

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
( FİZİK ANABİLİM DALI )

**PROTEİN ÇÖZELTİLERİNİN NMR  $T_1$ 'İ İÇİN  
ÖNERİLMİŞ  $T_1$  DURULMA MEKANİZMALARININ  
KARŞILAŞTIRILMASI**

**Murat AYDIN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

97700




**DIYARBAKIR  
EYLÜL — 2000**

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**T.C.**  
**DİCLE ÜNİVERSİTESİ**

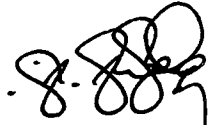
**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne**  
**DİYARBAKIR**

Bu çalışma, jürimiz tarafından Fizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<b>Jüri Üyesinin Ünvanı</b>	<b>Adı Soyadı</b>	
Başkan :	Prof. Dr.	Ali YILMAZ	
Üye :	Doç. Dr.	Şemsettin OSMANOĞLU	
Üye :	Yrd. Doç. Dr.	Muzaffer AŞKIN	

Yukarıdaki bilgilerin doğruluğunu onaylarım.

28.9.2000.

  
Prof. Dr. H. İlhan TUTALAR  
Enstitü Müdürü

## **TEŐEKKÜR**

*Çalıőmam süresince, beni yönlendiren ve benden yardımlarını esirgemeyen, değerli hocam Prof.Dr. Ali YILMAZ' a teőekkürlerimi sunarım. Ayrıca tezimin hazırlanmasında bana yardımcı olan Arő.Gör.Dr. Gülten KAVAK' a teőekkür ederim.*



## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>BÖLÜM 1</b>	
1.1. GİRİŞ.....	1
<b>TEMEL NMR TEORİSİ.....</b>	<b>3</b>
1.2. Magnetik Rezonans .....	3
1.3. Elektronun ve Çekirdeğin Magnetik Momenti.....	3
1.4. Basit Rezonans Teorisi .....	4
1.5. Magnetik Alanda İzole Edilen Bir Çekirdeğin Hareketi ve Rezonans Olayının Oluşumu.....	6
1.6. Bir Spin Sisteminin Soğurduğu Enerji .....	7
1.7. Spin-Örgü Durulma Mekanizması.....	9
<b>BÖLÜM 2</b>	
<b>PROTEİN ÇÖZELTİLERİNİN NMR SPİN-ÖRGÜ DURULMA ZAMANI (<math>T_1</math>) İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR .....</b>	<b>13</b>
<b>BÖLÜM 3</b>	
<b>MATERYAL ve METOD .....</b>	<b>33</b>
<b>BÖLÜM 4</b>	
<b>TARTIŞMA .....</b>	<b>34</b>
<b>BÖLÜM 5</b>	
<b>SONUÇLAR .....</b>	<b>39</b>
<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>40</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ .....</b>	<b>42</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>43</b>

**AMAÇ:**

Bu çalışmanın amacı, protein çözeltilerinin NMR (Nükleer magnetik rezonans ) spin-örgü durulma zamanı ( $T_1$ ) için önerilmiş durulma mekanizmalarını inceleme, bu mekanizmalar arasındaki benzerlikleri ve farklılıkları bulup birinin diğerine göre başarılı ve başarısız kısımlarını karşılaştırmaktır. Ayrıca bu incelemeden hareketle  $T_1$  durulma mekanizmaları hakkında geniş bir bilgi elde etmektir.

**ÖZET:**

Bu çalışmada, protein çözeltilerinin NMR (Nükleer magnetik rezonans) spin-örgü durulma zamanı ( $T_1$ ) için önerilmiş olan  $T_1$  durulma mekanizmalarının karşılaştırılması yapıldı. Bunun için önce protein çözeltilerinin NMR  $T_1$ 'i ile ilgili yapılmış olan çalışmalar incelendi. İnceleme sonunda,  $T_1$  durulma mekanizmasıyla ilgili birçok farklı ve benzer görüşlerin önerildiği görüldü. Önerilen bu görüşler,  $T_1$  durulma mekanizmasına etki eden; makromoleküler iç dönme, rasgele diffüzyonal hareket, protein konsantrasyonu ve kross- rölaksasyonu gibi parametrelerden dolayı kendi aralarında ana görüşlere ayrıldı. Her ana görüş içinde de benzer görüşleri öneren çalışmalara yer verildi. Çalışma sonunda,  $T_1$  durulma mekanizmalarıyla ilgili görüşler altı ana görüş altında toplandı ve bu ana görüşler arasında  $T_1$  durulma mekanizmasıyla ilgili kıyaslamalar yapıldı. Bu görüşlerin birbirlerine göre başarıları ve başarısızlıkları ortaya konmaya çalışıldı.

**SUMMARY :**

In this study, solutions of protein were compared the suggested relaxation mechanisms for NMR (Nuclear Magnetic Resonance) spin- lattice relaxation time ( $T_1$ ). At first, studies of solutions of protein, which is concerned with  $T_1$  of NMR, were investigated. The investigations showed that there were a lot of different and same opinions about  $T_1$  relaxation mechanisms. This suggested opinions were separated in terms of the effect of  $T_1$  relaxation mechanisms, macromolecular internal rotation, at random diffusional behaviour, protein concentration, Cross-relaxation etc. Finally, opinions about  $T_1$  relaxation mechanisms were summarized as six basic opinions and the  $T_1$  relaxation mechanisms from the basic opinions were compared.

## BÖLÜM 1

### 1.1. GİRİŞ

Yirminci yüzyılda spektroskopi alanında ki buluşlardan biri olan magnetik rezonansın bilime katkısı sayılamayacak kadar çoktur.

Nükleer Magnetik Rezonans (NMR) kuvvetli bir magnetik alana yerleştirilen atomik çekirdeklerin karakteristik bir frekansta ışınım soğurmaları esasına dayanır. NMR ilk olarak 1945–1946 yıllarında birbirinden bağımsız iki grup tarafından birkaç gün arayla gözlemlendi. Stanford Üniversitesinde Bloch liderliğindeki grup parafin, Harward Üniversitesinde ki Purcell liderliğindeki grup ise suda NMR'ı gözlediler(29). Bundan hemen sonra magnetik rezonansın bilim ve teknolojiye olan katkısı hızla gelişti.

Kökü fiziğe dayanan, ancak kimyaya, biyolojiye, biyokimyaya, biyofiziğe ve hatta başta tıp ve eczacılık olmak üzere tüm sağlık bilimi dallarına uzanan magnetik rezonans kendi gelişimini oluştururken elektronik gelişimi de beraberinde getirdi(27).

NMR başlangıçta sadece çekirdeklerin magnetik momentlerini saptamak için kullanılan bir teknikti. Ancak daha sonra NMR'ın kimyasal uygulamaları, 1950'de bir magnetik alana konulan örnek tarafından soğrulan ışımının kesin frekansının çekirdeklerin kimyasal çevrelerine bağlı olduğu gösterildiği zaman başladı. 1953 yılında ilk piyasaya sunulan spektrometreler, çözeltilerde yüksek-çözünürlü <sup>1</sup>H spektrumunu ölçme gücünü de kullanabilir oldular. Bilgisayar teknolojisindeki gelişmeler ile 1966'da Fourier dönüşümü tekniklerinin sunulması ve ardından, yüksek-alan üstün iletken mıknatıslarının geliştirilmesi, öteki çekirdeklerinde çözelti ve katı hali her ikisinde de gözlenebilmelerini sağladı.

Normal ve hasta kanlarının spin-örgü durulma zamanlarının ( $T_1$ ) karşılaştırılmasıyla başlayan ilk araştırmalar, kanserli ve normal dokuların durulma zamanlarının karşılaştırılmasıyla yeni boyutlara ulaşmış ve magnetik rezonans görüntüleme ( MRG ) yönteminin ortaya çıkmasına yol açmıştır (İlk iki boyutlu NMR görüntüsü 1973 yılında Lauterbur tarafından elde edildi).



Protein çözeltilerinin NMR spin-örgü durulma zamanı ( $T_1$ ) üzerinde çalışan birçok araştırmacı, durulma mekanizmasına proteinlere bağlı su ile bulk su arasındaki hızlı kimyasal değiş-tokuşun yol açtığını belirtmişlerdir. Protein konsantrasyonu, makromolüküler iç dönme, rasgele difüzyonal hareket ve kross - rölaksasyonu  $T_1$  durulmasına katkı yapan parametreler olarak önerilmiştir.



## TEMEL NMR TEORİSİ (27,28,29)

**1.2 Magnetik Rezonans:** Hem açısal momentuma ve hem de magnetik momente sahip olan sistemlerde görülen bir olay olarak bilinen magnetik rezonans, gerçekte bir magnetik sistemin üzerine uygulanan bir magnetik alanla, bu sistemin sıfırdan farklı magnetik momentinin etkileşmesinden doğan fiziksel olayları inceleyen bir spektroskopi dalıdır. Rezonans ise bir magnetik sistemin doğal frekansı ile uyum içinde olmasıdır. Sözü edilen doğal frekans dış magnetik alan içindeki magnetik momentlerin Larmor presesyon hareketinin frekansı olarak bilinir. Magnetik rezonans frekansı çekirdekler için radyo frekans bölgesinde yer alır. NMR yalnızca çekirdek spinleri sıfırdan farklı olan magnetik sistemleri inceler.

**1.3 Elektronun ve Çekirdeğin Magnetik Momenti:** ( $\vec{\mu}$ ) Klasik anlamda magnetik moment bir akım ilmeğine karşılık gelir. Sistemi  $i$  akımı taşıyan  $S$  yüzeyli bir akım halkası gibi düşünersek,

$$\vec{\mu} = i S \quad (1.1)$$

olur. Magnetik moment ( $\vec{\mu}$ ) ile açısal momentum arasındaki bağıntı,

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{L} \quad (1.2)$$

şeklinde yazılabilir. Burada,  $\gamma$  Jiromagnetik oran

$$\gamma = - e / 2m_e \quad (1.3)$$

dir. Kütleli büyük olan parçacıklar küçük  $\gamma$  değerine sahip olur.

Elektron için türetilen, açısal momentum ve magnetik moment arasındaki oranlık, çekirdeğin açısal momentumu  $\vec{L}$ 'ye ve çekirdeğin magnetik momentini  $\vec{\mu}$ 'ye

$$\vec{\mu} = \gamma \vec{L} \quad (1.4)$$

olacak biçimde uygulanabilir. Çekirdeğin açısal momentumu;

$$\vec{L} = I \hbar \quad (1.5)$$

ifadesi ile verilir. Denklem (1.5) denklem (1.4) de yerine yazılırsa, magnetik moment,

$$\vec{\mu} = \gamma \hbar \vec{I} \quad (1.6)$$

olur.

**1.4 Basit Rezonans Teorisi:** Rezonans olayını açıklamak için basit bir kuantum mekaniksel sistem ele alalım. İzole edilmiş tek bir spinin (magnetik momenti  $\vec{\mu}$ )  $\vec{H}$  gibi statik bir magnetik alan ile karşılıklı etkileşmesini düşünelim  $\vec{H}$  magnetik alanın uygulamasıyla ortaya çıkan etkileşme enerjisi

$$E = - \vec{\mu} \cdot \vec{H} \quad (1.7)$$

ifadesi ile verilir. Bu etkileşmeyi gösteren basit kuantum mekaniksel hamiltonyen operatörü

$$\mathbf{H} = - \vec{\mu} \cdot \vec{H} \quad (1.8)$$

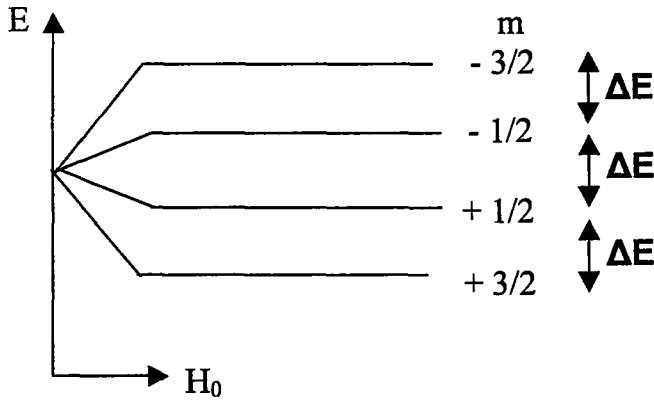
olur. Eğer  $\vec{H}$  alanı z - yönünde uygulanır ve denklem (1.6) denklem (1.8) de yerine yazılırsa

$$\mathbf{H} = - \gamma \hbar I_z H_0 \quad (1.9)$$

bulunur. Bu hamiltonyen operatörünün öz değerleri,  $I_z$ 'nin öz değerlerinin ( $\gamma \hbar H_0$ ) katlarıdır. Buradan, sistem için mümkün olan enerji değerleri

$$E = -\gamma \hbar H_0 m \quad (m = I, I-1, \dots, -I) \quad (1.10)$$

dir. Spini  $I = 3/2$  olan  $^{11}\text{B}$  çekirdeğinin bir dış magnetik alandaki enerji düzeyleri şekil 1.1'de görülmektedir. Burada  $m$ 'nin alacağı değerler  $2I + 1$ , yani dört tanedir;  $m \rightarrow +3/2, +1/2, -1/2, -3/2$  Bu enerji seviyeleri arasındaki uzaklık  $\gamma \hbar H_0$  dır ve hepsi eş aralıklıdır.



Şekil 1.1 Spini 3/2 olan  $^{11}\text{B}$  çekirdeğinin bir dış magnetik alandaki Zeeman yarılması.

NMR'de uygun frekansta elektromagnetik enerji ile bu enerji düzeyleri arasındaki rezonans geçişleri oluşturulur. Sadece kesikli enerji düzeyleri mümkün olduğundan bu düzeyler arasındaki geçişler  $h\nu_0$  veya bunun katları kadar kuantum enerjisinin soğrulması veya yayınlanmasına karşı gelir. Genellikle sadece ardarda enerji düzeyleri arasında geçişler olur. Ardarda geçişlerle ilgili geçiş kuralı  $\Delta m = \pm 1$  dir. Rezonans düzeyleri arasındaki,

$$\Delta E = -\gamma\hbar H_0 \quad (1.11)$$

enerji farkına eşit  $\omega_0$  frekansında radyo frekans ışınlaması yapılarak elde edilir. Bu durumda,

$$\hbar\omega_0 = \Delta E = -\gamma\hbar H_0 \quad (1.12)$$

eşitliğinden rezonans şartı,

$$|\omega_0| = \gamma H_0 \quad (1.13)$$

elde edilir. Rezonans frekansı ile magnetik alan arasındaki bağıntıyı veren bu eşitlik NMR'ın temel eşitliğidir ve Larmor eşitliği olarak bilinir.

Görüldüğü gibi rezonans şartı sadece ilgili çekirdeğe ve alanın büyüklüğüne bağlıdır. Rezonans şartında,  $h$  Planck sabiti yer almadığı için bu sonuç klasik bir rezonans olayı olarak düşünülebilir.

### 1.5 Magnetik Alanda İzole Edilen Bir Çekirdeğin Hareketi ve Rezonans

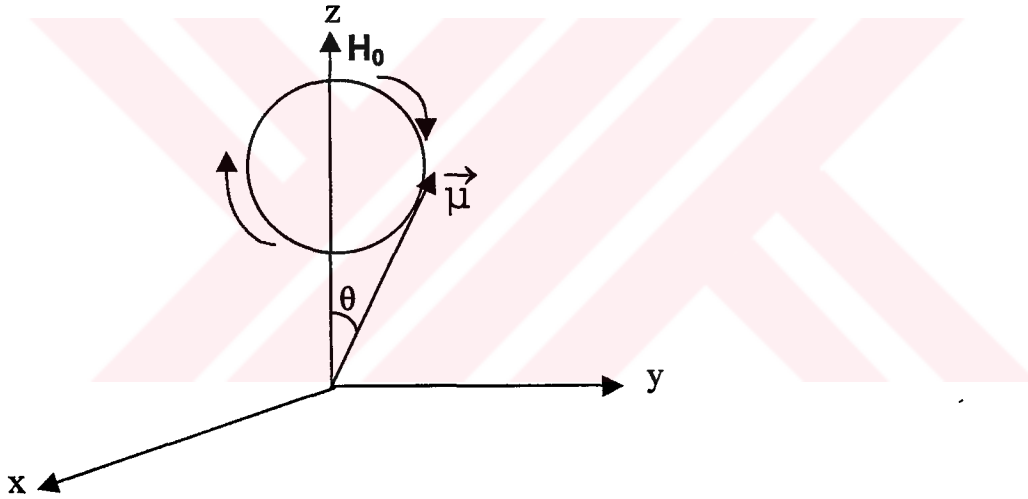
**Olayının Oluşumu:** Rezonans olayının fiziksel özelliklerini anlamak için bir  $\vec{H}$  magnetik alanındaki  $\vec{\mu}$  magnetik momentini düşünelim. Magnetik moment

$$\vec{\tau} = \vec{\mu} \times \vec{H} \quad (1.14)$$

ile verilen bir torkun etkisinde kalacaktır. Bu tork, momenti alan doğrultusunda yöneltmeye çalışır. Çekirdeğin spin hareketi ve açısal momentum ile tork arasındaki

$$\left( \frac{d\vec{L}}{dt} \right) = \vec{\tau} \quad (1.15)$$

bağıntısından, sonuçtaki hareket basit bir yönelim değil, ama çekirdek dönme ekseninin uygulanan alan etrafında dönmesi şeklindedir. Şekil 1.2’de görülen bu harekete presesyon denir (29).

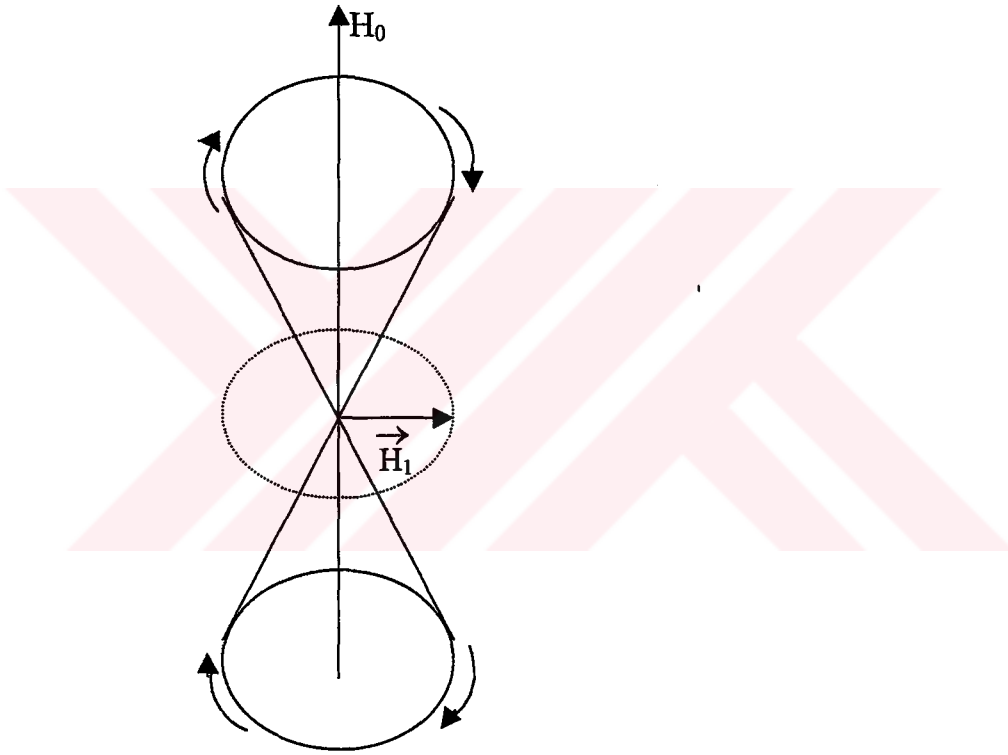


Şekil 1.2.  $\vec{\mu}$  Çekirdek magnetik momentinin  $H_0$  alanı etrafındaki presesyon hareketi

Şimdi bir çekirdek spinin  $H_0$ 'a göre yönelimini değiştirmek için magnetik alan vektörü  $\vec{H}$ 'ye dik olan bir düzlemde dairesel olarak polarize olmuş bir  $H_1$  radyo frekans alanı uygulanır (şekil 1.3). Radyo frekans alanı da magnetik momente,

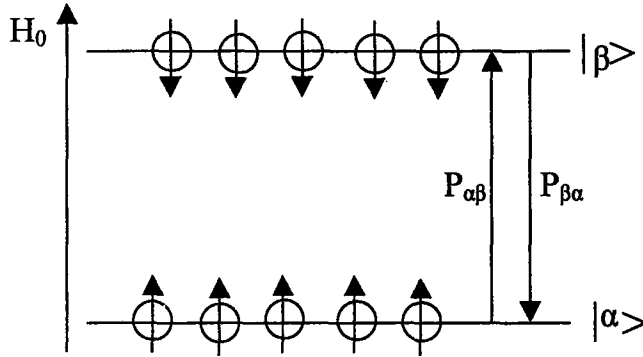
$$\vec{\tau}_{(1)} = \vec{\mu} \times \vec{H}_1 \quad (1.16)$$

ile verilen bir tork uygulayacaktır.  $\vec{H}_1$  alanı durgun ve şiddeti büyük ise bu alan  $\vec{H}$ 'e ekleneceğinden net etki yine bileşke alan etrafında presesyon olacaktır. Bununla birlikte eğer  $\vec{H}_1$ 'in büyüklüğü  $\vec{H}$ 'den çok daha küçük olacak şekilde seçilir ve  $\vec{H}$  etrafında döndürülecek olursa ortaya çıkan tork,  $\vec{H}_1$  alanının spin ile aynı açısal hız ve yönde döndüğü durum hariç ihmal edilebilir olacaktır. Bu durumda,  $\vec{\tau}_{(1)}$  sabit bir değere sahip olduğundan  $\vec{\mu}$  dipolü  $\omega_1 = \gamma H_1 \ll \omega_0$  frekansında  $\vec{H}_1$  etrafında presesyon hareketi yapar.  $\vec{H}_1$ 'in sürekli olarak uygulanması ise  $\vec{H}$  ile belirlenen enerji düzeyleri arasında geçişlere neden olur.



Şekil 1.3. Magnetik rezonansın oluşumu

**1.6. Bir Spin Sisteminin Soğurduğu Enerji :** Şimdi, rezonans olayının gözlendiği magnetik sistem, spin kuantum sayısı 1/2 olan yalıtılmış bir sistem olsun. Bir sistemde magnetik rezonansı oluşturan spinlerin dışındaki yapıya örgü denir ve katı, sıvı ya da gaz olabilir. Böyle bir sistem üzerinde büyüklüğü  $H_0$  olan bir magnetik alan uygulandığı zaman spin sistemi şekil 1.4'de görülen biçimde bir yönelme gösterir.



Şekil 1.4. Spin kuantum sayısı 1/2 olan bir sistemin,  $H_0$  alanının uygulanması durumunda spinlerin yönelimi.

Magnetik alanla aynı yöndeki yönelme  $|\alpha\rangle$  düzeyi ve bu düzeydeki spin sayısı  $N_\alpha$  magnetik alanla zıt yöndeki yönelme  $|\beta\rangle$  düzeyi ve bu düzeydeki spin sayısı  $N_\beta$  olsun.  $N_\alpha$  ve  $N_\beta$  arasındaki ilişki,

$$N_\alpha / N_\beta = e^{(E_\alpha - E_\beta) / kT} \quad (1.17)$$

Boltzmann-Maxwell bağıntısı ile belirlenir. Burada  $E_\alpha$  ve  $E_\beta$  sırasıyla  $|\alpha\rangle$  ve  $|\beta\rangle$  düzeylerine karşı gelen enerji değerleri,  $T$  mutlak sıcaklık ve  $k$ 'da Boltzmann sabitidir. Sistemde ısısal denge kurulduğunda  $N_\alpha > N_\beta$  olduğu bir gerçektir.

Bu durumdaki spin sistemine, frekansı sistemin doğal frekansı ile uyum içinde olabilecek bir dış etken uygulansın. Bu dış etken  $|\alpha\rangle$  ve  $|\beta\rangle$  düzeyleri arasında, olasılıkları  $P_{\alpha\beta}$  ve  $P_{\beta\alpha}$  olan, geçişleri oluşturacağı için düzeylerdeki spin topluluğunda bir değişme beklenir.

$$dN_\alpha / dt = N_\beta P_{\beta\alpha} - N_\alpha P_{\alpha\beta} \quad (1.18)$$

$$dN_\beta / dt = N_\alpha P_{\alpha\beta} - N_\beta P_{\beta\alpha} \quad (1.19)$$

Yani bir  $dt$  süresi içinde  $|\alpha\rangle$  düzeyindeki spin topluluğunun değişimi,  $|\alpha\rangle$  düzeyine gelen spin sayısı ile  $|\alpha\rangle$  düzeyinden giden spin sayısının farkı kadardır. Magnetik rezonansa (1.18) ve (1.19) eşitlikleri spin değişim denklemleri olarak bilinir.

Spin sistemindeki toplam spin sayısı  $N = N_\alpha + N_\beta$  herhangi bir anda düzeyler arasındaki spin farkı  $n = N_\alpha - N_\beta$  ve  $P_{\alpha\beta} = P_{\beta\alpha} = P$  ise, Denk. (1.18) yada Denk. (1.19) dan elde edilir ve bunun çözümü

$$dn / dt = -2Pn \quad (1.20)$$

$$n = n_0 e^{-2Pt} \quad (1.21)$$

olarak bulunur. Burada  $n_0$ ,  $t = 0$  anında iken düzeyler arasındaki spin farkıdır. Geçiş olasılığı  $P$  olan bir tek spinin dış etkenden bu geçiş sırasında soğuracağı enerji, düzeyler arasındaki enerji farkı  $\Delta E = E_\alpha - E_\beta$  ya bağlı olarak  $P\Delta E$  dir.  $|\alpha\rangle$  düzeyinde  $N_\alpha$  tane spin olduğuna göre bu düzeydeki spinler  $P\Delta E N_\alpha$  kadar enerji soğurabileceklerdir. Dış etkenden soğrulan enerjinin değişim hızı :

$$dE / dt = \Delta E N_\alpha P_{\alpha\beta} - \Delta E N_\beta P_{\beta\alpha} \quad (1.22)$$

olacak (1.22) eşitliğini, (1.21) eşitliğini kullanarak

$$dE / dt = \Delta EP n_0 e^{-2Pt} \quad (1.23)$$

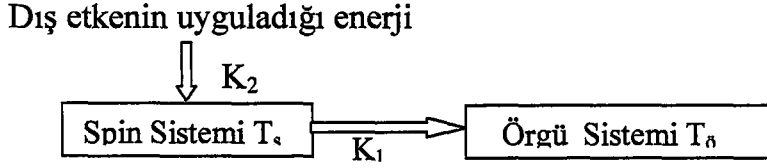
şeklinde yazılabilir. Bu eşitlik gösteriyor ki, dış etkende soğrulan enerjinin zamana göre değişimi, düzeyler arasındaki spin sayısı farkına bağlıdır ve bu bağlılık üstel azalan bir fonksiyon şeklindedir. Yani başlangıçta düzeyler arasında  $n_0$  spin farkı olan yalıtılmış bir spin sisteminde dış etken zamanla bu spin farkını sıfıra götürür. Buna bağlı olarak dış etkenden soğrulan enerji de sıfıra yaklaşır. Belli bir süre sonra spin sistemi dış etkenden enerji soğuramaz duruma gelir, magnetik rezonans durur. Fiziksel olarak örgüden yalıtılmış bir spin sistemi olamayacağı için magnetik rezonansın durma olasılığı spin-örgü etkileşmesi denen başka bir mekanizma ile ortadan kalkar.

**1.7. Spin-Örgü Durulma Mekanizması:** Yalıtılmış spin sistemi dış etkenden enerji soğurduğu zaman spin sisteminin sıcaklığı başlangıçtaki sıcaklığına göre artar. Yani başlangıçta örgü ile ortak bir  $T_0$  sıcaklığında olan spin sistemi dış etkenden enerji soğurarak yeni bir  $T_s$  sıcaklığına ulaşır. Belli bir süre sonra  $T_s \gg T_0$  olacağı için düzeyler arasında spin topluluğu farkı sıfıra yaklaşır. Yani magnetik rezonans durur.

Şimdi spin sistemi ile örgü arasında bir ısısal etkileşme olduğunu varsayalım bu durumda spin sisteminden örgü sistemine doğru bir ısı akışı doğar ( Şekil 1.5) ve



spin sistemi enerji kaybeder. Spin sisteminin kaybettiği ( Örgü sistemine aktardığı ) enerji

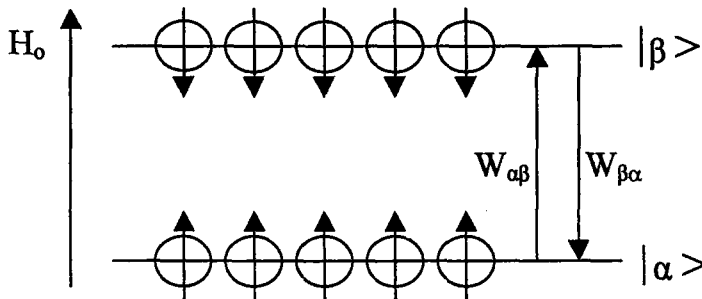


Şekil 1.5. spin sistemi ile örgü arasındaki ısısal etkileşme

$$dE / dt = K_1 k ( T_s - T_0 ) \quad ( 1.24 )$$

ile belirlenir. Burada  $k$  Boltzmann sabit ve  $1/sn$  biriminde olan  $K_1$  de ısı akışı sabitidir.  $K_1$ 'in  $1/sn$  olması onun  $1/T_1$  şeklinde yazılabileceğini gösterir. Böylece elde edilen  $T_1$ , spin-örgü durulma zamanı olarak tanımlanır ve spin sistemiyle örgü sistemi arasındaki ısı iletişim olayının bir ölçüsüdür. ( 1.24 ) eşitliği uyarınca spin sisteminden örgü sistemine ısı akışı  $T_s = T_0$  oluncaya değin sürer ve  $T_s = T_0$  olunca toplam sistem ısısal denge durumuna ulaşır.

Sonuç olarak dış etken uygulanmadığı zaman spin-örgü etkileşmesi ile enerji kaybına uğrayan spin sisteminde yeniden geçişler oluşur ( Şekil. 1.5 ).



Şekil 1.6 spin-örgü etkileşmesi ile yeniden oluşan geçişler.

$| \alpha >$  düzeyinde  $| \beta >$  düzeyine geçiş olasılığı  $W_{\alpha\beta}$  ve ters yöndeki de  $W_{\beta\alpha}$  ise düzeyler arasındaki spin değişim denklemleri,

$$dN_{\alpha} / dt = N_{\beta} W_{\beta\alpha} - N_{\alpha} W_{\alpha\beta} \quad ( 1.25 )$$

$$dN_{\beta} / dt = N_{\alpha} W_{\alpha\beta} - N_{\beta} W_{\beta\alpha} \quad (1.26)$$

yazılabilir ve  $N = N_{\alpha} + N_{\beta}$ ,  $n = N_{\alpha} - N_{\beta}$  alınarak yeniden yazılır. Burada

$$dn / dt = ( W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha} ) [ N( W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta} ) / ( W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha} ) - n ]$$

$$W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha} = 1/T_1$$

$$n_0 = N ( W_{\beta\alpha} - W_{\alpha\beta} ) / ( W_{\alpha\beta} + W_{\beta\alpha} )$$

tanımları yapılırsa

$$dn / dt = (n_0 - n) / T_1 \quad (1.27)$$

ve buradan da

$$n = n_0 (1 - e^{-t/T_1}) \quad (1.28)$$

bulunur. Burada  $n_0$ , ısısal denge durumunda düzeyler arasındaki spin farkıdır.  $T_1$  zaman birimindedir ve toplam sistemin ısısal denge durumuna yaklaşması için geçen süredir. O halde magnetik rezonansın gerçekleşmesinde önemli rol oynayan düzeyler arasındaki spin topluluğu farkı (1.20) ve (1.27) eşitliklerinin toplamları şeklinde olmalıdır:

$$dn/dt = - 2pn + (n_0 - n) / T_1 \quad (1.29)$$

Kararlı duruma ulaşıldığında  $dn / dt = 0$  olacağından düzeyler arasındaki spin farkı

$$n = n_0 / (1 + 2PT_1) \quad (1.30)$$

ve soğrulan enerji değişimi de

$$dE / dt = \Delta E n_0 P / (1 + 2PT_1) \quad (1.31)$$

olacaktır. Bu son bağıntı  $2PT_1$ 'in alacağı değere göre farklı sonuçlar doğurur.

1)  $2PT_1 \ll 1$  olsun. Bu durumda Denk.(1.30) dan  $n \cong n_0$  ve Denk.(1.31) den  $dE/dt \cong \Delta E n_0 P$  olur. 2)  $2PT_1 \gg 1$  olsun. Bu durumda da  $n \cong n_0 / 2PT_1$  ve  $dE / dt \cong \Delta E n_0 / 2T_1$  olur. Dış etkenden uygulanan enerji ne denli artarsa artsın spin sisteminin soğurduğu enerji artmaz, sabit kalır. Bu duruma magnetik rezonansa doyma durumu denir.

Doyma durumu başka bir şekilde de incelenebilir. Şekil 1.5'de görüldüğü gibi dış etkenden spin sistemine uygulanan enerji hızı  $K_2$  olsun.  $K_1$ 'i de spin sisteminden örgü sistemine aktarılan enerji hızı olarak tanımlanmıştı.  $K_2 \ll K_1 = 1/T_1$  olduğu sürece spin sistemi enerji fazlalığını kolay bir şekilde örgüye

aktarabilir. Bunun sonucu olarak  $T_s \cong T_0$  için düzeyler arasında  $n \neq 0$  olacak biçimde bir spin topluluğu farkı oluşur. Öte yandan  $K_2 = K_1 = 1/T_1$  ise spin sistemi enerji fazlalığını örgüye etkin bir şekilde aktaramaz. Bunu sonucu olarak spin sisteminin sıcaklığı başlangıçtaki sıcaklığına göre artar ( $T_s > T_0$ ) ve düzeyler arasındaki spin topluluğu doyma durumuna gelir. Çok kısa  $T_1$  spin – örgü durulma zamanına sahip olan sistemlerde doyma durumu çabucak gerçekleşir.

$T_1$  spin-örgü durulma zamanı başka bir yaklaşımla da tanımlanabilir.

Magnetik rezonansta spin sistemi aynı anda hem dıştan uygulanan kuvvetli bir  $H_0$  magnetik alanı ve hem de dış etken olarak tanımladığımız  $H_0$ ' a dik düzlemde sistemin doğal frekansına eşit bir frekansta titreşim hareketi yapan  $\vec{H}_1$  alanı etkisinde kalır. Spin sistemi belirli bir süre sonra  $H_0$  etrafında bir presesyon hareketi yapar. Eğer  $H_1$  alanı magnetik sistem üzerinden kaldırılırsa magnetik momentler  $H_0$  doğrultusuna yaklaşarak presesyon hareketini sürdürürler ve belirli süre sonra tamamen  $H_0$  doğrultusunu alırlar. İşte bu süreye spin-örgü durulma yada boyuna durulma adı verilir.

## BÖLÜM 2

### PROTEİN ÇÖZELTİLERİNİN NMR SPİN – ÖRGÜ DURULMA ZAMANI ( $T_1$ ) İLE İLGİLİ ÇALIŞMALAR

O.K Daszkiewicz (1) ve Arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, suda çözünen ovalbüminin  $T_1$  durulma zamanını azalttığını bulmuşlar ve bunun bir kısım bağlı su moleküllerinin ilgi zamanının artışından kaynaklandığını ifade etmişler. Proton spin – örgü durulma zamanlarını ( $T_1$ ), 20 °C de, 3,2881 Gauss'luk magnetik alanda, Carr – Purcell ve Meiboom spin-eko tekniği ile ölçmüşlerdir. Ölçme sonucunda elde ettikleri sonuçların

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_{1w}} + KC \quad (2.1)$$

denkleminde uyduğunu göstermişlerdir (Yani, durulma zamanına karşı konsantrasyonun lineer olarak arttığını göstermişler ).

Hazırlanan ovalbümin çözeltisinde üç tip proton vardır; 1- Serbest suyun protonları. 2- Proteine dönmesiz bağlı suyun protonları. 3- Protein protonları çok kısa sürede rölakse olduklarından gözlenemiyor ve ihmal ediliyor. Sadece, serbest suyun protonları ve proteine dönmesiz bağlı su protonları kalır. Çözelti içerisinde yer alan serbest suyun protonları ve proteine dönmesiz bağlı su protonları arasında;

$$\frac{1}{T_1} = \frac{P_a}{T_{1a}} + \frac{P_b}{T_{1b}} \quad (2.2)$$

denkleminde uyan hızlı kimyasal değiş – tokuş olduğunu göstermişlerdir. Burada  $P_a$ : serbest suyun olasılığı ve  $P_b$  ise proteine dönmesiz bağlı suyun olasılığıdır.

Ovalbümin ve yumurta akı için 1 gr başına düşen su miktarı ve  $\tau$  ilgi zamanı değerlerini sırasıyla  $w = 1,6 \cdot 10^{-2}$ ,  $\tau = 1,03 \cdot 10^{-8}$  sn ve  $w = 1,97 \cdot 10^{-2}$ ,  $\tau = 1,2 \cdot 10^{-8}$  sn olarak bulmuşlardır. Elde ettikleri sonuçlar (proteine dönmesiz bağlı su miktarı için),

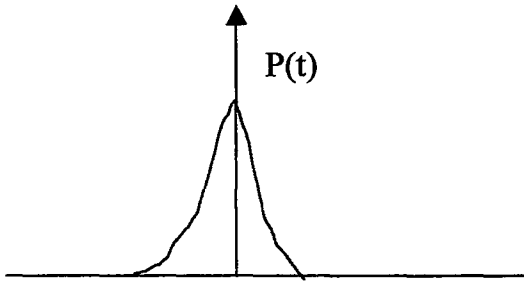
Buchanan ve arkadaşları tarafından daha önce bulunan sonuçlarla uyumlu olduğunu görmüşlerdir.

**G.J. Krüger** (2) ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışma, protein moleküllerinin yüzeyi üzerine absorbe olan su moleküllerinin durumu üzerine bilgi verir.

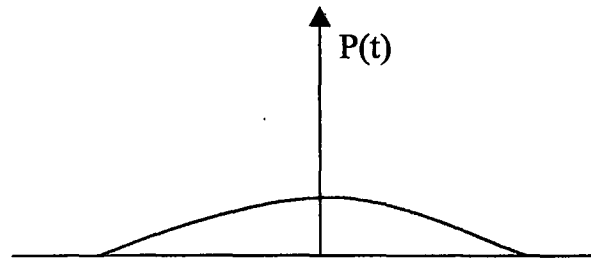
Hazırlanan protein çözeltisinde ( çözeltinin % 35 sudur ) bulunan su , proteine sinmiş ( yapışmış ) su ve protein molekülleri arasında büyük boşluk olmasından dolayı kılcal kanallara giren ve ortamda serbest su gibi davranan su olmak üzere ikiye ayrılır. Proteine sinmiş su molekülleri protonu ve protein protonları ayırt edilemez olduğu için, protein ve su sinyali olmak üzere iki sinyal gözlemişlerdir.

Sıcaklığa bağlı olarak incelendiklerinde, çok düşük sıcaklıklarda su sinyalinin protein sinyali gibi davrandığını ( su donduğunda ilgi zamanı uzar ) görmüşler.

Ayrıca bir tahmin olarak, boşluğun merkezinde bulunan su protonlarının, proteinin yüzeyinden çok uzakta olduklarından sadece dar bir ilgi dağılımına (şekil 2.1.a) sahip olduklarını, proteine yakın olan su moleküllerinin ise, hareketi proteinin yüzeyinden etkileneceği için, daha geniş ilgi dağılımına (şekil 2.1.b) sahip olacağını düşünmüşlerdir.



Şekil 2.1.a Dar ilgi dağılımı



Şekil 2.1.b Geniş ilgi dağılımı

Böylece suyun iki, ayrı fazda bulunabileceğine dair yorumlar yapmışlar ve fazlar arasında hızlı kimyasal değiş – tokuş olduğunu varsayarak toplam durulma oranlarını elde etmişlerdir. Yaptıkları değerlendirmede  $1/T_1$ 'e her iki dağılımın katkıda bulunduğunu görmüşlerdir.

Seymour H. Koenig ve Walter E. Schlinger (3)'in yapmış oldukları bu çalışmada, pH, konsantrasyon ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak diamagnetik protein apotransferinin çözeltileri içindeki çözücü protonların magnetik spin-örgü durulma oranı  $1/T_1$ 'in magnetik alana bağıllığının ölçümleri yapılmış ve incelenmiştir. Bu çalışmada, su moleküllerinin dönmesiz bağlı olması gerekmediğini, protein molekülüne göre sabit geometriye sahip bir eksen etrafında dönmelerinin sınırlanmasının kafi olduğunu belirtmişlerdir. Deney ölçümleri; 1000 Oe aşağısındaki magnetik alan verileri için, puls magnetik alan tekniği kullanılarak, 1 kOe ile 12 kOe arasındaki magnetik alan verileri içinde  $90^0-180^0$  spin-echo puls metodu ile elde etmişlerdir.

Magnetik alan artırılmasıyla birlikte  $1/T_1$ 'in monoton bir şekilde azaldığı görülmüş. Magnetik alan ile  $1/T_1$ 'in değişimi Nükleer magnetik rölaksasyon dağılımı olarak gösterilmiş. Sabit bir  $r_{pp}$  mesafesinde etkileşen bir proton çiftinin rölaksasyon oranı

$$\frac{1}{T_{1pp}} = \frac{3\hbar^2\gamma^4}{10 r_{pp}^6} \left[ \frac{\tau_c}{1+w^2\tau_c^2} + \frac{4\tau_c}{1+4w^2\tau_c} \right] \quad (2.3)$$

denklemleri ile verilir. Burada  $w = 2\pi\nu$ ,  $\gamma = w / H$  'dir. Bu denklem proteine dönmesiz bağlı su molekülleri için geçerli olduğu varsayılır. Bu durum için ilgi zamanı

$$\tau_c = \frac{4\pi\eta_0 a^3}{3kt} \cong 2.10^{-7} \text{ sn olarak bulunmuştur.}$$

Burada  $a$ : protein molekülünün hidrodinamik yarıçapı,  $\eta_0$ : çözücünün viskozitesidir.

Proteine dönmesiz bağlı olmayan fakat proteine göre sabit bir eksen etrafında serbest olarak dönecek şekilde bağlı olan bir proton çifti için;

$$\frac{1}{T_{1pp}} = \left( \frac{3 \text{Cos}^2\alpha - 1}{2} \right)^2 \left( \frac{1}{T_{1pp}} \right)_{\text{irrot}} \quad (2.4)$$

olarak önerilmiştir.

Teori; Daskiewicz ve arkadaşları, Coputa ve arkadaşlarının modelleri için küresel olmayan proteinlerin durumuna genelleştirildi. Bu nedenle bu teori onlarınkinden daha geçerli ve geniştir. Bu teori, kendi kendine protein ile değiş – tokuş yapan protonun durumuna ve dönmesiz bağlı su moleküllerinin durumuna uygulanabilir. Bütün bunlara ilaveten, proteinin yakınında yapışık bir su bölgesinin olduğunu ve hareketi bulk su ile karşılaştırıldığında daha yavaş, proteinlerinkinden ise daha hızlı olduğunu ve moleküllerin  $\tau_c$  ilgi zamanlarının proteinin takla adımı süresinden hayli kısa olduğunu ileri sürmüşlerdir. Protein etkisinde bulunan çözücü protonların  $\tau_c$  ilgi zamanının  $3.10^{-12}$  sn'den  $3.10^{-7}$  sn'ye arttığını görmüşler. Bunun yanında proteine bağlı küçük sayıdaki su moleküllerinin her durumda çözücü protonlarının  $1/T_1$ 'ini artırdığını da ifade etmişlerdir.

**Alan G. Marshall** (4) ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, makro moleküle bağlı bir grubun iç dönmesinin durulma zamanları üzerinde etkili olduğunu saptamışlardır. Aynı zamanda, diffüzyonal ve diğer rasgele hareketlerle oluşan iç dönmelerin NMR durulma zamanları üzerinde hemen hemen aynı etkiye sahip oldukları görülmüştür. Durulma zamanı ölçümü üzerinde çözelti viskozitesinin önemli etkisinin olduğunu deneysel olarak ispat etmişlerdir.

İç dönme için dört basit durulma modeli sunmuşlardır: 1- Serbest dönme. 2- Dönme diffüzyonu (açısal pozisyonda rasgele küçük açılı atlamalar). 3- Atlama diffüzyonu (atlamalar arasında sabit moleküller yönelim ile açısal pozisyonda rasgele büyük açılı atlamalar). 4- Serbest diffüzyon (atlamalar arasındaki zaman boyunca serbest dönme ile rasgele büyük açılı atlamalar)dır. Sıvıdaki moleküller için değişmeden kalan modellerin her biri benzer sonuç verir. Bu modellerin her biri için gözlenen NMR durulma zamanlarının, grup atomlarının ya da molekülün açısal pozisyonundaki değişmelerden ileri gelen bir oto ilgi fonksiyonunun Fourier dönüşümü ile tanımlanabileceğini ileri sürmüşlerdir. Oto ilgi fonksiyonu  $\Phi_{(t)}$ ,

$$\Phi_{(t)} = \frac{3}{4} \sin^4\theta \exp [-(6 D_{\text{macro}} + D_{\text{int}}) t] +$$

$$3 \sin^2\theta \cdot \cos^2\theta \exp [-(6 D_{\text{macro}} + D_{\text{int}}) t] + \left( \frac{-(3 \cos^2\theta - 1)}{2} \right)^2 \exp [-6 D_{\text{macro}} t] \quad (2.5)$$

ile verilir. Burada  $D_{\text{macro}}$ : Elektrik alan gradyenti,  $D_{\text{int}}$ : Çekirdek içi vektörü,  $\theta$ : Elektrik alan gradyenti veya çekirdek içi vektör ile iç dönme eksenini arasındaki açıdır.

Yavaş veya hızlı iç dönmenin varlığında,  $1/T_1$ 'in sadece bir ilgi zamanı ( $\tau_{\text{macro}}$ )'nın fonksiyonu olduğunu ve moleküller içi dipol-dipol etkileşmeden kaynaklandığını varsaymışlardır. Bu durum için  $1/T_1$ ;

$$\frac{1}{T_1} = \left[ \quad \right]^2 \left( \frac{4 \tau_{\text{macro}}}{1+(\omega_0 \tau_{\text{macro}})^2} + \frac{16 \tau_{\text{macro}}}{1+4[\omega_0 \tau_{\text{macro}}]^2} \right) \quad (2.6)$$

dir.

**Daniel** (5) ve arkadaşları, sulu bovine albümin çözeltilerinde NMR rölaksasyonu adlı çalışmalarında, su proton durulma zamanlarını, bovine plazma albüminin sulu çözeltilerinde ve çeşitli maddelerin ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{LiBr}$  ve  $\text{LiCl}$ ) ilavesi ile kimyasal olarak değiştirilmiş bovine serum albüminin değişik formlarında ölçmüşler. Proteinlerin sulu çözeltilerindeki su proton magnetik durulma zamanlarının, temelde protein hidrasyonu ile ilgili bilgiyi sağlayabildiğini ifade etmişlerdir.

Blicharska ve arkadaşları'nın "suyun durulmasına değiş-tokuş yapmayan protein protonları ile su protonlarının etkileşmesinin yol açtığı" ifadesi desteklenmiştir. Bu çalışmada denature tuzları içeren bovine plazma albüminli çözeltileri rölaksasyon oranlarını ölçtükten sonra, onların spin difüzyon mekanizması ile uyumlu olup olmadığını tartışmışlardır.

Ölçülen proton durulma oranlarını proton konsantrasyonunun lineer bir fonksiyonu olarak değiştirdiğini bulmuşlar ve gözlenen durulma oranlarının da;

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_1^0} + R_i C \quad (2.7)$$



ifadesiyle verilebileceğini belirtmişlerdir.

Burada,  $i=1,2$ ,  $T_1^0$ ; saf suyun başlangıçtaki durulma zamanı,  $C$ ; protein konsantrasyonu ve  $R_i$ ; Protein konsantrasyon miktarı ile üretilen rölaksasyon oranı artması (tuzun ilavesiyle ve proteinin kimyasal değişmesiyle tesir edilebilir)dır.

**John Oakes (6)**'in yapmış olduğu protein hidrasyonu adlı çalışmada, NMR durulma zamanlarını, sıcaklık ve protein konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak, doğal bovine serum albüminin sulu çözeltilerindeki su ve protein protonları için ölçmüştür. Protein hidrasyonu ile ilgili tahminlerini, dondurulmuş protein çözeltileri üzerindeki NMR incelemelerinden elde etmiştir. Doğal bovine serum albümin çözeltilerindeki suyun çoğunun, aynı sıcaklıktaki saf suyun akışkanlığına (mobilité) eşdeğer bir akışkanlığa sahip olduğunu gözlemlemiştir.

$1/T_1$  ölçümlerini, bovine serum albümin konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak 275 K, 294 K ve 318 K'de incelendiğinde durulmadaki artışın, % 10 bovine serum albümin konsantrasyonuna kadar lineer, daha yukarı konsantrasyonlarda ise lineerlikten saptığını ve sıcaklık artıka da  $1/T_1$ 'in artığını gözlemlemiştir. Doğal bovine serum albüminin varlığında suyun durulma oranındaki net artışın, uzun menzilli yüzey etkilerinden dolayı su moleküllerinin akışkanlığındaki azalmadan yada bulk su ile hızlı biçimde değiş-tokuş yapan, küçük miktardaki suyun proteine bağlanmasından ileri geldiğini ileri sürmüştür.

Bovine serum albümin hidrasyonunun teoriksel tahminleri; 1 gram bovine serum albümin başına amino asit kenar zincirleri üzerindeki kutup (polar) gruplarının sayısından ve kutup gruplarının suyu bağlama kapasitelerinden yapmıştır. Ayrıca bu çalışma; dondurulmuş bovine serum albüminli çözeltilerden elde edilen hidrasyon sayılarının, çözeltideki hidrasyonu iyi tahmin ettiğini ve çözeltide tahmin edilen durulma zamanlarının dondurulmuş örneklerdeki ölçümlere benzediğini ortaya koymuştur.

**L. Grösch ve F. Noack (7)**'in sulu bovine serum albümin çözeltilerinde su akıcılığının NMR rölaksasyon incelenmesi adlı çalışmada biyolojik sistemlerdeki

suyun durumunun; bulk (serbest ) su, dönerek bağlı su, dönmeden bağlı su, düzenli ya da buz gibi olmak üzere ayrı fazlarda buluna bileceğine dair çok sayıda araştırmacının görüşü yer almıştır. Ölçümleri, albüminin hem doğal hem de denature durumu için farklı konsantrasyonlarda, farklı sıcaklıklarda ve pH değerlerinde frekansa bağlı olarak gerçekleştirmişlerdir. Doğal protein çözeltilerinin sıcaklığını 0 °C ile 30 °C arasında sınırlarken denature protein ise, örneği yaklaşık 80 °C'de 5 dakika ısıtmak suretiyle elde etmişlerdir. Hesaplanan  $\tau_i$  ve  $N_i$  ( $\tau_i$ : i. faz ile ilgili katsayıdır.  $N_i$ : birim hacimde bulunan i. fazdaki protonların sayısı olmak üzere) değerlerinden, proteinin çevresinde tümü serbest, ötelemesi engellenmiş ve dönerek bağlı su olarak adlandırılan en az üç tip su tabakasının bulunabileceğini ifade etmişlerdir. Bu çevrelere ait  $\tau$  ilgi zamanlarını da sırasıyla;  $\tau_s = 10^{-10}$ sn,  $\tau_{oc} = 10^{-9}$ sn ve  $\tau_{db} = 10^{-8}$ sn olarak bulmuşlardır. Bu tabakalar arasında hızlı kimyasal değiş-tokuş olduğu varsayılarak durulma oranının (a: protein protonları, b: hidrasyonlu su protonları, c: serbest su protonları olmak üzere)

$$\frac{1}{T_1} = \frac{P_a}{T_{1a}} + \frac{P_b}{T_{1b}} + \frac{P_c}{T_{1c}} \quad (2.8)$$

şeklinde verilebileceğini ifade etmişlerdir. Dönerek bağlı durumdaki proton mesafesini 1,52 Å<sup>0</sup> ve ötelemece engellenmiş durum için proton mesafesini 1,79 Å<sup>0</sup> olarak almışlardır.

**Klaas Hallenga** (8) ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, diamagnetik proteinlerin çözeltileri içinde, çözücü protonların nükleer spin magnetik durulma oranının magnetik alana bağlı olduğunu ve bu bağlı olmanın çözünen proteinlerin dönel Brownian hareketiyle ilgili olduğunu göstermişlerdir. Çözücü proton spin-örgü durulma oranı  $1/T_1$ 'in, magnetik alanın artırılmasıyla monoton biçimde azaldığını görmüşler. Ayrıca üç protein çözeltisi için (lizozime, karbonmoksihemoglobin, helezon pomatia) döteron durulma oranını ölçmüşlerdir. Proton ve döteron rölaksasyon dağılımları arasında nicel bir ilişki tesbit etmişler.

Magnetik rölaksasyon dağılımını Cole-Cole ifadesi;

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_{1w}} + D + \frac{A[1 + (v/v_c)^{\beta/2} \text{Cos}(\pi\beta/4)]}{1+2 (v/v_c)^{\beta/2} \text{Cos}(\pi\beta/4) + (v/v_c)^\beta} \quad (2.9)$$

ile açıklamışlardır. Burada  $T_{1w}$ , serbest suyun rölaksasyon oranı  $\nu$ ;  $H_0$  alanında çekirdeğin Larmor presesyon frekansı,  $\nu_c$ ; ilgi frekansı,  $D$ ,  $A$  ve  $\beta$ ; belirlenen parametrelerdir. Cole – Cole ifadesinde  $\beta = 2$  yazarak,

$$\frac{1}{T_1} = \frac{1}{T_{1w}} + D + \frac{A}{1+(\nu/\nu_c)^2} \quad (2.10)$$

Lorentziyen ifadesini elde etmişlerdir.

Ayrıca, ilgi frekansı  $\nu_c$ 'nin protein çözeltilerinde çözücü proton durulma oranlarının dağılımından çıkarıldığını doğrulamışlar ve basit biçimde protein moleküllerinin yönelme durulma zamanı ile ilgili olduğunu bulmuşlardır.

**Hommo T. Edzes ve Edward T. Samulski (9)**'nin yaptıkları çalışmada, suyun proton NMR'ını, hücreler, dokular, hidre edilen makromoleküler ve protein çözeltileri gibi biyolojik sistemlerde su moleküllerinin moleküler dinamiklerinin yaygın biçimde kullanıldığını söylüyorlar. Kendileri ise hidre edilen kollejen proton spin-örgü durulma davranışının spin difüzyonunun bir sonucu olarak, su protonları ve makromoleküller arasındaki kross rölaksasyonu tarafından baskın olduğunu göstermişlerdir.

Spin-örgü durulmasını tek  $90^0$  pulsu ile  $(180^0 - t - 90^0)$  puls çifti, serbest indüksiyon bozunumu (FID) sinyalinin karşılaştırmasından belirlemişler ve puls çiftinin kısmi biçimde rölakse edilen magnetizasyon  $M_z(t)$ 'yi verdiği göstermişlerdir. Spin-örgü oranını  $m(t) = - [ M_z(t) - M_0 ] / 2M_0$  redüklenen magnetizasyonun bir çizgisinden belirlemişlerdir.

Serbest indüksiyon bozunumunun kolayca iki parçaya ayrılabilceğini söylerler. Makromoleküler protonların ve suyun spin – örgü durulmasını ayrı ayrı incelemişler ve şu sonuçları elde etmişlerdir. 1- Eğer rölaksasyon bozunumunun baştan 10 ms kadarlık kısmı dikkate alınmazsa, kollejen ve su protonlarının her ikisinin spin-örgü durulma oranı  $R_1$  benzerdir. 2- Suyun rölaksasyon bozunumunun başlangıcı konkav, kollejeninki ise konvekstir. 3- Kollejen döteron ile hidre edildiği

zaman, kollejen protonlarının spin-örgü durulma oranı tek-üsteldir ve suyun bulunmasından çok daha yavaş olan bir oranda ilerler.

Kross-röleksasyon oranı  $k_c$ 'yi ve magnetizasyonun suya kollejenden yayılmasını ( $k_w$  ters orandır) ortaya atmışlar ve kimyasal değiş-tokuş durumu için modife edilen (biraz değiştirilen) Bloch denklemlerinin bir takımını şöyle yazmışlardır.

$$\begin{aligned}\frac{dm_w(t)}{dt} &= -R_{1w} m_w(t) - k_w m_w(t) + k_w m_c(t) \\ \frac{dm_c(t)}{dt} &= -R_{1c} m_c(t) - k_c m_c(t) + k_c m_w(t)\end{aligned}\quad (2.11)$$

**Hommo T. Edzes** (10) ve arkadaşlarının yapmış olduğu bu çalışmada, kross röleksasyonun incelenmesi için genel bir yöntem sunmuşlardır. Heterojen biyolojik sistemlerde, su protonları ve makromoleküler protonları fazı olmak üzere iki faz bulunduğunu ve bu iki faz arasında kross röleksasyonunun meydana geleceğini söylemişlerdir. Kross röleksasyonuna su protonları ile makromoleküler protonları arasındaki Zeeman-enerji değiş-tokuşunun tesir ettiğini söylerler. İ fazında redüklenen Z magnetizasyonu  $m_i(t)$ 'yi,

$$m_i(t) = -[M_i(t) - M_{i\infty}] / 2 M_{i\infty} \quad (2.12)$$

bağıntısı ile ifade etmişlerdir. Burada,  $M_i(t)$ ; t anında magnetizasyon ve  $M_{i\infty}$ ; dengedeki magnetizasyondur. Ayrıca kross röleksasyonunu,

$$\frac{dm_i}{dt} = -R_{ri} m_i(t) - k_i m_i(t) + k_i m_j(t) \quad (2.13)$$

şeklinde Bloch denklemini içine alınabileceğini göstermişlerdir. Burada  $R_{ri}$ ; kross röleksasyonu yokluğunda i fazının spin-örgü oranı ve  $k_i$ ; kross röleksasyon oranıdır.

Ölçülen kross-röleksasyon oranını, makromoleküler protonlarının bulk'ı ve su protonlarının bulk'ı arasındaki Zeeman spin enerjisinin değiş-tokuşu ile ifade ederler ve sürecin gerektirdiği adımları şu şekilde sıralamışlardır. 1- Bulk sudan

yüzeydeki bağlı suya spin enerjisinin transferine, bağlı su ile bulk su arasındaki kimyasal değiş-tokuş yol açar. 2- Bağlı su protonlarından makromolekülün çevresindeki protonlara spin enerjisinin transferi, makromolekül yüzeyindeki bir proton ile bağlı su protonu arasındaki karşılıklı spin yer değiştirmelerinden ileri gelir. 3- Yüzey protonlarından bütün makromoleküler protonlara magnetizasyonun transferi, spin difüzyonu ve kross rölaksasyon yolu ile meydana gelir. Spin difüzyonu, kollojene geçici olarak bağlı olan su moleküllerinin üzerindeki protonlar ile kollojen protonları arasındaki hızlı değiş-tokuş vasıtasıyla meydana gelir.

**Seymour H. Koenig** (11) ve arkadaşlarının yapmış olduğu protein çözeltilerinde protonlar arası magnetik kross-rölaksasyonu adlı çalışmalarında, diamagnetik çözünen proteinlerin eklenmesi ile çözücü su çekirdeğinin magnetik spin-örgü durulma oranlarını artırdığının bilindiğini ve durulma oranındaki artışın, magnetik alanın bir fonksiyonu olduğu ve protein moleküllerinin yönelimsel durulma zamanının da alana bağlı durulma oranlarının incelemelerinden anlaşılabilirdiği ifade edilmiştir. Ayrıca çözücü ve çözünen protonlar arasındaki kross rölaksasyon sürecinden ortaya çıkan ek bir etkileşimin olduğunu göstermişlerdir. Kross rölaksasyon katkısının magnetik alan bağılılığı (yaklaşık olarak döteron rölaksasyon oranına benzeyen) değişmeksizin olduğu gibi kalan çözücü proton rölaksasyonuna oldukça benzediğini görmüşlerdir. Bu bulgular; diğer yazarlar tarafından kullanılmış , fakat magnetik alan şiddetinin geniş bir aralığı üzerindeki verilere uygulanmayan kross rölaksasyon için ifadelerin tahminleri ile uygun olmadığını belirtmişlerdir. Hem protein protonları hem de çözücü protonların durulma davranışını ortaya çıkaran iki model, iki eksponiyelin toplamı olduğunu söylemişlerdir. Bu bulgu, dokular gibi kompleks sistemlerde yayınlanmış proton durulma oranlarının yorumu için imalara sahip olduğunu ve bu verileri, kross rölaksasyonu hesaba katarak yeniden incelenmesi gerektiğini ifade etmişlerdir.

Protein çözeltilerinde çözücü protonların spin-örgü rölaksasyon oranının dağılımının, çözücü ve çözünen protonlar arasındaki kross rölaksasyon süreçlerinden katkı içerdiğini ispat etmişlerdir. Birçok deneysel incelemelere çok iyi biçimde uyan, üç parametre (  $R_T$ ; kross rölaksasyon oranı,  $R_S$ ; kross - rölaksasyonunun

olmadığı durumda çözücü protonun spin-örgü oranı,  $R_p$ ; kross-röleksasyonu olmadığı durumda protein protonunun spin-örgü oranıdır.) ve bu mekanizmaları anlamaya yarayan bir model geliştirmişlerdir.  $R_T$  kross-röleksasyon oranının yeni bir bulgu olduğunu ve  $R_T$ 'nin protein moleküllerinin yüzeyleri üzerindeki titre edilebilir gruplar üzerindeki değiş-tokuş edilebilir protonlardan oldukça uzak çözücü protonlar ve değiş-tokuş etmez protein protonları arasındaki dipolar etkileşmeden meydana gelebileceğini ileri sürerler.

**Gray D. Fullerton** (12) ve arkadaşlarının bir NMR titrasyon metodu ile lizozimin hidrasyonunu değerlendirmesi, adlı çalışmalarında, proton NMR durulma ölçümlerini kullanarak, küresel proteinlerin etrafını saran su moleküllerinin hareketleri üzerinde bilgi edinmek için yeni bir titrasyon metodu önermişlerdir. Örnekler 0,5 gr'dan 5gr'a kadar değişen lizozime tozu üzerine 5 ml su ilave etmek suretiyle hazırlanmış, bu örnekler 21 gün boyunca oda sıcaklığında tüpün kapağı açık olacak biçimde buharlaşmaya tabi tutulmuş ve bu süre içerisinde örneklerin periyodik olarak tartıları alınmış ve NMR ölçümleri yapılmıştır. En sonunda da örnekler  $90^{\circ}\text{C}$  sıcaklığında bir fırın içinde tamamen dehidre etmişlerdir.

Her  $M_{\text{madde}} / M_{\text{su}}$  oranına karşılık ölçtükleri  $1/T_1$  değerlerini grafik üzerinde değerlendirmişlerdir.  $1/T_1$ 'in  $M_{\text{madde}} / M_{\text{su}}$ 'ya karşılık grafiğini çizdiklerinde iki belirgin yer ( $M_{\text{madde}} / M_{\text{su}} = 0,723$  ve  $M_{\text{madde}} / M_{\text{su}} = 4,49$ ) ile iki lineer bölge ve bir sabit bölge elde etmişlerdir. Birinci lineer bölge ( $0 \leq M_{\text{madde}} / M_{\text{su}} < 0,723$ ) için

$$\frac{1}{T_1} = \left( 7,52 \times \frac{M_{\text{madde}}}{M_{\text{su}}} \right) + 0,22 \quad (2.14)$$

denklemini ile ikinci lineer bölge ( $0,723 < M_{\text{madde}} / M_{\text{su}} < 4,49$ ) için

$$\frac{1}{T_1} = \left( 3,58 \times \frac{M_{\text{madde}}}{M_{\text{su}}} \right) + 3,02 \quad (2.15)$$

denklemini ile verileceğini ve sabit bölge ( $M_{\text{madde}} / M_{\text{su}} > 4,49$ ) için,

$$\frac{1}{T_1} = 19,1 \pm 3,91 \quad (2.16)$$

denklemlerle verileceğini göstermişlerdir. Bu çalışmada dört su tabakası belirlemişlerdir. Bunları, 1- bulk su 2- yapılanmış su 3- kutupsal bağlı su 4- süper bağlı su olarak adlandırmışlardır. Bu tabakalara ait  $\tau$  ilgi zamanını da;  $\tau_c = 10^{-12}$  sn (bulk su),  $\tau_c = 10^{-11}$  sn (yapılanmış su),  $\tau_c = 10^{-9}$  sn (kutupsal bağlı su) ve  $\tau_c > 10^{-6}$  sn (süper bağlı su) olarak hesaplamışlardır.

**H. E. Rorschach ve C. F. Hazlewood** (13)'un biyolojik sistemlerde suyun NMR durulma zamanı ( $T_1$ ) ve protein dinamikleri adlı çalışmalarında, birçok biyolojik dokuda ve protein çözeltilerinde su için durulma oranı  $R_1$ 'in , zayıf bir frekans bağıllığı ile karakterize edildiğini söylerler. İlgi zamanının keyfi biçimde dağılımları ile su kısımlarının bu zamana kadar ki tahminleri, etkilemeksizin , doğal bir yol içinde bu frekansa bağlı olmaya tesir eden etkileşmeler için bir mekanizma sunmuşlardır. Durulma zamanlarıyla ilgili çalışmaların çok sayıda olduğunu, buna karşın temel durulma mekanizmasının anlaşılmasının oldukça güç olduğunu ve kanserli doku ve normal doku arasındaki durulma oranlarında önemli bir farkın (ayırıcı bir özellik) ilk kez 1971 yılında Domadian tarafından gözlenmiş olduğunu söylerler. Doku içinde suyun boyuna durulma zamanı  $T_1$  , özellikle zihni karıştıran bir problem olduğunu ve birkaç araştırmacı tarafından çalışma,  $10^4 < \omega/2\pi < 10^8$  MHz frekans aralığında durulma oranı  $R_1 = 1/T_1$  , için zayıf frekans bağıllığı biyolojik dokuların geniş bir farklılıkları için gösterilmiş olduğunu söylemişler. Bu frekans bağıllığının

$$R_1 = AW^{-1/2} + B \quad (2.17)$$

bağıntısı ile yüksek frekans aralığı (  $\omega/2\pi > 5$  MHz ) içinde uygun olabileceğini ifade etmişlerdir .

Durulmanın, kross-röleksasyonu ya da protein kısımları arasında değiş-tokuş ile birleştirilen protonlar ile su moleküllerinin etkileşmelerinden dolayı olduğunu ve uzun ilgi zamanları ile hareketlerin spektrumu bu kısımların fazlaca yavaşlatılan Brownian hareketinden doğduğunu söylemişler. Eğer, polimer dinamikler

mekanizması, polimer çözeltilerde suyun rölaksasyonunun doğru bir tanımlaması ise, onun biyolojik sistemlerde su üzerinde NMR verilerinin yorumuna bir başlangıç açacağına görüldüğünü ve suyun durulmasını , onun sadece bulk özellikleriyle değil, aynı zamanda onun polimer kısımlarının tahrikleri ile etkileşmelerinde gözleneceğini ve bu tahriklerin , proteinin hacim, şekil ve mekaniksel özellikleri tarafından ve suyun viskozitesi tarafından tesir edildiğini açıklamışlardır.

**J.Gallier** (14) ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, dondurulmuş doğal ve denature bovine serum albümin çözeltilerini kullanarak spin-örgü durulma zamanlarını ölçmüşlerdir.  $T_1$  spin-örgü durulma zamanı değerlerinin homojen sistemlerde daha güvenilir olduğunu ve bu yüzden ölçümlerini homojen sistem olarak sulu bovine serum albümin çözeltilerinde gerçekleştirdiklerini ifade etmişlerdir. Bağlı su moleküllerinin öteleme hareketinin  $1/T_{1su}$  'ya katkıda bulunamayacak kadar yavaş olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca kross rölaksasyonun döteronlar ile protonlar arasında etkili olmadığını ve bu yüzden de protein protonlarının  $^2H$  spin-örgü durulmasına katkıda bulunmadığını varsaymışlardır.

**Dondurulmuş çözeltiler için elde ettikleri sonuçlar:**  $T_{1su}$  süreci, bağlı su moleküllerinin hızlı izotropik dönme hareketi ile ilgilidir ve erime noktasına yakın sıcaklıklarda ( $T_c$ ),  $\tau_c$  ilgi zamanı yaklaşık olarak  $10^{-9}$  sn'dir. Bunun yanında protein protonlarının  $^1H$  spin-örgü durulma oranına önemli katkısı vardır.

**Doğal çözeltiler için elde ettikleri sonuçlar:** Su protonlarının spin-örgü durulma zamanı  $T_{1su}$  protein proton durulma zamanlarının büyük değerlerinden dolayı, protein protonları ile kross-rölaksasyonun etkili olduğu düşük frekanslardaki protonlardan başka, büyük ölçüde hem bulk hem de bağlı su moleküllerinin hareketi ile rölakse olur ve bağlı su moleküllerinin dağılımı daha yavaş iken ( $10^{-9}$ - $10^{-10}$ ), bu iki tip su molekülünün dönel ilgi zamanları aynı büyüklük mertebesindedir ( $10^{-11}$ - $10^{-12}$ ).

**Denature çözeltileri için elde ettikleri sonuçlar:** a)Bovine serum albuminin izotropik dönmesi durur ve protein katı bir hal alır. Bu durum, bir katı gibi NMR



sinyalinin görünmesine dayanır. Aynı zamanda, protein spin-örgü durulma oranına takla hareketi ile ilgili katkının görünmesi ile teyit edilir. b) Bunun aksine su hareketi,  $T_c$  erime noktası aşağısındaki ve yukarısındaki tüm sıcaklıklarda hemen hemen etkilenmez. c) Bununla beraber su NMR durulma zamanları denaturasyonun yukarısındaki üst  $T_c$ 'de çok zor değişir.  $^1H$   $T_{1su}$ , büyük ölçüde denaturasyona bağlıdır. Bu bağlılık bağlı su ile protein protonları arasındaki kross-rölaksasyon metodundan ortaya çıkar. Denaturasyon, sadece kross-rölaksasyon katkısını değiştirir.  $T_{1su}$  denaturasyonla etkilenmez.

Denature örnek  $^2H_2O$  için, su proton spin -örgü durulma oranı  $1/T_{1su}$  'yun daha uzun olmasını oldukça sürpriz sonuç olarak değerlendirmişlerdir.

Sonuç olarak, bulk su ile bağlı suyun çok farklı davranış ve ilgi zamanlarına sahip olduğunu, dondurulmuş örneklerdeki bağlı suyun ise çevresinde sadece iki hidrojen bağıymış gibi davrandığını ifade ederler. Bundan ötürüde dönel ve öteleme hareketleri arasındaki fark, onlar için ve onlara göre iki merteye büyük olan ilgi zamanları için hesaplamışlardır. Su hareketlerinin, makromoleküler yapıyı ve bağlı suyun hareketini bile değiştirmek için hassas olmadığını denature örnekler üzerindeki çalışmalarında göstermişlerdir.

Gray D. Fullerton (15) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda, küresel proteinlerin polimerizasyonu ya da havuza çekilmesi, proton NMR spin-örgü durulma zamanlarında değişmelere sebebiyet vermelerini ispatlamışlardır. Bovine serum albümin, liozime, aktin ve tubulin'in çözeltileri üzerinde çalışmalar iki mekanizmanın spin-örgü durulma zamanı  $T_1$ 'de, gözlenen değişmelerin sebebini izah etmeyi ispatlamaya çalışmışlar. Polimerizasyonun,  $T_1$ 'de bir artmaya sebep olan çözeltilerde küresel proteinlerin etrafını saran hidrasyon su kılıfı yerini değiştirdiğini ve ayrıca polimerizasyonun, tipik olarak  $T_1$ 'de zıt bir azalmaya sebebiyet veren proteinlerin ortalama takla oranını yavaşlattığını söylemişler. Hidrasyon suyunun yerinin değiştirilmesi, onun çözeltideki suyun ortalama hareketsel durumunu hızlandırdığı için  $T_1$ 'i artırdığını ve makromolekülerin havuza çekilmesi, onun çözünen moleküllerin ortalama hareketsel durumunu yavaşlattığı için  $T_1$ 'i tipik biçimde azalttığını söylemişler. Bağlı su ve proteinler arasındaki

kross-röleksasyonu, çözücünün durulma oranına tesiri, makromoleküler harekete izin veren mekanizmanın sağladığını görmüşler. Küresel proteinlerin ilgi zamanı ve durulma oranının moleküler ağırlıkla arttığını, bunun sebebini de daha iri moleküller aynı sıcaklıkta daha yavaş biçimde dönmelerinden kaynaklandığını söylemişler. Bu çalışmayı yapmalarının sebebi, biyolojik çözeltilerin NMR spin-örgü durulma zamanları üzerinde makromoleküler polimerizasyonunun etki değerini tayin etmek içindir.

**Ivan L.Cameran** (16) ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, proton nükleer magnetik rezonans (NMR) titrasyon metodunun insan eritrositlerinin incelenmesine uygulanışını ele almışlardır. NMR ölçümlerini,  $M_{madde}/M_{su}$  değerlerinin geniş aralığı için gerçekleştirmişlerdir. Bu metodun (titrasyon metodu) farklı kompartmanlar arasında bulunan protonların hızlı olarak değiş-tokuş varsayımına dayandığını söylemişlerdir. Ayrıca homopolipeptit üzerindeki NMR titrasyon çalışmaları yapan bir grup araştırmacının; NMR titrasyon eğrilerindeki kırıkların dönerek bağlı (tek bir hidrojen ile) ve dönmesiz bağlı (iki hidrojen ile) su kompartımanlarından kaynaklandığı sonucuna vardıklarını ifade etmişlerdir. Bütün ölçümleri 23 °C de yapmışlardır. Bütün örnekleri oda sıcaklığındaki bir boş bölgeye koyduktan sonra 27. Güne kadar her gün  $T_1$  ölçümlerini değerlendirmişler ve kütle tespiti yapmışlardır. Yaklaşık 27. dehidrasyon günü, örnekleri bir boş etüve alıp sıcaklığı, maksimum sıcaklık 100 °C ve örneklerin kurduğunu gösteren sabit bir kütle elde edinceye kadar sıcaklığı her gün 10 °C artırmışlardır.

Plazma, serum ve hemoglobinin bir sulu çözeltilisinin  $1/T_1$  spin-örgü durulma oranı üzerindeki ardışık dehidrasyon etkilerini incelediklerinde plazma ve serum verisinin, FPD(hızlı proton diffüzyon) modeline uygun, dört tekil nokta ve beş lineer kısım ile tanımlanabildiğini görmüşlerdir. Ayrıca her bir kompartımandaki suyun kütesini, eğimleri, sabitleri ve ilgi katsayılarını bulmuşlardır. Bunun yanında, plazma ve serum verisinin bulk suyun (durulma oranı saf suya benzeyen) ve hidrasyon suyu kompartımanın varlığını gösterdiğini ve hidrasyon suyunun da; süper bağlı (iyonik kenarlara dönmesiz bağlı), dipolar kenarlara iki yada üç hidrojen ile dönmesiz bağlı, yapılanmış ve dönerek bağlı olmak üzere dört alt kompartımana

ayrılabilirliği ile ilgili yorum yapmışlardır. Serumda bir gram kuru kütle başına düşen su miktarlarını; bulk su için; 5,73g, yapılanmış su için; 1,40g, dönerek bağlı su için; 1,52g, dönmesiz bağlı su için; 0,19g ve süper bağlı su için; 0,04g olarak ve toplam hidrasyon suyu ile toplam bağlı su için değerleri de sırayla 3,15 ile 1,75 olarak bulmuşlardır.

**Jianhui Zhong** (17) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, su protonlarının  $T_1$  durulma zamanlarını farklı durgun magnetik alanlarda (0,47, 2 ve 7 T) ve %5'lik protein çözeltilerinde ölçmüşlerdir. Döteronlu örneklerin boyuna durulma zamanı  $T_1$  ölçümleri de 2 ile 7 Tesla arasındaki alanlarda gerçekleştirmişler. Döteronlu örneklerin ölçümleri dönel ilgi zamanlarını tahmin etmek için kullanılmıştır. Proton  $T_1$  çalışmalarından çözücü ve çözünen protonların kross-rölaksasyon oranı ve örneklerdeki paramagnetik safsızlıkların katkısını elde etmişlerdir. Su protonu boyuna durulma oranı  $R_1=1/T_1$  hidre edilen biyolojik sistemlerde, su moleküllerinin moleküler dinamiklerini incelemeye yaygın biçimde kullanıldığını söylemişlerdir.

Protein çözeltileri üzerinde yapılan ölçümlerden elde edilen verilerin incelenmesi sonucunda; protein protonları (P), bulk su protonları (a) ve hidrasyon tabakası su protonları (b) olmak üzere üç farklı proton durulma özellikli üç fazın olduğunu kabul etmişler ve göz önüne almışlardır. Sistem içinde değiş-tokuş yöntemleri, protein protonlarının bulk'ı ve su protonlarının bulk'ı arasındaki Zeeman spin enerjisinin değiş-tokuşunu ve bu yöntemin üç basamak gerektirdiğini söylemişler. Bu basamaklar; 1- Bulk su protonları ve hidrasyon tabakası su protonları fazları arasındaki spin enerji transferi, bulk su ve hidrasyon tabakası arasındaki kimyasal değiş-tokuş sebebiyet verir. 2- Hidrasyon tabakası su protonları ve protein protonları fazları arasındaki spin enerji transferi, protein molekül yüzeyindeki proton ve hidrasyon tabakası su protonu arasındaki spin geçişleri vasıtasıyla vukuu bulur. 3- Protein molekül protonlarının bulkına yüzey protonlarından magnetizasyon transferi, bu transfer, protein proton sistemi içinden kross-rölaksasyonu ve spin diffüzyonu ile meydana gelir.

Su protonları için bir tek boyuna durulma oranı gözlemişler ve durulma oranını,

$$R_{1w} = P_a R_{1a} + P_b R_{1b} \quad (2.18)$$

denklemleri ile vermişlerdir.

Döteron ve protonun boyuna durulma zamanlarını protein çözeltilerinde ölçmüşler. Hidrasyon tabakası suyu ve protein molekülleri arasındaki kross-röleksasyon etkisinin ana bir rol oynadığını, buna karşın onun rezonans alanı artışlarına göre önemli biçimde azaldığını göstermişlerdir. Yaptıkları deneylerin sonuçlarından, farklı protein çözeltilerinden farklı durulma oranlarının ortalama su ilgi zamanları üzerine makromolekülerin etkilerinden ortaya çıkmadığı, ama çözücü ve çözünen protonlar arasındaki özellikle kross-röleksasyonu ve diğer başlıca etkilerin tesir ettiği neticesini çıkarmışlardır.

**Cathy Coolbaugh Lester ve Robert G. Bryant (18)** 'in yaptıkları çalışmada , hidre edilen sabit liozime de su protonlarının spin-örgü durulma oranlarını magnetik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak ölçmüşlerdir. Su-proton durulma grafiklerinin gözlenen genişliklerini protein-proton durulma oranına ek olarak su protonlarına proteinin oranı ile hesaplamışlardır. Çiftleştirilen durulma modeli, dokular gibi diğer heterojen sistemlerde ölçümleri benzer olan magnetik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak NMR durulma verileri için sebebini belirtmişlerdir.

Biyolojik sistemlerde suyun rolünün çok küçük olduğu kabul edilmiş ve protein çözeltilerinde su protonlarının nükleer magnetik spin-örgü durulma zamanlarının saf su içindekine nazaran azaldığı ve protein protonlarının spin-örgü durulma tepkisine direkt olarak bağlantı kurulduğunu göstermişlerdir. Heterojen sistemlerde nükleer spin-örgü durulması, iki nüfus arasındaki magnetik ve kimyasal değiş-tokuşla çiftleştirilen protonların iki nüfusu olarak biçimlendirilmiştir. Bir tek spin-örgü durulması proton durulma oranlarının yeterli çiftleştirmede akıcı sonucun durumunda moleküler çevrime ek olarak hızlı kimyasal değiş-tokuş ve katının durumu içinde hızlı spin diffüzyonundan ötürü her bir nüfusa ayrılabilceğini söylerler. Magnetik alan şiddetinin bir fonksiyonu olarak spin-örgü durulma oranları 291 °K de hidre edilen liozime içinde su protonları için proton Larmor frekansı olarak tarif edilmiş ve proton Larmor frekansı arttırıldıkça durulma

oranının anlamlı biçimde düştüğünü görmüşlerdir. Proton Larmor frekansının 10 MHz den büyük olan kısımlarında konsantrasyon miktarının durulma oranına bir katkısının olmadığını saptamışlardır.

**Seymour H. Koenig** (19) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 4,7 T'da ve 19 °C 'de döteronsuz ve %50 'si döteronlu olan suda hem doğal hem de kimyasal olarak kross linked bovine serum albüminin %5 ile %10 ağırlıklı çözeltileri için ve çözücünden çözüne magnetizasyon transfer oranı  $K$  ve proton için  $1/T_1$ 'in sonuçlarını bildirmişler. Bu alanda kross linked numuneleri için  $K > 1/T_1$  olmasına rağmen, magnetizasyon transferi doğrudan  $1/T_1$ 'e katkısının az olduğunu ve bu yüzden de  $K$ 'nın tamamen protein protonlarının rezonans ışınımının kullanılması ile ölçüldüğü bildirilmiştir. Yeterince akıcı olan, çözünen proteinlerin proton durulmasının su gibi, yeterince akıcı olmayan çözünen proteinlerin proton durulmasının katı gibi davrandığını görmüşlerdir.

Magnetizasyon transfer ölçümlerini 200.1 MHz Larmor frekansı ile ve 4,7 Tesla alanda CSI Spektrometresinde gerçekleştirmişlerdir. Magnetizasyon transferi oranı  $K$ 'yı

$$K = [1 - (M_s/M_o)] / T_{1sat} \quad (2.19)$$

ile ifade etmişlerdir. Doğal ve kross-linked bovine serum albüminin çözeltilerinde magnetizasyon transferi  $K$ 'nın oranını karşılaştırmışlardır.

**Seymour H.Koenig** (20) ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, kross linked albümin çözeltisi, protein çözeltileri için iyi bir model olduğunu bildirmişlerdir. Kross linked bovine serum albümindeki su protonlarının  $1/T_1$ 'in magnetik alana bağlılığı ile ilgili ölçümleri, kısmen doteronlu çözeltiler için ve bu iki katkıyı ayırmak için  $1/T_1$  değerlerini vermişlerdir. Ayrıca homojen yumuşak dokunun kross linked albümin çözeltisi ile iyi değerlendirilebileceğini bildirmişler.

Kross-linked bovine serum albümin %9 ağırlığı ve 20 °C de %10, %50 ve %100 kross-linked protonlarının üç örneği için proton  $1/T_1$  NMRD grafiklerini çizmişlerdir. Gösterilen eğri Cole-Cole eğrisine uygun olduğunu, Lorentziyen eğrisine ise uygun olmadığını göstermişlerdir.

Katı eğri, magnetik alan  $B_0$ 'ın çok geniş bir aralığı üzerine çok daha fazla homojen yumuşak dokuların proton  $1/T_1$  NMRD grafiklerinin mükemmel bir gösterimi olan bazı zamanlar için bulmuşlardır. Sonuç olarak magnetizasyon transferinin artan alan ile daha etkili biçimde iki Zeeman kaynağı çiftleştirildiği, ama  $1/T_1$  'in büyüklüğüne devamlı olarak az katkıda bulunduğu sonucuna varmışlardır.

**B.Bilcharska** (21) ve arkadaşları sulu protein çözeltileri üzerine yaptığı çalışmada, sulu protein çözeltilerindeki ilgi zamanlarının dağılımı ile ilgili olarak daha çok bilgi edinmeyi amaçlamışlardır. Durulmaya, molekül içi dipolar etkileşme yol açması halinde  $1/T_1$ ;

$$1/T_{1j} = \beta/T_{1jw} + \beta k_{ic} + q \quad (2.20)$$

denklemini ile ve durulmaya moleküller arası etkileşme yol açması halinde ise  $1/T_1$ ;

$$1/T_{1j} = \beta/T_{1jw} + k_{jc} \quad (2.21)$$

denklemini ile verilebileceği ifade edilmiştir. Verilerini bu bağıntılarla karşılaştırarak, hidrasyon tabakasındaki protonların durulmasına moleküller arası etkileşmenin yol açtığı sonucunu çıkarmışlardır. Ayrıca proteine adsorbe olan su moleküllerinin protein molekülüne nispeten biraz daha serbest olduğunu, serbest su ile bağlı su arasında hızlı kimyasal değiş-tokuş olduğunu ve birden fazla ilgi zamanının var olduğunu varsaymışlardır.

**I.D. Kuntz** (22) yaptığı çalışmada, proteinlerin hidrasyonunun belirlenimi için yeni bir metot belirlemiştir. Bir globüler protein hidrasyonunun, onu oluşturan aminoasitlerin hidrasyonu ile belirlenebildiğini göstermeye çalışmıştır.

**S. Prosser** (23) protein çözeltilerinde yapılan NMR durulma zamanı ölçümlerinin bulk suyunkinden daha kısa olmasının nedenini araştırmıştır. Bunlar ;

a) Su moleküllerinin protein moleküllerine birleşik olması: Böyle bir birleşme hakkında çok az detay bilinmesine rağmen, su ve belirli polar protein yüzeyi arasındaki hidrojen bağılılığı önemli rol oynar. Protein molekülün yüzeyindeki su moleküllerinin hareketi anizotropik olarak beklenir (Piculell ve Halle 1986). Yüzeydeki su molekülünün hareketini karakterize eden ilgi zamanlarının kesin değerleri ile bir yüzeydeki su molekülünün direnme zamanı bir

tartışma konusudur (Koenig ve arkadaşları 1975, Piculell ve Halle 1986). Buna göre protein varlığının ilgi zamanlarını değiştirdiğini ve birleşik fazdaki su proton vektörlerinin bulk su fazından daha uzun olduğunun açıkça söylenebileceği ifade edilmiştir.

b) Kross-röleksasyon (su moleküllerinin protonları ile protein protonları yeteri kadar yakın olduğunda gerçekleşir.) burada eş-zamanlı spin atlamaları olacak şekilde enerji korunmaktadır.

c) Değiş-tokuş yapabilen bazı protein protonlarının su proton spin-örgü durulma oranına katkısı.

d) Protein moleküllerine bağlı paramanyetik metal safsızlıktan su proton durulmasına katkısı.

**H.H.Raeymaekers** (24) ve arkadaşları 30 normal gönüllünün kanından hazırlanan serumdaki su proton  $T_1$  değerlerini, serumun albümin globulin ve total protein içeriğine karşı ölçmüşlerdir. Proton  $T_1$  durulma ölçümlerini 10,7 MHz'de gerçekleştirmişlerdir. Ölçtükları kan serumunun biyokimyasal faktörleri ve  $T_1$  arasında en iyi ilginin,  $1/T_1$  durulması ile serum total protein içeriği arasında olduğunu bulmuşlardır. Böylece total proteinin serum durulmasına katkıda bulunduğunu kanıtlamışlardır.

**Roger B.Geregory** (25) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, proteinler ile suyun etkileşimi; stabilizeye, dinamiğe ve fonksiyonel özelliklere sahip olan böyle etkileşmelerin büyük etkilerinden dolayı göz önüne alınabilir öneme sahip olduğunu ifade etmişlerdir. Ayrıca değişik birkaç tekniğin, proteinlerdeki değişmeleri hidrasyonun fonksiyonu olarak incelemek ve hidrasyon seviyeleri arasındaki ilişkiyi kurmak için çalışılmış olduğunu belirtmişlerdir. Buna ilaveten, lizozimin tam hidrasyonunun  $h=0.38 \text{ g}_{\text{su}}/\text{protein}$  'lik bir seviyede başarılı olduğunu açıklamıştır.

**R.J.P.Willams**'ın (26) yaptığı çalışmada NMR ile proteinleri incelemeyi amaçlamış. Birkaç çekirdeği kullanarak NMR ile yaptığı incelemelerden proteinlerin göz önüne alınabilir iç hareketliliğe sahip olduğu sonucunu çıkarmıştır. Ayrıca bu hareketliliğin genellikle dış yüzeyde olduğunu ve farklı bir yolla iç yüzeyde de olacak şekilde genişlediğini ifade etmiştir.

## BÖLÜM 3

### MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, 1963 yılından günümüze kadar yayınlanmış olan; protein çözeltilerinin NMR spin –örgü durulma zamanı ( $T_1$ ) ile ilgili makaleler araştırıldı. Elde edilen bu makaleler incelendi ve  $T_1$  durulma mekanizmasıyla ilgili bilgi edinilmeye çalışıldı. Bu çalışmalar, protein çözeltilerindeki su tabakalarının sayısına ve  $T_1$  durulmasına etki eden parametrelere göre görüşlere ayrıldı ve altı farklı görüş elde edildi.

I. Görüş ; serbest su ve dönmesiz bağlı su olmak üzere iki tabaka ve tek  $\tau$  ilgi zamanına sahip olduğunu önerir.

II. Görüş ; serbest su, dönmesiz bağlı su ve dönerek bağlı su olmak üzere üç tabaka ve iki ilgi zamanına sahip olduğunu önerir. Bu görüş, I. görüşe göre bağlı moleküller üzerinde daha fazla bilgi veriyor.

III. Görüş;  $T_1$  durulmasının suyun hidrodinamik hareketinden kaynaklandığını iddia eder. Bağlı su kavramını ve çok ilgi zamanı kavramını reddeder.

IV. Görüş ; ilk üç görüş, protein protonlarını göz önüne almazken, dördüncü görüş protein protonlarının  $T_1$  durulmasına katkıda bulunduğunu söylüyor.

V. Görüş; durulmaya protein segmentlerinin (kısımlarının) dalgalı hareketlerinin yol açtığını söylüyor.

VI. Görüş ;  $T_1$  durulmasını çok tabakalı model ile açıklıyor.

Ayrılan bu görüşler arasındaki bağlantılar, farklılıklar ve birbirlerine göre üstünlükleri mukayese edilmeye çalışıldı.



## BÖLÜM 4

### TARTIŞMA

Protein çözeltilerinin NMR spin-örgü durulma zamanı ( $T_1$ ) ile ilgili çalışmaların incelenmesi sonunda,  $T_1$  durulma mekanizmalarıyla ilgili önerilen görüşler kendi aralarında benzerliklerine ve farklılıklarına göre, altı farklı ana görüş altında toplandı. Bu görüşler ;

#### I.GÖRÜŞ

Bu görüşün başında O. K. Daszkiewicz ve arkadaşlarının yaptığı çalışma gelir. Bu görüşü G. J. Krüger ve arkadaşları, Daniel ve arkadaşları, John Oakes'in yaptıkları çalışmaların desteklediği görülür.

- O. K. Daszkiewicz (1) ve arkadaşlarının görüşlerine göre ; Suda çözünen ovalbüminin,  $T_1$  durulma zamanını azalttığını bunun bir kısım su molekülünün ilgi zamanının artışıdan kaynaklandığını ifade ederler. Durulma oranı  $1/T_1$  ile konsantrasyonunun (2.1) denkleminde uyduğunu gösterirler. Çözelti içerisinde yer alan su moleküllerinin protonları, serbest suyun protonları ve dönmesiz bağlı suyun protonları olmak üzere iki ayrı fazda bulunur ve su protonlarının bu fazlar arasında (2.2) denkleminde uyan hızlı kimyasal değiş-tokuşu  $T_1$  durulmasını sağlar.

- G. J. Krüger (2) arkadaşlarının görüşlerine göre ; çözeltide proteine sinmiş (yapışmış) su ve protein molekülleri arasındaki büyük boşluklara giren ve serbest su gibi davranan su olduğunu ve böylece suyun iki ayrı fazda bulunacağına dair yorumlar yapmışlar. Toplam durulma oranlarını, bu fazlar arasındaki su protonlarının hızlı kimyasal değiş-tokuşu sağlar.

- Daniel (5) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; proteinlerin sulu çözeltilerindeki su proton magnetik durulma zamanlarının, temelde protein hidrasyonu ile ilgili bilgiyi sağlayabildiğini ifade ederler. Blicharska'nın "suyun durulmasına değiş-tokuş olmayan protein protonları ile su protonlarının etkileşmesinin yol açtığı" ifadesini desteklemişler.

- John Oakes (6)'nın görüşüne göre; çözeltideki protein ve su protonlarının NMR durulma zamanları protein konsantrasyonunun ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ölçmüş ve  $1/T_1$  ölçümlerinin %10 protein konsantrasyonuna kadar lineer,

daha yukarı konsantrasyonlarda ise lineerlikten saptığını ve sıcaklık arttıkça da  $1/T_1$ 'in arttığını gözlemlemiş ve ölçümlerin iki tabakalı model ile uyumlu olduğunu göstermiş.

## II. GÖRÜŞ

- Alan G. Marshall (4) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; makromoleküle bağlı bir grubun iç dönmesinin ve diffüzyonal ve diğer rasgele hareketlerle oluşan iç dönmelerin durulma zamanları üzerinde etkili olduğunu söylerler. Ayrıca, çözelti viskozitesinin de ölçülen durulma zamanı üzerinde önemli etkisinin olduğunu gösterirler. Yavaş yada hızlı iç dönme durumunda,  $1/T_1$ 'in moleküller içi dipol-dipol etkileşmeden kaynaklandığını varsaymışlar ve bu durum için  $1/T_1$ 'i (2.6) denklemiyle vermişler.

- Seymour H. Koenig (3) arkadaşlarının görüşlerine göre; çözeltideki su moleküllerinin dönmesiz bağlı olması gerektiğini protein moleküllerine göre sabit bir geometriye sahip olan bir eksen etrafında dönmelerinin sınırlandırılmasının yeterli olduğunu belirtirler. Sabit bir  $r_{pp}$  mesafesindeki etkileşen bir proton çiftinin durulma oranı  $1/T_1$  (2.3) denklemi ile verilir, (2.3) denkleminin proteine dönmesiz bağlı olan su molekülü için geçerli olduğunu varsayıp, ilgi zamanını  $2 \times 10^{-7}$  sn olarak bulmuşlar.

## III. GÖRÜŞ

- Klaas Hallenga (8) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; diamagnetik proteinlerin çözeltilerinde, çözücü protonların NMR durulma oranlarının magnetik alana bağlı olduğunu ve bağlı olmanın çözünen proteinlerin dönel Brownian hareketiyle ilgili olduğunu göstermişler. Çözücü proton spin-örgü durulma oranı  $1/T_1$ 'in magnetik alanın artırılmasıyla monoton biçimde azaldığını söylerler.  $T_1$  durulmasının suyun hidrodinamik hareketinden kaynaklandığını söylerler. Magnetik rölaksasyon dağılımını Cole-cole ifadesi (2.9) ile açıklamışlar.

## IV. GÖRÜŞ

Bu görüşün başında Seymour H. Koenig (19) ve arkadaşlarının yaptığı çalışma gelir. Bu görüşü, Hommo T. Edzes ve arkadaşları, Edward T. Samulski ve arkadaşları, Cathy Coolbaugh Lester ve Robert G. Bryant, Jianhur Zhong ve

arkadaşları, Seymour H.Koenig (20,21) ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaların desteklediği görülür.

- Seymour H. Koenig (19) ve arkadaşlarının görüşlerine göre ; kross linked bovine serum albüminin %5 ile %10 ağırlıklı çözeltileri için ve çözücünden çözünene magnetizasyon oranı  $K$  ve proton için  $1/T_1$ 'in sonuçlarını ve bu alanda kross linked numuneleri için  $K > 1/T_1$  olmasına rağmen , magnetizasyon transferinin doğrudan  $1/T_1$ 'e katkısının az olduğunu bildirirler. Yeterince akıcı olan, çözünen proteinlerin proton durulmasının su gibi, yeterince akıcı olmayan çözünen proteinlerin proton durulmasının katı gibi davrandığını söylerler.

- Hommo T. Edzes (10) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; kross rölaksasyonunun spin-örgü durulma oranını önemli ölçüde değiştirir. Ölçülen kross-rölaksasyon oranını, makromoleküler protonlarının bulk'ı ve su protonlarının bulk'ı arasındaki Zeeman spin enerjisinin değiş-tokuşu ile ifade ederler ve sürecin gerektirdiği adımları şu şekilde sıralarlar; 1- Bulk sudan yüzeydeki bağlı suya spin enerjisinin transferine, bağlı su ile bulk su arasındaki kimyasal değiş-tokuş yol açar. 2- Bağlı su protonlarından, makromolekülün çevresindeki protonlara spin enerjisinin transferi, makromolekül yüzeyindeki bir proton ile bağlı su protonu arasındaki karşılıklı spin yer değiştirmelerinden ileri gelir. 3- Yüzey protonlarından makromoleküler protonlara magnetizasyon transferi spin diffizyonu ve kross-rolaksasyon yoluyla meydana gelir.

- Hommo T. Edzes ve Edward T. Samulski (9)'nın görüşlerine göre; Hidre edilen kollejende proton spin-örgü durulma davranışının spin diffizyonunun bir sonucu olarak, su protonları ve makromoleküler arasında ki kross rölaksasyonu tarafından baskın olduğunu gösterirler. Makromoleküler protonların ve su protonlarının spin- örgü durulmasını incelemişler ve şu sonuçları bulmuşlar. 1- Baştan 10ms'lik kısım dikkate alınmazsa, kollejen ve su protonlarının durulma oranı  $1/T_1$ 'e benzerdir. 2- Başlangıçta suyun durulma oranı, konkav , kollejeninki ise konvekstir. 3- Kollejen döteron ile hidre edildiğinde kollejen protonlarının durulma oranı, üstel ve suyun bulunmasından çok daha yavaştır.

- Cathy C. Lester ve R. G. Bryant (18)'in görüşlerine göre; protein çözeltilerinde su protonlarının spin-örgü durulma zamanları  $T_1$ 'in saf suyunkine nazaran azaldığını gösterirler. Spin-örgü durulmasını, protein ve su protonları arasındaki hızlı kimyasal değiş-tokuş ve katının durumu içinde spin difüzyonundan ötürü sağlandığını söylerler.

- Jianhui Zhang (17) ve arkadaşlarının görüşlerine göre;protein çözeltileri üzerinde yapılan ölçümlerden elde edilen verilerin incelenmesi sonunda, protein protonları, bulk su protonları ve hidrasyonlu su protonları olmak üzere üç farklı proton durulma özellikli üç fazın olduğunu kabul ederler.  $T_1$  durulmasına hidrasyonlu su ve protein molekülleri arasındaki kross-rölaksasyonun önemli rol oynadığını söylerler.

- Seymour H.Koenig (11) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; protein çözeltilerinde çözücü protonların spin-örgü durulma oranı dağılımına, çözücü ve çözünen protonlar arasındaki kross-rölaksasyonu katkıda bulunur. Kross-rölaksasyon oranının çözücü protonlar ve değiş-tokuş yapmayan protein protonları arasındaki dipolar etkileşmeden meydana gelebileceğini ileri sürerler.

## V. GÖRÜŞ

- H . E. Rorsch ve C .F. Hazlewood (13) ' un görüşlerine göre ; protein çözeltilerinde su için durulma oranı  $1/T_1$ 'in zayıf bir frekans bağıllığı ile karakterize edildiğini ve bu frekans bağıllığının (2.17) denklemine uyduğunu belirtirler.  $T_1$  durulmasının kross-rölaksasyonu yada protein kısımları arasında değiş-tokuşla birleştirilen protonlar ile su moleküllerinin etkileşmesinden dolayı olduğunu söylerler.

## VI. GÖRÜŞ

Bu görüşün başında G. D. Fullerton (12) ve arkadaşlarının yaptığı çalışma gelir. Bu görüşü L.Grösh ve F.Noack, J. Gallier ve arkadaşları, G. D. Fullerton ve arkadaşları Ivan L. Cameron ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaların desteklediği görülür.

- Gray D. Fullerton (12) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; küresel proteinlerin etrafını saran su moleküllerinin hareketleri üzerine bilgi edinmek için

titrasyon metodu önermişler. Her  $M_{\text{madde}}/M_{\text{su}}$  değerine karşılık  $1/T_1$  değerini ölçmüşler ve grafiğini çizmişler. Bu grafikte iki belirgin yer ile iki lineer bölge ve bir sabit bölge elde etmişler. Birinci lineer bölgenin (2.14) denklemi ile ikinci lineer bölgenin (2.15) denklemi ile ve sabit bölgenin (2.16) denklemi ile verileceğini söylerler. Bunlara göre bu çalışmada ; bulk su , yapılanmış su, kutupsal bağlı su ve süper bağlı su olmak üzere dört su tabakası vardır.  $T_1$  durulmasını bu tabakalar arasındaki kimyasal değiş-tokuşun sağladığını belirtirler.

- L. Grösh ve F. Noack (7)'in görüşlerine göre ; proteinin çevresinde, tümü serbest, ötelenmesi engellenmiş ve dönerek bağlı su olarak adlandırılan en az üç tip su tabakasının bulunabileceğini ifade ederler ve bu tabakalara ait  $\tau$  ilgi zamanlarını sırasıyla ,  $\tau_s=10^{-11}$  sn,  $\tau_{\text{de}}=10^{-9}$  sn ,  $\tau_{\text{db}}=10^{-8}$  sn olarak bulmuşlar. Bu tabakalar arasında hızlı kimyasal değiş-tokuş olduğunu varsayarak  $1/T_1$  durulma oranını (2.8) denklemi ile ifade etmişler

- J. Gallier (14) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; bağlı su moleküllerinin öteleme hareketinin  $1/T_{1\text{su}}$ , ya katkıda bulunamayacak kadar yavaş olduğunu gözlemlemişler. Kross-röleksasyonunun döteronlar ile protonlar arasında etkili olmadığını ve bu yüzden de protein protonlarının  $^2\text{H}$   $T_1$  durulmasına katkıda bulunmadığını varsaymışlardır.

- Gray D. Fullerton (15) ve arkadaşlarının görüşlerine göre ; küresel proteinlerin polimerizasyon proton NMR spin-örgü durulma zamanlarında değişmelere sebebiyet verir.  $T_1$  durulmasını çok tabakalı model ile açıklarlar.

- Ivan L. Cameron (16) ve arkadaşlarının görüşlerine göre; protein çözeltisinde bulk su ve hidrasyonlu su bulunduğunu ve hidrasyonlu suyun da, süper bağlı, dönmesiz bağlı, yapılanmış ve dönerek bağlı su olmak üzere dört alt tabakaya ayrılabilceğini söylerler.  $T_1$  durulmasını bu tabakalar arasındaki hızlı kimyasal değiş-tokuş sağlar.

## BÖLÜM 5

### SONUÇLAR

Bu çalışmadan çıkarılan sonuçlar:

I. Görüş:  $T_1$  durulmasını, serbest suyun protonları ile proteine dönmesiz bağlı su protonları arasındaki hızlı kimyasal değiş-tokuş sağlar.

II. Görüş:  $T_1$  durulmasına, makromoleküler içi dönme de katkıda bulunur.

III. Görüş:  $1/T_1$  durulma oranının magnetik alana bağlılığı çözünen proteinlerin dönel Brownian hareketiyle ilgili olduğu görülür.  $T_1$  durulmasını suyun hidrodinamik hareketi sağlar.

IV. Görüş:  $T_1$  durulmasına makromoleküler (protein) ve su protonları arasındaki kross-röleksasyonu katkıda bulunur.

V. Görüş:  $T_1$  durulması, kross-röleksasyonu ya da protein kısımları arasında değiş-tokuşla birleştirilen protonlar ile su molekülerinin etkileşmelerinden kaynaklanır.

VI. Görüş:  $T_1$  durulmasını çok tabakalı model ile açıklarlar.  $T_1$  durulmasını, farklı tabakalar arasında bulunan protonların hızlı kimyasal değiş – tokuşu sağlar.

## KAYNAKLAR

1. DASZKIEWICZ ,O.K.,HENNEL,J.W.,LUBAS,B.,1963.Proton Magnetic Relaxation and Protein Hydration, Nature, 200.1006,1007.
2. KRÜGER, G.J., and HELCKE, G.A., 1967. Proton Relaxation of Water Adsorbed on Protein, Colloque Ampere XIV, North –Holland Publ, 1137-1142 .
3. KOENİG,S.H. and SCHİLLİNGER,W.E. , 1969. Nuclear Magnetic Relaxation Dispersion in Protein Solutions, J.Biol. Chem. 244 (12), 3283-3289.
4. MARSHALL , A.G. , SCHMİDT, P .G. and SYKES, B.D. , 1972 Effect of Internal Rotation on Nuclear Magnetic Relaxation Times for Macromolecules , Biochemistry , 11 (21) 3875 – 3879.
5. ELEY,D.D. ,HEY, M.J. and WARD, A.J.I. ,1974 . Nuclear Magnetic Resonance Relaxation in Aqueous Bovine Albumin Solutions, J.Chem.Soc. Faraday Transact. I , 5,1106-1113.
6. OAKES ,J.,1975. Protein Hydration , J. Chem.Soc. Faraday Transact. I , 72,216-227.
7. GRÖSCHL and NOACK,F.,1976. NMR Relaxation Investigation of Water Mobility in Aqueous B Bovine Serum Albumin Solutions, Biochimica et Biophysica Acta, 1945, 218 – 232.
8. HALLENGA, K. and KOENİG, S. H. 1976. Protein Rotational Relaxation as Studied by Solvent <sup>1</sup>H and <sup>2</sup>H Magnetic Relaxation, Biochemistry, 15 (19), 4255 – 4263.
9. EDZES, H.T. and SAMULSKİ, E.T., 1977.Cross Relaxation and Spin Diffusion in the Proton NMR of Hydrated Collgen, Nature, 265, 521 – 523.
10. EDZES, H.T. and SAMULSKİ, E.T., 1978.The Measurement of Cross – Relaxation Effects in the Proton NMR Spin – Lattice Relaxation of Water in Biological Systems: Hydrated Collagen and Musele, J.Mag. Rezon., 31, 207 –229
11. KOENİG, S.H. BRYANT, R.G., HALLENGA, K. and JACOP, G.S. 1978. Magnetic Cross – Relaxation Among Proton in Protein Solutions, Biochemistry, 17 (20), 4348 – 4358
12. FULLERTON, G.D., ORD, V.A., and CAMERON, I.L., 1986. An Evaluation of the Hydration of Lysozyme by an NMR Titration Method, Bioch. Et Biopy. Acta. 869, 230 – 246.
13. RORSCHACH , H.E. and HAZLEWOOD , C.F.,1986. Protein Dynamics and the NMR Relaxation Time T<sub>1</sub> of Water in Biological Systems , Journal of Magnetic Resonance ,70,79-88.
- 14.GALLIER,J., RİVET, P. and CERTAINES, J.,1987.<sup>1</sup>H –and <sup>2</sup>H –NMR Study of Bovine Serum Albumin Solutions ,Bioch. et. Bioph.Acta ,915,1-18.

15. FULLERTON, G.D., FINNIE, N.F. , HUNTER, K.E., ORD, V.A . and CAMERON , I.N., 1987.The Influence of Macromolecular Polymerization on Spin – Lattice Relaxation of Aqueous Solutions, **Magnetic Resonance Imaging**, 5,353-370.
16. CAMERON, I.L.,ORD , V.A. and FULLERTON , G.D. , 1988 .Water of Hydration in the Intra and Extra – Cellular Enviroment of Human Erythrocytes, **Biochem . Cell.Biol.**, .66,1186-1199
17. ZHONG , J.,GORE , J.C. and ARMITAGE, I.M.,1990 Quantitative Studies of Hydrodynamic Effects and Cross- relaxation in Protein Solutions and Tissues with Proton and Deuteron Longitudinal Relaxation Times , **Magnetic Res. In Med.** , 13, 192-203.
18. LESTER , C.C. And BRYANT, R.G. ,1991.Water – Proton Nuclear Magnetic Relaxation in Heterogeneous Systems:Hydrated Lysozyme Results,**Magnetic Res.in Med.**, 22,143-153.
19. KOENIG, S.H. , BROWN, R.D. and UGOLINI , R.1993. Magnetization Transfer in Cross-Linked Bovine Serum Albumin Solutions at 200 MHz: A model for Tissue , **Magnetic Res.in Med** ,29,311-316.
20. KOENIG , S.H. and BROWN, R.D.1993. A Molecular Theory of relaxation an Magnetization Transfer : Application to Cross-Linked BSA, a Model for Tissue, **Magnetic Res.in Med** , 30.685-695.
21. BLICHARSKA,B., FLORKOWSKI Z., HENNEL ,J. W., HELD ,G.and NOACK, F.,1970. Investigation of Protein Hydration By Protein Spin Relaxation Time Measurements , **Biochimicia et Biophysica Acta**,207, 381-389. .
22. KUNTZ ,I.D.,1971. Hydration of Macromolecules III. Hydration of poly peptides , **Jamer. Chem. Soc.**,93,514-517.
23. PROSSER , S. and PEEMOELLER, H.,1991. Nature of Lysozyme Water Interactions by Proton NMR , **Biochem. Cell. Biol.** , 69,341-346.
24. REAYMAEKERS ,H.H.,BORGHYS , D. and EISENDRATH, H. 1998. Determinants of Water Proton T<sub>1</sub> in Blood Serum, **Magnetic Res.in Med** ,6,212-216.
25. GREGORY , R.B., GANGODA , M., GILPIN ,R.K. and SU ,W.,1993.The Influence of Hydration on the Conformation of Lysozyme Studied by Solid –State <sup>13</sup>C –NMR Specrescopy , **Biopolymers**, 33,513-519.
26. WILLIAMS ,R.J.P.,1993. Protein Dynamics Studied by NMR, **Eur Biophys J.**, 21,393-409.
27. APAYDIN ,F.,1979. Magnetik Rezonans: Temel İlkeler , **Çağdaş Fizik** .
- 28.ORAL ,B.,1972. Magnetik Rezonans , **H.Ü. Müh. Fak. Fizik Enst.**
29. TABAK ,F. 1994. NMR'ın Temelleri,**H.Ü. Müh.Fak.**
- 30.KAVAK, G. , 2000. Doktora Tezi, **D.Ü.Fen Bil. Enst.**



## ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1.1.** Spini  $3/2$  olan  $^{11}\text{B}$  çekirdeğinin bir dış magnetik alandaki Zeeman yarılması

**Şekil 1.2.**  $\vec{\mu}$  çekirdek magnetik momentinin  $H_0$  alanı etrafındaki presesyon hareketi

**Şekil 1.3.** Magnetik rezonansın oluşumu

**Şekil 1.4.** Spin kuantum sayısı  $1/2$  olan bir sistemin  $H_0$  alanın uygulanması durumunda spinlerin yönelimi

**Şekil 1.5.** Spin sistemi ile örgü arasındaki ısısal etkileşme

**Şekil 1.6.** Spin-örgü etkileşmesi ile yeniden oluşan geçişler

**Şekil 2.1.a** Dar ilgi dağılımı

**Şekil 2.1.b** Geniş ilgi dağılımı

## **ÖZGEÇMİŞ**

*1972 Yılında Gölbaşı'nda doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Gölbaşı'nda tamamladım. 1991 yılında S.Ü. Ereğli Meslek Yüksekokulu İnşaat Programı'nı tamamladım. 1993 yılında D.Ü. Eğitim Fakültesi Fizik Bölümünü kazandım ve 1997 yılında mezun oldum. 1997-1998 Öğretim yılında D.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalında Yüksek Lisans Eğitimine başladım. Milli Eğitim Bakanlığında öğretmen olarak çalışmaktayım.*

