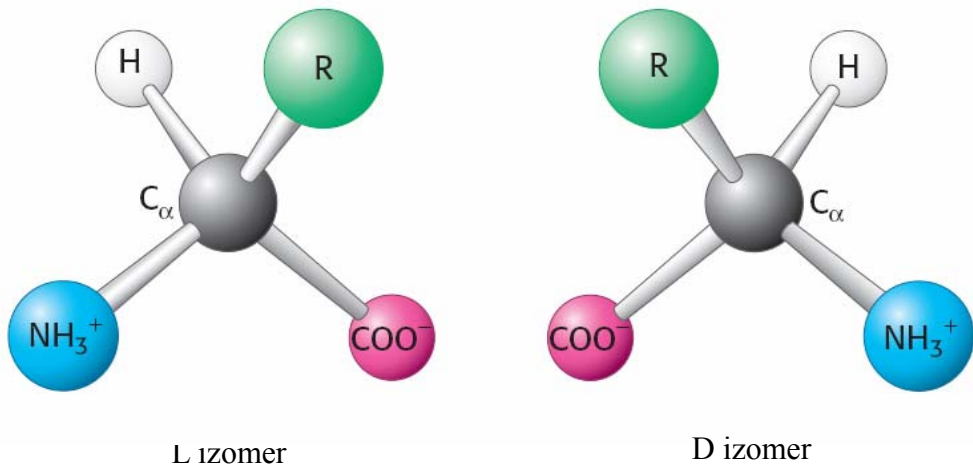
Proteinler, organizmadaki fonksiyonlarını gerçekleştirebilmek için katlanırlar. Proteinin yanlış katlanması canlılarda Alzheimer ve Parkinson gibi bazı hastalıklara yol açmaktadır. Proteinin yapısının anlaşılması, canlıların genetik fonksiyonunun belirlenmesinde ve ilaç dizaynında gereklidir. Günümüzde birçok organizmanın genetik yapısı deşifre edilmiştir, ancak birçok genin fonksiyonu hala çözülememiştir ve çözülemeyen bu genlerin bazıları hastalıklarla ilgilidir. Bu yüzden, proteinin katlanma mekanizmasının anlaşılması, bize bu genlerin fonksiyonlarını anlamaya olanak tanıyacak ve bu sayede hastalıklara karşı etkili ilaçlar üretilecektir. Bunun yanında, nano makineler olarak hayal edebileceğimiz yeni genlerin yapılmasına da olanak sağlayacaktır.

Proteinler aminoasitlerin yan yana sıralanmasından meydana gelmektedir. Proteinler doğal olarak katlanır ve bu katlanma sonucunda üç-boyutlu özgün yapılarına sahip olurlar. Proteinin fonksiyonunu belirleyen bu üç-boyutlu yapısıdır. Sonuç olarak, proteinler tek-boyutlu şekillerinden üç-boyutlu şekillerine geçiş yaparak metabolizmada farklı işlevler yapmaya hazır hale gelirler. Proteinler birbirleri ve diğer biyolojik makro moleküllerle etkileşerek kompleks yapılar oluştururlar. Protein içindeki atomların birbirleri ile etkileşmeleri ve protein-su etkileşmesi, protein yapısını kararlı kılan kuvvetlerdir.

2.9 Proteinlerin Yapısı

Protein aminositlerin çizgisel sıralanmış dizilimleridir. Canlılardaki proteinler 20 farklı aminoasitten oluşmaktadır. Tipik bir protein oluşturmak için zincirde 300 aminoasit kullanılmaktadır ve bu aminoasitler 20^{300} farklı olasılıkta dizilebilmektedir. İnsan vücudundaki en temel yapısal ve işlevsel işlemleri gerçekleştiren 80,000 farklı protein bulunmaktadır. Proteinlerdeki aminoasit dizilimleri DNA daki genlerle belirlenmektedir.

Aminoasitler proteinlerin yapıtaşlarıdır. Aminoasitlerdeki merkez atom α -karbon, C_α adını verdiğimiz karbon atomudur. Tipik olarak α -karbon atomuna 4 grup bağlanmaktadır: karboksil grubu COO^- , amino grubu NH_3^+ , hidrojen atomu H ve yan zincir R (Şekil 2.4). Tüm aminoasitlerde yan zincirler birbirinden farklıdır, bu yüzden 20 aminoasit büyüklük, şekil, yük, hidrojen bağlanma kapasitesi, hidrofobisite ve kimyasal reaktivite açısından diğerlerinden ayrılır. Örneğin, Glisinde (Gly) R ' nin yerini hidrojen atomu alır ve en basit aminoasittir. α -karbon atomuna bağlanan grupların ayna görüntülerine L -isomer ve D -isomer adı verilmektedir (Şekil 2.4). L -isomer aminoasitleri memeli proteinlerinde, D -isomer aminoasitleri ise bakterilerdeki proteinlerde mevcuttur.



Şekil 2.4 Aminoasitlerin L ve D -izomerleri

Aminoasit isimleri, genellikle 3 veya tek harfli kısaltmalarla ifade edilmektedirler (Çizelge 2.1).

Çizelge 2.1 Aminoasit kısaltmaları

| Aminoasit | Kısaltma | | Aminoasit | Kısaltma | |
|---|------------|----------|---------------------------------------|------------|----------|
| <i>Alanin</i> (Alanine) | <i>Ala</i> | <i>A</i> | <i>Lisin</i> (Lysine) | <i>Lys</i> | <i>K</i> |
| <i>Arginin</i> (Arginine) | <i>Arg</i> | <i>R</i> | <i>Lösin</i> (Leucine) | <i>Leu</i> | <i>L</i> |
| <i>Asparjin</i> (Asparagine) | <i>Asn</i> | <i>N</i> | <i>Metiyonin</i> (Methionine) | <i>Met</i> | <i>M</i> |
| <i>Aspartik asit</i> (Aspartic Acid) | <i>Asp</i> | <i>D</i> | <i>Penilalanin</i> (Phenylalanine) | <i>Phe</i> | <i>F</i> |
| <i>Cistin</i> (Cysteine) | <i>Cys</i> | <i>C</i> | <i>Prolin</i> (Proline) | <i>Pro</i> | <i>P</i> |
| <i>Glutamik asit</i> (Glutamic Acid) | <i>Glu</i> | <i>E</i> | <i>Serin</i> (Serine) | <i>Ser</i> | <i>S</i> |
| <i>Glutamin</i> (Glutamine) | <i>Gln</i> | <i>Q</i> | <i>Tironin</i> (Threonine) | <i>Thr</i> | <i>T</i> |
| <i>Glisin</i> (Glycine) | <i>Gly</i> | <i>G</i> | <i>Tritopan</i> (Tryptophan) | <i>Trp</i> | <i>W</i> |
| <i>Histidin</i> (Histidine) | <i>His</i> | <i>H</i> | <i>Tayrosin</i> (Tyrosine) | <i>Tyr</i> | <i>Y</i> |
| <i>İzolösin</i> (Isoleucine) | <i>Ile</i> | <i>I</i> | <i>Valin</i> (Valine) | <i>Val</i> | <i>V</i> |

2.10 Protein Türleri

Fiber (fibrous), zar (membrane) ve küresel (globular) olmak üzere proteinler 3 sınıfa ayrılabilir. Fiber proteinler vücudun yapısal taşlarıdır, örneğin kolajen sinir ve kemiklerde, α -keratin ise saç ve ciltte kullanılmaktadır. Zar proteinler, hücrelerdeki zarlarda bulunur ve moleküller arası iletişimi sağlar. Küresel proteinler ise, kimyasal reaksiyonlarda katalizör görevi görür.

Normal fizyolojik şartlarda, 20-40 °C sıcaklıkta ve $pH=7$ olan tuzlu su solüsyonlarında,

proteinler doğal şekillerini alırlar. Küresel proteinler kompakt yapılarına katlanırlar. Küresel bir proteinin biyolojik aktivitesi, genelde bu proteinlerin kendilerine özgün kompakt şekline göre belirlenmektedir. Proteinlerin özgün şekilleri ise, başlangıçtaki temel durumdaki aminoasit dizilimini belirlemektedir.

2.11 Aminoasit Türleri

Aminoasitler yan zincirlerinin (R grubu) özelliklerine göre beş sınıfa ayrılabilir: apolar, polar, aromatik, pozitif yüklü ve negatif yüklü (Nelson and Cox 2001).

Apolar grupta alanin (ala), valin (val), prolin (pro), izolösin (ile), lösin (leu), metiyonin (met) ve glisin (gly) yer almaktadır. Bu gruptaki aminoasitler apolar ve hidrofobiktir (suda çözülmeyen). Glisin (Gly) ise en basit yapıli aminoasittir.

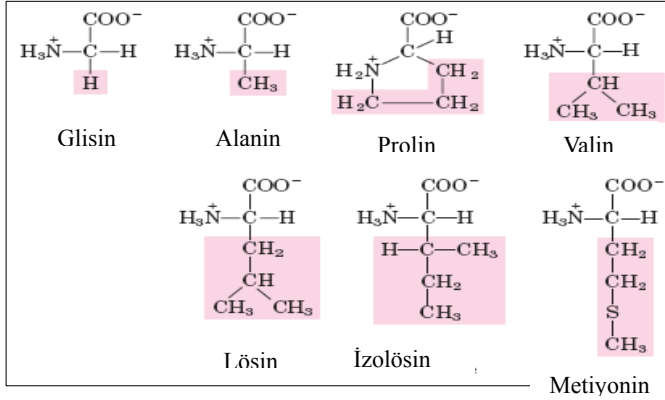
Polar grupta serin (ser), tironin (thr), cistin (cys), asparjin (asn) ve glutamin (gln) yer almakta ve hidrofilik (suda çözülen) özellik göstermektedir.

Aromatik grupta penilalanin (phe), tayrosin (tyr) ve tritopan (trp) yer almakta ve göreceli olarak hidrofobik özellik göstermektedir.

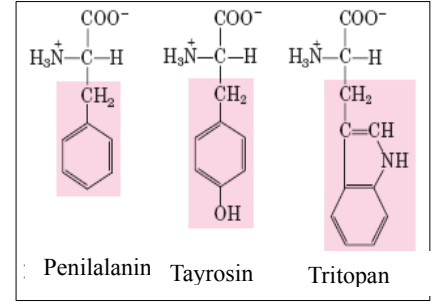
Pozitif yüklü grupta lisin (lys), arginin (arg) ve histidin (his), negatif yüklü grupta ise aspartik asit (asp) ve glutamik asit (glu) yer almaktadır. Pozitif ve negatif yüklü grubun üyeleri en hidrofilik aminoasitlerdir.

Şekil 2.5' te farklı aminoasit gruplarının yapısı gösterilmektedir.

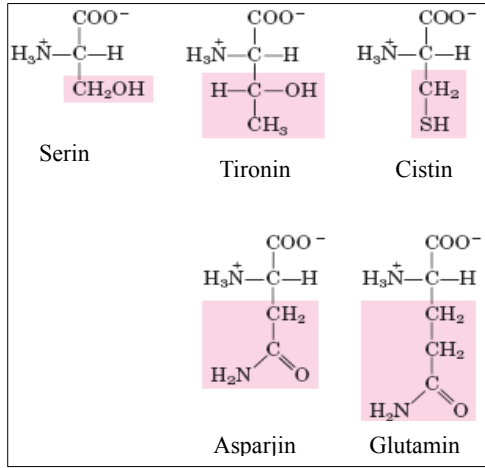
Aromatik Grup



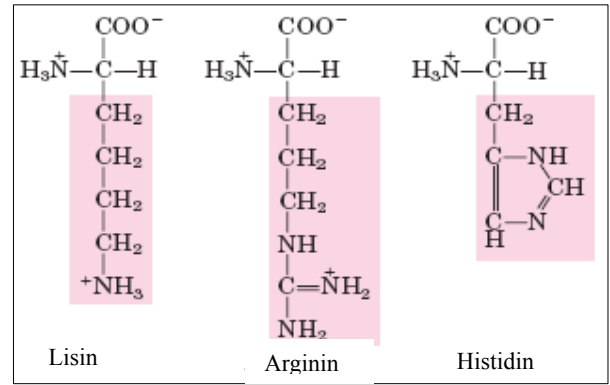
Apolar Grup



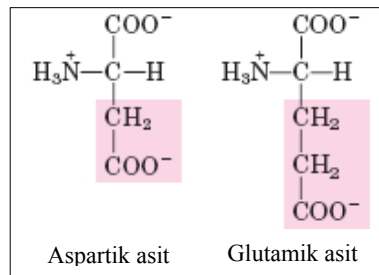
Polar Grup



Pozitif Yüklü Grup



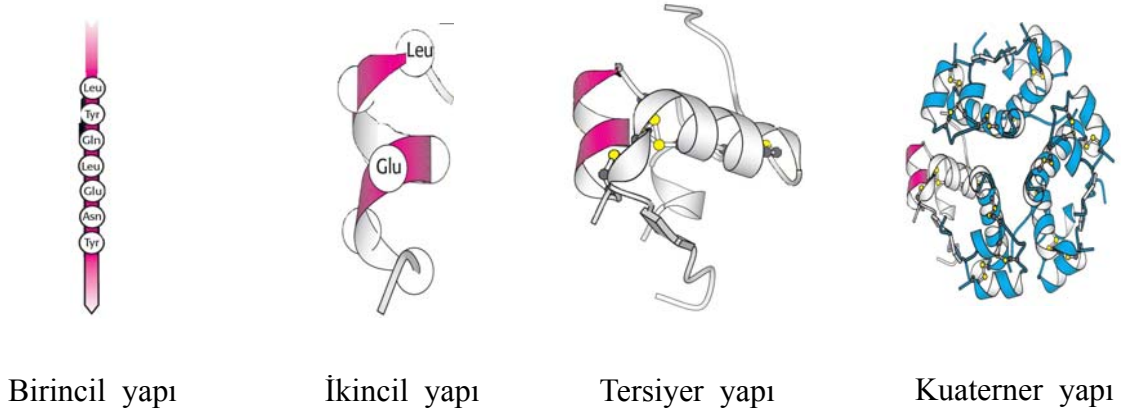
Negatif Yüklü Grup



Şekil 2.5 Aminoasit türleri

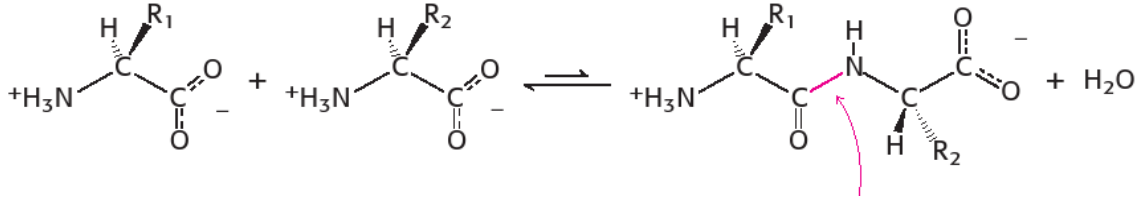
2.12 Protein Katlanması

Proteinlerin katlanması 4 aşamadan oluşmaktadır: birincil, ikincil, tersiyer ve kuaterner yapı (Şekil 2.6). Proteindeki atomların üç boyutlu uzaysal sıralanmasına konformasyon denir. Proteindeki kovalent bağlar koparılmadan bir proteinin olası konformasyonları oluşturulabilir. Yüzlerce bağ içeren protein teorik olarak çok sayıda konformasyona sahiptir, ancak biyolojik olarak bu konformasyonlardan birkaç tanesi baskındır. En düşük Gibbs serbest enerjili konformasyonlar termodinamik olarak en kararlı olanıdır. En kararlı konformasyonu belirleyen proteinin katlanmasındaki aşamalardır:



Şekil 2.6 Proteinlerin katlanma mekanizması

Birincil yapıda her bir proteinin kendine özgün aminoasit dizilimi vardır. Şu an için 100,000 den fazla proteinin aminoasit dizilimi bilinmektedir. Proteinlerin aminoasit dizilimine birincil yapı denmektedir. Proteinler bir aminoasitin karboksil grubuna diğer bir aminoasitin amino grubunun peptit bağla bağlanması ile meydana gelirler. İki aminoasitten bir dipeptit oluşması sonucu su molekülü açığa çıkar (Şekil 2.7).



Şekil 2.7 İki aminoasitten dipeptit oluşması

Bir dizi aminoasitin peptit bağları ile birbirine bağlanarak oluşturduğu zincire *polipeptit* zinciri, genel ismiyle protein denir. Proteinlerin uçları farklı olduğundan kutupludurlar. Doğal proteinlerin büyük bir kısmı 50-2000 arasında aminoasit içermektedir.

İkincil yapı, proteindeki yerel konformasyonları ifade etmektedir. Birkaç çeşit ikincil yapı kararlıdır ve yaygın olarak proteinlerde meydana gelir. En önde gelenleri 1951 yılında Pauling ve Corey tarafından varlıkları keşfedilen α sarmal (helix) ve β yaprak (plate) konformasyonlarıdır. α sarmalı çubuk şeklindedir. Proteinin sıkıca sarılmış omurga kısmı çubuğun iç kısmına, yan zincirler ise sarmal şekilde dışa doğru genişler. α sarmalı *NH* ve *CO* grupları arasındaki hidrojen bağları ile dengede kalır. α sarmalı, sağ yönlü veya sol yönlü olabilir. Ramachandran grafiği verileri, her iki yönlü sarmalın izin verilen konformasyon olduğunu söylemektedir. Fakat sağ yönlü α sarmalların enerjisi daha yüksek olduğundan proteinlerdeki α sarmallarının tümü sağ yönlüdür. β yaprağı, proteinin ikincil temel yapılarından diğeridir. Yine hidrojen bağları bu yapının nedenidir. β yaprağı sıkıca sarılmış α sarmalından farklı olarak, yayılmış yapıya sahiptir. β yaprağı şeklindeki iki komşu aminoasit arasındaki uzaklık 3.5 Å, α sarmalında ise 1.5 Å dur.

Tersiyer yapı, proteinin ikincil yapısının uzaysal düzeni olarak tanımlanabilir, diğer bir deyişle proteinin geniş çaplı konformasyonudur. Aminoasit zincirinde birbirinden uzak aminoasitlerin birbiri ile etkileşmesi sonucu, aminoasitler uzaysal bir alan kaplayarak katlanır ve tersiyer yapıyı oluşturur. Tersiyer katlanma oluşumu, birincil ve ikincil yapısının yan zincirleri ile etkileşimi ile belirlenir. Tersiyer yapıyı belirleyen,

aminoasitlerin yan zincirlerdeki hidrofobik etkileşimleridir. Hidrofobik yan zincirler proteinin içine, hidrofilik yan zincirler ise yüzeyde kalıp su ile etkileşmek isterler.

Kuaterner yapı, birden fazla proteinin birbiriyle etkileşmesiyle oluşan yapıdır. Kuaternar yapı, birkaç polipeptit zincirinin bir araya gelerek nasıl bir fonksiyonel protein meydana getirdiğini tanımlamaktadır. Tersiyer yapıda olduğu gibi, aminoasitlerin yan zincirleri arasındaki iyonik ve hidrofobik etkileşimler kuaterner yapıyı belirlemektedir. Alt birimlerin sayısına bağlı olarak monomer, dimer, trimer gibi isimler alırlar. Bu alt birimlerin benzer olup olmamasına bağlı olarak, başlarına -homo veya -hetero isimlerini alırlar. Özetle heterodimer iki farklı polipeptit zinciri içeren bir proteindir.

2.13 Hidrofobik Etki

Hidrofobik etki, protein katlanmasına etki eden temel itici güçtür. Bu etki ile hidrofobik rezidüler, proteinin iç kısmında kalacak şekilde katlanırlar. Hidrofobik etkiye yol açan termodinamik faktörler çok karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Katlanmış proteinlerin çoğunda hidrofobik çekirdek bulunmakta ve katlanma durumunu dengede tutmaktadır. Katlanma esnasında dış yüzeyde kalan yüklü yan zincirler ise çevredeki su molekülleri ile etkileşirler. Su ile temas eden hidrofobik yan zincir sayısındaki azaltmanın katlanma işlevinin arkasındaki temel itici güç olduğu düşünülmektedir. Termodinamik açıdan, yüksüz bir molekülün yüksüz çözücüden sulu çözeltiye geçişte transfer serbest enerjisi genelde hidrofobik etkiyi ölçmek için kullanılır. Hidrofobik bir molekülün transfer serbest enerjisi ΔG_t pozitifdir. ΔG_t enerjisi, $G=H-TS$ termodinamik bağıntısı kullanılarak, entalpi ΔH_t ve entropi $-T\Delta S_t$ bileşenlerine ayrılabilir. Oda sıcaklığında ΔH_t yaklaşık olarak sıfırdır ve ΔS_t ise negatiftir. Diğer bir deyişle, oda sıcaklığında entropi ile değişmektedir. Hidrofobik etkinin diğer karakteristik termodinamik karakteristiği, transferdeki ısı kapasitesi ΔC_t değişmesidir. Isı kapasitesi pozitif değerler alır.

Hidrofobik etkiyi anlamamanın diğer bir yolu, hidrofobik bir maddeyi suda incelemektir. Saf su molekülleri, entropiyi (S) maksimuma çıkaran bir yapıya kolay adapte olurlar. Hidrofobik bir molekül bu yapıyı engelleyerek entropiyi düşürür ve bir boşluk bölgesi

oluşturarak su molekülleri ile elektrostatik etkileşimi engeller. Birden çok boşluk bölgesi olması durumunda engelleme yüzey alanı yüksektir, bu da daha az su molekülü olması anlamına gelmektedir. Bu duruma engel olmak için, su molekülleri hidrofobik molekülleri iter ve etrafında bir kafes yapısı oluşturur. Bu durum serbest su molekülleri sayısını maksimuma çıkarır ve dolayısıyla entropi de maksimuma ulaşır. Sonuç olarak, hidrofobik etki suyun lipofobisitesi (yağı itmesi) olarak da anlaşılabilir.

Hidrofobisitenin önemi Waugh (1954) ve Kauzmann (1959) tarafından vurgulanmıştır. Nozaki ve Tanford tarafından ilk defa hidrofobisite skalası oluşturulmuştur (Nozaki and Tanford 1971). Günümüzde farklı parametreleri esas alarak oluşturulmuş kırktan fazla hidrofobisite skalası mevcuttur. Bu parametrelerden bazıları yüzey gerilimi, lipit-peptit etkileşimi, protein dizilimindeki aminoasit değiştirilerek protein stabilitesindeki değişme, ısı kapasitesi ve model proteinlerde yapısal geçiş sıcaklıklarının karşılaştırılması olarak sıralanabilir.

Aminoasitlerin hidrofobisite skalaları birbirinden büyük ölçüde farklılık göstermektedir. Bunun nedeni, skalaların hiçbirinin temel fiziksel nicelikleri esas almamasıdır. Dan W. Urry tarafından yapısal geçiş sıcaklığı T_i (Urry 1991) ve Gibbs enerjilerini ΔG_{HA}^0 (Urry 2004) temel alan hidrofobisite skalaları birçok skala ile uyumludur. Hidrofobisite skalası Çizelge 2.2' de gösterilmiştir. Bu çalışmada, simülasyonlarda elde edilen yapısal geçiş sıcaklıklarının karşılaştırılmasında Urry hidrofobisite skalası esas alınmıştır.

Çizelge 2.2 Hidrofobisite skalası

| Aminoasit | T_i ($^{\circ}C$) | ΔG_{HA}^0 (kcal/mol) |
|---|-----------------------|------------------------------|
| <i>Trp</i> | -105 | -7.00 |
| <i>Phe</i> | -45 | -6.15 |
| <i>Tyr</i> | -75 | -5.85 |
| <i>His</i> ⁰ | -10 | -4.80 |
| <i>Leu</i> | 5 | -4.05 |
| <i>Ile</i> | 10 | -3.65 |
| <i>Val</i> | 26 | -2.5 |
| <i>Met</i> | 15 | -1.50 |
| <i>His</i> ⁺ | 30 | -1.90 |
| <i>Cys</i> | 30 | -1.90 |
| <i>Glu (COOH)</i> | 20 | -1.30 |
| <i>Pro</i> | 40 | -1.10 |
| <i>Ala</i> | 50 | -0.75 |
| <i>Thr</i> | 60 | -0.60 |
| <i>Asp (COOH)</i> | 40 | -0.40 |
| <i>Lys (NH₂)</i> | 40 | -0.05 |
| <i>Asn</i> | 50 | -0.05 |
| <i>Gly</i> | 55 | -0.00 |
| <i>Ser</i> | 60 | +0.55 |
| <i>Arg</i> | 60 | +0.80 |
| <i>Gln</i> | 70 | +0.75 |
| <i>Lys (NH₃⁺)</i> | 104 | +2.94 |
| <i>Glu (COO⁻)</i> | 218 | +3.72 |

3. MATERYAL VE YÖNTEM

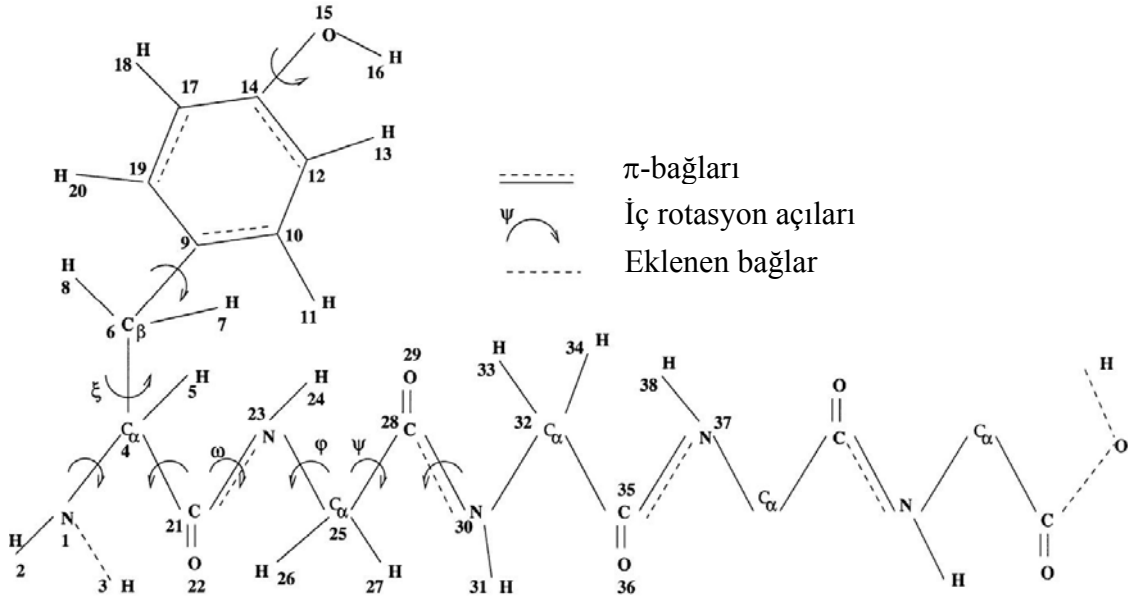
3.1 SMMP (Proteinler için Basit Moleküler Mekanik)

Genlerin şifresinin çözülmesi ve proteinlerdeki aminoasit diziliminin bulunmasının yanı sıra, biyokimyada ikinci ve daha önemli bir konu proteinlerin yapısının ve fonksiyonunun tanımlanmasıdır. Bu konunun araştırılması, proteinlerin basit bir aminoasit diziliminden biyolojik olarak aktif üç boyutlu özgün yapılarına ulaşma mekanizmasının anlaşılmasını gerektirir. Önceki simülasyon algoritmalarının ve bilgisayar donanımlarının geliştirilmesi ile biyokimyadaki bu problemin bilgisayar simülasyonları ile çözülebileceği umulmaktadır. Protein molekülü ve etrafındaki su için birkaç farklı model önerilmiştir ve bu modeller gerçekten de katlanma işlemini etkili bir şekilde simüle edebilmektedir. Özellikle tüm atom gösterimli protein katlanması modelleri en başarılı olanlardır. En çok bilinen örnekleri AMBER (Weiner and Kollman 1981), CHARMM (Brooks *et al.* 1983), GROMOS (Gunsteren and Berendsen 1987), FANTOM (Schaumann *et al.* 1987), KONF90 (Kawai *et al.* 1991, Okamoto *et al.* 1991), OPLS modifikasyonlu AMBER (Jorgensen and Rives 1988) ve C96 (Kollman *et al.* 1997) olarak verilebilir.

Çalışmamızda Fortran programlama dilinde yazılmış açık kodlu SMMP (Eisenmenger *et al.* 2001) simülasyon programı kullanılmıştır. Program geliştirilmiş kümede bir dizi Monte Carlo algoritması içermektedir. Bu program, önceden simülasyonu çalışılmış birçok molekülün (Hansmann and Okamoto 1993, 1994, 1996, 1997, 1999, Hayryan 2001) simülasyonu ile test edilmiş ve proteinlerin araştırılmasında güvenilir ve etkili bir program olduğu ispatlanmıştır (Eisenmenger *et al.* 2001).

3.2 Konformasyon Uzayı ve Potansiyel Enerji Fonksiyonu

Bütün moleküler simülasyonlarda temel amaç, konformasyonları tanımlamak ve enerjilerini hesaplamaktır. SMMP programında konformasyonlar, standart geometri modeli (Momany *et al.* 1975) kullanılarak tanımlanmaktadır. Bu modelde, moleküller iç koordinat setleri ile tanımlanmaktadır (Şekil 3.1).

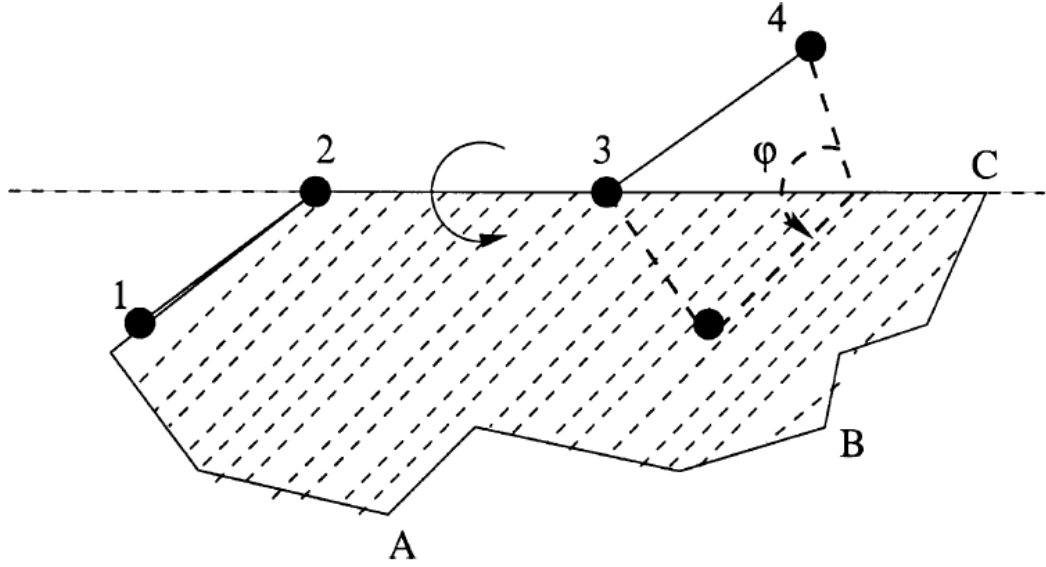


Şekil 3.1 İç koordinatların tanımlanması

Değerlik açıları ve bağlarındaki enerji bariyerleri, biyolojik aktif sıcaklıklardaki enerji dalgalanmalarından birkaç merteye daha yüksek olduğu için değerlik açıları ve bağları sistemin değişmez serbestlik dereceleridir. Bu nedenle, programda bu değerler varsayılan değerlere sabitlenmiştir.

Öte yandan aminoasitlerin omurgasındaki kimyasal bağlar etrafında dönmeler ϕ_i , ψ_i , ω_i dihedral açıları diğer adıyla torsiyon açıları ile temsil edilmektedir (Şekil 3.2). Bu rotasyonlar için enerji skalası 1 kcal/mol civarındadır. Sonuç olarak, bu değişkenler oda sıcaklığında dalgalanmalara maruz kalmaktadır. Biyolojik aktif sıcaklıklarda, $CO-N$ peptit bağı özgün bir hibritleşmeye sahiptir ve $C_\alpha-CO-N-H$ peptit grubunun tam

anlamıyla düzlemsel bir yapıya sahip olmasına neden olur. Bu bağ etrafında dönmeyi sağlayan α dihedral açısının, diğer açılardan daha az bükülgen olmasının nedeni budur.



Şekil 3.2 Dihedral açılarının tanımı. 3-4 bağı ϕ açısıyla 2-3 eksenini etrafında taralı alanla çakışacak şekilde dönmektedir

Program ECEPP/2 (Hansmann *et al.* 1996) ve onun güncellenmiş versiyonu ECEPP/3 (Sippl *et al.* 1984) potansiyelleri içermektedir. Günümüz çalışmalarında ECEPP potansiyeli yaygın olarak kullanılmaktadır. ECEPP potansiyelinde, proteinin iç potansiyel enerjisi iki parçaya ayrılabilir: uzaysal ve torsiyon enerjisi. Uzaysal enerji, atomlar arası çiftli etkileşim enerjilerinin toplamı olarak ifade edilebilir. Bu kısım elektrostatik terimi, Lennard-Jones itme ve çekme terimi, hidrojen bağı potansiyelleri içermektedir. Açıkça görülüyor ki, bu kısım çiftli atomlar arasındaki uzaklıklara bağlıdır. Diğer taraftan molekülün torsiyon enerjisi, bağların torsiyon enerjilerinin toplamı olarak alınabilir. Her bir bağı torsiyon enerjisi, sadece ilgili dihedral açısının fonksiyonudur ve herbir kimyasal bağı enerji bariyerli periyodik potansiyeli olarak ifade edilebilir.

Bu bilgiler ışığında simülasyon sonuçlarında elde edilen enerjiler

$$E_{top} = E_{LJ} + E_{el} + E_{hb} + E_{tor} \quad (3.1)$$

toplamı ile hesaplanmaktadır. Burada,

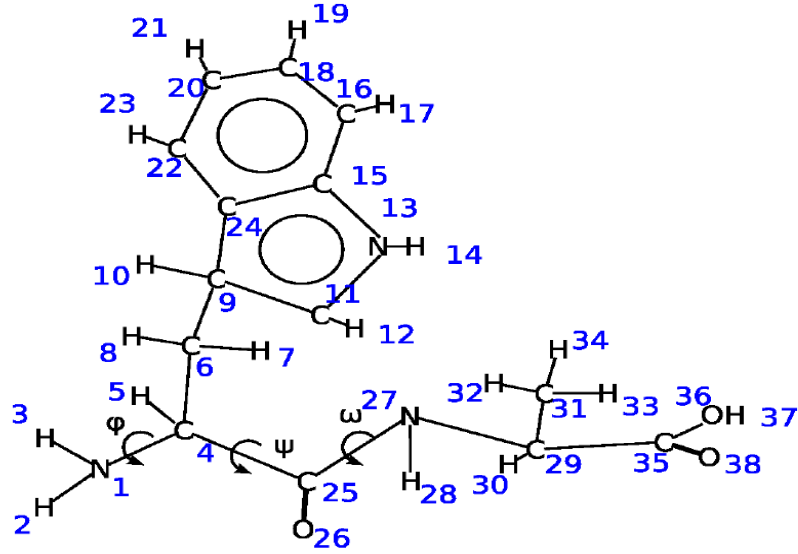
$$E_{LJ} = \sum_{j>i} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right) - \left(\frac{B}{r_{ij}^6} \right) \quad (3.2)$$

$$E_{el} = \sum_{j>i} \frac{q_i q_j}{\epsilon r_{ij}} \quad (3.3)$$

$$E_{hb} = \sum_{j>i} \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right) - \left(\frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) \quad (3.4)$$

$$E_{tor} = \sum_n U_n (1 \pm \cos(k_n \varphi_n)) \quad (3.5)$$

Burada r_{ij} , A^o cinsinden i ve j atomları arası uzaklıktır. A_{ij} , B_{ij} , C_{ij} ve D_{ij} empirik potansiyel parametreleridir. q_i ve q_j , i ve j atomlarının kısmi yükleridir. ϵ terimi ortamın dielektrik sabitidir ve proteinin iç uzayında genelde 2 olarak alınmaktadır. 332 katsayısı enerjii $kcal/mol$ cinsinden ifade etmek için kullanılmaktadır. U_n , n bağı etrafındaki torsiyon enerji bariyeri ve k_n ise φ_n torsiyon açısının tekrarlama katsayısıdır. Torsiyon enerjisi φ_n açısına direk olarak bağlı iken, diğer terimler açılara dolaylı olarak bağlıdır. SMMP programında moleküldeki atomlar, zincirin N terminalinden başlayarak numaralandırılır. Dallanma (ayrılma) noktalarında en kısa kol takip edilerek numaralandırmaya devam edilir. Her rezidüde torsiyon açıları, yan zincirin ζ_l açısından başlayıp yan gruplara doğru giderek numaralandırılır. Rezidülerin tüm açıları numaralandırıldıktan sonra molekülün gövdesinde soldan sağa doğru aynı işlem yapılır. Örnek bir numaralandırma Şekil 3.3' de gösterilmiştir.



Şekil 3.3 SMMP' de atomların numaralandırılması

Tüm numaralandırmalar bittikten sonra, her bir dihedral açısı için hareketli atom grupları oluşturulur. Her bir set, koordinatları spesifik dihedral açılara bağlı atomlardan meydana gelmektedir. Bir setin tüm konfigürasyonlarında iki atom arası mesafe aynı olacak şekilde rijit setler oluşturulur. Örneğin Şekil 3.1 deki ψ_5 değişkenine ait hareketli set $O(22)$ ve $N(23)$ atomlarıdır çünkü ψ_5 açısının değişmesiyle bu atomların pozisyonları direk olarak etkilenmektedir.

Diğer aşamada program algoritması her bir hareketli setteki tüm atomları içeren iki tür küme kurar. Birinci kümede belirlenen bir atomdan, 5 değerlik bağdan daha yakın mesafedeki atomlar bulunurken, ikinci kümede daha uzak atomlar bulunmaktadır. Kümelerdeki bu ayrımın gerekli olmasının nedeni, Lennard-Jones potansiyelindeki itme teriminin her iki durumda farklılık göstermesidir. Yakın mesafedeki atomlarda kuantum etkisi daha kuvvetlidir (Nemethy 1992).

3.3 Erişilebilir Yüzey Alanı Metodu (Accessible Surface Area Method-ASA)

Proteinler, organizmada sulu çözültide aktivitelerine devam etmektedir. Dolayısıyla gerçekçi bir simülasyon yapmak için, simülasyonların protein-su etkileşmesini içermesi gerekmektedir. Su çok polar olduğu için protein-su etkileşmelerinde elektrostatik kuvvetin güçlü bir etkisi vardır. Bu etkileşmenin doğru bir şekilde hesaplanması hala zor bir problem olarak çözülmeyi beklemektedir. En hassas bir yaklaşımda birkaç yüz su molekülü sisteme harici olarak eklenmelidir. Fakat simülasyonlara harici olarak bu kadar su molekülünün eklenmesi, sistemin serbestlik derecesini muazzam bir şekilde artırmakta ve simülasyon süreleri pratikte kullanılamayacak kadar uzamaktadır. Harici su modellerinin bu dezavantajından dolayı SMMP' de iki farklı yaklaşım kullanılmıştır.

Birinci yaklaşımda amaç, ortalama elektrostatik özellikleri suya yakın makroskopik homojen bir ortam oluşturmaktır. Protein-su arasındaki elektrostatik etkileşimleri simüle etmek kolay olmasa da, protein simülasyonlarında dahili su modelleri kullanılması harici modellere göre çok daha az zaman gerektirmektedir. Su olması durumunda elektrostatik etkileşimi hesaplamamanın en basit yolu, uzaklık bağımlı elektrostatik geçirgenlik sabiti kullanmaktır:

$$\varepsilon(r) = D - \frac{D-2}{2} [(sr)^2 + 2sr + 2] e^{-sr} \quad (3.6)$$

SMMP programında geçirgenlik değeri uzun mesafeler için 80, kısa mesafeler için ise 2 olarak alınmaktadır. Uzaklık bağımlı dielektrik geçirgenlik terimi ile protein-su etkileşmesinin modellenmesi birçok araştırmacı tarafından kullanılmıştır. Vakumda yapılan simülasyonlarla, yaklaşık aynı sürede simülasyonların yapılabilmesi bu metodun en belirgin avantajıdır. Fakat bu metod protein-su etkileşmesini oldukça basite indirgemektedir. Birbirine yakın iki atom aynı anda protein içinde yer almayabileceği gibi birbirinden uzak iki atom da proteinin içinde yer alabilir. Bu nedenle bu metod dikkatli kullanılmalıdır.

Protein-su etkileşme enerjisini hesaplamamanın kabul gören diğer bir yolu ise erişilebilir yüzey alanı (ASA) metodudur. Çözücü içinde atomik grupların yüzey alanları ile

orantılı olarak serbest enerji değıştiği genel olarak kabul görmektedir (Lee and Richards 1971, Eisenberg and McLachlan 1986, Ooi *et al.* 1987, Wesson and Eisenberg 1992). ASA metodu bu ilkeyi esas almaktadır. Bu metotta, protein içine nüfuz eden atomik grupların serbest enerji katkıları birbirinden farklılık göstermektedir. Orantı sabitleri (çözünme katsayıları), deneysel olarak apolar ortamdaki bir molekül grubunun su ortamına getirilerek serbest enerji hesaplanması ile bulunmaktadır. Bu yaklaşımla proteinin toplam çözünme enerjisi her bir atom grubundan gelen katkıların toplamıdır:

$$E_{sol} = \sum_i \sigma_i A_i \quad (3.7)$$

burada E_{sol} solüsyon (su) enerjisi, A_i alanı i atomunun çözücü ile etkileşen yüzey alanı ve σ_i ise i atomunun çözünme katsayısıdır. Toplam, tüm atom grupları için genişletilmiştir.

Bu yaklaşım yaygın olarak kullanılsa da, problemleri yok değildir. Atomların su ile etkileşen yüzey alanlarının deneylerle yeterince iyi hesaplanmasına rağmen, atomların türüne bağlı olarak değışen çözünme katsayıları problemlere yol açmaktadır. Çözünme katsayılarının oluşturduğu setler “*parametre setleri*” olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde farklı metotlarla hesaplanmış birçok parametre seti vardır ve bu parametrelerle hesaplanmış serbest enerjiler birbirinden farklılık göstermektedir. Bundan dolayı, simülasyonlara başlamadan önce uygun parametre setleri seçilmelidir.

Bilimsel olarak kullanılan çok sayıda su modeli bulunmaktadır. Fakat farklı moleküllerle yapılan simülasyonlarda hangi modelin kullanılmasının daha uygun olduğu konusunda fikir birliği yoktur (Yaşar and Demir 2007, Berg and Hsu 2004). SMMP programında OONS, JRF, WE92, SCH1, SCH2, SCH3, SCH4, EM86 ve BM su (solüsyon) modelleri (Ooi 1987, Vila *et al.* 1991, Wesson and Eisenberg 1992, Juffer *et al.* 1995, Schiffer *et al.* 1993, Eisenberg and McLachlan 1986, Freyberg *et al.* 1993) eklenmiştir. Ancak su modeli uygunluğu kavramı yerine, simülasyon süresi kısa olan hızlı sınıftaki çözümlerden bahsedebiliriz. OONS, WE92 ve SCH2 bu sınıftadır (Berg and Hsu 2003). Önceki çalışmalarla, CPU süresinin kısalığı ve yüksek doğruluğu test

edilmiş (Berg and Hsu 2003) OONS, WE92 ve SCH2 solüsyon modelleri çalışmamızda kullanılmıştır.

3.4 Genelleştirilmiş Kümelerde Monte Carlo Simülasyonu

Biyolojik olarak aktif protein yapıları, global minimum enerji düzeyine sahip konformasyonlardır. Protein çalışmalarında araştırmacılar bu yapıyı bulmaya çalışmaktadır. Bu yapılar, bilgisayar simülasyonları ile bulunabilmektedir. Fakat atomlar arasındaki itme ve çekme kuvvetlerindeki karmaşıklık, yüksek enerji bariyerleri ile birbirinden ayrılmış lokal minimumları olan engebeli bir enerji dağılımına yol açmaktadır. Sonuç olarak, konformasyonların düşük enerji örnekleme zor bir hesaplama yöntemidir. Diğer bir problem ise düşük sıcaklıklarda fiziksel niceliklerin her zaman doğru olarak hesaplanamamasıdır. Çoklu lokal minimum problemi için çeşitli yaklaşımlar önerilmiştir.

Protein simülasyonlarında çoklu minimum problemini çözmenin en etkin yollarından biri genelleştirilmiş-küme yaklaşımıdır (Hansmann *et al.* 1999). En önemli avantajı tek bir simülasyonla geniş bir sıcaklık aralığında fiziksel niceliklerin doğru olarak hesaplanabilmesidir.

Monte Carlo simülasyonları, bazı fiziksel niceliklerin düzgün dağılımını sağlamaktadır. Genelleştirilmiş küme simülasyonu, bu şart ile karakterize edilmektedir. Büyük olasılıkla düzgün dağılım anlayışının temeli şemsiye örneklemesidir (Torrie and Valleau 1977). Bu algoritma yenilenerek biyolojik moleküllerin simülasyonunda yeni algoritmalar geliştirilmiştir. Bu yeni genelleştirilmiş-küme tekniklerinin tipik örnekleri multikanonik algoritma (Berg and Neuhaus 1991), $1/k$ örnekleme (Hesselbo and Stinchcombe 1995) ve simulated tempering (Lyubartsev 1992) olarak gösterilebilir.

Tüm genelleştirilmiş küme algoritmalarının ardında yatan fikir örneğin multikanonik algoritma (Berg and Neuhaus 1991) ile görülebilir. Burada $\omega(E)$ ağırlıkları,

$$P(E) \propto n(E)\omega(E) = \text{sabit} \quad (3.8)$$

enerji dağılımları olacak şekilde seçilir. $n(E)$, E enerjili durumların sayısıdır (spektral yoğunluk). Enerji uzayında rasgele yürüyüş (random walk) yapılabilmekte ve bu sayede simülasyonların lokal minimuma takılma problemi ortadan kalkmaktadır ve hatta küçük $n(E)$ bölgeleri dahi detaylı olarak incelenebilmektedir. Tekrar ağırlıklandırma (reweighting) (Ferrenberg and Swendsen 1988) teknikleri ile A fiziksel niceliğinin termodinamik ortalama değeri

$$\langle A \rangle_T = \frac{\int dx A(x) \omega^{-1}(x) e^{-E(x)/k_B T}}{\int dx \omega^{-1}(x) e^{-E(x)/k_B T}} \quad (3.9)$$

eşitliği ile hesaplanır. Burada x konfigürasyonları göstermekte olup $\omega(x)$ ise x konfigürasyonunun genelleştirilmiş küme ağırlığıdır. Kanonik kümeden farklı olarak, multikanonik küme simülasyonlarında ağırlıklar önceden bilinmemekte ve dolayısıyla simülasyon öncesinde hesaplanması gerekmektedir.

4. BULGULAR

4.1 Giriş

Bu çalışma, elastin kökenli olarak bilinen $(VPGXG)_n$ polipeptit zincirindeki X aminoasitinin, hidrofobisitesi ve polaritesi farklı amino asitlerle değiştirilmesi ile elde edilen polipeptitlerin farklı sulu çözeltilerdeki yapısal özelliklerinin incelenmesi ve bu amaçla bilgisayar simülasyonlarının gerçekleştirilmesini içermektedir. Zincirlerin sadece aminoasit dizilişini vererek, tamamen rasgele bir konfigürasyondan başlayarak, bilinen tüm etkileşmelerden sistemin gerçek üç boyutlu şekillenimlerinin bulunması, termodinamik özelliklerinin değerlendirilmesi yapılmıştır.

Bu kısımda, öncelikli olarak analiz sonucu hesaplanan enerji, özısı, başlangıç-bitiş uzaklığı, dönme yarıçapı, hidrofobisite termodinamik büyüklüklerinin teorik bilgisi anlatılmış, ayrıca protein ve peptit gibi sistemlerin ikincil yapı analizinde kullanılan Ramachandran grafiklerinden bahsedilmiştir. Ardından tüm simülasyonlar için uyguladığımız sayısal ayrıntılar verilmiş ve kullanılan simülasyon düzeneğimizin literatürde yer alan iki çalışmayla test ettiğimiz çalışmamızın karşılaştırmalı sonuçları sunulmuştur.

Ardından, çalışmamızın temelini oluşturan $(VPGXG)_n$ polipeptitinde, X aminoasiti değiştirilip, polipeptit uzunluğunu belirten n indisi $n=1, 2, 3$ seçilip elde edilen elastin kökenli polipeptitlerin termodinamik özellikleri belirlenmiştir. Bu amaçla, fiziksel büyüklüklerin sıcaklığa bağlı değişim grafikleri ile polipeptitlerin ikincil ve tersiyer yapıları anlaşılmasına çalışılmıştır.

Çalışmamızda, kolaylık açısından, peptitlerin isimlendirilmesinde dördüncü aminoasit esas alınmış, örneğin Val-Pro-Gly-Trp-Val peptiti Trp peptiti olarak adlandırılmıştır. Ayrıca aminoasit dizilimlerinin isimlendirilmesinde, literatürde de yer alan *peptit*, *polipeptit* ve *molekül* terimleri değişmeli olarak kullanılmıştır.

Elastin türü VPGXG çalışmamız kapsamındaki amaçlarımız ve simülasyonlar aşağıda

özetlenmiştir ve tezin bundan sonraki kısmındaki anlatımlarda bu sıra izlenecektir:

1. VPGXG diziliminde X aminoasitinin değiştirilmesinin termodinamik büyüklüklere etkisinin araştırılması, X aminoasitlerinin göreceli hidrofobisitelerinin belirlenmesi ve deneysel sonuçlarla karşılaştırılması, doğal katlanmış konformasyonlarının belirlenmesi amacıyla, vakum ve çözelti ortamında yapılan simülasyonlar
2. Farklı solüsyon modelleri kullanımının, peptit zincirlerinin yapısal karakteristiklerine etkisinin araştırılması amacıyla üç farklı çözelti ortamında (OONS, WE92 ve SCH2 modellerinde) yapılan simülasyonlar
3. VPGVG pentapeptit zincirinden (VPGVG)₂ ve (VPGVG)₃ polipeptit zincirine geçişte ortaya çıkan yapısal değişimin çözelti ortamında (SCH2) incelenmesi ve (VPGVG)₂ polipeptitinin farklı çözelti (solüsyon) ortamlarında (vakum, OONS, SCH2) yapısal değişiminin incelenmesi amacıyla yapılan simülasyonlar

4.2 Peptitlerin Yapısal Karakterizasyonu

Tüm moleküler simülasyonlarda amaç en düşük enerjili konformasyonu, yani sistemin kararlı yapısını bulmaktır. Eğer konformasyonların enerjilerini doğru olarak hesaplayabilirsek proteinlerin 3-boyutlu yapısını tahmin edebiliriz. Konformasyonların enerjileri hesaplanırken bu tip sistemler için oluşturulan potansiyel fonksiyonlardan olan ECEPP /3 (Sippl *et al.* 1984) kullanılmıştır.

Enerjideki dalgalanmalar kabaca özısı olarak tanımlanmakta ve N rezidülü bir proteinin özısı değeri

$$C(T) = \beta^2 \frac{\langle E^2 \rangle - \langle E \rangle^2}{N} \quad (4.1)$$

bağıntısı ile hesaplanmaktadır. Enerjinin sıcaklığa bağlı bu değişimi grafikte bir tepe

noktası oluşturmaktadır. Bu tepe noktası, peptitler için *yapısal geçiş sıcaklığı* olarak adlandırılmaktadır.

Peptit zincirinin hacimsel büyüklüğünün ölçüsü *dönme yarıçapıdır* ve R ile gösterilmiştir. N atomlu bir peptit için dönme yarıçapı (R)

$$R = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (r_i - r_{cm})^2} \quad (4.2)$$

formülü ile hesaplanmaktadır. Burada, r_{cm} peptitteki rezidülerin kütle merkezi yarıçaplarını, r_i ise her bir rezidüye olan yarıçapı belirtmektedir. Peptitin bir doğru şeklinde olması durumunda R maksimum değeri alır.

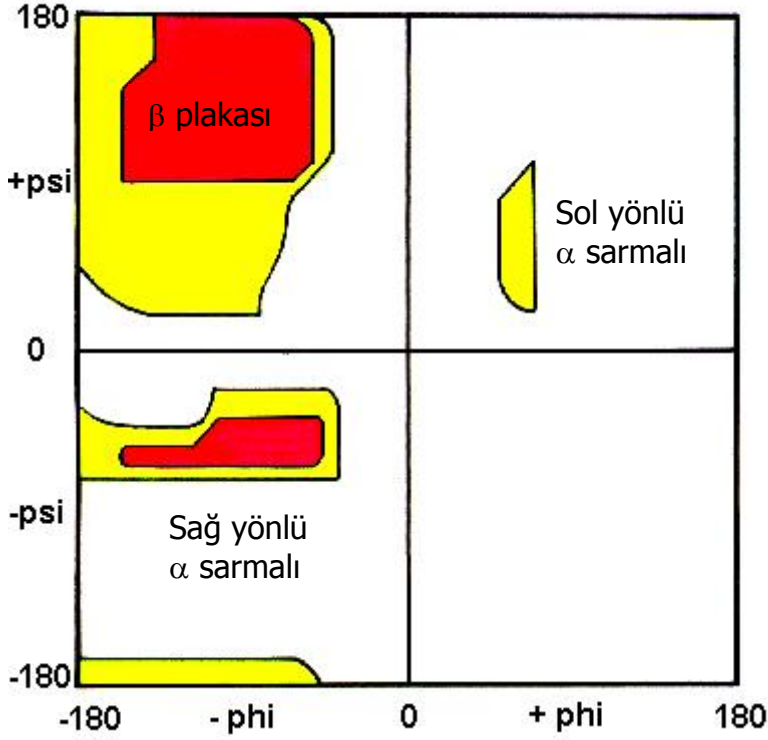
Konformasyon analizinde diğer önemli bir parametre, peptit zincirinin başlangıcı ile sonundaki α -karbon atomları arasındaki mesafe olarak tanımlanan *başlangıç-bitiş uzaklığıdır* ve d ile gösterilmiştir. d uzaklığı, peptit konformasyonlarının kompakt yapısının bir ölçüsüdür.

Protein katlanma mekanizmasında temel itici güçlerden birisi, aminoasitlerin *hidrofobik* yapısıdır. Hidrofobisitesi yüksek aminoasitler proteinin iç kısmında kalacak şekilde katlanırlar. Hidrofobik etkiye yol açan termodinamik faktörler çok karmaşıktır ve hala tam olarak anlaşılammıştır. Günümüzde farklı parametreleri esas alarak oluşturulmuş kırktan fazla hidrofobisite skalası mevcuttur. Bu parametrelerden bazıları yüzey gerilimi, lipid-peptit etkileşimi, protein dizilimindeki aminoasit değiştirilerek protein stabilitesindeki değişme, ısı kapasitesi ve model proteinlerde yapısal geçiş sıcaklıklarının karşılaştırılması olarak sıralanabilir. Bu çalışmada yapısal geçiş sıcaklıkları esas alınarak Çizelge 2.2'deki hidrofobisite skalası oluşturulmaya çalışılmıştır.

Proteinlerin konformasyonunu belirlemek için spektroskopik, vizkozimetrik, mikroskopik gibi birçok deneysel yöntem vardır. Bu yöntemler genellikle protein yapısındaki baskın konformasyonlar hakkında bilgi vermektedir. Diğer taraftan, moleküler bilgisayar modellemelerinde bu bulgulara ulaşabilmek için Ramachandran

grafikleri kullanılmaktadır. ϕ ve ψ açısı $N-C_\alpha$ ve $C_\alpha C'$ bağları etrafındaki dönme açılarını ifade etmek üzere, Ramachandran grafikleri, ϕ ve ψ açılarının olasılık dağılımını veren bir grafikdir ve proteinin ikincil yapısının farklı oluşumlarını analiz etmekte kullanılmaktadır. Bu nedenle, Ramachandran grafiklerinin simülasyon sonunda elde edilebilir olması simülasyon metotlarının önemli bir avantajıdır. Bu avantajla bilgisayar simülasyon çalışmaları sonuçları, ilerde deneysel çalışmalara da model teşkil edebilecektir (Arkın 2004). Moleküllerdeki atomların uzaysal dağılımı, bazı (ϕ , ψ) dihedral açı kombinasyonlarına izin vermektedir. Diğer bir deyişle, molekülün büyüklük ve şekline bağlı olarak sadece bazı dihedral açı kombinasyonları gözlenmektedir. Özel bir durum olarak Glisin (glycine) esnek bir yapıya sahiptir ve yüksek oranda dihedral açı kombinasyonları gözlenmektedir. Fakat diğer aminoasitlerde sadece sınırlı sayıda açı kombinasyonları mümkündür. Proteinlerin Ramachandran grafiklerinde kabaca onda birlik alan doldurulmaktadır. Genellikle proteinlerin terminal uçlarındaki aminoasitler alınmadan gövdedeki rezidülerin Ramachandran grafikleri çizdirilmektedir. Şekil 4.1'deki örnek bir Ramachandran çiziminde, ikincil β yaprağı ve α sarmalı bölgeleri gösterilmiştir. Proteinlerin özelliklerinin anlatıldığı Bölüm 2.12'de β yaprağı ve α sarmalı hakkında detaylı bilgiler vermeye çalışılmıştır.

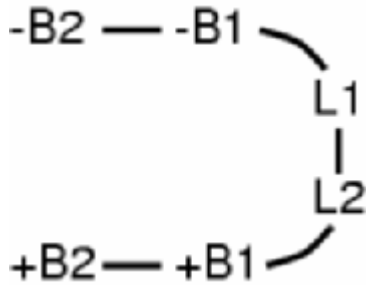
Şekil 4.1'deki Ramachandran grafiğinde taralı alanlar izin verilen konformasyonlara ait dihedral açıları belirtmektedir, başka bir deyişle bu açı setlerinden oluşan konformasyonlar molekül tarafından tercih edilen konformasyonlardır. Taralı alan dışındaki boş kısımlardaki konformasyonlar, matematiksel olarak mümkün olan ancak molekül tarafından tercih edilmeyen açı setleridir.



Şekil 4.1 Tipik bir Ramachandran grafiği

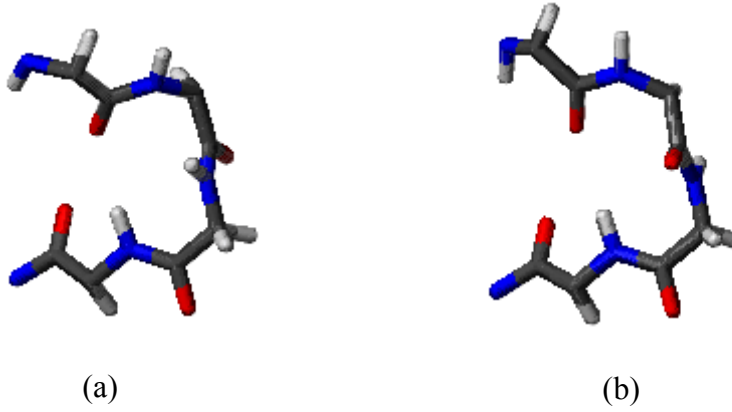
Ramachandran grafiği dikey eksen ψ , yatay eksen ϕ açılarını göstermektedir ve grafik 4 bölgeye ayrılmıştır. Sol üst bölge β bölgesini, sağ üst bölge sol yönlü α , sol alt bölge ise sağ yönlü α ikincil protein yapısı şekillenimlerini göstermektedir. β bölgesinin tipik (ϕ, ψ) açı seti $(-120, 140)$, sağ üst bölgede yer alan sol yönlü α şekilleniminin tipik (ϕ, ψ) açı seti $(60, 40)$ ve en son olarak da sol alt bölgede yer alan sağ yönlü α şekilleniminin tipik (ϕ, ψ) açı seti $(-60, -40)$ değerleridir.

β -dönümleri (β -turns), β plakalarını birbirine bağlayarak proteindeki aminoasit zincirinin yönünü U şeklinde değiştirebilmektedir. Şekil 4.2' de N terminalindeki $-B1$ ve $-B2$ dizilimi, $L1$ ve $L2$ rezidülerinin β -dönüm yapmasıyla yönünü değiştirmiş ve C terminaline geçmektedir. Şekil 4.2'de bu farklılık $+B1$ ve $+B2$ ile belirtilmektedir.



Şekil 4.2 Peptit zincirinde β -dönüm yapan $L1$ ve $L2$ rezidülerinin şematik gösterimi

β -dönümleri, dönümü gerçekleştiren rezidülerin (U halkasındaki) sayısına göre isimlendirilmektedir. Bu şekilde, literatürde ona yakın β -dönüm sınıfı vardır. Proteinlerde en yaygın görülenleri ise $\beta-I$ ve $\beta-II$ türleridir. Şekil 4.3’ de $\beta-I$ ve $\beta-II$ türü β -dönümleri görülmektedir.



Şekil 4.3.a $\beta-I$, b. $\beta-II$ türü dönümler

β -I ve β -II türü dönümlerinin karakteristik açıları Çizelge 4.1’ de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1 β -I ve β -II türü dönümlerin karakteristik açıları

| Dönüm türü | ϕ_1 | ψ_1 | ϕ_2 | ψ_2 |
|-------------|----------|----------|----------|----------|
| β -I | -60 | -30 | -90 | 0 |
| β -II | -60 | 120 | 80 | 0 |

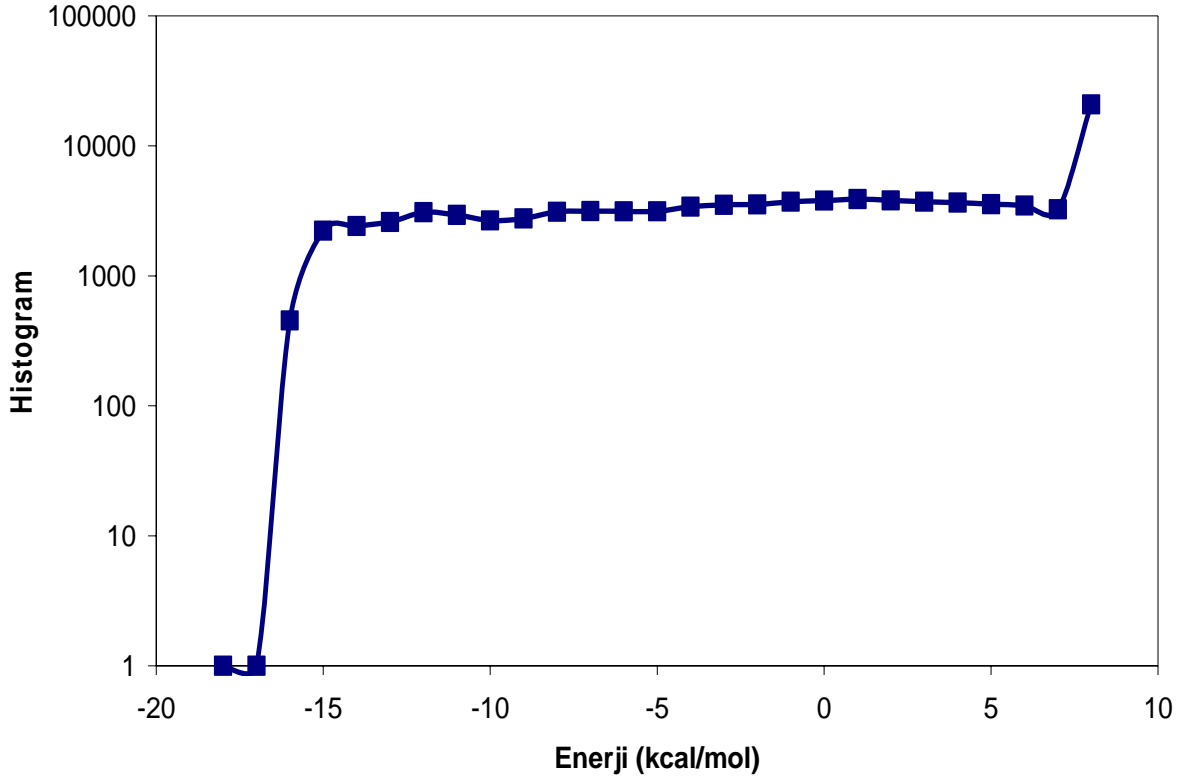
4.3 Simülasyonlardaki Sayısal Detaylar

VPGXG peptit zincirinde X=Trp, His, Ala, Lys, Glu aminoasitleri konularak gerçekleştirilen simülasyonlarda, öncelikle multikanonik parametrelerin elde edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla, 1000 K sıcaklıkta kanonik simülasyonlar yapılarak enerji aralığının maksimum noktası belirlenmiştir. Enerji aralığı 1 kcal/mol aralıklara bölünmüştür. Yeni bir konformasyonu oluşturmak için dihedral açıları $[-180:180]$ aralığında rasgele değiştirilmekte, elde edilen konfigürasyonun kabul edilebilirliğine Metropolis kriterlerine göre karar verilmektedir. ω peptit bağ açıları 180° de sabit tutularak, geride kalan ϕ ile ψ açıları için 13 ile 17 arasında değişen serbestlik dereceleri elde edilmiştir.

Enerji histogramlarının eş olasılıklı hale getirilmesi (histogram düzeltme) için peptitler her 5000-8000 taramada güncellenerek, toplam olarak 200,000 Monte Carlo taraması yapılmıştır. Histogramlarda enerji aralığı 1 kcal/mol adımlarla taranmıştır. 1000 K sıcaklığındaki yüksek enerji fazında konfigürasyonlar düşük hata payına sahiptir. Multikanonik parametrelerin belirlenmesi aşamasında, histogram-enerji grafiği düz bir hale getirilmeye çalışılmaktadır. Örnek bir histogram düzeltmesi Şekil 4.4'de gösterilmiştir.

Düz bir histogram elde edildikten sonra multikanonik simülasyonla tamamen rasgele bir konfigürasyondan başlanarak, istenilen sıcaklık aralığında tek bir simülasyonla

termodinamik parametreler hesaplanabilmektedir. Tüm peptitlerin multikanonik simülasyonlarında 2,000,000 tarama yapılmıştır. Tarama miktarı artırılarak, örneğin 8,000,000 seçilerek, sonuçların değişmediği gözlenmiştir. Bu nedenle simülasyonların optimum sürede tamamlanması amacıyla 2,000,000 taramaya karar verilmiştir.



Şekil 4.4 Multikanonik histogramlarının oluşturulması

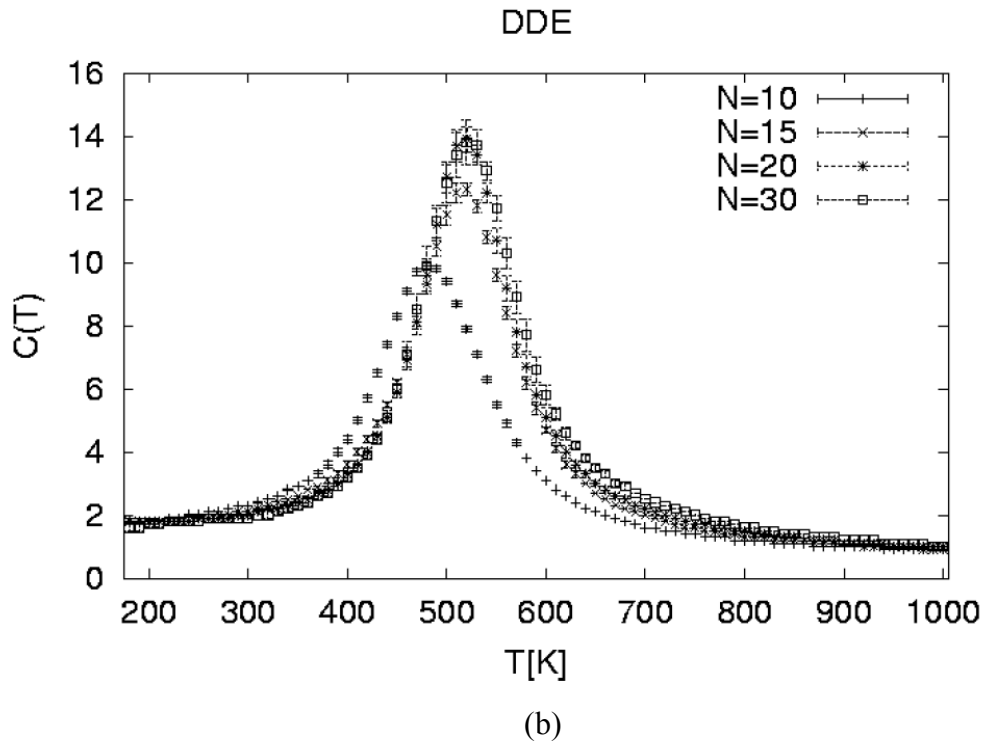
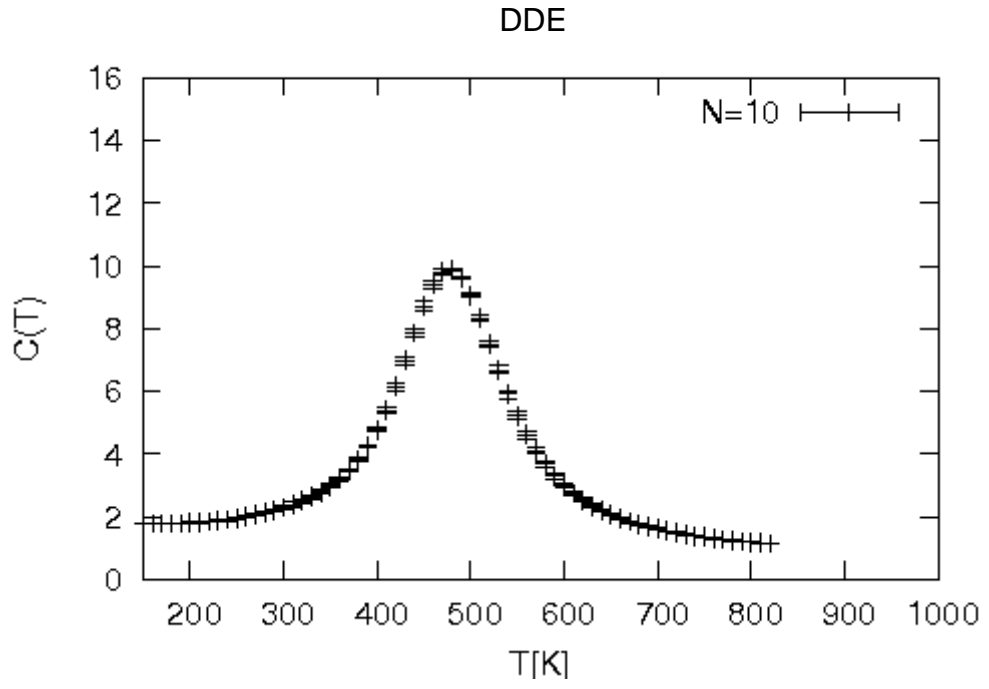
4.4 Test Simülasyonları

Simülasyonlarımızın doğruluğunu ispatlamak ve hata analizini yapmak için incelenecek olan moleküllerin simülasyonlarına başlamadan önce simülasyon programlarımız literatürde kabul gören iki çalışma ile test edilmiştir. Bunlardan birincisi Yong ve Hansmann (2003) tarafından farklı 10-20-30 rezidülü alanin (alanine) zinciri simülasyonudur. Alanine onlu zinciri esas alınarak, uzaklık bağımlı dielektrik ve ASA

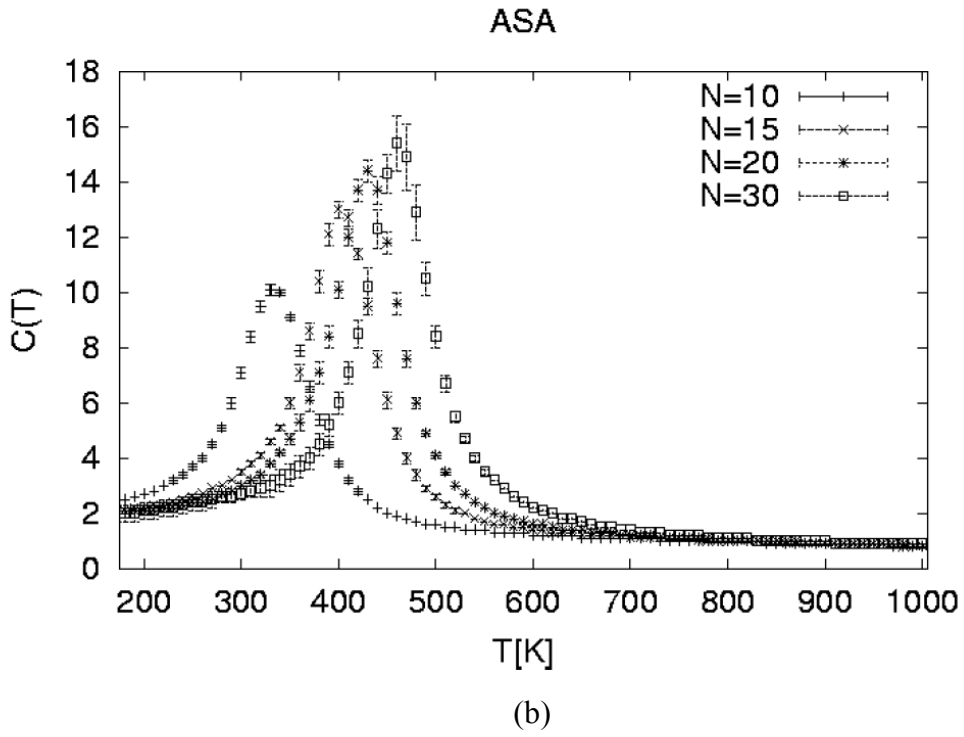
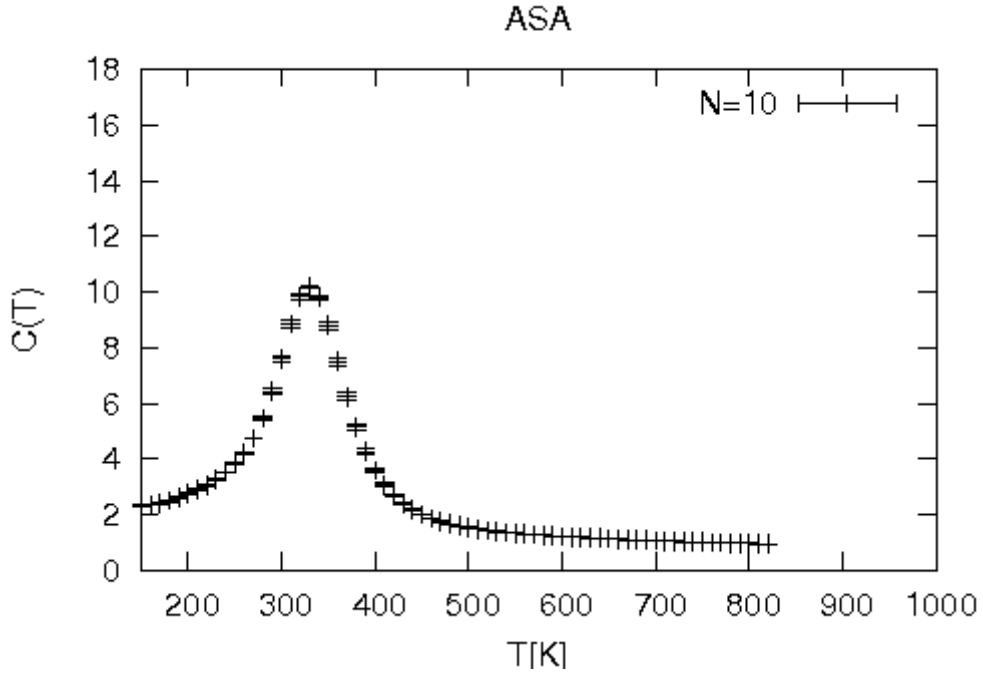
(erişilebilir yüzey alanı-accessible surface area) metotlarıyla protein simüle edilmiştir. Her iki metotta elde edilen özısı-sıcaklık grafikleri makale sonuçları ile birlikte Şekil 4.5 ve 4.6' da karşılaştırmalı olarak gösterilmiştir. Özısı grafiklerinin tepe noktası olan yapısal geçiş sıcaklığı DDE metodunda makale çalışmasında 482 K, karşılık gelen özısı değeri ise 9.9 dur. Bizim simülasyonumuzda ise, yapısal geçiş sıcaklığı 476 ± 3 K ve özısı değeri ise 9.9 bulunmuştur. ASA modelinde, makalede yapısal geçiş sıcaklığı 333 K ve özısı değeri 10.2 iken simülasyonumuzda bu değerler 329 ± 3 K ve 10.2 olarak bulunmuştur. Yapısal geçiş sıcaklığındaki DDE metodunda 6 K, ASA metodundaki 3 K farklılık, günümüz bilgisayarlarının rasgele sayı üreticilerinin daha efektif olarak çalışmasıyla açıklanabilir.

İkinci çalışma ise, Hansmann (1993) tarafından gerçekleştirilen Metenkephalin pentapeptidine aittir. Bu makaledeki enerji ve özısı değerleri elde edilmeye çalışılmıştır. Elde edilen grafikler Şekil 4.7' de gösterilmektedir.

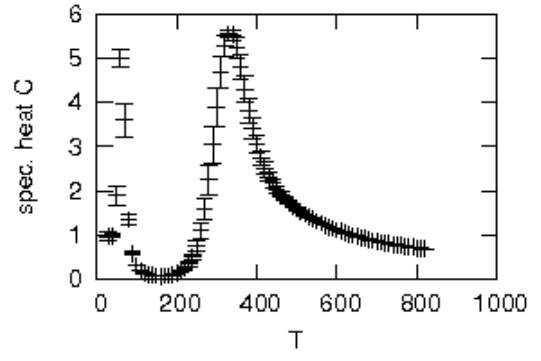
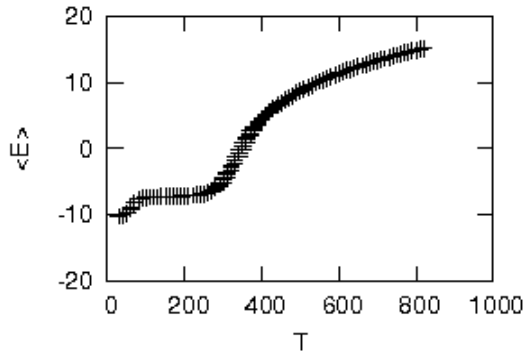
Sonuç olarak, sayısal değerler ve grafiksel sonuçlarımızın literatürde kabul edilen makalelerle uyumluluğu, simülasyon düzeneğimizin doğru ve etkin olarak çalıştığını göstermektedir.



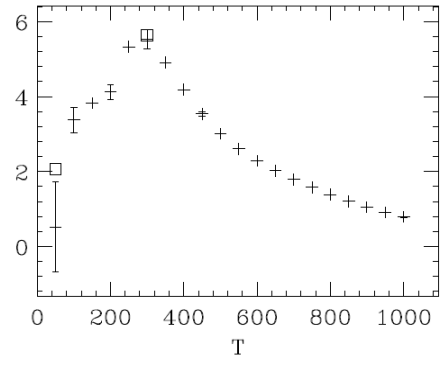
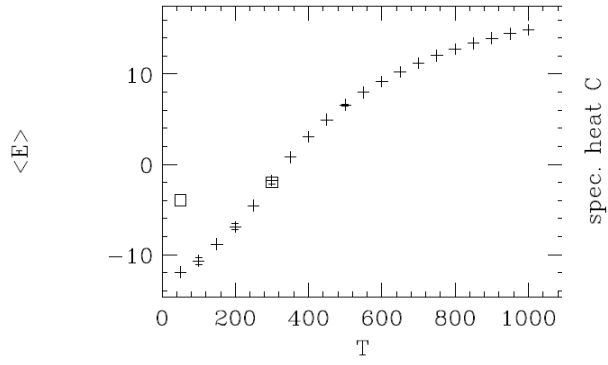
Şekil 4.5 DDE metodunda Ala(10) simülasyonu a. bizim çalışmamız b. makale çalışması



Şekil 4.6 ASA metodunda Ala(10) simülasyonu a. bizim çalışmamız b. makale çalışması



(a)



(b)

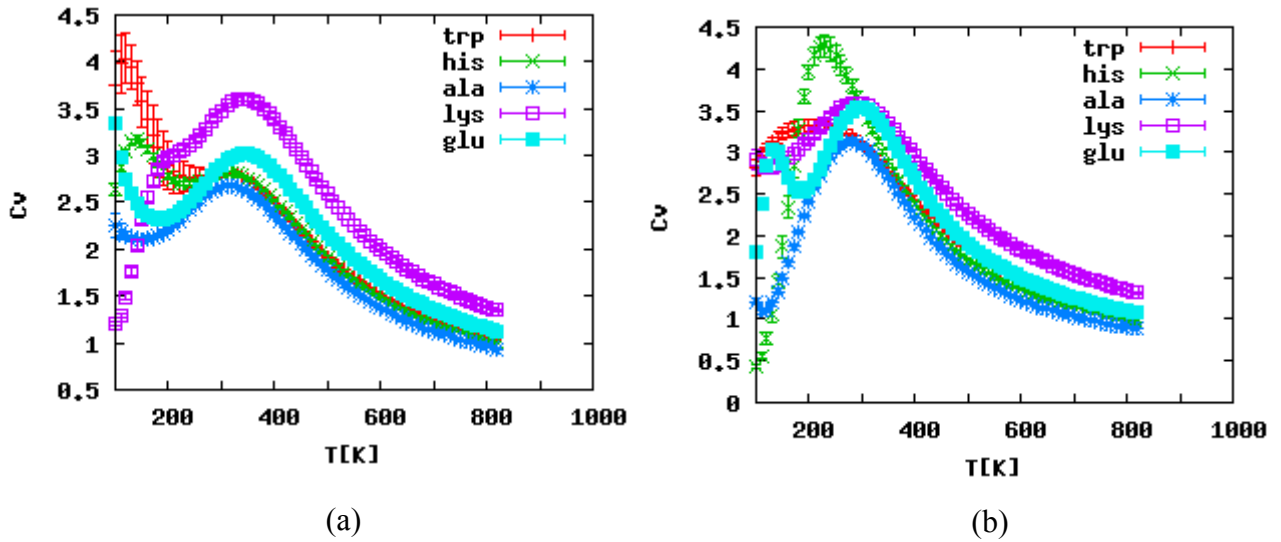
Şekil 4.7 Metenkephalin simülasyonu a. bizim çalışmamız b. makale çalışması

4.5 X Aminoasitinin Yapısal Geçiş Sıcaklığına Etkisi

Şekil 4.8' deki özısı grafiklerinden anlaşılacağı üzere, bir ortamda farklı peptitlerin yapısal geçiş sıcaklıkları farklı karakteristikler göstermektedir, yani bazıları birinci derece iken bazıları da ikincil yapısal geçiş sıcaklığına sahiptir. İkincil yapısal geçiş sıcaklıklarının, fiziksel yada örnekleme yetersizliğinden kaynaklı olup olmadığını anlamak için simülasyonlarda örnekleme sayısı artırılmıştır. Çıkan sonuç, ikinci derece yapısal geçiş sıcaklıklarının fiziksel olduğunu göstermiştir.

Grafikten anlaşılacağı üzere, dördüncü aminoasitin değiştirilmesi yapısal geçiş sıcaklığını değiştirmektedir.

Özısı grafiklerine ait değerler Çizelge 4.2' de belirtilmiştir. Vakum ortamında yapısal geçiş sıcaklıkları dar bir aralıkta değişirken solüsyon (SCH2) modelinde geniş bir aralığa sahiptir. SCH2 modelinde, moleküler bazda yapısal geçiş sıcaklıkları artmaktadır. Solüsyon içinde peptitlerin konformasyon enerjileri hesaplanırken solüsyon katkısı eklenmekte, yani enerji değerleri artmaktadır. Dolayısıyla denklem 4.1' deki özısı değerleri de artış göstermektedir.



Şekil 4.8.a. Vakum ve b. solüsyon (SCH2) ortamlarında özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Çizelge 4.2 Vakum ve SCH2 modelinde yapısal geçiş sıcaklıkları ve özısı değerleri

| | Aminoasit | Yapısal geçiş sıcaklığı (K) | Özısı |
|-------|-----------|-----------------------------|-------|
| vakum | Trp | 302 | 2.82 |
| | His | 314 | 2.80 |
| | Ala | 317 | 2.67 |
| | Lys | 341 | 3.61 |
| | Glu | 344 | 3.02 |
| SCH2 | Trp | 210 | 3.32 |
| | His | 230 | 4.27 |
| | Ala | 280 | 3.12 |
| | Lys | 290 | 3.58 |
| | Glu | 300 | 3.53 |

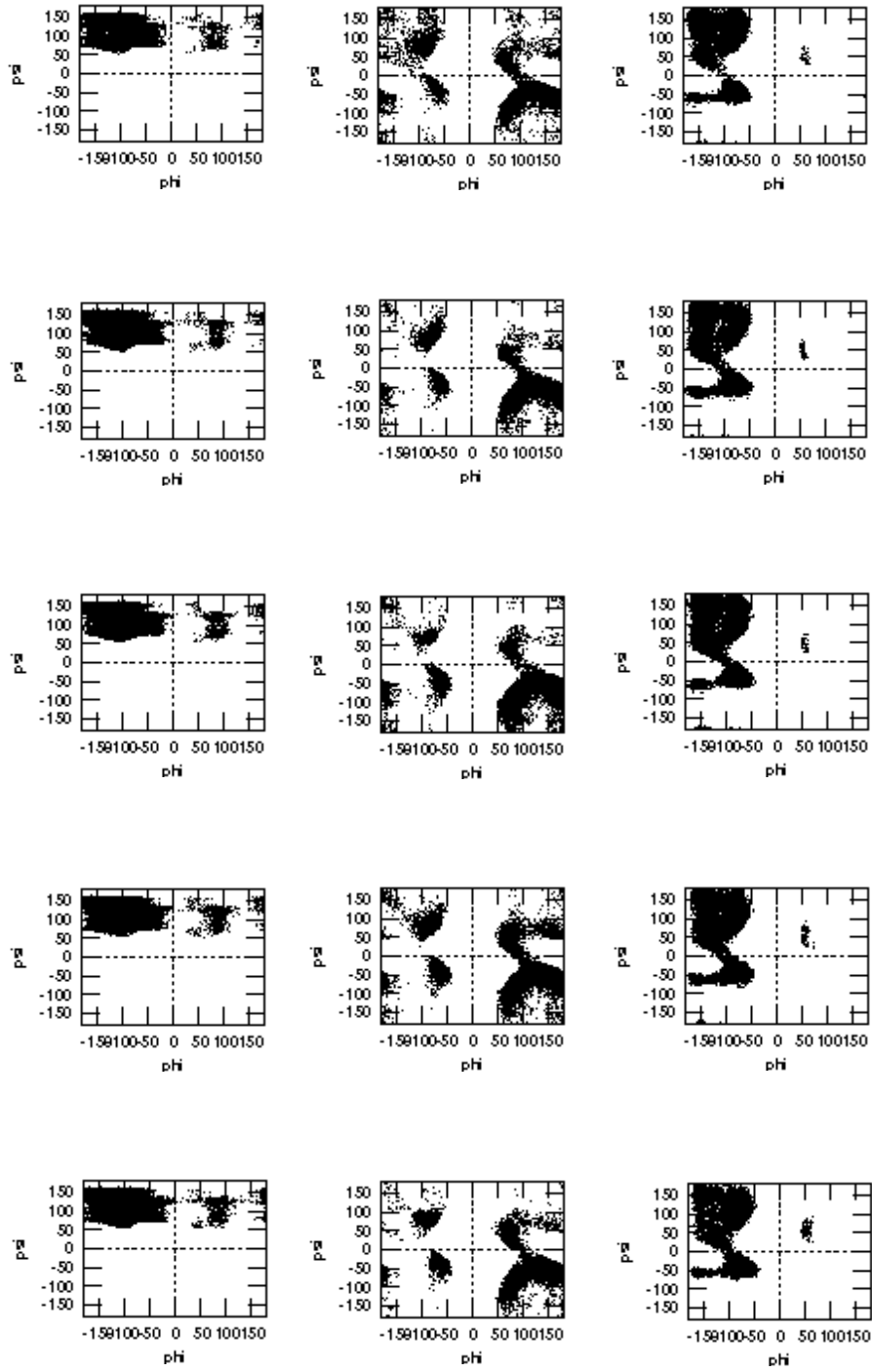
Bölüm 2.6' da bahsettiğimiz Urry (1991) tarafından yapılan deneysel çalışmalarda oluşturulan hidrofobisite skalası, yapısal geçiş sıcaklığı ile ters orantılıdır. Çizelge 4.2' de vakumda Trp, His, Ala, Lys ve Glu aminoasitleri için yapısal geçiş sıcaklıkları sırasıyla 302, 314, 317, 341, 344 K olarak hesaplanmıştır. Yapısal geçiş sıcaklıklarındaki artış, hidrofobisitedeki azalmayı göstermektedir ki bu durumda hidrofobiklik karşılaştırması $\text{Trp} > \text{His} > \text{Ala} > \text{Lys} > \text{Glu}$ şeklinde ifade edilebilir. Aynı şekilde SCH2 modelinde yapısal geçiş sıcaklıkları 210, 230, 280, 290, 300 K olup bu da bize yine aynı hidrofobisite sırasını göstermektedir. Elde edilen bu hidrofobisite karşılaştırması, literatür çalışmalarıyla (Urry 2004, Arkın and Bilsel 2009) uygunluk göstermektedir.

İncelenen beş farklı peptit zincirinin ϕ ve ψ açılarının dağılımı, 300 ± 10 K oda sıcaklığı aralığında Ramachandran grafikleri çizilerek analiz edilmiştir. Vakum ve SCH2 ortamında çizdirilen Ramachandran grafikleri sırasıyla Şekil 4.9 ve 4.10' da gösterilmiştir. Grafiklerde Val1, Gly3 ve dördüncü aminoasit Xaa4 verilirken, Pro2 ve Gly5 verilmemektedir. Pro2 aminoasiti için $\phi = -60 \pm 20$, ψ açısı ise herhangi bir açıdır. Tek açı bağımlılığı nedeniyle Pro2, Gly5 aminoasiti de uç terminalde bulunması

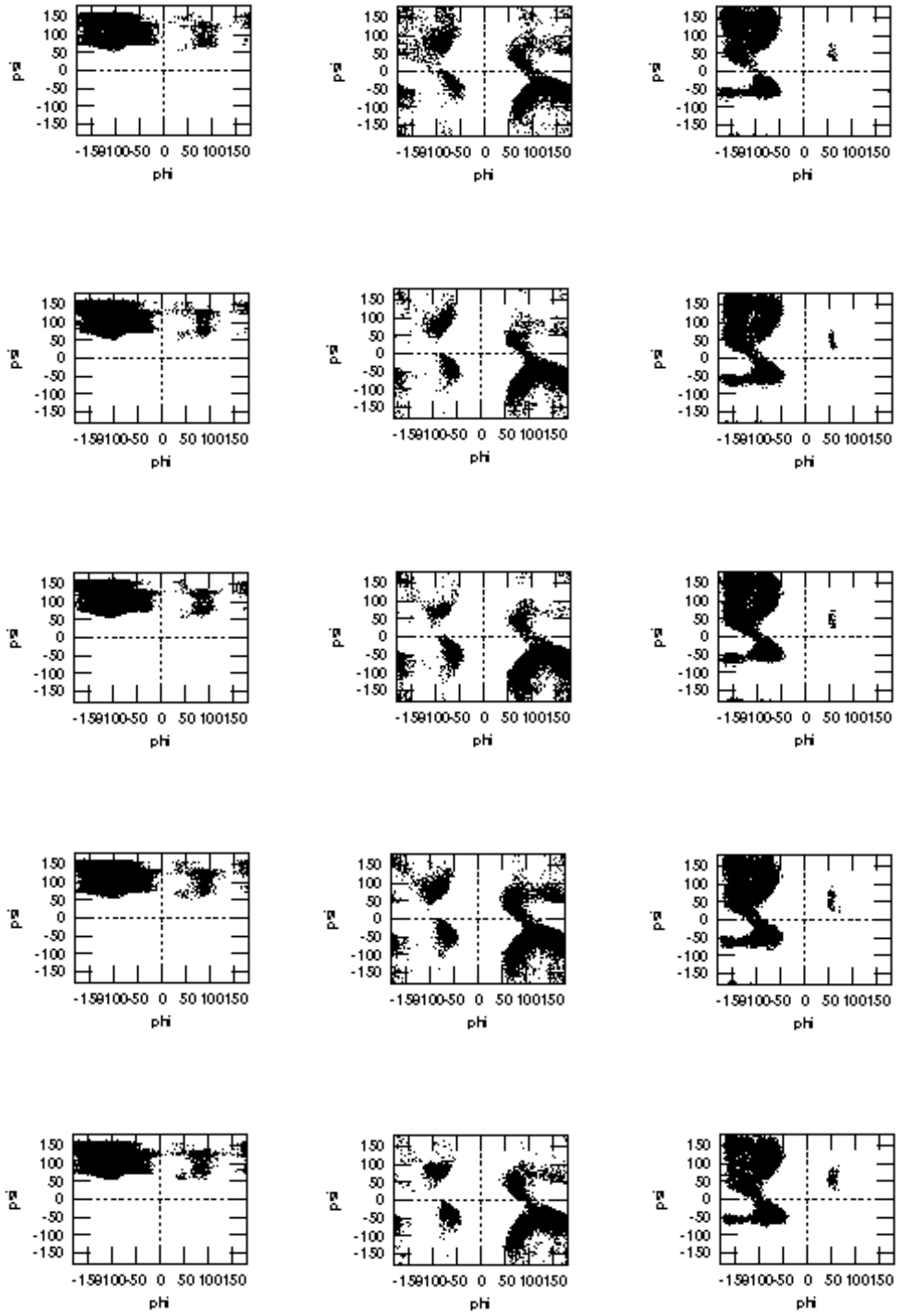
dolayısıyla çizdirilmemiştir. Şekil 4.9 ve 4.10' da Val1, Gly3, Xaa4 çizimleri 1., 2. ve 3. sütunda, peptitlerdeki 4. aminoasit olan X=Trp, His, Ala, Lys, Glu sırası ise satırlarda yukarıdan aşağıya verilmiştir. Çoğu deneyin oda sıcaklığında yapılması ve vakum ile solüsyon (SCH2) ortamlarındaki yapısal geçiş sıcaklıklarının çoğunluğunun oda sıcaklığına yakın bir değerde olması nedenleriyle Ramachandran grafikleri çizimi için oda sıcaklığı seçilmiştir. Ramachandran grafikleri, oda sıcaklığının yanı sıra vakum ve SCH2 ortamlarındaki peptitlerin özgün yapısal geçiş sıcaklıklarında çizdirildiğinde aralarında herhangi bir fark gözlenmemiştir. Bu nedenle, çalışmamızda sadece oda sıcaklığı grafiği verilmiştir.

Vakum ve SCH2 modelinde, Ramachandran grafiklerinin farklılık göstermemesi incelenen peptitlerdeki dördüncü aminoasitin ikincil yapıyı oluşturmada önemli bir katkısı olmadığını göstermektedir. İki boyutlu Ramachandran grafikleri, izin verilen ϕ ve ψ açı setlerini vermektedir. İzin verilen dihedral açıları peptitin yan zincirinin büyüklük ve şekline bağlıdır. Şekil 4.9 ve 4.10' daki vakum ve SCH2 ortamındaki Ramachandran grafikleri birbirine benzerdir. Dördüncü sıradaki X aminoasiti hidrofobisitesi farklı Trp, His, Ala, Lys, Glu aminoasitleri ile yer değiştirildiğinde, bu aminoasitlerin ikincil yapıya etkisinin olmadığı, sadece yapısal geçiş sıcaklıklarını değiştirdiği gözlemlendi. Ramachandran grafikleri analiz edildiğinde ise yapıların Pro2-Gly3 ve Xaa4-Gly5 köprülerinde β -dönüm yaptığı görüldü. Önceden yapılan deneysel (Li *et al.* 2001) ve simülasyon sonuçları (Villani and Tamburro 1998) elastinin ikincil yapısında β -dönüm oluştuğunu öngörmektedir ve elde ettiğimiz sonuçlar bu çalışmalarla uyumludur. Bununla beraber, CD (circular dichroism) ve NMR deneysel çalışmaları da β -dönüm oluşumunun, baskın ikincil yapı özelliği olduğunu göstermektedir (Tamburro *et al.* 1990, Urry 1997). Diğer taraftan, protein yapısı ile ilgili literatür çalışmaları, ikinci sıradaki prolin aminoasitinin yüksek olasılıklı β -dönüm yaptığını söylemekte ve üçüncü sıradaki glisin aminoasitinin ise elastinle yapılan eski çalışmalarla (Creighton 1993) uyumlu olduğunu ifade etmiştir.

Sonuç olarak, dördüncü aminoasitin değiştirilmesi, ikincil yapı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir ve yapısal geçiş sıcaklıklarını değiştirmektedir.



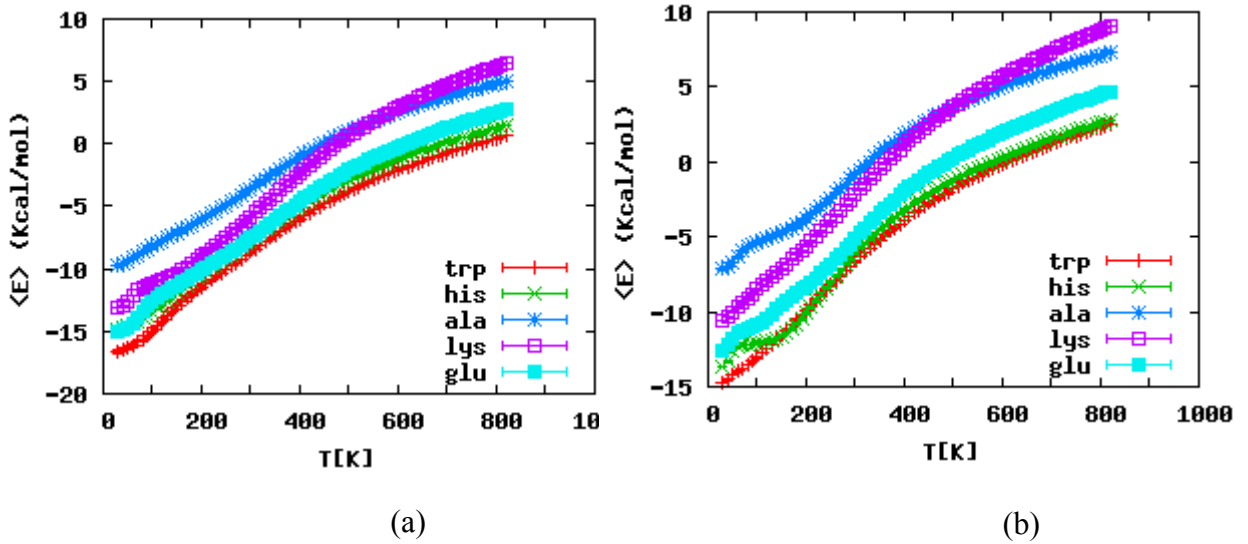
Şekil 4.9 Vakumda 300 K' de Ramachandran çizimleri



Şekil 4.10 300 K' de solüsyon (SCH2) içinde yapılan simülasyonlardan elde edilen Ramachandran çizimleri

Enerjinin sıcaklığa bağlı değişimi Şekil 4.11’ de görülmektedir. SCH2 modelinde enerji hesaplamasına solüsyon etkisi terimi eklendiğinden ortalama enerji değerleri vakumdakine göre daha yüksektir. Sıcaklığın artması ile enerji değerleri yükselmektedir.

Enerjilerin farklı sıcaklıklardaki dalgalanmalarının yanı sıra moleküllerin konformasyon uzayında en kararlı konfigürasyonları tanımlayan global minimum enerjilerinin belirlenmesi önem taşımaktadır. Minimum enerji değerleri ve bu enerjilere karşılık gelen dihedral açı dağılımları vakumda ve solüsyonda (SCH2) sırasıyla Çizelge 4.3 ve 4.4’ de verilmiştir. Trp, His, Ala, Lys ve Glu dizilimlerinin serbestlik dereceleri sırasıyla 14, 14, 13, 17 ve 15 olduğundan çizelgelerde bazı kısımlar boş bırakılmıştır. Vakumda ve SCH2’ de, en düşük enerjiden yüksek olana doğru sıralama Trp, His, Glu, Lys ve Ala peptit dizilimleri şeklindedir. Vakum simülasyonlarında Trp, His, Ala, Lys, Glu dizilimlerinin minimum enerjili dihedral açı setlerine sırasıyla 2, 2, 1, 4, 4, SCH2 modelinde ise 6, 12, 5, 2, 1 defa ulaşılmıştır.



Şekil 4.11.a. Vakumda ve b. SCH2 modelinde enerji değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Çizelge 4.3 Peptitlerin vakumda minimum enerji konfigürasyonlarının dihedral açıları

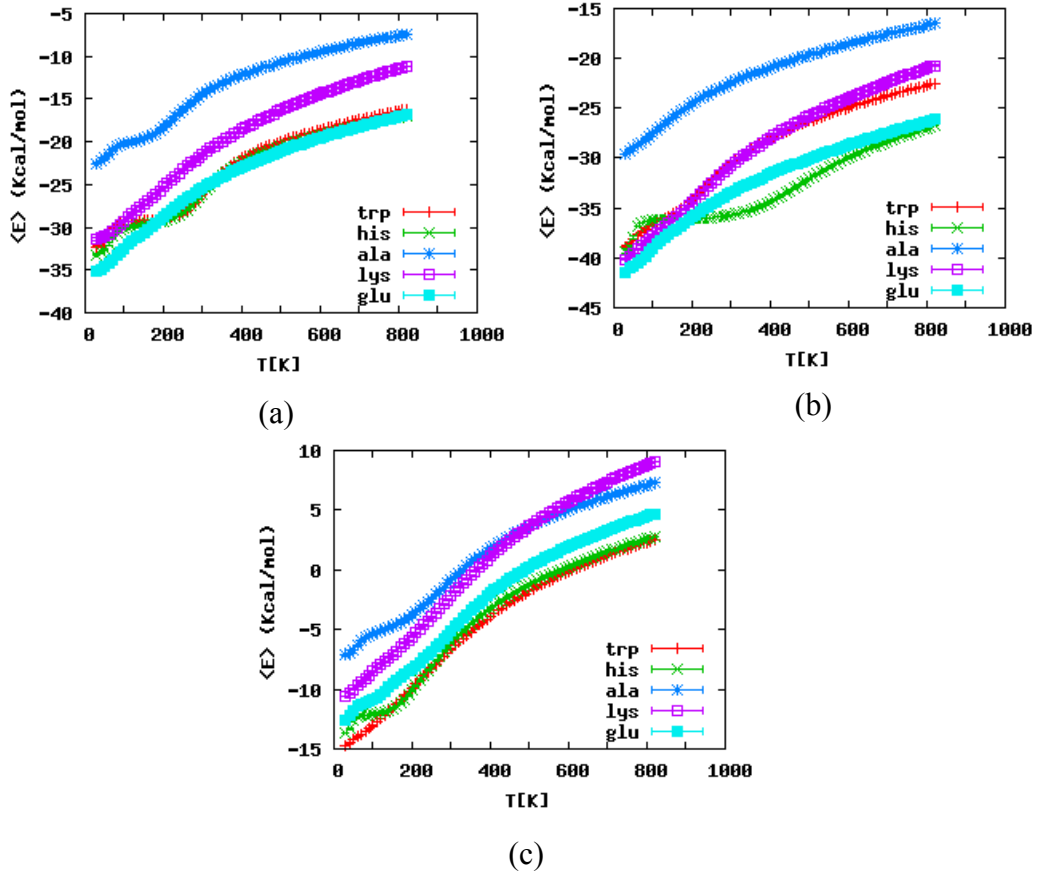
| | | TRP | HİS | ALA | LYS | GLU |
|-------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| Enerji | Rezidü | -17.25 | -15.21 | -13.45 | -14.09 | -15.36 |
| (kcal/mol) | | | | | | |
| χ_1 | 1 | -178 | -65 | -76 | -74 | -64 |
| χ_{21} | 1 | 60 | -57 | 58 | -61 | -59 |
| χ_{22} | 1 | -52 | -58 | 49 | 170 | 57 |
| ϕ | 1 | -54 | -97 | -97 | -92 | -90 |
| ψ | 2 | 129 | 148 | 152 | 149 | 151 |
| ψ | 3 | 81 | 159 | -22 | 152 | 157 |
| ϕ | 3 | 172 | 78 | -61 | 80 | 81 |
| ψ | 4 | -76 | -74 | -33 | -71 | -70 |
| χ_1 | 4 | 62 | 169 | -65 | 171 | 178 |
| χ_2 | 4 | -92 | -74 | -179 | 88 | -85 |
| ϕ | 4 | -90 | -65 | 176 | -63 | -60 |
| ψ | 5 | -17 | -42 | 65 | -42 | - |
| ϕ | 5 | 87 | 105 | 60 | 89 | - |
| ψ | 5 | 67 | -27 | -95 | 75 | -71 |

Çizelge 4.4 Peptitlerin solüsyonda (SCH2) minimum enerji konfigürasyonlarının dihedral açıları

| | | TRP | HİS | ALA | LYS | GLU |
|-------------|--------|--------|--------|-------|--------|--------|
| Enerji | Rezidü | -15.17 | -14.09 | -7.51 | -11.02 | -13.09 |
| (kcal/mol) | | | | | | |
| χ_1 | 1 | -69 | -74 | -68 | -64 | -176 |
| χ_{21} | 1 | -179 | -61 | -56 | -177 | -57 |
| χ_{22} | 1 | 175 | 170 | 53 | 60 | -54 |
| ϕ | 1 | -93 | -92 | -92 | -92 | -72 |
| ψ | 2 | 153 | 149 | 148 | 150 | 129 |
| ψ | 3 | 156 | 152 | 153 | 155 | 137 |
| ϕ | 3 | 86 | 80 | 84 | 83 | 84 |
| ψ | 4 | -72 | -71 | -74 | -69 | -67 |
| χ_1 | 4 | 175 | 171 | 60 | -174 | -179 |
| χ_2 | 4 | 78 | 88 | - | 179 | -86 |
| χ_3 | 4 | -70 | -63 | -67 | -179 | -59 |
| χ_4 | 5 | -45 | -42 | -40 | -178 | - |
| χ_5 | 5 | 96 | 89 | 91 | 63 | - |
| ϕ | 5 | 77 | 75 | 85 | -71 | -62 |
| ψ | - | - | - | - | -43 | -48 |
| ϕ | - | - | - | - | 93 | 100 |
| ψ | - | - | - | - | 77 | 95 |

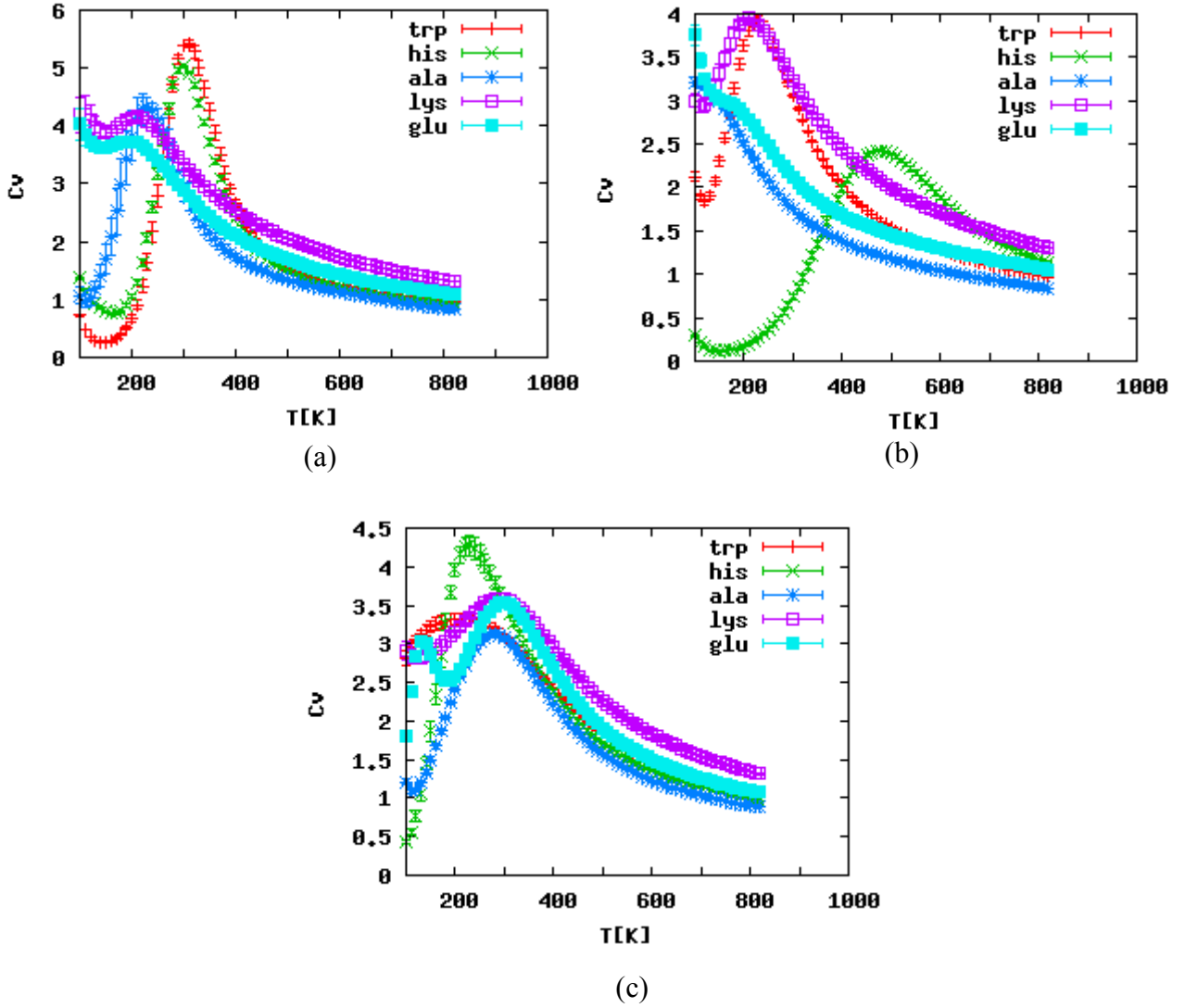
4.6 Elastin Türü Peptitlere Solüsyon Etkisi

Enerjinin sıcaklığa bağlı değişimi Şekil 4.12’ de verilmiştir. Peptitlerin OONS, WE92 ve SCH2 modellerinde enerji aralıkları (-35)-(-7), (-41)-(-16) ve (-14)-(9) olarak değişmektedir. Bu bize peptitlerin enerjilerinin kullanılan solüsyon modeline göre değiştiğini, yani moleküler enerjinin solüsyon bağımlılığı olduğunu göstermektedir. Bu farklılığın nedeni, enerji formülündeki solüsyon teriminin çözünme katsayısına bağımlılığıdır. Bir peptitin bir çözücü ile etkileşen yüzey alanı değişirse de, çözünme katsayısı değişmekte ve hesaplanan solüsyon enerjisi farklılık göstermektedir. Bu da farklı solüsyonlarda toplam enerjiyi değiştirmektedir. Oda sıcaklığında (300 K) OONS modelinde en düşük enerjili peptitler, Trp ve His olup enerjileri ≈ 26.1 kcal/mol iken WE92 modelinde -35.6 kcal/mol enerji ile His ve SCH2 modelinde ise -6.6 kcal/mol enerji ile Trp dizilimidir. Tüm modellerde peptitlerin enerjisi sıcaklıkla değişmektedir.



Şekil 4.12.a OONS, b. WE92 ve c. SCH2 modellerinde enerji değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Şekil 4.13' de özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi OONS, WE92 ve SCH2 modellerinde görülmektedir. Çözücü modelinin değişmesi, moleküler bazda yapısal geçiş sıcaklıklarını değiştirmektedir.



Şekil 4.13.a OONS, b.WE92 ve c. SCH2 modellerinde özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Grafiklere ait yapısal geçiş sıcaklıkları ve özısı değerleri Çizelge 4.5' de belirtilmiştir. Enerji kısmında bahsettiğimiz peptit enerjilerinin solüsyonlar modellerindeki farklılıkları 4.1 bağıntısı ile hesaplanan özısı değerlerini değiştirmekte ve bu değişiklik yapısal geçiş sıcaklıklarında farklılık oluşturmaktadır. Sonuç olarak, kullanılan su modeli yapısal geçiş sıcaklıklarını önemli oranda değiştirmektedir.

Çizelge 4.5 OONS, WE92 ve SCH2 modellerinde yapısal geçiş sıcaklığı ve özısı değerleri

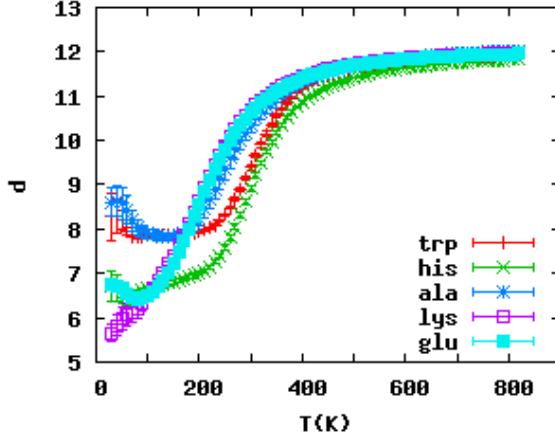
| | Yapısal geçiş sıcaklığı (K) | | | | | Özısı | | | | |
|------|-----------------------------|-----|-----|-----|-----|-------|------|------|------|------|
| | Trp | His | Ala | Lys | Glu | Trp | His | Ala | Lys | Glu |
| OONS | 310 | 300 | 230 | 200 | 190 | 3.42 | 5.02 | 4.33 | 4.15 | 3.72 |
| WE92 | 230 | 480 | 100 | 210 | 80 | 3.91 | 2.42 | 3.21 | 3.94 | 4.30 |
| SCH2 | 210 | 230 | 280 | 290 | 300 | 3.32 | 4.27 | 3.12 | 3.58 | 3.53 |

Çizelge 4.5’ deki farklı modellerdeki yapısal geçiş sıcaklıklarındaki farklılık, bazı modellerin peptit dizilimine uygun olmamasından kaynaklanmaktadır. Bölüm 3.3’ de anlatıldığı üzere hangi molekül için hangi solüsyon modelinin uygun olduğu başlangıçta bilinmemektedir (Yaşar and Demir 2007, Berg and Hsu 2004). Bölüm 4.5’ teki deneysel hidrofobisite skalasını sağlaması açısından, SCH2 solüsyon modeli incelediğimiz moleküller için en uygun olanıdır.

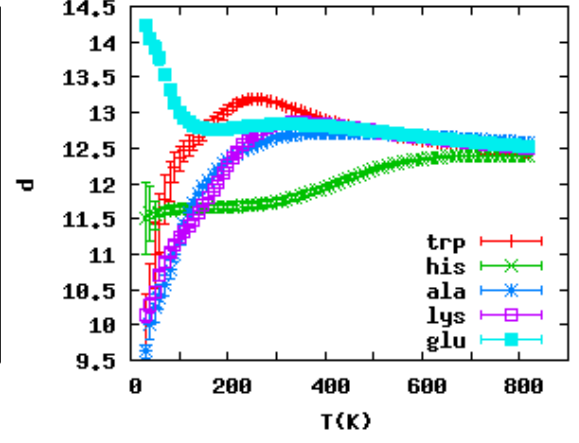
Şekil 4.14’ te farklı su modellerinde peptitlerin d uzaklıkları sıcaklığın bir fonksiyonu olarak çizilmiştir. d uzaklığının sıcaklıkla birlikte artış gösterdiği gözlenmiştir. Buna göre, düşük sıcaklıklarda SCH2 modelinde peptitler daha kompakt bir yapıya sahipken, OONS ve WE92 ortamlarında d uzaklığı artmakta ve kompakt yapıdan genişlemiş yapıya geçiş gözlenmektedir. WE92 ortamında, Glu aminoasitli peptit diğer peptitlerden farklı olarak düşük sıcaklıkta daha az kompakt yapıya sahiptir. Yüksek sıcaklıklarda ise tüm modellerde peptitler, yaklaşık $d \approx 11-12 \text{ \AA}$ ile benzer karakteristiğe sahiptir. Diğer parametrelerde olduğu gibi, d uzaklığının solüsyon modeline göre değiştiği gözlenmiştir.

Oda sıcaklığında (300 K) OONS ve WE92 modellerinde His dizilimi en kompakt yapıya sahip olup, SCH2’ de ise Glu dizilimidir. Başlangıç-bitiş noktası uzaklıklarını daha iyi anlamak için düşük sıcaklıklarda bu peptitlerin 3-boyutlu grafikleri çizdirilmiştir ve çizimleri yer almayan peptitler için de tipik bir örnek

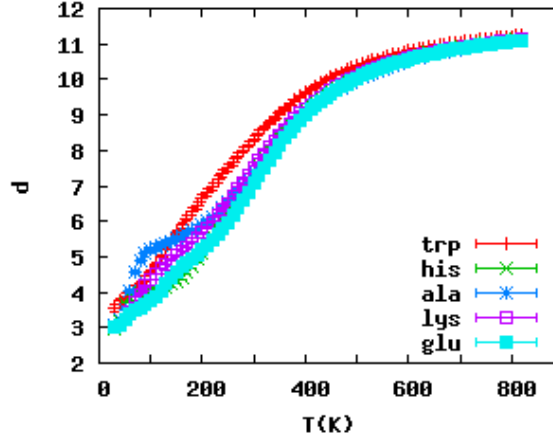
oluşturmaktadırlar. WE92 modelinde Glu diziliminde $d \approx 14 \text{ \AA}$ iken Ala diziliminde $d \approx 9 \text{ \AA}$ olarak hesaplanmıştır. Şekil 4.15' deki 3-boyutlu grafikte, Glu genişlemiş bir konformasyona sahipken Ala daha kompakt bir yapıda olduğu gözlenmektedir.



(a)

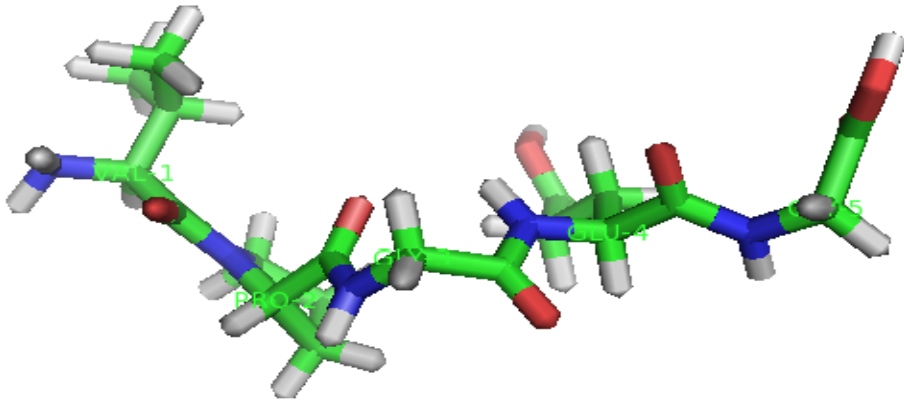


(b)

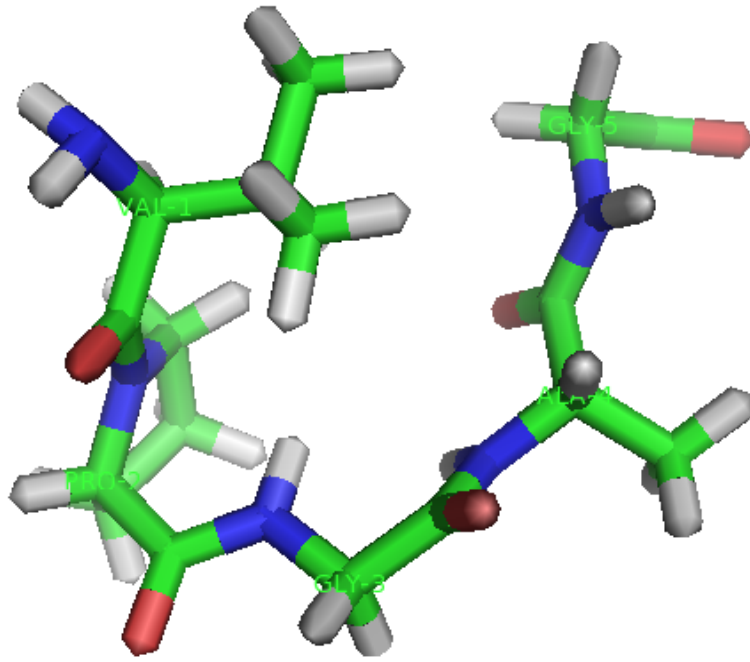


(c)

Şekil 4.14.a. OONS, b. WE92 ve c. SCH2 modellerinde d uzaklıklarının sıcaklığa bağlı olarak değişimi



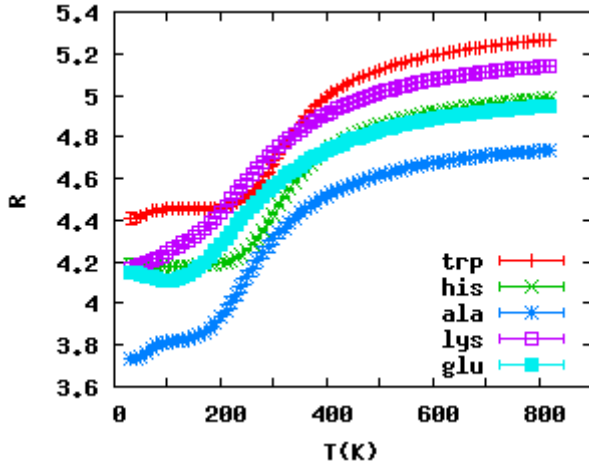
(a)



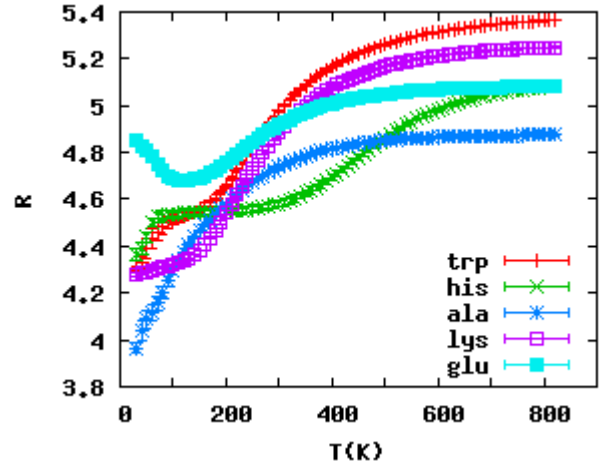
(b)

Şekil 4.15.a. WE92 modelinde Glu, b. Ala diziliminin düşük sıcaklıklarda konformasyonlarının 3-boyutlu grafiği

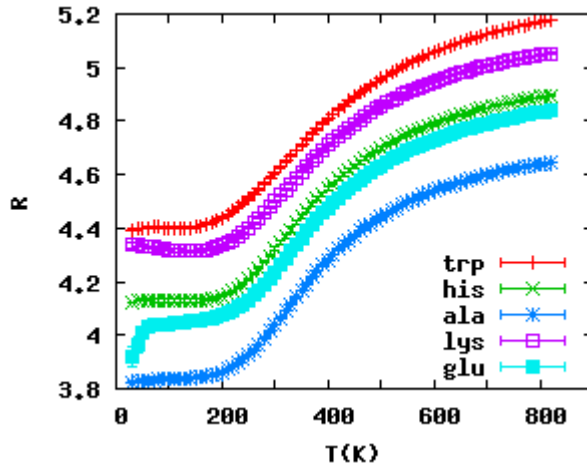
Düşük sıcaklıklarda R yarıçapı azalmakta, yüksek sıcaklıklarda ise artmaktadır. Başlangıç-bitiş uzaklığından farklı olarak dönme yarıçapı değerlerinin OONS, WE92 ve SCH2 ortamlarında tüm peptitler için çok benzer değerler alması, kompakt yapı karşılaştırmasında belirleyici bir parametre olmadığını göstermektedir.



(a)



(b)



(c)

Şekil 4.16.a. OONS, b. WE92 ve c. SCH2 modellerinde dönme yarıçapı (R) değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi

4.7 Rezidü Sayısının Yapısal Geçiş Etkisi

Çalışmamızın bu kısmında, $(VPGVG)_n$ diziliminde n indisi 1, 2, 3 alınarak oluşturulan $N=5, 10, 15$ rezidülü VPGVG, $(VPGVG)_2$ ve $(VPGVG)_3$ polipeptitleri solüsyonda (SCH2) incelenmiş, bu şekilde rezidü sayısındaki artışın yapısal geçiş etkisi çalışılmıştır. Bundan sonraki anlatımlarda VPGVG, $(VPGVG)_2$, $(VPGVG)_3$ adlandırmalarının yanı sıra, sırasıyla $N= 5, 10, 15$ rezidü sayıları değişmeli olarak kullanılacaktır.

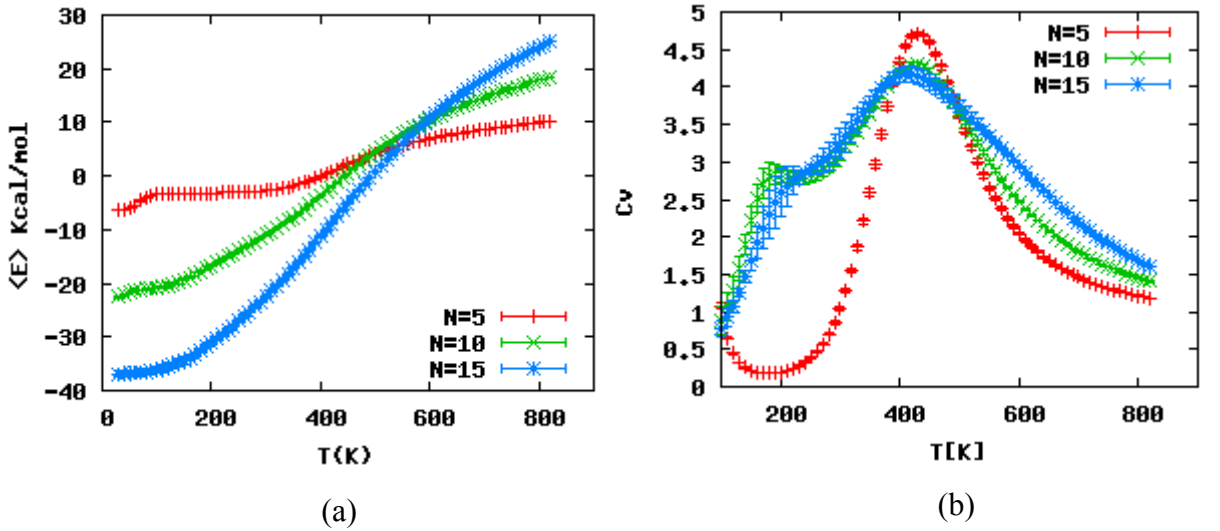
Şekil 4.17.a' da enerjinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi görülmektedir. Rezidü sayısının artması ile düşük sıcaklıklarda enerji değerleri azalmakta fakat yüksek sıcaklıklarda artmaktadır. Başka bir deyişle, rezidü sayısının artması ile moleküllerin doğal konformasyonlarının enerjileri azalmaktadır. VPGVG, $(VPGVG)_2$, $(VPGVG)_3$ molekülleri için hesaplanan minimum enerji değerleri sırasıyla -6, -23 ve -37' dir.

Şekil 4.17.b' de $N=5, 10$ ve 15 rezidülü moleküllerin özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi görülmektedir. $N=5, 10, 15$ için yapısal geçiş sıcaklıkları 435 K, 425 K ve 410 K olarak hesaplanmıştır. Rezidü sayısının artması ile yapısal geçiş sıcaklıkları azalmaktadır. Elde edilen rezidü sayısı ile yapısal geçiş sıcaklığının ters orantılı bağıntısı, deneysel çalışmalarla uyumludur (Glodberg 1988). Söz konusu deneysel çalışmada belirtildiğine göre, n sayısının artırılması moleküler ağırlığını artırmakta ve buna bağlı olarak yapısal geçiş sıcaklığı azalmaktadır. Ancak rezidü sayısının farklılaşması, özısı değerlerinde önemli bir değişiklik oluşturmamaktadır.

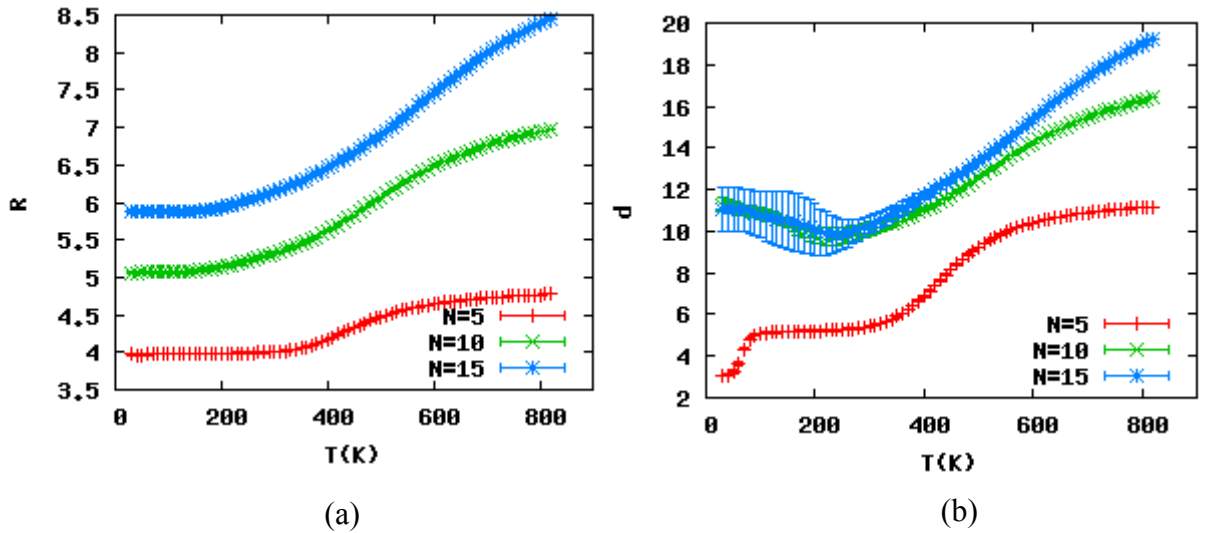
Şekil 4.18.a' da görüldüğü gibi R yarıçapı sıcaklıkla orantılı olarak değişmektedir. Düşük sıcaklıklarda R yarıçapı azalmakta, yüksek sıcaklıklarda ise artmaktadır. Rezidü sayısını artması ile moleküllerin dönme yarıçapı artmaktadır. Buna göre dönme yarıçapı en yüksek dizilim $N=15$ ' tir.

Farklı uzunlukta rezidülere sahip VPGVG, $(VPGVG)_2$ ve $(VPGVG)_3$ moleküllerinin d uzaklıkları sıcaklığın bir fonksiyonu olarak Şekil 4.18.b' de görülmektedir. d uzaklığının sıcaklıkla orantılı olarak değiştiği gözlenmiştir. Buna göre, düşük sıcaklıklarda farklı

uzunluklardaki moleküller daha kompakt bir yapıya sahipken, yüksek sıcaklıklarda d uzaklığı artmakta ve kompakt yapıdan genişleşmiş yapıya geçiş gözlenmektedir. $N=5$ rezidülü molekül 90-320 K arasında $d \approx 5.2-5.8$ arasında sabit kalırken, yapısal geçiş sıcaklığı civarında d uzaklığında ani bir artış gözlenmektedir. $N=10$ ve 15 rezidülü moleküller benzer karakteristik sergilemektedir. 240 K sıcaklığa kadar kompakt yapı artarken, sıcaklığın yükselmesiyle kompakt yapıdan genişleşmiş yapıya geçiş gözlenmektedir.

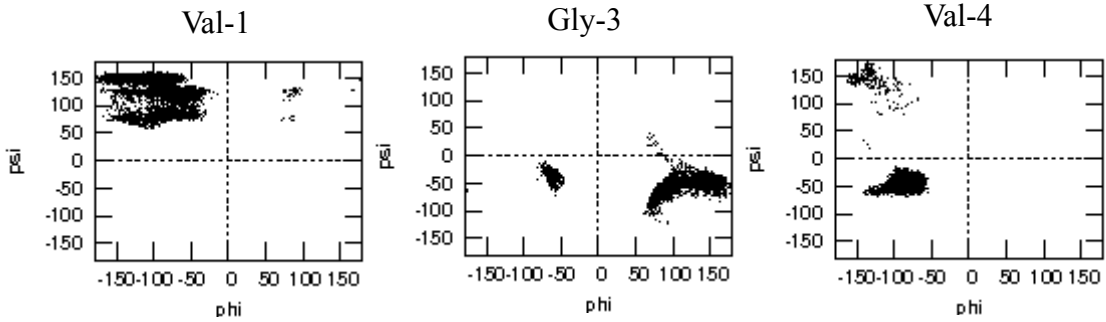


Şekil 4.17 $N= 5, 10$ ve 15 uzunluklarındaki rezidüler için SCH2 modelinde a. Enerji, b. özısının sıcaklığa bağlı olarak değişimi



Şekil 4.18 $N= 5, 10$ ve 15 uzunluklarındaki rezidüler için SCH2 modelinde a. R yarıçapının, b. d uzaklığının sıcaklığa bağlı olarak değişimi

Farklı sayıda rezidüye sahip moleküllerin, ϕ ve ψ açılarının dağılımı, 300 ± 10 K oda sıcaklığı aralığında Ramachandran grafikleri çizilerek analiz edilmiştir. Şekil 4.19’ da $N=5$ rezidülü VPGVG peptiti için Val1, Gly3 ve Val4 için Ramachandran grafiği gösterilmiştir. VPGVG’ nin oda sıcaklığında yapılan deney sonuçları ile simülasyon sonucu elde edilen grafiklerin yapısını karşılaştırabilmek için Ramachandran grafikleri çizimi için oda sıcaklığı seçilmiştir.

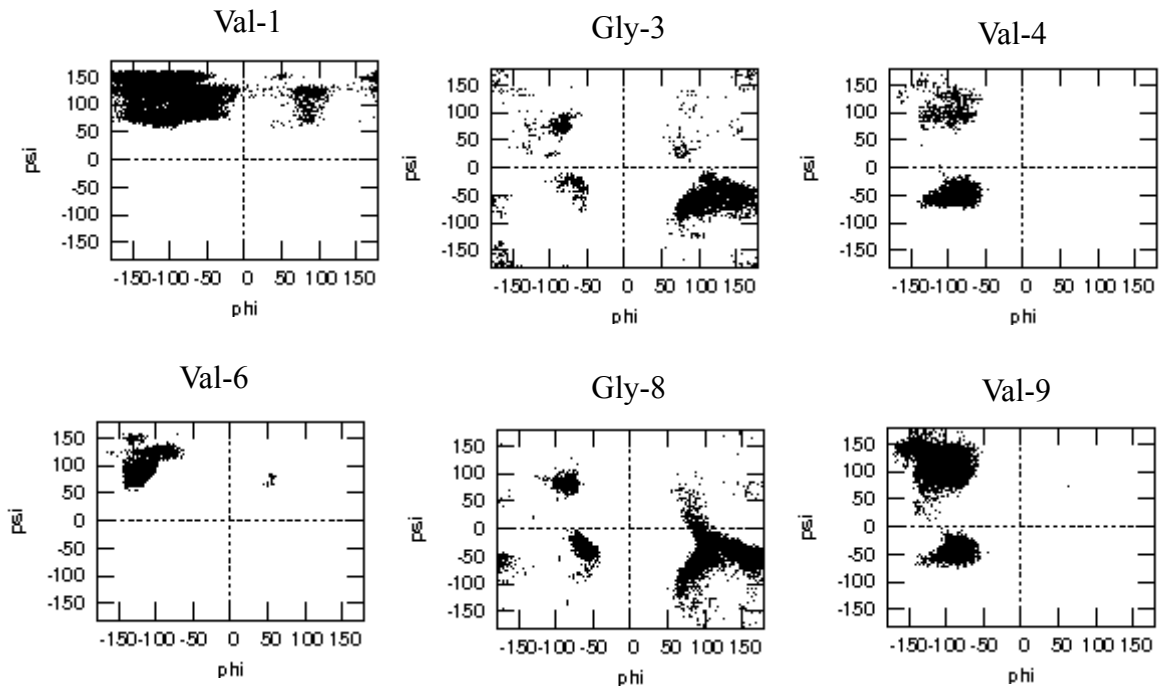


Şekil 4.19 VPGVG peptitinin $T=300\pm 10$ K sıcaklıkta Ramachandran grafikleri

Ramachandran grafikleri analiz edildiğinde, yapıların Val1-Pro2 ve Gly3-Val4-Gly5 bağlantılarında ağırlıklı olarak β_{II} -dönüm şekillenimleri görüldü (Bakınız Bölüm 4.2 β_{II} -dönüm şekillenimi). Buna göre karakteristik β_{II} -dönümü $(\phi, \psi)=(-60, 120)$ dihedral açı değerlerinde gerçekleşmektedir. Fakat Pro2-Gly3 bağlantısında β_{II} -dönüm gözlenmemiştir. Ayrıca Ramachandran grafiği VPGVG peptitinin α -sarmalı yapma eğiliminde olmadığını göstermektedir. Bölüm 4.5’ de belirtildiği gibi önceden yapılan deneysel (Li *et al.* 2001) ve simülasyon sonuçları (Arkın 2004, Villani and Tamburro 1998) elastinin ikincil yapısında β -dönüm oluştuğunu öngörmektedir ve elde edilen sonuçlar bu bulguyu doğrulamaktadır. Bununla beraber, CD (circular dichroism) ve NMR deneysel çalışmaları da β_{II} -dönüm oluşumunun baskın ikincil yapı özelliği olduğunu göstermektedir (Tamburro *et al.* 1990, Urry 1997). Diğer taraftan, protein yapısı ile ilgili literatür çalışmaları ikinci sıradaki prolin aminoasitinin yüksek olasılıklı β_{II} -dönüm yaptığını söylemektedir. Üçüncü sıradaki glisin ise elastinle yapılan literatür çalışmalarıyla uyumludur (Creighton 1993).

(VPGVG)₂ polipeptitinin ikincil yapısını belirlemek için çizdirilen Ramachandran grafiği Şekil 4.20' de gösterilmiştir. VPGVG diziliminin rezidü sayısının artırılmasıyla oluşturulan (VPGVG)₂ polipeptitinin ikincil yapısında, VPGVG peptidine göre daha baskın β II-dönümü gözlenmektedir. β II-dönümü oluşumu, tüm rezidü bağlantılarında meydana gelmektedir.

(VPGVG)₃ polipeptitindeki aminoasitlerin Ramachandran grafikleri çizdirilmiş ve (VPGVG)₂ polipeptiti ile benzer olduğu görülmüştür. (VPGVG)₃ polipeptitinin ikincil yapısında β -dönümü baskın şekillenme olduğu gözlenmiştir. Grafiklerin çok fazla yer kaplaması ve (VPGVG)₂ ile benzerliği nedeniyle bu çizimler gösterilmemiştir.



Şekil 4.20 SCH2 ortamında (VPGVG)₂ polipeptitinin T=300±10 K sıcaklıkta Ramachandran grafikleri

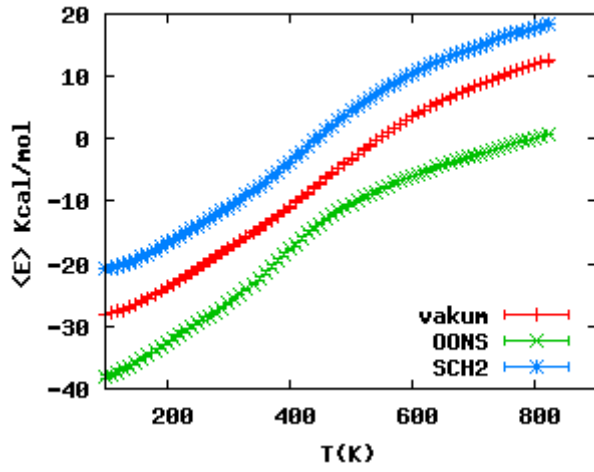
Bu kısımda (VPGVG)₂ polipeptitinin vakum, OONS ve SCH2 solüsyonlarında yapısal geçiş farklılıkları incelenmiştir.

Şekil 4.21.a' da enerjinin sıcaklığa bağlı değişimi gösterilmiştir. Ortalama enerjiler SCH2 solüsyonunda daha yüksek değerler alırken, OONS solüsyonunda daha düşük değerler almaktadır. Vakum, OONS ve SCH2 ortamlarında (VPGVG)₂ polipeptiti için minimum enerji değerleri sırasıyla -30, -40 ve -22 kcal/mol olarak hesaplanmıştır ve polipeptitin bu modellerdeki enerji aralıkları (-35)-(12), (-40)-(0) ve (-22)-(18) olarak değişmektedir. Enerji değerlerindeki bu farklılık daha önce Bölüm 4.6' da bahsettiğimiz enerjinin solüsyon bağımlılığı ile ilgilidir.

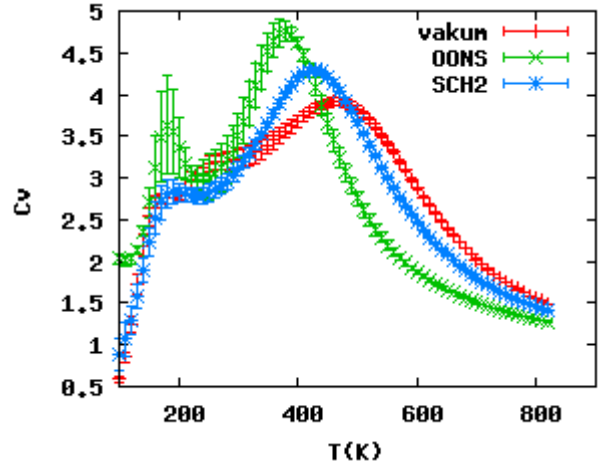
Şekil 4.21.b' de (VPGVG)₂ polipeptitinin özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimi gösterilmiştir. Vakum, OONS ve SCH2 ortamlarında yapısal geçiş sıcaklıkları 470 K, 380 K ve 425 K olarak hesaplanmıştır. Rezidü sayısının artması ile yapısal geçiş sıcaklıkları azalmaktadır. Ancak rezidü sayısının farklılaşması, özısı değerlerinde önemli bir değişiklik oluşturmamaktadır. Benzer şekilde, çözücü modelinin değişmesi yapısal geçiş sıcaklıklarını değiştirmektedir.

Şekil 4.22.a' da görüldüğü gibi *R* yarıçapı sıcaklıkla orantılı olarak değişmektedir. Düşük sıcaklıklarda *R* yarıçapı azalmakta, yüksek sıcaklıklarda ise artmaktadır. Başlangıç-bitiş uzaklığından farklı olarak dönme yarıçapı değerlerinin vakum, OONS ve SCH2 ortamlarında benzer değerler alması, burada *R* yarıçapının kompakt yapı karşılaştırmasında belirleyici bir parametre olmadığını göstermektedir.

Şekil 4.22.b' de farklı ortamlarda (VPGVG)₂ polipeptitinin *d* uzaklıkları sıcaklığın bir fonksiyonu olarak çizilmiştir. *d* uzaklığının sıcaklıkla orantılı olarak değiştiği gözlenmiştir. Buna göre, düşük sıcaklıklarda (VPGVG)₂ polipeptiti tüm ortamlarda daha kompakt yapıda iken, yüksek sıcaklıklarda genişlemiş yapıya sahiptir. Düşük sıcaklıklarda, tüm ortamlarda $d \approx 11-12 \text{ \AA}$ iken yüksek sıcaklıklarda SCH2 ve vakum ortamında polipeptit $d \approx 16 \text{ \AA}$ olarak hesaplanan başlangıç –bitiş uzaklığı ile benzer karakteristik sergilemekte, fakat OONS ortamında $d \approx 19.5 \text{ \AA}$ olarak hesaplanmıştır.

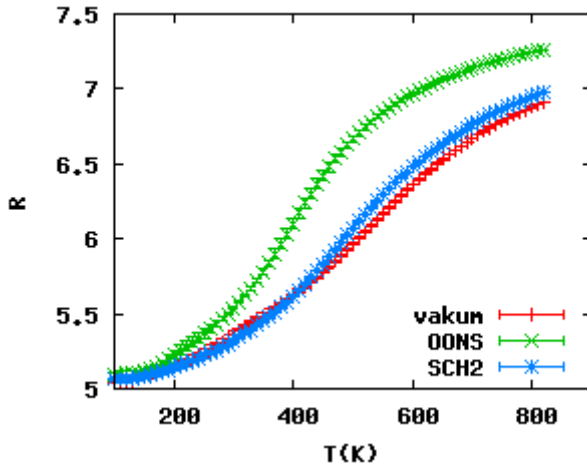


(a)

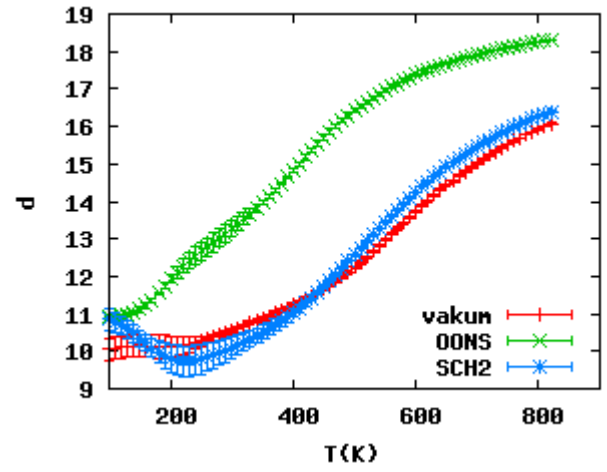


(b)

Şekil 4.21 (VPGVG)₂ polipeptinin farklı ortamlardaki a. Enerji, b. özısı değerlerinin sıcaklığa bağlı olarak değişimi



(a)



(b)

Şekil 4.22 (VPGVG)₂ polipeptinin farklı ortamlardaki a. R , b. d uzaklıklarının sıcaklığa bağlı olarak değişimi

5. SONUÇ

Moleküler yapıların anlaşılması için yapılan bilgisayar simülasyonları, moleküler modelleme olarak bilinmektedir. Moleküler modelleme, teorik ve deneysel çalışmalar arasında köprü görevi görerek bilimsel problemleri çözmeye büyük bir katkı sağlamaktadır. Modelleme sonuçları ile gerçek deney sonuçlarının karşılaştırılması sonucunda, uygulanan moleküler modelleme metodunun uygun bulunması, deneylere yeni öneriler getirilebilir ve model başka problemlerin çözümünde de kullanılarak yeni çözümler üretilebilir. Moleküler modelleme ile sistemin mikroskopik detaylarından başlanarak makroskopik özelliklerine ulaşılabilir. Bunların yanı sıra, çok yüksek sıcaklık veya basınç gibi ortamların deneylerle zor sağlanırlması, bilgisayar simülasyonlarının gerekliliğini bir kez daha ortaya koymakta ve deneyler bilgisayar ortamında kolaylıkla gerçekleştirilebilmektedir. Sonuç olarak, moleküler modelleme, moleküllerin fiziksel, biyolojik, biyokimyasal ve biyomekanik yapısının anlaşılmasını sağlayarak, doku ve protein mühendisliğinde akıllı moleküller ve sentetik peptit yapılabilmesi gibi önemli gelişmelere kapı açacağı düşünülmektedir. Tezdeki çalışmaların, bu konuya katkılar getireceği umulmaktadır.

Elastin kökenli polipeptitler olarak bilinen $(VPGXG)_n$ polipeptitleri farklı biyolojik, biyomekanik, biyokimya ve biyofizik özellikleri ile doku mühendisliğinde başta doku, mikrotüp ve nanotüp olmak üzere birçok alanda biyomateryal üretimine uygun yapıları ile dikkat çekmektedir. Bu tür peptitlerin yapısının anlaşılması oldukça önemli olduğundan bu yüksek lisans tez çalışmasında elastin türü polipeptitler seçilmiştir.

Çalışmalarda, genelleştirilmiş küme algoritmaları ailesinin en güçlü algoritmalarından olan multikanonik algoritma kullanılmıştır. Bu metodun en önemli özelliği, sıcaklık bağımlı Boltzmann ağırlık faktöründen farklı bir ağırlık faktörü kullanarak potansiyel enerji uzayında gelişigüzel yürüyüş (random walk) imkanı sağlamasıdır. Gelişigüzel yürüyüş, simülasyonların herhangi bir enerji bariyerine takılmasını engellemekte, bu sayede diğer geleneksel metotlara göre daha geniş bir konfigürasyon uzayı örnekleyebilmektedir. Tek bir simülasyonla global minimum enerjili konfigürasyonun yanı sıra tekrar ağırlıklandırma teknikleri kullanılarak fiziksel büyüklüklerin kanonik

küme beklenen değerleri sıcaklığın bir fonksiyonu olarak hesaplanabilmektedir.

Simülasyonlarımız, multikanonik algoritma kullanarak Fortran programlama dilinde yazılmış açık-kodlu, ücretsiz edinilebilen *SMMP* programı ile gerçekleştirilmiştir. Bu program, önceden simülasyonu çalışılmış birçok molekülün simülasyonu ile test edilmiş ve proteinlerin araştırılmasında güvenilir ve etkili bir program olduğu ispatlanmıştır. Programda, konformasyonlar standart geometri modeli kullanılarak tanımlanmaktadır. Bu modelde, moleküller iç koordinat setleri ile tanımlanmaktadır. Programda enerji hesaplamaları, günümüz çalışmalarında yaygın olarak kullanılan *ECEPP* potansiyeli ile yapılmaktadır.

Proteinlerin doğal ortamları sudur ve gerçekçi bir simülasyon yapmak için simülasyonların protein-su etkileşmesini içermesi gerekmektedir. Simülasyonlara gerçek su atomlarının eklenmesi, sistemin serbestlik derecesini muazzam bir şekilde artırmakta ve simülasyonların *CPU* süreleri pratikte kullanılamayacak kadar uzamaktadır. Bu sorunu çözmek için, su atomlarını simülasyonlara direk olarak koymak yerine protein-su etkileşmesini simüle eden matematiksel yaklaşımlar kullanılmaktadır. Bu yaklaşımda, atomların solüsyon ile etkileşme enerjileri, atomların yüzey alanı ile deneysel olarak hesaplanmakta ve atomik çözünme katsayılarının çarpımı ile bulunmaktadır. Bu şekilde elde edilen solüsyon enerjisi, *ECEPP* potansiyelindeki diğer enerji terimlerine eklenmektedir. Ancak sorun bu noktada tam olarak çözülmemektedir. Hangi molekül için hangi solüsyon modelinin uygun olduğu konusunda literatür çalışmaları fikir birliği içinde değildir.

Proteinler organizmada sulu çözeltiler içerisinde aktivitelerine devam etmektedir. Dolayısıyla gerçekçi bir simülasyon yapmak için, simülasyonlar protein-su etkileşimini içermelidir. Su oldukça polar bir sıvı olduğu için protein-su etkileşmelerinde elektrostatik kuvvetin güçlü bir etkisi vardır. Bu etkileşimin doğru bir şekilde hesaplanması hala zor bir problem olarak çözülmeyi beklemektedir. En hassas bir yaklaşımda birkaç yüz su molekülü sisteme harici olarak eklenmelidir. Harici su modellerinin bu dezavantajından dolayı *SMMP'* de iki farklı yaklaşım kullanılmıştır.

Çalışmanın ilk kısmında, $n=1$ alınıp X aminoasiti değiştirilerek aminoasitlerin hidrofobisite skalası oluşturulmuş, ardından farklı solüsyonlarda termodinamik büyüklükler hesaplanmıştır. Son olarak, $n=1, 2, 3$ seçilerek küçük moleküllerden büyüklere geçişte yapısal özelliklerdeki farklılıklar belirlenmiştir.

İlk olarak, $n=1$ alınarak X aminoasiti yerine hidrofobisitesi ve polaritesi farklı *Trp*, *His*, *Ala*, *Lys* ve *Glu* aminoasitleri değiştirilerek hidrofobisite skalası oluşturulmuştur. Vakum ve solüsyon ortamında (*SCH2*) elde edilen hidrofobisite skalası, deneysel sonuçlarla uyumludur. İlgili kısımda, referanslarla birlikte hidrofobisite skalası gösterilmiştir. Protein katlanması mekanizmasının ikinci basamağında yer alan ikincil katlanma şekilleniminin belirlenmesi amacıyla, Ramachandran grafikleri çizdirilmiştir. X aminoasitinin değiştirilmesiyle elde edilen farklı elastin kökenli polipeptitlerin ikincil yapılarında, yoğunlukla β -dönümleri yaptığı gözlemlenmiştir, bu dönümlerin var olduğu deneysel literatür çalışmalarıyla da belirlenmiştir. Bu açıdan, simülasyon sonuçları deneysel sonuçlarla uyumludur.

Çalışmanın ikinci kısmında, $n=1$ alınıp yine $X=Trp, His, Ala, Lys, Glu$ seçilerek elde edilen peptitler, vakumda ve farklı solüsyon ortamlarında (*OONS*, *WE92*, *SCH2*) incelenmiştir. SMMP programında, 9 adet solüsyon bulunmaktadır. Bu solüsyonlar literatür çalışmalarında, bazı model moleküllerle test edilmiş ve CPU süresi açısından en hızlı ve en az ölçüm hatası verenlerin *OONS*, *WE92* ve *SCH2* olduğu belirtilmiştir. Çalışmalarda, bu solüsyon modellerinin tercih edilmesinin nedeni de budur. Hesaplanan termodinamik büyüklüklerin simülasyon ortamına göre farklılık gösterdiği gözlenmiştir.

Son kısımda, $n=1$ ' de $n=2, 3$ ' e geçilerek büyük peptitlerin yapısal özellikleri incelenmiştir. Elastin kökenli moleküllerde sıklıkla tekrar eden dizilim *VPGVG* dizilimi olduğundan, bu kısımda moleküler dizilimde, dördüncü aminoasit olarak *Val* seçilmiştir. *SCH2* solüsyonunun çalışılan moleküllere uygun olması nedeniyle bu kısımda solüsyon olarak kullanılmıştır. Bu şekilde büyük peptitlerle çalışılması, simülasyonların CPU süresinin önemli oranda uzadığı gözlenmiştir. Büyük moleküllerde termodinamik büyüklükler değişmektedir. Moleküllerin karakterizasyonunda ve potansiyel uygulamalarında önemli yer tutan, termodinamik parametrelerden biri olan yapısal geçiş

sıcaklık değeri, büyük moleküllerde azaldığı gözlenmiştir ve bu durumun deneysel sonuçlar ile uyumlu olduğu görülmüştür. Ayrıca molekül yapısının büyümesi ile ikincil yapıda β -dönümleri oluşma yoğunluğunun arttığı gözlenmiştir ve literatürdeki deney sonuçlarının da bunu doğruladığı anlaşılmıştır.

Simülasyon sonuçları, literatürde yer alan çalışmalarla uyum içindedir. Gerçekleştirilen çalışmaların ve simülasyon sonuçlarının, literatürdeki çalışmaları destekleme ve bundan sonraki çalışmalara referans oluşturma gibi katkılarının yanı sıra, elastin kökenli peptitlerin yapısal özelliklerinin anlaşılmasında da bir aşama sağlayacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- Aaron, B. B. and Gosline, J. M. 1980. Optical properties of single elastin fibres indicate random protein conformation. *Nature*, 287(5785), 865-867
- Allen, M.P. and Tildesley, D.J. 1997. *Computer Simulation of Liquids*. Clarendon Press, Oxford
- Arkın, H. and Çelik, T. 2002. Comparison of the ELP and multicanonical methods in simulation of the heptapeptide. *Eur. Phys. J. B.* 30, 577–580
- Arkın, H. 2004. Searching low-energy conformations of two elastin sequences. *Eur. Phys. J. B.* 37, 223–228
- Arkın, H. 2005. Study of elastin sequences with solvent induced force field. *Int. J. Modern Phys. C.* 16 (9), 1339-1346
- Arkın, H. 2008. Determination of the structure of the energy landscape for coarse-grained off-lattice models of folding heteropolymers. *Phys. Rev. E.* 041914-1-5
- Arkın, H. and Bilsel, M. 2009. How conformational transitions depend on hydrophobicity of elastin-like polypeptides. *Eur. Phys. J. E* (to be published)
- Bellingham, C.M., Lillie, M.A., Gosline, J.M., Wright, G.M., Starcher, B.C. and Bailey, A.J. 2003. Recombinant human elastin polypeptides self-assemble into biomaterials with elastin-like properties. *Biopolymers.* 70, 445-455
- Berg, B.A. and Neuhaus, T. 1991. Multicanonical algorithms for first order phase transitions. *Phys. Lett. B* 267, 249-253
- Berg, B.A. 1992. The multicanonical ensemble: A new approach to computer simulations. *Int. J. Mod. Phys. C.* 2, 1083
- Berg, B. A., Hansmann, U.H. and Celik, T. 1994. Groundstate Properties of the 3d Ising Spin Glass. *Phys. Rev. B.* 50, 16444–16452
- Berg B. A. and Hsu H. 2003. Metropolis simulations of Met-Enkephalin with solventaccessible area parametrizations. *Phys. Rev. E.* 69, 026703
- Berg, A.B. and Hsu, H.P. 2004. Metropolis simulations of Met-Enkephalin with solvent-accessible area parametrizations. *Phys. Rev. E.* 69, (026703-1)-(026703-9)
- Boland, E.D., Matthews, J.A., Pawlowski, K.J., Simpson, D.G., Wnek, G.E. and Bowlin, G.L. 2004. Electrospinning collagen and elastin: preliminary vascular tissue engineering. *Front Biosci.* 9,1422-1432
- Brooks, B.R., Brucolieri, R.E., Olafson, B.D., States, D.J., Swaminathan, S. and Karplus, M. 1983. CHARMM: A program for macromolecular energy, minimization, and dynamics calculations. *J. Comput. Chem.* 4, 187
- Cook, W.J., Einspahr, H., Trapane, T.L., Urry, D.W., Bugg, C.E. 1980. Crystal structure and conformation of the cyclic trimer of a repeat pentapeptide of elastin, cyclo-(L-valyl-L-prolylglycyl-L-valylglycyl)₃. *J. Am. Chem. Soc.* 102, 5502-5505
- Creighton, T. E. 1993. *Proteins: Structures and Molecular Properties*. Freeman & Worth Publishing Group
- Eisenberg, D. and McLachlan, A.D. 1986. Solvation energy in protein folding and stability. *Nature* 319, 199–203

- Eisenmenger, F., Hansmann, U.H.E., Hayryan, Sh. and Hu, C.K. 2001. [SMMP] A modern package for simulation of proteins. *Comp. Phys. Comm.* 138, 192-212
- Ferrenberg, A.M. and Swendsen, R.H. 1988. New Monte Carlo technique for studying phase transitions. *Phys. Rev. Lett.* 61, 2635-2638
- Flannery, B.P., Teukolsky, S.A. and Vetterling, W.T. 1989. *Numerical Recipes: The Art of Scientific Computing*. Cambridge, UK: Cambridge Univ Press.
- Freyberg, B. 1993. Surface Area Included in Energy Refinement of Proteins: A Comparative Study on Atomic Solvation Parameters *J. Mol. Biol.* 233, 275-292
- Glodberg, S. 1988. *Ophthalmology Made Rediculously Simple*, MedMaster Inc., Miami Fl
- Gunsteren van, W.F. and Berendsen, H.J.C. 1987. *Groningeingen Molecular Simulation*, Groningen, The Netherlands
- Hansmann, U.H.E. and Okamoto, Y., J. 1993. Prediction of peptide conformation by multicanonical algorithm: New approach to the multiple-minima problem. *Comput. Chem.* 14, 1333-1338
- Hansmann, U.H.E. and Okamoto, Y. 1994. Tertiary structure prediction of C-peptide of ribonuclease A by multicanonical algorithm. *Physica A* 212, 415-437
- Hansmann, U.H.E., Okamoto, Y. and Eisenmenger, F. 1996. Molecular dynamics, Langevin and hydrid Monte Carlo simulations in a multicanonical ensemble. *Chem. Phys. Lett.* 259, 321-330
- Hansmann, U.H.E. and Okamoto, Y. 1996. Monte Carlo simulations in generalized ensemble: Multicanonical algorithm versus simulated tempering. *Phys. Rev. E.* 54, 5863-5865
- Hansmann, U.H.E. 1997. Effective way for determination of multicanonical weights *Phys. Rev. E* 56 (5), 6200-6203
- Hansmann, U.H.E. and Okamoto, Y. 1997. Numerical comparisons of three recently proposed algorithms in the protein folding problem. *J. Comp. Chem.* 18, 920-933
- Hansmann, U.H.E. and Okamoto, Y. in: Stauffer D. (Ed.). 1999. *Annual Reviews in Computational Physics VI*, World Scientific, Singapore, p. 129-157.
- Hayryan, Sh., Hu, C.K., Hu, S.Y. and Shang, R.J. 2001. Multicanonical Parallel Simulations of Proteins with Continuous Potentials. *J. Comput. Chem.* 22, 1287-1296
- Hermann, L. Ein versuch ueber der sogenante Sehnenverkuerzung. *Archiv fuer der gesamte Physiologie.* 7, 417-420
- Herrero-Vanrell, R., Rincon, A.C., Alonso, M., Reboto, V., Molina-Martinez, I.T. and Rodriguez-Cabello, J.C. 2005. Self-assembled particles of an elastin-like polymer as vehicles for controlled drug release. *J. Control Release.* 102, 113-122
- Hesselbo, B. and Stinchcombe, R.B. 1995. Monte Carlo Simulation and Global Optimization without Parameters. *Phys. Rev. Lett.* 74, 2151-2155
- Hoeve, C. A. J. and Flory, P. J. 1958. The elastic properties of elastin. *J. Am. Chem. Soc.* 80, 6523 - 6526
- Jorgensen, W.L. and Tirado-Rives, J. 1988. The OPLS [optimized potentials for liquid simulations] potential functions for proteins, energy minimizations for crystals of cyclic peptides and crambin. *J. Amer. Chem. Soc.* 110 (6), 1657-1666

- Juffer, A.H. 1995. Comparison of atomic solvation parametric sets: Applicability and limitations in protein folding and binding. *Protein Science* 4, 2499-2509
- Kauzmann, W. 1959. Some factors in the interpretation of protein denaturation. *Adv. Protein Chem.* 14, 1-63
- Kawai, H., Okamoto, Y., Fukugita, M., Nakazawa, T. and Kikuchi, T. 1991. Prediction of α -Helix Folding of Isolated C-Peptide of Ribonuclease A by Monte Carlo Simulated Annealing. *Chem. Lett.* 20 (1991), 213
- Kirkpatrick, S., Gelatt Jr, C.T. and Vecchi, M.P. 1983. Optimization by simulated annealing. *Science.* 220, 671-680
- Kollman, P., Dixon, R., Cornell, W., Fox, T., Chipot, C. and Pohorille, A., in: Gunsteren van W.F., P.K., Weiner, A.J., Wilkinson (Eds.).1997. *Computer Simulation of Biomolecular Systems*, Vol. 3, Kluwer/ESCOM, 83 p., The Netherlands
- Lame, E.N., van Leeuwen, R.T., Jonker, A., van Marle, J. and Middelkoop, E. 1998. Living skin substitutes: survival and function of fibroblasts seeded in a dermal substitute in experimental wounds. *J. Invest Dermatol.* 111, 989-995
- Lee, B. and Richards, F.M. 1971. The interpretation of protein structures: estimation of static accessibility. *J. Mol. Biol.* 55 (3), 379-400
- Li, B., Alonso, D.O. and Daggett, V. 2001. The molecular basis of the inverse temperature transition of elastin. *J. Mol. Biol.* 305, 581-592
- Lyubartsev, Q.P., Martsinovski, A.A. Martsinovski, S.V. Shevkunaz and Vorontsov-Velyaminov, P.N. 1992. New approach to Monte Carlo calculation of the free energy: *J.Chem. Phys.* 96, 1776-1783
- Marinari, E. and Parisi, G. 1992. Simulated tempering. *Europhysics Letters.* 19, 451-455
- McMillan, R.A., Lee, T.A.T. and Conticello, V.P. 1999. Rapid assembly of synthetic genes encoding protein polymers. *Macromolecules.* 32, 3643-3648
- Metropolis, N.A., Rosenbluth, A.W., Rosenbluth, M.N., Teller, A.H. and Teller, E. 1953. Equation of state calculations by fast computing machines, *J. Chem. Phys.* 21, 1087-1092
- Mithieux, S.M., Rasko, J.E. and Weiss, A.S. 2004. Synthetic elastin hydrogels derived from massive elastic assemblies of self-organized human protein monomers. *Biomaterials.* 25, 4921-4927
- Momany, F.A., McGuire, R.F., Burgess, A.W. and Scheraga, H.A. 1975. Energy parameters in polypeptides. VII. Geometric parameters, partial atomic charges, nonbonded interactions, hydrogen bond interactions, and intrinsic torsional potentials for the naturally occurring amino acids. *J. Phys. Chem.* 79, 2361-2381
- Nelson, D.L. and Cox M. 2001. *Lehringer principles of biochemistry*, W. H. Freeman Company, Newyork
- Nemethy, G. 1992. Energy parameters in polypeptides. 10. Improved geometrical parameters and nonbonded interactions for use in the ECEPP/3 algorithm, with application to proline-containing peptides. *J. Phys. Chem.* 96, 6472-6484
- Neuenschwander, S. and Hoerstrup, S.P. 2004. Heart valve tissue engineering. *Transpl. Immunol.* 12, 359-365
- Nicolini, C., Ravindra, R., Ludolph, B. and Winter, R. 2004. Characterization of the temperature and pressure-induced inverse and reentrant transition of the

- minimum elastin-like polypeptide GVG(VPGVG) by DSC, PPC, CD, and FT-IR spectroscopy. *Biophysical Journal*, 86,1385-1392
- Nozaki, Y. and Tanford, C. 1971. The solubility of amino acids and two glycine peptides in aqueous ethanol and dioxane solutions. *J. Biol. Chem.* 246, 2211
- Okamoto, Y., Fukugita, M., Nakazawa, T. and Kawai, H. 1991. α -Helix folding by Monte Carlo simulated annealing in isolated C-peptide of ribonuclease A. *Protein Eng.* 4,639
- 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. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 3086–3090
- Patey, G. and Valleu, J.P. 1975. Monte Carlo method for obtaining the interionic potential of mean force in ionic solution. *J. Chem. Phys.* 82, 2334
- Powell, J.T., Vine, N. and Crossman, M. 1992. On the accumulation of D-aspartate in elastin and other proteins of the ageing aorta. *Atherosclerosis*. 97, 201-208
- Rahman, A. 1964. Correlations in the motion of atoms in liquid argon. *Phys. Rev.* 136, A405-411
- Reguera, J., Fahmi, A., Moriarty, P., Girotti, A. and Rodriguez-Cabello, J.C. 2004. Nanopore formation by self-assembly of the model genetically engineered elastin-like polymer [(VPGVG)₂(VPGEG)(VPGVG)₂]₁₅. *J. Am. Chem. Soc.* 126, 13212-13213
- Reiersen, H., Clarke, A.R. and Rees, A.R. 1998. Short elastin-like peptides exhibit the same temperature-induced structural transitions as elastin polymers: implications for protein engineering. *J. Mol. Biol.* 283, 255-264
- Rousseau, R., Schreiner, E., Kohlmeyer, A. and Marx, D. 2004. Temperature-dependent conformational transitions and hydrogen-bond dynamics of the elastin-like octapeptide GVG(VPGVG): a molecular-dynamics study. *Biophys. J.* 86, 1393-1407
- Schaumann, T., Braun, W. and Wuthrich, K. 1990. The program FANTOM for energy refinement of polypeptides and proteins using a Newton - Raphson minimizer in torsion angle space. *Biopolymers* 29, 679
- Schiffer, C.A. 1993. Protein Structure Prediction with a Combined Solvation Free Energy-Molecular Mechanics Force Field. *Mol. Simul.* 10, 121-149
- Schreiner, E., Nicolini, C., Ludolph, B., Ravindra, R., Otte, N., Rousseau, R., Winter, R. and Marx, D. 2004. Folding and unfolding of an elastinlike oligopeptide: Inverse Temperature Transition, reentrance, and hydrogen-bond dynamics. *Phys. Rev. Lett.*, 92, 148101 (1-4)
- Sipl, M.J., N'emethy, G. and Scheraga, H.A. 1984. Intermolecular potentials from crystal data. 6. Determination of empirical potentials for O-H-O-C hydrogen bonds from packing configurations. *J. Phys. Chem.* 88, 6231-6233
- Tamburro, A.M., Guantieri, V., Pandolfo, L. and Scopa, A. 1990. Synthetic Fragments and Analogues of Elastin. II. Conformational Studies. *Biopolymers*. 29, 855-870
- Torchia, D. A. and Piez, K. A. 1973. Mobility of elastin chains as determined by ¹³C nuclear magnetic resonance. *J. Mol. Biol.*, 76(3), 419-424
- Torrie, G.M. and Valleau, J.P. 1977. Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation - Umbrella sampling. *J. Comput. Phys.* 23, 187-199

- Urry, D. W., Long, M. M., Ohnishi, T. and Jacobs, M. 1974. Circular dichroism and absorption of the polytetrapeptide of elastin: a polymer model for the beta-turn. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61(4), 1427-1433
- Urry, D. W., Mitchell, L. W. and Ohnishi, T. June 1975. Studies on the conformation and interactions of elastin secondary structure of synthetic repeat hexapeptides. *Biochim. Biophys. Acta*, 393(2), 296-306
- Urry, D. W., Mitchell, L. W., Ohnishi, T. and Long, M. M. July 1975. Proton and carbon magnetic resonance studies of the synthetic polypentapeptide of elastin. *J. Mol. Biol.* 96(1),101-117
- Urry, D. W., Okamoto, K., Harris, R. D., Hendrix, C. F. and Long, M. M. 1976. Synthetic, crosslinked polypentapeptide tropoelastin: an anisotropic, fibrillar elastomer. *Biochemistry*, 15(18), 4083-4089
- Urry, D. W., Trapane, T. L. and Prasad, K. U. 1985. Phase-structure transitions of the elastin polypentapeptide-water system within the framework of composition-temperature studies. *Biopolymers*, 24(12), 2345-2356
- Urry, D. W. 1991. Hydrophobicity scale for proteins based on inverse temperature transitions. *J. Am. Chem. Soc.* 113, 4346-4348
- Urry, D. W. 1997. Physical chemistry of biological free energy transduction as demonstrated by elastic protein-based polymers. *J. Phys. Chem. B*, 101, 11007-11028
- Urry, D. W. and Parker, T. M. 2002. Mechanics of elastin: molecular mechanism of biological elasticity and its relationship to contraction. *J Muscle Res. Cell. Motil.* 23 (5-6), 543-559
- Urry, D. W. 2004. The change in Gibbs free energy for hydrophobic association: Derivation and evaluation by means of inverse temperature transitions. *Chem. Phy. Letters* 399, 177-183
- Vila, J. 1991. Atomically detailed folding simulation of the B domain of staphylococcal protein A from random structures. *PROTEINS: Struct Funct. Genet.* 10, 199-218
- Villani, V. and Tamburro, A.M. 1998. Simulated annealing and molecular dynamics of an elastin-related tetrapeptide in aqueous solution. *J. Mol. Struc. Theochem).* 431, 205-218
- Xu, J.W., Johnson, T.S., Motarjem, P.M., Peretti, G.M., Randolph, M.A. and Yaremchuk, M.J. 2005. Tissue-engineered flexible ear-shaped cartilage. *Plast. Reconstr. Surg.* 115, 1633-1641
- Wasserman, Z. R. and Salemme, F. R. 1990. A molecular dynamics investigation of the elastomeric restoring force in elastin. *Biopolymers.* 29, 1613-1631
- Waugh, D.F. 1954. Protein-protein interactions. *Adv. Protein Chem.* 9, 325-437
- Weiner, P.K. and Kollman, P.A. 1981. AMBER: Assisted model building with energy refinement. A general program for modeling molecules and their interactions. *J. Comput. Chem.* 2, 287
- Wesson, L. and Eisenberg, D. 1992. Atomic solvation parameters applied to molecular dynamics of protein in solution. *Protein Science* 1, 227-235
- Wong, W.H. and Liang, F. 1997. Dynamic weighing Monte Carlo and optimization. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 94, 14220-14224

- Wright, E.R., McMillan, R.A., Cooper, A., Apkarian, R.P. and Conticello, V.P. 2002. Thermoplastic elastomer hydrogels via self-assembly of an elastinmimetic triblock polypeptide. *Adv. Funct. Mater.* 12,149-154
- Yaşar, F. and Demir, K. 2007. Solvation Model Effects on Two Specific Peptides of Milk Protein. *C. J. Physics.* 45 (6-I), 622-636
- Yong, P. and Hansmann, U.E. 2003. Solution effects and the order of the helix–coil transition in polyalanine. *J. Chem. Phys.* 118, 2374

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Mustafa BİLSEL

Doğum Yeri : Kırıkkale

Doğum Tarihi : 1972

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu

Lise : Yenimahalle Mustafa Kemal Lisesi 1991

Lisans : Ortadoğu Teknik Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi,
Fizik Bölümü 1997

Yüksek Lisans : Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik
Mühendisliği Anabilim Dalı (Eylül 2007, Temmuz 2009) 2009

Çalıştığı Kurumlar ve Yıl

Araştırmacı, TÜBİTAK, Ulusal Metroloji Enstitüsü (UME), Kocaeli
11.1997 – 08.2001

Proje Yöneticisi, Ertunç Özcan İthalat-Mümessillik, Ankara
08.2001-10.2002

İngilizce Öğretmeni, Ankara
10.2002-

Yayınları (SCI ve diğer)

Bilsel, M., Samedov, F. 2001. Fiberoptik iletişim hatlarında uzunluk ve güç zayıflaması ölçümleri. 1. İletişim Teknolojileri Ulusal Sempozyumu. TMMOB Elektrik Mühendisleri Odası-ODTÜ Elektrik-Elektronik Mühendisliği Bölümü, Ankara

Arkın, H. and Bilsel, M. 2009. How conformational transitions depend on hydrophobicity of elastin-like polypeptides. Eur. Phys. J. E (henüz yayınlanmadı)

Bilsel, M. and Arkın, H. 2009. Molecular modelling of elastin-like polypeptides. 16. İstatistik Fizik Günleri. Koç Üniversitesi, İstanbul

Bilsel, M. and Arkın, H. 2009. Conformational Transition in Elastin Polypeptide with Different Residue Length. 7th BPU General Conference, Alexandroupolis, Greece