

**MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYON
METODU İLE BAZI PEPTİTLERİN İKİNCİL
YAPILARININ İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF THE SECONDARY STRUCTURES OF
SOME PEPTIDES BY MOLECULAR DYNAMICS
SIMULATION METHOD**

M. ERMAN OĞUZ

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

FİZİK Mühendisliği Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

OLARAK HAZIRLANMIŞTIR.

2011

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Bu çalışma jürimiz tarafından **FİZİK MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Başkan :.....
Prof. Dr. Vildan ADAR

Üye (Danışman) :.....
Prof. Dr. Fatih YAŞAR

Üye :.....
Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI

Üye :.....
Doç. Dr. Mehmet DİLAVER

Üye :.....
Yrd. Doç. Dr. Kadir DEMİR

ONAY

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından/...../..... tarihinde uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulunca/...../..... tarihinde kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Adil DENİZLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYON METODU İLE BAZI PEPTİTLERİN İKİNCİL YAPILARININ İNCELENMESİ

M. Erman OĞUZ

ÖZ

Bir proteinin termodinamik özellikleri ile kararlı yapılarının belirlenmesinde deneysel yöntemler önemli bir yer tutar. Özellikle 3 boyutlu yapılarının belirlenmesinde X-ışınları, Nükleer Magnetik Resonans gibi değişik spektral yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber, herhangi bir peptit veya proteinin dinamik davranışı ya da meydana gelen katlanma olayının anlaşılmasında yeterli bilgi deneysel yöntemlerden elde edilemeyebilir. Ya da, sentezlenen herhangi bir peptit veya proteinin yaşam ömrünün kısa olması, deneysel yöntemlerin kullanım etkinliğini azaltacaktır. Bu gibi durumlarda sistemin anlaşılması için kuramsal yöntemlere başvurulması kaçınılmaz olur.

Diğer taraftan protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Tamamı ile yeni matematiksel yaklaşımlarla bu sistemler izah edilmeye çalışılmasına rağmen, en önemli bilgilerin simülasyon çalışmaları ile elde edileceği bilinmektedir (Hao and Scheraga, 1994; Hansmann and Okamoto, 1993; 1997, Okamoto, 1998). Bu nedenle son otuz yıldır proteinlerin düşük enerjili konformasyonları simülasyon teknikleri ile örneklenmeye çalışılmaktadır (Meirovitch et al., 1997, Baysal and Meirovitch, 1997).

Proteinin sahip olduğu yapı ve dinamiği incelemek ve bilgi edinmek için yoğun olarak kullanılan yöntemlerden birisi Moleküler Dinamik (Adler ve Wainwright, 1957) simülasyonu tekniğidir. Ancak, simülasyon açısından bakıldığında, Moleküler Dinamik simülasyonlarının, protein veya peptitlerin gerçek konformasyon uzaylarının tümünü elde etmede zorlukları vardır. Bu zorluğu yaratan ana sebep, özellikle düşük sıcaklıkta, yüksek enerjili bariyerle ayrılmış çok sayıda enerji vadilerinden birinde takılıp kalmasıdır.

Bu tez çalışmasında, gıda zehirlenmelerine sebep olan Staphylococcal enterotoxin B toksinlerinin saptanmasında biyosensör olarak kullanılması öngörülen ve

deneysel yöntemlerle sentezlenmiş, her biri 12 amino-asitden oluşan üç farklı peptit dizilimlerinin (Ceyda et al., 2010) doğal konformasyonlarının deterministik bir yaklaşım olan Moleküler Dinamik tekniği ile incelenmesini amaçlamıştır. Klasik MD simülasyonlarında bilinen sorunların üzerinden gelinebilmesi için belirlenen bir protokol izlenmiştir.

Deneysel yöntemlerle sentezlenen bu peptitlerin X-ışını veya NMR spektral teknikleri ile elde edilmiş kararlı yapılarını bulunmamaktadır. Buna karşın, aynı peptitlerin “Circular Dichroism” (CD) spektral yöntemi ile edilmiş bilgiler bulunmaktadır. CD bilgilerinden, her üç peptit diziliminde genel olarak rastgele sarmal, beta-dönüşleri, beta-yaprağı ve helis yapısı göstereceği ilgili çalışmada ifade edilmiştir. Bilindiği üzere CD yöntemi belirlediği bu ikincil yapıların hangi amino-asitleri kapsadığı bilgisi yer almamaktadır.

Bu tez çalışması, ilgili peptitlerin sahip olabilecekleri bu yapıların MD simülasyon tekniği ile gözlenip gözlenemeyeceğinin araştırılması, eğer gözlemlenebiliyor ise hangi amino-asitler arasında daha baskın olarak oluşabileceğinin araştırılmasını hedeflemiştir. Bu kapsamda yapılan tez çalışmasında, ilgili peptitlerin MD simülasyonları için tamamı ile birincil yapıdan başlayarak elde edilmiş sonuçlar, deneysel sonuçlarla uyum halde olduğu gösterilmiştir.

Anahtar Sözcükler: Moleküler Dinamik Simülasyonları, Benzetişimli Tavlama, Minimizasyon, Protein ve Peptit, Moleküler Modelleme, Su Modelleri, İkincil Yapılar, Kuvvet alanları.

INVESTIGATION OF THE SECONDARY STRUCTURES OF SOME PEPTIDES BY MOLECULAR DYNAMICS SIMULATION METHOD

M. Erman OĞUZ

ABSTRACT

The experimental methods plays an important role in determining thermodynamic properties and the stable structures of a protein. In various spectral methods such as nuclear magnetic resonance or x-ray is widely used to determinate 3-dimensional structure. However, experimental methods may not be obtained enough information in understanding the dynamic behavior or folding of any peptide/protein. Also, any peptide or protein to be produced in a short lifetime, will reduce the efficiency of the use of experimental methods. In such cases, the system will inevitably be resorted to understand with the theoretical methods.

On the other hand protein structures have a very high level of flexibility that causes the abnormal number of possible conformations. Such a these system which have large number of degrees of freedom is very difficult to understand theoretically. Although, these systems to be explained with the new mathematical approaches to working, is known to be the most important information obtained by the simulation studies (Hao and Scheraga, 1994; Hansmann and Okamoto, 1993; 1997, Okamoto, 1998). Therefore, the last thirty years has been tried to analyze the low-energy conformations of proteins with simulation techniques (Meirovitch et al., 1997, Baysal and Meirovitch, 1997).

To investigate of protein structure and dynamics, Molecular Dynamics (MD) (Adler and Wainwright, 1957) technics have been used extensively. From the point of simulations, Molecular Dynamics methods is not well suited for obtaining a true sample of the complete conformational space of realistic protein and peptides. The main factor that create this difficulty is the very rugged shape of potential energy surface of protein and peptides which usually causes conventional simulation methods to be come trapped in the valley of a particular energy minimum at relatively low temperature.

In this thesis, we aimed to examine natural conformations of experimentaly produced three different bosensors peptide sequences by Molecular dynamics simulations. These peptides are used for detection of Staphylococcal enterotoxin

B toxins which causes food poisoning. For all MD simulations, we followed a protocol set to come out of the known issues about classical MD simulations.

Up to now, there is no three-dimensional conformations of these peptide sequences, which have been obtained with spectral techniques as X-ray or NMR. However, the information of these peptides was obtained by “Circular Dichroism” (CD) spectral method. According to CD results, all three peptide sequences show random coil, beta-sheet, turn and helix structure, mainly. But, (CD) spectral method is not included information which residues covered by these secondary structures. In this context, the thesis demonstrated that the results obtained from MD simulations are consistent with the experimental results.

Key Words: Molecular Dynamic Simulations, Simulation Annealing, Minimizasyon, Protein and Peptide, Molecular Modeling, water models, Force Fields, Secondary Structures

TEŞEKKÜR

Tez alıőmasının organize edilmesi ve tamamlanmasının her aşamasında gosterdiği yoğun ilgi, emek ve yardımlarından dolayı, hem teze sağladığı bŸyŸk katkılar hem de değerli bilgileriyle birlikte tŸm zamanını paylaőan danıőmanım Sayın Prof. Dr. Fatih YAŞAR' a,

İlgili örneklerin çalışılmasına imkan sağlayan Hacettepe Ÿniversitesi Gıda MŸhendisliėi BlŸmŸ ğretim Ÿyelerinden Sayın Prof. Dr. İsmail Hakkı BOYACI ile Sayın Arő. Gör. F. Ceyda DUDAK'a,

Yapıcı eleőtirileri ve katkılarından dolayı Zonguldak Karaelmas Ÿniversitesi Fizik BlŸmŸ ğretim Ÿyesi Sayın Yrd. Doç. Dr. Kadir DEMİR ve Arő. Gör. Nesrin KILIÇ'a,

Gösterdikleri anlayıő, maddi ve manevi desteklerinden dolayı sevgili Aileme,

Tez alıőması esnasında "901.602.003" nolu proje kapsamında sağladıkları desteklerden dolayı Hacettepe Ÿniversitesi Bilimsel Araőtırmalar Birimine,

Destek ve yardımlarından dolayı tŸm arkadaőlarıma,

içtenlikle teőekkŸr ederim.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
ÖZ	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
1. GİRİŞ.....	1
2. BİYOLOJİK YAPILAR.....	5
2.1. Amino-asitler ve Proteinler	5
2.2. Proteinlerin Yapı ve İşlevleri	9
2.3. Protein Yapılarının Belirlenmesi	12
2.4. Biyosensörler.....	12
3. MOLEKÜLER MODELLEME	15
3.1. Etkileşme Terimleri ve Kuvvet Alanları	16
3.2. Su Modelleri	20
4.SİMÜLASYON	23
4.1. Simülasyon Teknikleri.....	23
4.2. Monte Carlo Metodu	24
4.3. Moleküler Dinamik.....	26
5. MOLEKÜLER DİNAMİK	29
5.1. Moleküler Dinamiğin Temel Kavramları.....	29

5.2. Moleküler Dinamik Tekniğinde Sınır Koşulları	31
5.2. Moleküler Dinamikte Kullanılan Algoritmalar	32
5.3. Verlet Algoritması	34
5.4. Etkileşme Hesapları İçin Kullanılan Algoritmalar	36
5.4.1. Bağlı etkileşimler.....	36
5.4.2. Bağlı olmayan etkileşimler	37
5.5. Enerji Minimizasyonu.....	37
5.5.1. Steepest Descent algoritması	37
5.5.2. Conjugate Gradient algoritması	38
5.6. Benzetişimli Tavlama (Simulated Annealing) Algoritması.....	38
5.7. Moleküler Dinamikte Sıcaklık-Basınç Kontrolü	40
5.7.1. Hız ölçeklendirmesi metodu	40
5.7.2. Berendsen sıcaklık çiftlenimi.....	41
5.7.3. Genişletilmiş sistem metodu	41
5.7.4. Parinello-Rahman basınç çiftlenimi.....	42
6. SİMÜLASYON ÇALIŞMASI.....	44
6.1. Kullanılan Yazılım.....	44
6.2. Metod	45
6.2.1. İzlenen yol haritası ve teknik detaylar	46
6.3. Simülasyon Sonuçları.....	48
7. SONUÇ VE YORUM	69
KAYNAKLAR.....	72
ÖZGEÇMİŞ	77

ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1. Amino-asit'in basit yapısı.	5
Şekil 2.2. İki amino-asit molekülünün bir peptit bağı ile birleşmesi.	7
Şekil 2.3. Basit bir peptitin şematik gösterimi.	8
Şekil 2.4. Peptit bağlarının dönüş açıları.	9
Şekil 2.5. Protein yapıları.....	11
Şekil 3.1. Lennard-Jones potansiyeli.....	19
Şekil 3.2. Literatürdeki bazı su modellerinin şematik gösterimleri.	22
Şekil 5.1. Periyodik sınır koşullarının uygulanması.	31
Şekil 6.1. Vakum simülasyonları için başlangıç konformasyonları ve ikincil yapılar.	50
Şekil 6.2. Vakum ortamında SA yöntemi sonucu elde edilen konformasyonlar ve ikincil yapılar.....	51
Şekil 6.3. Çözelti ortamında üretim aşaması için kullanılan başlangıç konformasyonu ve ikincil yapılar.....	52
Şekil 6.4. Peptit I için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.....	55
Şekil 6.5. Peptit II için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.....	56
Şekil 6.6. Peptit III için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.....	57
Şekil 6.7. Peptit I için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.....	59
Şekil 6.8. Peptit II için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.....	60
Şekil 6.9. Peptit III için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.....	61
Şekil 6.10. Peptit I'in zamana bağlı ikincil yapıları.	64
Şekil 6.11. Peptit II'nin zamana bağlı ikincil yapıları.	65
Şekil 6.12. Peptit III'nin zamana bağlı ikincil yapıları.	66
Şekil 6.13. Üretim aşaması sonucu elde edilen konformasyonlar ve ikincil yapılar	68

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 2.1. Amino-asitlerin standart kodları.....	6
Çizelge 3.1. Çeşitli su modellerinin karşılaştırılması (Jorgensen et al.,1983).....	21
Çizelge 6.1. Peptitlerin ortalama sıcaklık-basınç değerleri.....	54

SİMGELER ve KISALTMALAR

α	Burulma açısı
CD	Circular Dichroism
E	Enerji
F	Kuvvet
H	Hamiltonyen
l	İki atom arasındaki bağ uzunluğu
k_B	Boltzmann sabiti
m	Kütle
MC	Monte Carlo
MD	Moleküler Dinamik
μVT	Büyük Kanonik Küme
NMR	Nükleer Magnetik Resonans
NPT	İzobarik Küme
NVE	Mikrokanonik Küme
NVT	Kanonik Küme
Θ	İki atom arasındaki açı
p	Momentum
P	Basınç
r	Konum
RMSD	Ortalama kare yer değiştirme
SASA	Erişim yüzey alanı
SEB	Staphylococcal enterotoxin B
T	Sıcaklık
V	Hacim
Z	Üleşim fonksiyonu
τ	Çiftlenim parametresi

1. GİRİŞ

Günümüzün en güncel problemlerinden biri protein ve peptitlerin katlanabilirliğinin anlaşılması ve kararlı yapısının belirlenmesi işlemidir. Protein ve peptitlerin “Folding ve unfolding” yapılarının anlaşılması ve bu sistemlerin kararlı konformasyonlarının belirlenmesi özellikle ilaç dizaynı için önemli bir katkı sağlayacağı gibi endüstriyel kullanımı en yaygın olan polimerlerden, biyosensörlere, gıda güvenliği ve teknolojisine kadar geniş bir alanda değerlendirme olanağı sağlamaktadır.

Bu kadar geniş bir yelpazede değerlendirme olanaklarının mevcut olması farklı disiplinler arasında da doğal olarak ortak çalışmaları beraber getirmiştir. Bilindiği üzere proteinler bir biyopolimer olup temelde doğada bulunan 20 farklı amino-asit gruplarının bir araya gelmesinden oluşmaktadırlar. Bir proteinin termodinamik özellikleri ile kararlı yapılarının belirlenmesinde deneysel yöntemler önemli bir yer tutar. Özellikle 3 boyutlu yapılarının belirlenmesinde X-ışınları, Nükleer Magnetik Resonans (NMR) gibi değişik spektral yöntemler yaygın olarak kullanılmaktadır. Bununla beraber, herhangi bir peptit veya proteinin dinamik davranışı ya da meydana gelen katlanma olayının anlaşılmasında yeterli bilgi deneysel yöntemlerden elde edilemeyebilir. Ya da, sentezlenen herhangi bir peptit veya proteinin yaşam ömrü kısa olması durumunda deneysel yöntemlerin kullanımı kısıtlanabilir. Bu gibi durumlarda sistemin anlaşılması için kuramsal yöntemlere başvurulması kaçınılmaz olur.

Diğer taraftan protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Tamamı ile yeni matematiksel yaklaşımlarla bu sistemler izah edilmeye çalışılmasına rağmen, en önemli bilgilerin simülasyon çalışmaları ile elde edileceği bilinmektedir (Hao and Scheraga, 1994; Hansmann and Okamoto, 1993; 1997, Okamoto, 1998). Bu nedendir ki son otuz yıldır proteinlerin düşük enerjili konformasyonları simülasyon teknikleri ile örneklenmeye çalışılmaktadır (Meirovitch et al., 1997, Baysal and Meirovitch, 1997).

Bilindiği gibi, kuantum mekaniksel çoklu parçacık problemlerinden doğan ‘*ab-initio*’ hesaplarının yanı sıra fenomenolojik potansiyeller/kuvvet alanları çoğunlukla

protein veya peptitlerin modellenmesinde kullanılmaktadır. Protein veya peptit dizilimlerinin hem termodinamik yapıları hem de katlanma özelliklerini çalışmak için literatürde oluşturulmuş birçok kuvvet alanı bulunmaktadır.

Bunların en çok bilinenleri AMBER (Cornell et al.,1995), CHARMM (MacKerrell et al.,1998) , GROMOS (van Gunsteren et al.,1996) ve ECEPP (Sippl et al.,1984) potansiyel enerji fonksiyonlarıdır. Bu fonksiyonlar, küçük moleküllerin deneysel verilerine ve bazı terimler için kuantum kimyasal hesaplara uyumundan parametrize edilmiştir. En genel anlamda, bu fonksiyonlara göre bir çözücüdeki proteinin enerjisi $E=E_P+E_{\text{çözücü}}$ şeklinde iki terimin toplamıdır: E_P , proteinin kendi konformasyonel enerjisi, $E_{\text{çözücü}}$, proteinin içinde bulunduğu çözücüyle etkileşme enerjisidir. Proteinler genellikle sulu çözeltilerde olduğundan, bu konformasyonlara çözücünün önemli ölçüde etkisi vardır. Bu sebeple bir çözeltildeki proteinin davranışı vakum ortamından oldukça farklıdır.

Protein/Peptitler konformasyonel enerjileri en düşük olacak şekilde konformasyon alma eğilimi gösterirler. Diğer yandan çözücü de protein/peptiti olası en düşük çözeltili serbest enerjisine sahip olacak konformasyonu almaya zorlar. Proteinlerin çözücü içinde bulunuyor olmaları ve buna bağlı çözücü modellenmesinde çok sayıda serbestlik derecesi içermesinden dolayı hesaplanabilirliği oldukça zahmetlidir. Dahası konfigürasyon uzayını araştırmak için geleneksel Monte Carlo (MC) tekniği kullanıldığında, su moleküllerinin varlığı çok düşük kabul edilebilme oranına yol açar ve bu yüzden çok daha yavaş olan Moleküler Dinamik (MD) metodlara (Alder and Wainwright, 1957, yöntemin detay ve uygulamaları için Allen and Tildesley, 1987 veya Frenkel and Smith, 1996; bakınız) başvurmak zorunda kalınır. Diğer taraftan, suyun evrensel bir çözücü olması, biyomolekülün dinamiği ve yapısında önemli bir rol oynamasından dolayı su içerisinde bulunan bir peptit veya proteinin, protein-protein ve protein-su etkileşmelerinin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için çok sayıda su molekülünü temsil edecek modeller geliştirilmiştir. Bu modellerin başlıcaları, “five-site rigid nonpolarizable model of liquid” (TIP5P) (Mahoney and Jorgensen, 2000), “four-point transferable intermolecular potential” (TIP4P) (Jorgensen et al., 1985), “three-point potential” (TIP3P) (Jorgensen et al., 1983)”, “single-point charge” (SPC) (Brendsen et al., 1981) ve “extended single-point charge” (SPC/E) (Brendsen et al., 1981) su

modelleridir. Bu modeller temelde suyun deneysel olarak gösterdiği özellikleri taşıyabilmektedir. Literatürde bu modeller “explicit” su modelleri olarak bilinmektedir.

Yukarıda bahsi geçen tüm bilgiler ışığı altında, tez çalışmamız, gıda zehirlenmelerinin en önemli kaynaklarından birini oluşturan, ısıtma işlemine karşı dayanıklı Staphylococcal enterotoxin B (SEB) toksinlerinin saptanmasında biyosensör olarak kullanılması öngörülen ve deneysel yöntemlerle sentezlenmiş üç farklı peptid dizilimlerinin (Dudak et al., 2010) doğal (native) konformasyonlarının deterministik bir yaklaşım olan MD metodu ile incelenmesini amaçlamıştır.

Deneysel yöntemlerle sentezlenen bu peptitlerin X-ışını veya NMR spektral teknikleri ile elde edilmiş kararlı yapıları bulunmamaktadır. Buna karşın, aynı peptitler için “Circular Dichroism” (CD) spektral yöntemi ile elde edilmiş bilgiler bulunmaktadır. CD bilgilerinden, her üç peptid diziliminde genel olarak rastgele sarmal (random coil), beta-dönüşleri (turn), beta-yaprağı (beta-sheet) ve helis (helix) yapısı göstereceği ilgili çalışmada ifade edilmiştir. Bilindiği üzere CD yöntemi, belirlediği bu ikincil yapıların, hangi amino-asit birimlerini kapsadığı bilgisini içermemektedir. Bu tez çalışması, ilgili peptitlerin sahip olabilecekleri ikincil yapıların MD simülasyon tekniği ile gözlenip gözlenemeyeceğinin, eğer gözlemlenebiliyor ise hangi amino-asit birimleri arasında daha baskın olarak oluşabileceğinin araştırılmasını hedeflemiştir.

Bu kapsamda tez çalışmamıza bakıldığında, ilgili peptitleri MD simülasyonları için tamamı ile birincil yapıdan (primary structure) başlayarak elde edilen sonuçlar, deneysel sonuçlarla uyum içindedir. Deneysel sonuçlar ile MD sonuçlarının bu uyumu kolabratörlerimiz ile birlikte uluslararası dergide yayına sunulmuştur.

Buraya kadar genel hatları ile problem, çözüm yöntemleri ve kısaca sonuçlarından bahsedilmiştir. Bu tez çalışmasında gerekli bilgiler, yöntemler ve sonuçlar aşağıda sıralanan şekilde sunulmuştur.

Tezin ikinci bölümü, amino-asitler ve proteinlerin genel yapıları ve özellikleri hakkında bilgiler sunulacaktır. Yine bölümde protein yapılarının belirlenmesi ve

moleküler modelleme ile ilgili genel bilgilere yer verilmiş, biyosensörlerin genel yapısı, kullanım alanları ve öneminden bahsedilecektir.

Üçüncü bölüm, moleküler modelleme kavramı, moleküler modellemenin biyomolekülerin yapılarının anlaşılmasındaki yeri ve önemi anlatılacaktır. Moleküler modellemede kullanılan etkileşim terimleri ve kuvvet alanları vurgulanacaktır. Bu bölümde son olarak molekül-çözücü etkileşiminin önemi sebebiyle modellemede kullanılan su modelleri tartışılacaktır.

Dördüncü bölüm, simülasyon kavramı, kullanılan başlıca simülasyon teknikleri ve bu simülasyon tekniklerinin birbirlerine göre farklılıklarını kapsayacaktır.

Beşinci bölüm, MD simülasyon tekniğinin temellerini oluşturan istatistik fizikte küme kavramları, küme ortalaması, moleküler dinamikte sınır koşulları, kullanılan algoritmalar, sıcaklık ve basınç kontrol yöntemleri ifade edilecektir.

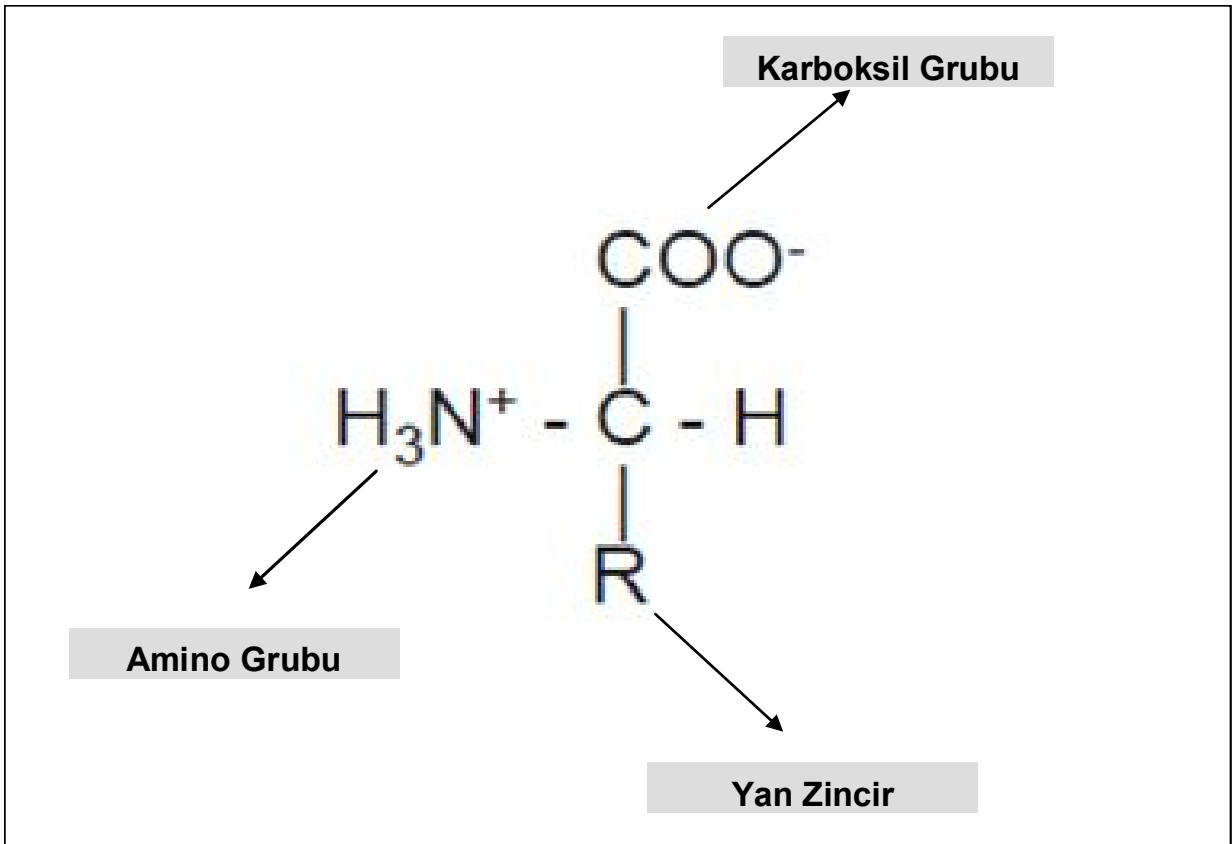
Altıncı bölüm, MD simülasyon çalışmasının detayları ve sonuçlarını kapsayacaktır.

Son bölüm, tezin değerlendirilmesi ve sonuçlara ayrılmıştır.

2. BİYOLOJİK YAPILAR

2.1. Amino-asitler ve Proteinler

Proteinlerin yapı taşları olan amino-asitler, α -karbonu ($C\alpha$) olarak adlandırılan merkezi karbon atomuna bağlı bir karboksil grubu $[-COOH]$ ile bir amino grubu $[NH_2]$ içerirler. Nötral sulu çözeltilerde α -karboksil grubu bir protonunu kaybeder ve eksi (-) yüklü hale geçer ($-COO^-$). Aynı şekilde α -amino grubu bir proton kaybederek artı (+) yüklü olur ($-NH_3^+$). Genel şeması Şekil 2.1' de görülen amino asitlerin yapılarında bulunan ve Rezidü (R) adı verilen yan zincirdeki molekül grubunun farklılığına göre doğada 20 temel amino-asit vardır. Bu rezidü grubunun ismi amino-asidin ismini belirler. Örneğin amino-asidin rezidü grubunda sadece $[-H]$ varsa Glisin, $[-CH_3]$ grubu varsa Alanin ve $[-CH(CH_3)_2]$ grubu içinse Valin amino-asitleri olarak adlandırılır. Literatürde tüm amino-asit isimleri Çizelge 2.1' de sunulan 3-harfli veya 1-harfli standart kodlamalar şeklinde gösterilmektedirler.



Şekil 2.1. Amino-asit'in basit yapısı.

Çizelge 2.1. Amino-asitlerin standart kodları.

AMİNOASİT	KISALTMA		AMİNOASİT	KISALTMA	
Glisin	Gly	G	Treonin	Thr	T
Alanin	Ala	A	Sistein	Cys	C
Valin	Val	V	Metiyonin	Met	M
Lösin	Leu	L	Asparajin	Asn	N
İzolosin	Ile	I	Glutamin	Gln	Q
Prolin	Pro	P	Aspartat	Asp	D
Fenilalanin	Phe	F	Glutomat	Glu	E
Tirozin	Tyr	Y	Lizin	Lys	K
Triptofan	Trp	W	Arjinin	Arg	R
Serin	Ser	S	Histidin	His	H

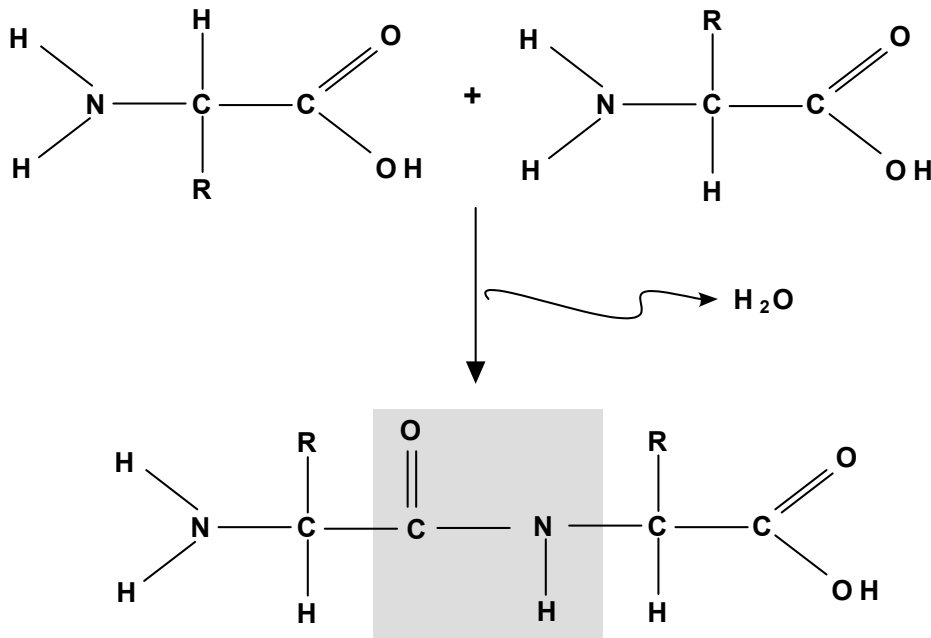
Yan zincirdeki farklılıklar, proteine kendine özgü oldukça değişik yapılar ve aktiviteler kazandırır. Tüm amino-asit yan zincirleri bir arada düşünüldüğünde, artı veya eksi yüklüden hidrofobiye kadar oldukça fazla çeşitli yapısal özellikler gösterirler. Yan zincirlerinin karakteristiklerine bağlı olarak amino-asitler, apolar, polar yüksüz, polar asidik ve polar bazik amino-asitler şeklinde gruplandırılabilirler.

Apolar amino-asitler, yan zincirlerinde hidrofobik özellik gösteren radikal grup bulunduran, hidrojen bağları yapamayan amino-asitlerdir. Yan zincirlerinde, genellikle oksijen veya azot yoktur. Öncelikli olarak bir proteindeki özel bir boşluğa hangi aminoasidin en iyi şekilde uyabileceğini belirleyen büyüklük ve şekillerine göre ayrılırlar. Van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler sayesinde bir arada tutunurlar. Glisin, Alanin, Valin, Lösin, İzolösin, Fenilalanin, Triptofan, Metiyonin ve Prolin apolar amino-asitler grubundadır.

Polar yüksüz amino-asitler, nötral ortamda tamamen yüksüzdürler. Bu gruptaki amino-asitlerin yan zincirleri zayıf asit ve bazlardır. Fizyolojik ortamda ise yine tamamen yüklü değildirler, ancak kısmi artı(+) ve eksi (-) yükler içerirler. Bu sebeple, su dahil olmak üzere diğer moleküllerle hidrojen bağı yapabilirler. Genelde oldukça reaktif olan bu grupta Serin, Treonin, Asparagin, Sistein, Glutamin ve Prolin gibi amino-asitler yer almaktadırlar.

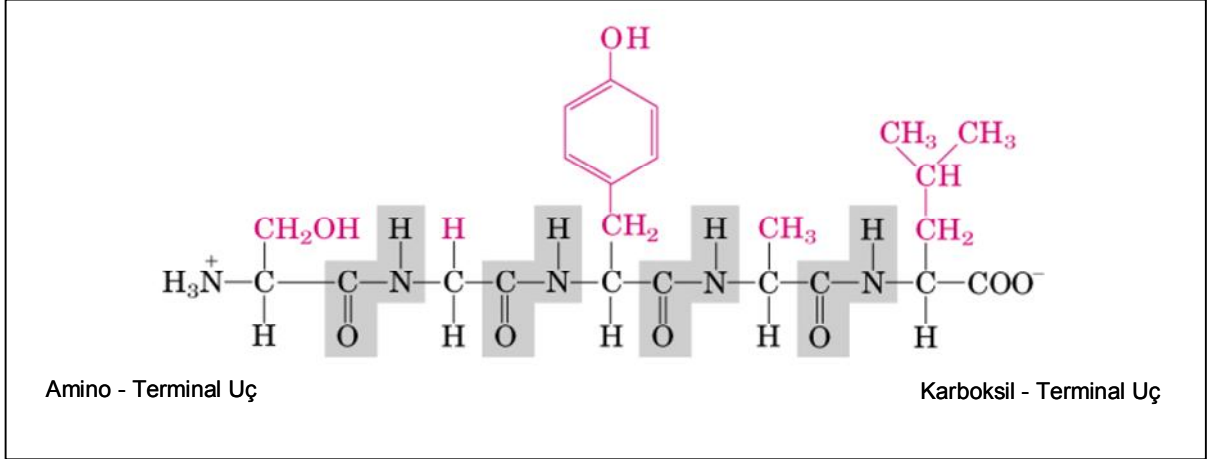
Polar asidik amino-asitler, fizyolojik ortamda negatif yüklüdürler ve asidik özellik gösterirler. Aspartik asit ve Glutamik asit amino-asitleri bunlara örnektir. Diğer yandan polar bazik amino-asitlerin yan zincirlerinde proton alıcı moleküller bulunduğundan, fizyolojik ortamda pozitif yüklüdürler ve bazik özellik gösterirler. Lizin, Arginin ve Histidin amino-asitleri ise bu grup içinde yer alırlar.

Amino-asitlerin uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirler "peptit", uzun polimer zincirler ise "polipeptit" veya "protein" olarak adlandırılırlar. İki amino-asit arasında kurulan bağa ise "peptit bağı" adı verilir ve bu bağ oluşumu sırasında amino-asitlerden birinin amino grubu ile diğerinin karboksil grubunun birleşmesi sonucu bir su molekülü açığa çıkar (Bkz. Şekil 2.2).



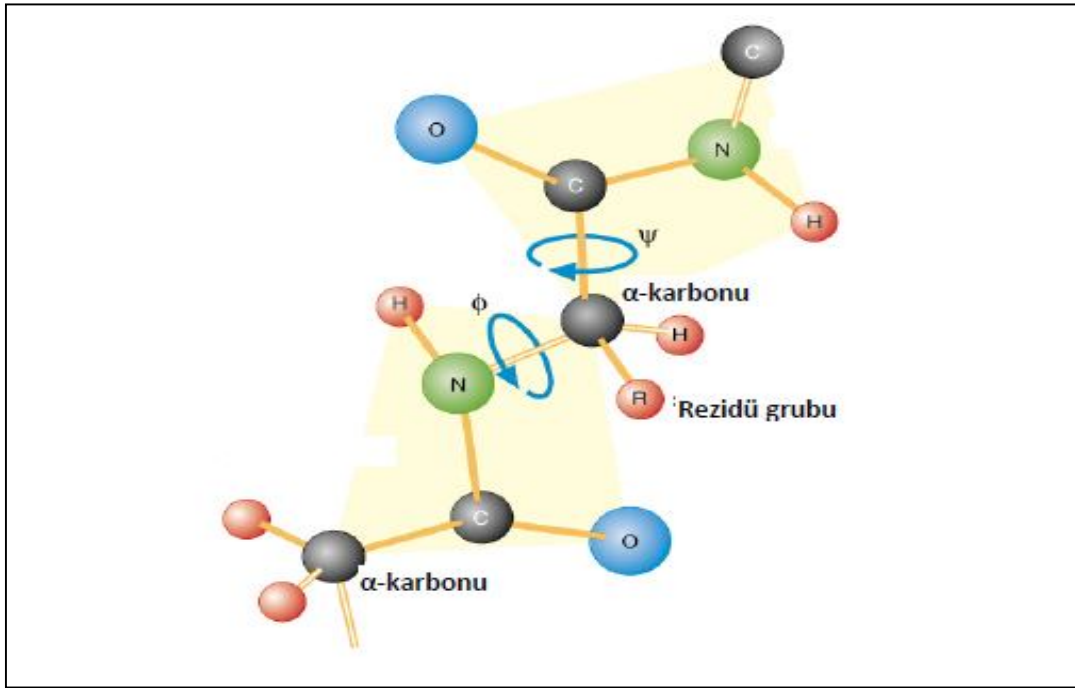
Şekil 2.2. İki amino-asit molekülünün bir peptit bağı ile birleşmesi.

Polipeptitin ana zincirini $[-N-C_{\alpha}-C-]$ şeklinde tekrarlanan birim oluşturur. Bu ana zincire “protein omurgası” adı da verilir. Ana zincirdeki her bir amino-asidin kimyasal yapısı nedeniyle, protein zincirinin bir yönü vardır. Proteinin serbest olan uçlarından karboksil grubuna sahip olanı “karboksil ucu” (C terminali), amino grubuna sahip olanı ise “amino ucu” (N terminali) olarak adlandırılır (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Basit bir peptitin şematik gösterimi.

Ana zincirdeki tekrarlayan birime bağlı olan oksijen çok sıkı hidrojen bağı yapabilmektedir. Moleküllerde atomik gruplar bir bağ etrafına dönebilirler. Ancak peptit birimindeki C-N bağlarının kısmen çift bağ karakteri göstermeleri sebebi ile bu bağ etrafında dönmeler (ω açıları) kısıtlıdır ve bu yüzden peptit bağı yaklaşık olarak düzlemsel bir yapı gösterir. Ancak diğer kısımlarda, Şekil 2.4’ de gösterildiği gibi, $C_{\alpha}-C$ bağları etrafındaki (ψ açıları) dönmeler ve $C_{\alpha}-N$ bağları etrafında dönmeler (ϕ açıları) olanaklıdır ve bunlar proteinlerin üç boyutlu yapısında önemli rol oynamaktadırlar. Diğer yandan yan zincirlerin farklı kimyasal özellikleri de proteinlerin üç boyutlu yapısını belirler ve dolayısıyla protein işlevine etki eder. Her proteinin kendine has bir amino-asit dizilimi vardır. Amino-asitlerin peptit bağları ile yan yana diziliminden oluşan protein sistemi bu haliyle yirmi harfli bir alfabe ile yazılmış bir metin gibidir.



Şekil 2.4. Peptit bağlarının dönüş açıları.

2.2. Proteinlerin Yapı ve İşlevleri

Canlı organizmaların dört temel biyolojik makromolekülünün üçü polimer (aynı türden tekrarlayan birimler) yapıdadır. Bunlardan biri olan proteinler, amino-asitlerin polimerleridir. Diğer biyolojik makromoleküllerden DNA ve RNA nükleotidlerin, Polisakkaritler ise şekerlerin polimerleridir. Dördüncü tür biyolojik makromolekül olan lipitler ise polimer yapıda değildirler.

Proteinler bütün canlılarda çok önemli işlevler yürütürler. Birçok biyolojik reaksiyon, “enzim” adı verilen proteinler tarafından kontrol ve katalize edilir. Bu haliyle proteinler metabolizma için yaşamsal bir role sahiptirler. Başka proteinlerin ise yapısal ve mekanik işlevleri vardır. Örneğin, hücre iskeletindeki proteinler, hücre şeklinin korunması, kas kasılması, hücre ve çevresi arasında madde alış-verişleri işlevlerinde rol alırlar. Bunların yanı sıra hücre haberleşmesi, bağışıklık yanıtı, hücre tutunması ve hücre bölünmesi döngülerinde yine proteinler yer almaktadırlar. Her proteinin kendisine has özelliklerinin olmasını sağlayan özel amino-asit dizilimleri vardır ve protein işlevlerinin çoğu kendisini oluşturan amino-asitlerin özelliklerinin tayin edilmesiyle anlaşılabilir.

Bir protein zincirindeki amino-asitlerin dizilimi proteinin “birincil yapısı” (primary structure) olarak adlandırılır. Dizilim, amino ucundan başlatılır ve karboksil ucunda

sonlandırılır. Çok sayıda proteinin birincil yapısı çözülmüştür. Proteinler birincil yapıdan daha üst düzeyde yapılarla da tanımlanmaktadırlar.

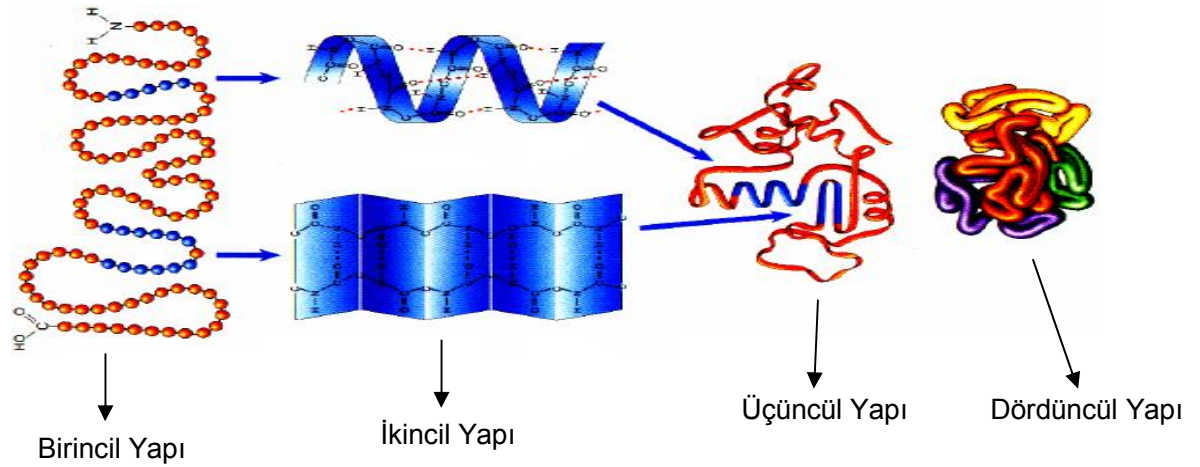
Proteinlerin "ikincil yapıları" (secondary structure), protein zincirinin uzaydaki organizasyonu ile ilgilidir. Birçok farklı türde ikincil yapının varlığı anlaşılmıştır. Bunlardan alfa helis (α -helix) olarak adlandırılan yapıda, tek bağları etrafında iç dönmeler nedeniyle, protein zinciri bir vida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

Protein zinciri, yapı ve özellikleri farklı halkalardan oluştuğundan, bütün zincir boyunca tek düze bir ikincil yapı gösterememektedir. Halkalar arasında, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve iyonik bağlar gibi çoğu zayıf etkileşimler ve sistin rezidüleri arasında kurulan disülfid bağları (S-S) nedeni ile protein zinciri katlanıp paketlenerek, molekül küre (global) biçimini alabilmektedir. Bu üst yapıya ise "üçüncül yapı" (tertiary structure) denmektedir. Bu üç boyutlu geometrik şekiller, enzim gibi biyolojik yapıların fonksiyonları açısından çok büyük önem taşırlar. Bu nedenle enzimlerin üç boyutlu yapılarının ve bu yapıyı etkileyen faktörlerin bilinmesi enzimlerin çalışma mekanizmalarını anlamakta büyük önem taşımaktadır. Proteinlerin yapı ve işlevlerinde suyun da çok önemli etkisi vardır. Yirmi amino-asit rezidüsünden bir kısmı polar veya hidrofilik, bir kısmı ise hidrofobik özelliğe sahiptir. Bu sebeple, bükülebilir bir protein zinciri hidrofobik etkileşimlerle katlanır. Bu sırada, hidrofobik rezidüer su ile temas etmeyecek bir şekilde, oluşan küresel yapının merkezine doğru toplanırlar. Böylece su üçüncül yapının oluşumunu büyük ölçüde etkilemiş olmaktadır. Sonuç olarak ikincil yapı peptit

bağları arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmasına rağmen üçüncül yapı zincirlerin kendi aralarında ve çevre ile etkileşimlerinden kaynaklanır.

Molekül ağırlığı çok büyük olan bazı proteinler, birincil, ikincil ve üçüncül yapıları birbirinden farklı birçok polipeptit zinciri içerebilmektedirler. Bu alt birimler arasında, muhtemelen yüzey yüklerinden kaynaklanan elektrostatik etkileşimlerle ortaya çıkan bir diğer üst yapı "dördüncül yapı" (quarternary structure) olarak adlandırılmaktadır. Örneğin, hemoglobin dört protein makromolekülünden oluşur. Hemoglobinin dördüncül yapısı işte bu proteinlerin hepsinin bir arada bulunması ve geometrik bir şekil oluşturması ile ortaya çıkar.

Proteinlerin bütün bu yapılarının şematik gösterimleri Şekil 2.5' de gösterilmiştir.



Şekil 2.5. Protein yapıları.

Yapıyı oluşturan bu seviyelere ek olarak, proteinlerin birbiriyle ilişkili olan bir yapıdan başka bir yapıya geçmeleri de protein yapısının bir diğer boyutunu oluşturur. Biyolojik olarak çok önemli olan bu yeniden yapılanmaların üçüncül veya dördüncül yapılarına proteinin "konformasyonları" denir ve bunlar arasındaki geçişlere konformasyonel değişim adı verilir. Bu tür değişimler çoğu zaman bir substrat molekülün bir enzime bağlanmasıyla tetiklenir. Tipik olarak görülen üçüncül yapılarla ilintili olarak proteinler; küresel (globular) proteinler, lifsel (fibrouz) proteinler ve zar (membrane) proteinleri olarak kabaca üç ana sınıfa ayrılabilirler.

Canlılarda dinamik işlevsel özelliklere sahip küresel proteinler suda çözünürler ve bunların çoğu enzimdir. Canlının daha çok yapısı ile ilgili olan lifsel proteinler ise

suda çözünmezler. Bunların yanı sıra zar proteinleri çoğunlukla reseptör olarak görev yaparlar veya suda çözünen küçük moleküllerin hücre zarından geçmeleri için kanal oluştururlar.

2.3. Protein Yapılarının Belirlenmesi

Proteinler statik konumda olmayıp dinamik haldedirler, işlevlerini yapmak üzere konformasyon değişiklikleri yapabilirler. Her protein, işlevini yansıtan benzersiz bir yapıya sahiptir. Canlı yaşamını ilgilendiren hemen hemen her konuda proteinlerin hayati öneme sahip olması nedeni ile proteinlerin kararlı üç boyutlu yapılarının anlaşılması sağlık ve endüstri alanında çok önemli gelişmeler sağlamaktadır.

Proteinlerin yapılarının belirlenmesinde kullanılan en yaygın deneysel teknikler X-ışını kristalografisi ve NMR spektroskopisidir. Bu iki tekniğin her ikisi de atomik çözünürlükte bilgi sağlar. Yapı belirlemede kullanılan bir diğer deneysel teknik ise kriyoelektron mikroskopisidir (Branden and Tooze, 1999). Bu teknik çok büyük protein kompleksleri ve virüsler hakkında daha düşük çözünürlüklü yapısal bilgi üretmekte kullanılır. Bunun bir çeşitlemesi sayılan elektron kristalografisi de bazı durumlarda, özellikle zar proteinlerinin iki boyutlu kristalleri için, yüksek çözünürlüklü bilgi üretebilir. Yapısı saptanmış proteinlerin yapı bilgileri genelde "Protein Data Bank" (PDB) adlı veri tabanına kaydedilir ve isteyenler bu ücretsiz veri tabanından faydalanarak binlerce proteinin yapısal verilerini proteindeki her atomun kartezyen koordinatları cinsinden elde edebilirler.

Bununla beraber incelenecek yapıların yarılanma ömürleri çok kısa olduğunda veya deneysel yöntemlerle uygulanması zor olan bir etki göz önünde tutulduğunda, X-ışınları ve NMR gibi spektral yöntemler ile yapısal incelemeler yapılamamaktadır (Gonen et al., 2005). Bu koşullar altında yapı belirlenmesinde simülasyon çalışmalarına başvurulur.

2.4. Biyosensörler

Sensörler temelde fiziksel olguları elektrik sinyallerine dönüştüren cihazlardır. Mekanik duyu organları da diyebileceğimiz bu cihazlar, çalışma şekillerine ve dönüştürücü adı verilen yapılarına göre çeşitlere ayrılmaktadır. Termal, mekanik, kimyasal, akustik, radyoaktif sensörler ve biyosensörler bunlardan bazılarıdır. İlgi alanımıza giren biyosensörler genel olarak, biyolojik materyaller içeren ve çeşitli

ortamlarda bu materyaller yardımıyla hedef yapıların tayininde ve izlenmesinde kullanılan yapılardır. Biyosensörde en önemli nokta, sistemde mutlaka bir biyolojik materyal kullanılıyor olmasıdır. Bu sayede çok seçici, çok hassas ve çok daha hızlı ölçüm yapmak mümkündür.

Biyosensörler birçok sensör gibi tanıyıcı ve dönüştürücü olmak üzere iki ana yapıdan oluşur. Eğer tanıyıcı kısım biyomoleküler bir yapıda ise buna biyoreseptör adı verilir. Biyoreseptörler analiti (hedef yapıyı) fark edebilen, dönüştürücüler ise biyoreseptörün analiti fark ettiği esnada ürettiği kimyasal veya fiziksel sinyali elektrik sinyallerine dönüştüren yapılardır.

Biyosensörün tanıyıcı tabakasına takılan “ligand” (tanıyan) ile tayini gerçekleşecek olan analit arasında, sensör yüzeyinde bir etkileşme oluşur. Bu etkileşme, biyosensörlerde çoğu kez çok seçicidir. Etkileşmenin sonucunda oluşan değişiklik, örneğin, etkileşme sonucunda oluşan veya başlangıçta ortamda bulunup etkileşme ile kaybolan bir kimyasal madde, elektrokimyasal değişikliğe (elektriksel potansiyel veya akım değişimi gibi) neden olabilir. Alternatif olarak, etkileşim sonucu ortamda ısı değişimi, optik özelliklerin veya kütleinin değişimi gözlenir. Biyosensörlerin dönüştürücü kısmı bu değişimi algılar ve elektrik sinyaline çevirir. Daha sonra bu sinyaller değerlendirilir ve sayısal okunabilir verilere dönüştürülür.

Biyosensörler sayesinde normalde uzun tahliller gerektiren analizler daha kısa sürede yapılabilir. Mesela glikoz biyosensörleri kandaki glikoz seviyesini kısa sürede ölçebilmektedir. Aynı ölçüm normalde geleneksel yöntemlerle daha uzun sürede yapılabilir. Kısa sürede sonuca ulaşması ve uygulama kolaylığı biyosensörlerin en önemli avantajlarından. Bunun dışında biyosensörler birçok alanda kullanılmaktadır.

Tıp alanında çeşitli bulaşıcı hastalıklara yol açan mikroorganizmaların tanınmasında, yeni ilaç tasarımlarında, metabolitlerin ve insülin eksikliği belirtilerinin ölçülmesinde kullanılırken, endüstride, biyoreaktörlerin kontrolü, giren hammadde ve çıkan ürünlerin ölçülmesi gibi endüstriyel süreç kontrollerinde gereklidir. Askeri ve sivil savunma alanında herhangi bir biyoterör ve biyosaldırı sonrası erken tespit ve analizleri içinde çok güçlü ve taşınabilir biyosensörler önem

taşıyan cihazlardandır. Bir biyosensörün tasarımından üretimi aşamasına kadar birçok alanda geniş bir bilgi birikimine ihtiyaç duyulduğundan disiplinler arası çalışma büyük önem taşımaktadır.

3. MOLEKÜLER MODELLEME

Günümüzün en güncel problemlerinden biri protein/peptitlerin katlanabilirliğinin anlaşılması ve kararlı yapılarının belirlenmesi işlemleridir. Bölüm 2’ de belirtildiği üzere katlanmamış protein yapılarının değişim gösterip katlanarak oluşturduğu üç boyutlu yapıya proteinin “doğal hali” ya da “katlanmış” denir (Dobson et al., 1999; Radford, 2000). Protein/peptitlerin katlanmış yani doğal hallerinin yapılarının anlaşılması ve bu sistemlerin kararlı konformasyonlarının belirlenmesi özellikle ilaç dizaynı için önemli bir katkı sağlayacağı gibi endüstriyel kullanımı en yaygın olan polimerlerden, biyosensörlere, gıda güvenliği ve teknolojisine vücuttaki birçok biyokimyasal tepkimelerin mekanizmalarının açıklanmasına kadar geniş bir alanda değerlendirme olanağı sağlamaktadır.

Bilindiği üzere proteinler bir biyopolimer olup temelde doğada bulunan 20 farklı amino-asit gruplarının bir araya gelmesinden oluşmaktadır. Protein yapılarının oldukça yüksek esnekliğe sahip olması, anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olmaktadır. Çok sayıda serbestlik derecesine sahip bu tür sistemlerin kuramsal açıdan anlaşılması oldukça zordur. Tamamı ile yeni matematiksel yaklaşımlarla bu sistemler izah edilmeye çalışılmasına rağmen, en önemli bilgilerin simülasyon çalışmaları ile elde edileceği bilinmektedir (Hao and Scheraga, 1994; Hansmann and Okamoto, 1993; 1997, Okamoto, 1998). Bu nedenle son otuz yıldır proteinlerin düşük enerjili konformasyonları simülasyon teknikleri ile örneklenmeye çalışılmaktadır (Meirovitch et al., 1997, Baysal and Meirovitch, 1997). Protein/peptitlerin doğal 3 boyutlu konformasyon yapısının termodinamik olarak kararlı olduğu düşünüldüğünde sistemin serbest enerjisinin en düşük değeri ile tanımlanan yerel minimumun değerinin belirlenmesi gerekecektir.

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

Protein/peptit gibi biyolojik sistemlerin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için modellenmesi gerekir. Moleküler Modelleme olarak adlandırılan bu yöntemde amaç kısaca moleküllerin 3 boyutlu yapılarını, tepkimelerini bulmak ve göstermektir.

Aslında, bir kağıt üzerinde moleküllerin yapılarını çizmemiz, mekanizmalarını göstermemiz en basit anlamda molekül modellemeye örnektir. Kağıt üzerinde iki boyutlu ve de gerçeğe pek yakın olmayan çizimleri bir yana bırakırsak, bilgisayarlar yardımıyla moleküllerin değişik yöntemlerle çözülmesi ve moleküllerin 3 boyutlu yapısını ortaya çıkarmaya gerçek moleküler modelleme diyebiliriz (Leach, 2001).

Moleküler Modellemede temel düşünce, sistemi oluşturan atom ve moleküllerin bilinen temel etkileşme terimlerine bağlı olarak sistemi tanımlayabilmektir. Genellikle moleküler modelleme gerçek bir sistemin fiziksel özelliklerini tahmin etmenin yanı sıra yeni materyallerin dizaynı için günümüzde yoğun olarak kullanılmaktadır.

3.1. Etkileşme Terimleri ve Kuvvet Alanları

Moleküler modellemede, kuantum mekaniksel çoklu parçacık problemlerinden doğan '*ab-initio*' hesaplarının yanı sıra fenomenolojik potansiyeller/kuvvet alanları kullanılmaktadır.

Ab-initio metodu, kuantum mekaniğinin temel kanunlarına dayanır ve temel eşitlikleri çözmek için yaklaşık teknikleri ve matematiksel yaklaşımları kullanır (Burkert and Allinger, 1982). Bu yöntemler ile molekül yapısı ve buna bağlı özellikler hesaplanabilir ve bir tepkime mekanizması tam olarak modellenebilir. Moleküler dinamik veya yarı deneysel metotlara benzemeyen *ab-initio* metotlarında deneysel parametre kullanılmaz. *Ab-initio* hesaplamalarında iki farklı matematiksel yaklaşım kullanılır; "Hartree-Fock Self Consistent Field" (HF-SCF) ve "Density Functional Theory" (DFT). HF modelinde, elektron-elektron etkileşimleri için ortalama bir potansiyel temel alınır. Bu yaklaşım, molekül frekanslarının hesaplanması ve molekül geometrisinin tayini için uygundur. DFT modelinde, molekül dalga fonksiyonları yerine, elektron ihtimaliyet yoğunluğu (ρ) hesaplanır, molekül özelliklerinin tayininde çok daha doğru sonuçlar verir. *Ab-initio* yöntemlerinde hesaplama süresi moleküler dinamik yöntemlere göre çok daha

uzundur. GAUSSIAN, HYPERCHEM, CACHE *ab-initio* yöntemlerinin kullanıldığı bazı paket programlardır (Hehre et al.,1986).

Diğer taraftan, moleküler modelleme yönteminde incelenecek sistemin etkileşme potansiyellerinin belirlenmesi sistemi doğru olarak tanımlama açısından büyük önem taşır. Atom ve moleküllerin etkileşimlerini tanımlamak için çoğunlukla kuvvet alanları kullanılmaktadır. Kuvvet alanları sistem içerisindeki moleküller arası ve molekül içi kuvvetleri tanımlarlar. Kuvvet alanları bağların ve açıların “referans” veya “denge” değerlerinden sapması ve bağlar döndükçe enerjinin nasıl değiştiğini anlatan bir fonksiyon ve sistemin bağ yapmayan bölümleri arasındaki etkileşimi açıklayan terimleri de içermektedir. Daha gelişmiş kuvvet alanları, ekstra terimler içerebilir fakat genellikle bu dört bileşenden oluşmaktadır.

Kuvvet alanları temel olarak üç kısımdan oluşur. Bunlar sırasıyla bağ olmayan terimler, bağ olan terimler ve özel terimlerdir.

Böyle bir kuvvet alanının fonksiyonel bir formu;

$$V(r) = \sum_{\text{bağ}} \frac{k_i}{2} (\ell_i - \ell_{i,0})^2 + \sum_{\text{açı}} \frac{\theta_i}{2} (\theta_i - \theta_{i,0})^2 + \sum_{\text{burkulma}} \frac{V_n}{2} (1 + \cos(\alpha_i))$$

$$+ \sum_{i=0}^N \sum_{j=i+1}^N \left\{ 4\epsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{i,j}}{r_{i,j}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{i,j}}{r_{i,j}} \right)^6 \right] + \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \right\} \quad (3.1)$$

olarak ifade edilebilir. Eşitlik 3.1’ de $V(r)$ parçacığın r pozisyonunun fonksiyonu olan potansiyel enerjidir ve ilk üç bileşen bağ olan etkileşimlerin, diğer bileşenler ise bağ olmayan etkileşimlerin potansiyel enerjiye olan etkisini ifade eder.

İlk terim bağlı atom çiftleri arasındaki etkileşmeyi gösterir. Burada k_i kuvvet sabiti, ℓ_i iki atom arasındaki bağ uzunluğunu gösterirken, başlangıç bağ uzunluğu $\ell_{i,0}$ ile temsil edilir. 2. terim yine bağlı atom çiftlerinin bağ açılarının değişiminin potansiyel enerjiye etkisini açıklar. θ_i iki atom arasındaki açıyı, $\theta_{i,0}$ ise başlangıçtaki bağ açısını gösterir. 3. terim burkulma potansiyeli bağların dönmesiyle enerjinin nasıl değiştiğini gösterir. Burada α_i burulma açısıdır.

Bağımsız moleküller ve atomlar, ayrı moleküler türlerin yapısını belirlemede önemli bir rol oynayan bağ-olmayan kuvvetlerle etkileşirler. Bu etkileşimler atomlar arasındaki belirli bir bağ ilişkisine bağlı değildir. Bunlar, uzaklığa bağlı etkileşimlerdir ve genellikle uzaklığın tersinin belirli bir kuvvetinin bir fonksiyonu olarak modellenirler.

Bir kuvvet alanındaki bağ-olmayan terimler genellikle iki grupta incelenir; bunlardan biri elektrostatik etkileşimler, diğeri ise Van der Waals etkileşimlerdir.

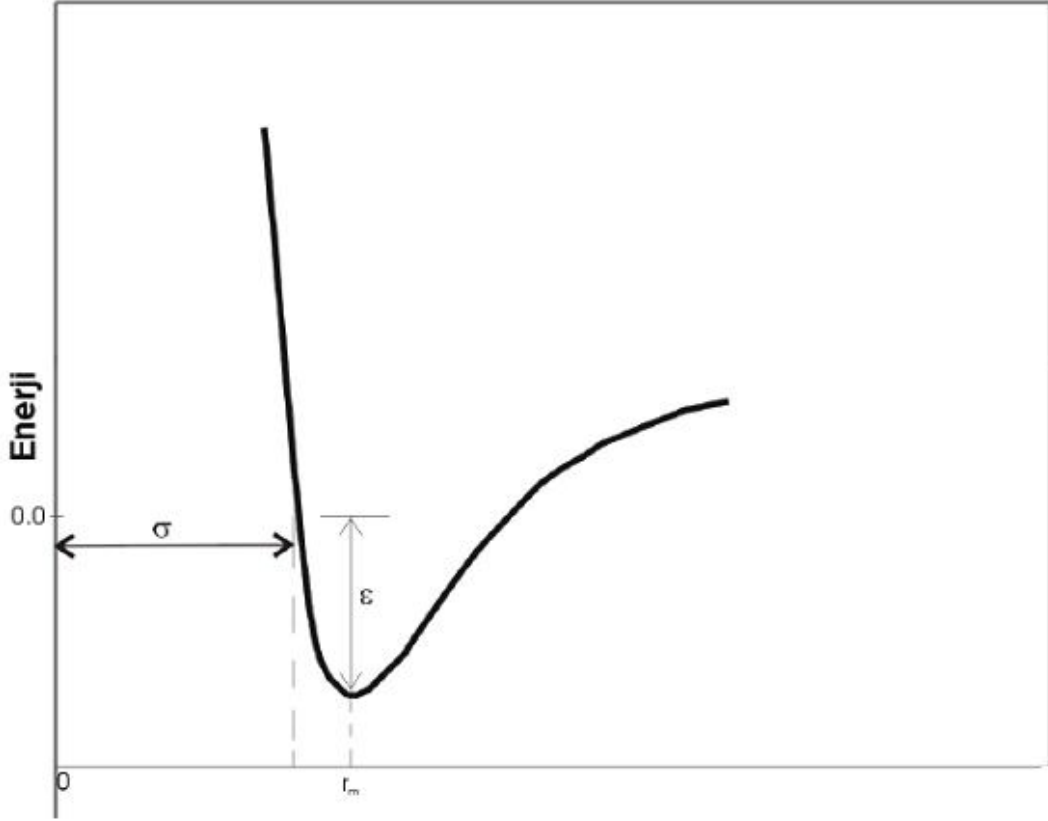
Elektronegatif elementler, daha az elektronegatif olanlara göre elektronları daha çok çekerler ve bir molekülde eşit olmayan bir yük dağılımına sebep olurlar. İki molekül arasındaki elektrostatik etkileşim, uç yük çiftlerinin arasındaki etkileşimlerin toplamı olarak Coulomb yasası Eşitlik 3.2 ile hesaplanır.

$$v = \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{ij}} \quad (3.2)$$

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

$$v(r) = 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma}{r} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma}{r} \right)^6 \right] \quad (3.3)$$

Lennard-Jones 12-6 potansiyeli sadece iki ayarlanabilir parametre içermektedir: çarpışma çapı (σ) ve kuyu derinliği (ϵ). Bu parametrelerin grafiksel olarak gösterimi Şekil 3.1' deki gibidir. Lennard-Jones potansiyeli, r^{-6} ile değişen bir çekim kısmı ve r^{-12} ile değişen itme bölümüyle karakterize edilmektedir.



Şekil 3.1. Lennard-Jones potansiyeli.

Moleküler modelleme ile protein veya peptit dizilimlerinin hem termodinamik yapıları hem de katlanma özelliklerini çalışmak için literatürde oluşturulmuş kuvvet alanlarından en çok bilinenleri; AMBER (Cornell et al.,1995), CHARMM (MacKerrell et al.,1998) , GROMOS (van Gunsteren et al.,1996), GROMACS (van der Spoel et al., 2005) ve ECEPP (Sippl et al.,1984) potansiyel enerji fonksiyonlarıdır.

Bu fonksiyonlar, küçük moleküllerin deneysel verilerine ve bazı terimler için kuantum kimyasal hesaplara uyumundan parametrize edilmiştir. En genel anlamda, bu fonksiyonlara göre bir çözücüdeki proteinin enerjisi;

$$E = E_P + E_{\text{Çözücü}} \quad (3.4)$$

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

3.2. Su Modelleri

Proteinler çözücü içinde bulunurlar. Modellenen sistemin gerçeğe yakın olması için molekül-çözücü etkileşimlerinin göz ardı edilmemesi gerekir. Bu nedenle çözücülerin de protein gibi modellenmesi gerekmektedir.

Çözücülerin modellenmesi çok sayıda serbestlik derecesi içereceğinden oldukça zordur. Dahası konfigürasyon uzayını araştırmak için geleneksel MC tekniğinin kullanılması, su moleküllerinin varlığının çok düşük kabul edilmesine yol açar ve bu yüzden daha yavaş olan MD metotlara başvurmak zorunda kalınır.

Molekül-çözücü etkileşiminin önemi sebebiyle birçok çözücü etkisi yaklaşımı geliştirilmiştir. Bu yaklaşımlardaki ana fikir hesaplamalara çözünmeyi katmadan bir çözücünün etkisini karşılayabilecek uygun bir metot geliştirmektir. Çözücü katkısını karşılayan, yaygın olarak kullanılan metotlardan biri, çözücünün protein moleküllerine erişim yüzey alanlarıyla (SASA) orantılı olarak ifade edilen modeldir. Bu modelde, protein-çözücü etkileşimi her bir atom türünün çözücüye maruz kalan yüzey alanıyla orantılı olduğu katkıların toplamı olarak karakterize edilebilir. Bu model basitliği ve uygulama kolaylığından dolayı oldukça popülerdir. Bu yaklaşımda E_{Solv} çözünme enerjisi A_i , i atom tipinin SASA' sı ve σ_i atom tipine bağlı ve çözücünden gelen tüm katkıları içeren orantı sabiti olmak üzere,

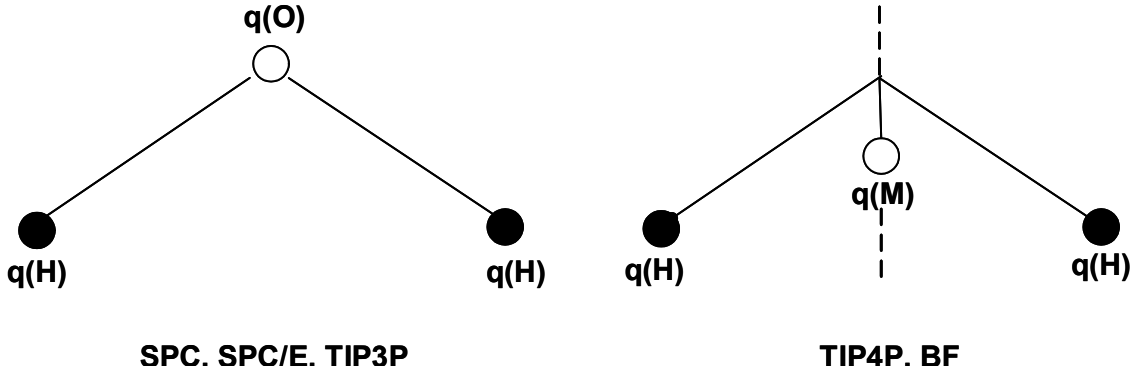
$$E_{\text{çözücü}} = \sum_i \sigma_i A_i \quad (3.5)$$

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

Diğer taraftan, suyun evrensel bir çözücü olması ve biyomoleküllerin dinamiği ve yapısında önemli bir rol oynamasından dolayı su içerisinde bulunan bir peptit veya proteinin, protein-protein ve protein-su etkileşmelerinin simülasyon teknikleri ile incelenebilmesi için çok sayıda su molekülünü temsil edecek modeller geliştirilmiştir. Bu modellerin başlıcaları, “five-site rigid nonpolarizable model of liquid (TIP5P) (Mahoney and Jorgensen 2000)”, “four-point transferable intermolecular potential (TIP4P) (Jorgensen et al., 1985)”, three-point potential (TIP3P) (Jorgensen et al., 1983)” , single-point charge (SPC) (Brensdn et al., 1981) ve extended single-point charge (SPC/E) (Brensdn et al., 1981) su modelleridir. Bunlar temel olarak aynı olmakla beraber su molekülünü tam olarak temsil edebilen yük merkezlerinin yerlerinde (Bkz. Şekil 3.2) ve kullandığı etkileşim parametrelerinde (Bkz. Çizelge 3.1) farklılıklar vardır.

Çizelge 3.1. Çeşitli su modellerinin karşılaştırılması (Jorgensen et al.,1983).

Model	$r(\text{OH})A^0$	$\theta_{\text{HOH}}(\text{deg})$	$q(\text{H})$	$q(\text{O})$	$q(\text{M})$	$r(\text{OM})A^0$
SPC	1.0	109.5	0.41	-0.82	0.0	0.0
TIP3P	0.957	104.5	0.417	-0.834	0.0	0.0
TIP4P	0.957	104.5	0.52	0.0	-1.04	0.15



Şekil 3.2. Literatürdeki bazı su modellerinin şematik gösterimleri.

Hem Çizelge 3.1 hem de Şekil 3.2’de gösterilen $q(O)$ ve $q(H)$ oksijen ve hidrojen atomunun yüklerine, $q(M)$ ise keyfi M atomunun yüküne karşılık gelmektedir. Ayrıca Çizelge 3.1’ yer alan $r(OH)$, $r(OM)$ ve θ , ilgili atomlar arasındaki uzaklık ile çizelgede gösterilen atomlar arasındaki açı değerlerini göstermektedir.

Bütün bu popüler su modelleri, oda sıcaklığı ve 1 atm basınç altında suyun karakteristik özelliklerini temsil edebilen modellerdir. Literatürde bu modeller “explicit” su modelleri olarak bilinirken farklı ASP setleri ise “implicit” su modelleri olarak bilinmektedir.

Moleküler dinamik simülasyonunda tek su molekülünü sunmak için genellikle Simple Point Charge (SPC) su modeli kullanılır. SPC su modeli su molekülünün 3 nokta yük merkezine sahip olduğunu ve hidrojen atomlarının pozitif yükte olduğunu ve oksijenin ise negatif yüklü olduğunu kabul eder. Bu hipotez su molekülünün yanlış dipol momente sahip olacağını tahmin ettiği için hidrojen-oksijen-hidrojen arasındaki deneysel olarak bulunan bağ açısının $104,45^\circ$ ’den 109.42° ’ye değiştirilmesiyle düzeltilir. Bu değişiklik suyun deneysel değerine yakın olarak sürekli dipol momente sahip olmasını sağlar.

4.SİMÜLASYON

Simülasyon, teknolojik gelişmelerin büyük bir hızla devam ettiği günümüzde önemi gittikçe artan bir konudur. Simülasyon, gerçek bir sistemi temsil eden modelin oluşturulması işlemidir. Bir sistemin ya da bir sürecin bilgisayar yardımıyla modelini kurmak ve bu modelle de hem sistemin davranışını incelemek hem de sistemin değişik şartlar altında işleyişini belirlemektir (Shannon,1975).

Simülasyon yöntemleri problem çözmeye oldukça etkilidir bu sebeple farklı amaçları gerçekleştirmek için değişik alanlarda uygulanabilen ve günümüzde pek çok alanda yaygınlaşan bir araç olmuştur. Simülasyon teknikleri ekonomi, pazarlama, eğitim, politika, sosyal bilimler, davranış bilimleri, ulaşım gibi pek çok değişik alanda kullanılmaktadır.

Bilimsel amaçlı olarak simülasyonun ele alınışı 1944 yılına rastlar. İlk simülasyon çalışması Von Neuman ve Slam tarafından II. Dünya savaşı sırasında yapılmıştır. Daha sonraki yıllarda bilgisayarların kullanım alanlarına girmesiyle açıkça anlaşılabilen, deneysel olarak ortaya konması mümkün olmayan bir çok teorik çalışma simülasyon teknikleri kullanılarak yapılmıştır. Bilgisayar simülasyonları, analitik çözümü tam olarak yapılamayan problemlerin çözümleri için yapılan yaklaşımların test edilmesinden, kompleks sistemlerin incelenmesine kadar değişik olaylarda uygulanılmışlardır.

Bu tez çalışmasına paralel olarak simülasyonları:

1) Moleküler Dinamik (MD)

2) Monte Carlo (MC)

üzere iki ana başlık altında toplayabiliriz.

4.1. Simülasyon Teknikleri

Bir sistemin simülasyonu, bu sistemi temsil edebilecek bir model oluşturma işlemidir. Model, incelenecek herhangi bir sistemin temsilidir ve sistemi açıklamak, anlamak veya geliştirmek için kurulur. Modeller, temsil ettiği sistem üzerinde hesaplamaların ve işlemlerin yapılarak incelenmesine olanak sağlar. Bu sayede gerçek sistemin davranışları ve yapısı hakkında bilgiler edinilir (Erkut, 1983).

Modeller, matematiksel veya fiziksel modeller olarak sınıflandırılabilirler. Bir matematiksel model, sistemi temsil etmek için sembolik notasyon ve matematiksel denklemleri kullanır. Simülasyon modeli, belirli tipte bir matematiksel sistem modelidir. Simülasyon modelleri deterministik ve stokastik olarak iki ayrı grupta sınıflandırılabilir.

Davranışı daha önceden tahmin edilebilen rastsal değişken içermeyen ve gelecekte ne tür davranışlara gireceği bilinen modeller deterministik modellerdir. Sistemdeki mekanizma açık ve belirgin bir şekilde tanımlanır. Deterministik modellerde değişkenler rastsal değildir.

Davranışı daha önceden bütünüyle kestirilemeyen en az bir tane rastsal değişken içeren modellere stokastik model denir. Stokastik simülasyon modeli girdi olarak bir veya daha fazla rastsal değişkeni göz önüne almaktadır. Sonuçlar rastsal olduğu için, bu sonuçlar modelin gerçek karakteristiklerinin tahminleri olarak göz önüne alınabilirler. Bu tip modellerde süreç, olasılık dağılımları ile temsil edilebilmektedir.

Stokastik modeller deterministik modellerden daha karmaşık olduğu için bu modellere çözümler bulmak ve bulunan çözümlerin analitik olarak yeterli olması deterministik modellere kıyasla daha güçtür.

MD deterministik, MC simülasyonu ise stokastik simülasyon modelidir.

4.2. Monte Carlo Metodu

MC simülasyon yöntemi bir problemi çözmek için rastgele sayıları kullanan nümerik bir tekniktir. Bu yöntem ile gerçek bir durumun stokastik modelini oluşturup, bu model üzerinden örnekleme deneyleri hazırlanır. MC yöntemi; Von Neumann, Ulam ve Metropolis tarafından 2.dünya savaşı sonunda atom bombasının geliştirildiği Los Alamos Ulusal Laboratuvarında, bombanın patlamasından sonra dağılan nötronlara karşı kalkan modellemek için geliştirilmiştir. MC yöntemi üzerine ilk yayın 1949 yılında Metropolis ve Ulam tarafından yayınlanan bilimsel makaledir (Metropolis et al., 1949).

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

$$\langle A(x) \rangle = \frac{1}{Z} \int dx \exp[-H(x)/k_B T] A(x) \quad (4.1)$$

şeklinde tanımlanır. Burada Z ;

$$Z = \int dx \exp[-H(x)/k_B T] \quad (4.2)$$

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

$$dx = dx_1 dy_1 dz_1 dx_2 \dots dz_N dp_{x_1} dp_{y_1} dp_{z_1} dp_{x_2} \dots dp_{z_N} \quad (4.3)$$

dir. Normalize Boltzmann faktörü;

$$p(x) = \frac{1}{Z} \exp[-H(x)/k_B T] \quad (4.4)$$

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

MC yöntemi Eşitlik 4.1'e yaklaşma fikrinden başlar; burada istatistiksel örnek olarak kullanılan $\{x_1, x_2, \dots, x_M\}$ faz uzayı noktalarının karakteristik bir alt kümesini kullanarak sonlu bir integrasyon ile $p(x)$ ağırlıklı tüm $\{x\}$ durumları üzerinden integral alınır. Açıkça $M \rightarrow \infty$ limitinde

$$\langle A(x) \rangle = \frac{\sum_{i=1}^M \exp[-H(x_i)/k_B] A(x_i)}{\sum_{i=1}^M \exp[-H(x_i)/k_B]} \quad (4.5)$$

toplama Eşitlik 4.1' e yaklaşır.

MC simülasyonu gerçekleştirmek için rastgele, birbirinden bağımsız, reel ve düzgün olarak dağılmış (sıfırdan bire kadar) bir dizi sayı gereklidir. Metodun bir

probleme uygulanması, problemde bu sayılar kullanılarak defalarca simüle edilip, hesap edilmek istenen parametrenin bu simülasyonların sonuçlarına bakılarak yaklaşık olarak hesaplanması fikrine dayanmaktadır.

Günümüzde MC metotları; nümerik integrasyon, stokastik optimizasyon, sistem analizi, kısmi diferansiyel denklemler, integral denklemler, ekonomik modelleme, matematiksel finans, kuantum mekaniği, istatistik fizik, nükleer ve katı hal fiziği, sosyal bilimler dallarında kullanılmaktadır (Briesmeister, 1993).

MC simülasyonunda bir deneyin sonucunu tahmin etmek için rastgele örneklemeden yararlanılır. MC yönteminde izlenen adımlar şunlardır.

Probleme ait önemli değişkenler belirlenip, bu değişkenlerin olasılık dağılımları saptanır, olasılık dağılımları değişken değerlerinin özel bir alanla sınırlandırılmış olması, eşit şanslara sahip olması veya aynı olasılıklara sahip olması durumunda mevcuttur. Her bir değişken için rastgele sayı aralıkları belirlenir, rastgele sayılar seçilir veya üretilir.

Seçilen rastgele sayılar kullanılarak denemeler gerçekleştirilir.

Bu sayılar iki önemli şartı sağlamaktadırlar;

Bütün değerlerin meydana gelmesi eşit şansa sahiptir.

Bütün yeni değerler bütün önceki elde edilen değerlerden bağımsızdır.

4.3. Moleküler Dinamik

MD, moleküler simülasyonlarında temel olarak kullanılan yöntemlerden bir tanesidir. MD, bir sistem içindeki moleküller arası ve molekül içi etkileşimleri hesaba katarak, her bir moleküldeki her bir atom için Newton hareket denklemini çözerek istatistiksel bir topluluk oluşturur (Yampolskii et al., 2006). MD yönteminin iki genel formu vardır.

Biri dengedeki sistemler için, diğeri ise dengeden uzaktaki sistemler içindir. Adler ve Wainwright, tarafından 1950' lerin sonunda oluşturulan denge moleküler dinamik (Alder and Wainwright, 1957), V hacminde, N molekül sayısına sahip, izole olmuş sistemlere uygulanır. Sistem yalıtıldığı için toplam moleküler kinetik ve

potansiyel enerjisi “ E ” sabittir. Bundan dolayı N , V , E değişkenleri termodinamik durumu gösterir. NVE moleküler dinamiğinde r^N moleküler konumlar Newton hareket denklemini çözerek elde edilir.

N tane atomdan oluşan bir sistem için Newton hareket denklemi;

$$\vec{F}_i = m_i \ddot{\vec{r}}_i = -\frac{\partial V(\vec{r}^N)}{\partial \vec{r}_i} \quad (4.6)$$

Burada F_i , i . molekül üzerine diğer $N-1$ adet molekül tarafından uygulanan kuvvettir, m moleküler küttedir. Bu denklemi moleküller arası potansiyel enerjiyi kuvvetle ilişkilendirir. Eşitlik 4.6 ile verilen ifadenin integrali alınarak atomik momentum, ikinci kez integrali alınarak da atomik konumlar bulunur.

MD metoduna, incelenen sistemin içerisindeki atomik etkileşimleri tamamıyla tanımlayan bir potansiyel enerji fonksiyonunun seçilmesiyle başlanır. Sistem tanımlandıktan sonra sistemi oluşturan parçacıkların başlangıç konumları ve hızları verilir. Başlangıç hızları Maxwell - Boltzmann dağılımına uyar. Bu dağılım;

$$\int \exp\left(-\frac{1}{2} \beta m v^2\right) \quad (4.7)$$

ile orantılıdır, burada k_B Boltzmann sabiti ve T sıcaklık olmak üzere $\beta = 1 / k_B T$ dir. Kütle merkezinin hızı sıfır olmalıdır. Bunun dışında toplam enerji, çizgisel ve açısal momentum bileşenleri de korunmalıdır. Tüm bunlardan sonra tipik bir MD programında şu adımlar izlenir.

- Etkileşim potansiyelinden sistemdeki parçacığa etkiyen kuvvetin hesaplanması
- Bu kuvvetten i . parçacığın ivmesinin hesaplanması.
- Bu ivme ile i . parçacığın hareket denkleminin integrasyonu

Böylece i . parçacığın yeni konumu ve hızı elde edilir. Aynı işlem sistemdeki diğer parçacıklar içinde yapıldığında sistemin bir zaman adımı sonrasındaki yeni şekillenimi elde edilmiş olacaktır.

Her iki simülasyon metodu da bir potansiyel enerji fonksiyonunu temel alır. Potansiyel enerji fonksiyonu atomların konumlarına bağlı olarak birbirleriyle etkileşimlerini tanımlar. Bu yüzden uygun potansiyel fonksiyonunu tayin edebilmek bu iki simülasyon tekniği için son derece önemlidir.

Biz konumuz itibari ile MD yöntemi üzerine yoğunlaşacağız.

5. MOLEKÜLER DİNAMİK

5.1. Moleküler Dinamiğin Temel Kavramları

Sistemin durumunu belirleyen sıcaklık, basınç, parçacık sayısı gibi parametre setine sistemin termodinamik durumu denir. Bir sistem atomik konum q ve momentuma p bağlı olarak tanımlanır. Konumlar ve momentumlar çok boyutlu uzayda noktalar olarak düşünülür ve bu uzay faz uzayı olarak tanımlanır. Faz uzayında bir nokta “ Γ ” ile gösterilir ve sistemin durumunu tanımlar.

İstatistiksel küme bir sistemi oluşturan parçacıkların yerlerinin ve hızlarının farklı oluşundan elde edilen belirli termodinamik durumun şartlarını sağlayan faz uzayındaki noktalar topluluğudur. Moleküler dinamik zamanın fonksiyonu olarak faz uzayında noktalar serisi üretir. Bu noktalar aynı topluluğa ait olup sistemin değişik şekillerine ve bu şekillerin momentumlarına karşılık gelir.

Moleküler dinamikte kullanılan kümeler sistemin bulunduğu koşullara göre değişir ve bu koşullar için kullanılan başlıca kümeler;

Mikrokanonik Küme (NVE): Sabit atom sayısı N , sabit hacim V ve sabit enerji E ile karakterize edilen termodinamik durumdur. Bu durum izole edilmiş sisteme karşılık gelir.

Kanonik Küme (NVT): Sabit atom sayısı N , sabit hacim V ve sabit sıcaklık T ile karakterize edilen durumdur.

İzobarik Küme (NPT): Sabit atom sayısı N , sabit basınç P ve sabit sıcaklık T ile karakterize edilen topluluktur.

Büyük Kanonik Küme (μVT): Sabit kimyasal potansiyel μ , sabit hacim V ve sabit sıcaklık T ile karakterize edilen termodinamik haldir.

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

Küme ortalaması aşağıdaki gibi verilir:

$$\langle A \rangle_{\text{küme}} = \iint dp^N dr^N A(p^N, r^N) \rho(p^N, r^N) \quad (5.1)$$

Burada $A(p^N, r^N)$ ilgilenilen niceliktir ve sistemin konumları (r), ve momentumları (p)'nin cinsinden ifade edilir.

$\rho(p^N, r^N)$ ifadesine ise olasılık yoğunluğu denir ve şöyle verilir:

$$\rho(p^N, r^N) = \frac{1}{Z} \exp \left[\frac{-H(p^N, r^N)}{k_B T} \right] \quad (5.2)$$

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

Üleşim fonksiyonu;

$$Z = \iint dp^N dr^N \rho(p^N, r^N) \exp \left[\frac{-H(p^N, r^N)}{k_B T} \right] \quad (5.3)$$

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

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

$$\langle A \rangle_{\text{küme}} = \langle A \rangle_{\text{zaman}} \quad (5.4)$$

Zaman ortalaması şöyle verilir:

$$\bar{A} = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{1}{T} \int_{t=0}^t A(p(t)^N, r(t)^N) dt \approx \frac{1}{M} \sum_{t=1}^M A(p(t)^N, r(t)^N) \quad (5.5)$$

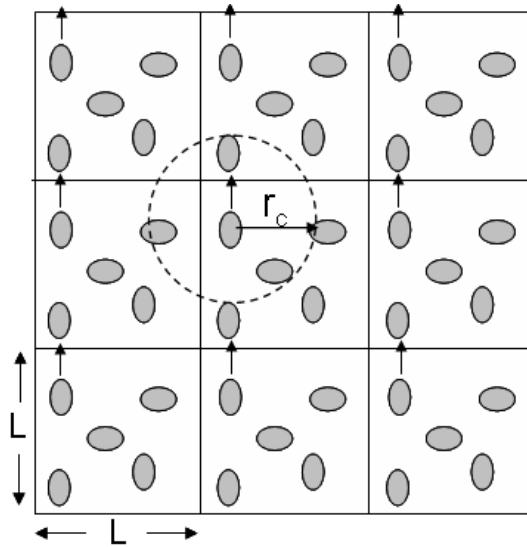
Burada t simülasyon zamanı, M simülasyondaki zaman adımı sayısı, $A(p^N, r^N)$ ise A 'nin ani değeridir. Zaman ortalamasının hesaplamasında temel mantık sistemin süresiz olarak gelişimine izin verilip bu sayede mümkün olan bütün durumlardan geçmesini sağlamaktır. Buna göre Moleküler dinamik (MD) simülasyonlarının

amaçlarından biri bu eşitliği sağlayacak şekilde yeterince temsili parçacıklar oluşturmaktır.

5.2. Moleküler Dinamik Tekniğinde Sınır Koşulları

MD tekniği atomik veya moleküler sistemlerin makroskobik özelliklerini incelemeyi amaçlar. MD tekniği ile çok parçacıklı sistemlerin yapısal ve termodinamiksel özellikleri incelenebilmektedir. Ancak incelenen sistemlerin yüzey etkileşmeleri yani atomların içinde buldukları kutunun duvarlarıyla olan etkileşmeleri sistemin özelliklerini büyük oranda etkilemektedir.

Hacimsel fazda çalışmak istediğimizde bu yüzey etkileşmelerinin etkisini önlemek için, N -parçacıklı sistemi bir hacim içinde kabul eden sınır koşulları seçilir. Bu ise genellikle “Periyodik sınır koşullarının” uygulanması ile mümkündür.



Şekil 5.1. Periyodik sınır koşullarının uygulanması.

Bunun için Şekil 5.1' deki gibi iki boyutlu bir sistem düşünülür. Periyodik sınır koşullarına göre, V hacmini kaplayan N tane atomun bulunduğu hücreye “ana hücre” denir. Bu sistemde ana hücre ortadaki hücredir ve iki boyutta çalışıldığından bu hücreye komşu 8 adet hücre vardır. Komşu hücreler, ana hücre ve bu hücre ile aynı boyut ve geometrik şekle sahiptir. Bu sanal hücrelerde de N tane atom bulunmaktadır, bunlara ana hücredeki atomların görüntü atomları denir. Ana hücredeki bir i parçacığı r_i konumunda ise L hücre büyüklüğü ve n tamsayı olmak üzere;

$$R(r_i) = R(r_i + nL) \quad (5.6)$$

konumlarında görüntü atomları bulunur. Böylece ana hücre, tüm doğrultularda görüntülenerek periyodik hale getirilir. Periyodik sınır koşullarının kullanıldığı simülasyon modellerindeki mantık Şekil 5.1’de gösterildiği gibi ana hücreden diğer bir komşu hücreye hareket eden parçacığa karşılık, sanalı da aynı hareketi yapar.

Sonuç olarak ana hücredeki parçacık sayısı değişmez, bütün parçacıklar birbirleriyle etkileşir ve böylece ana hücre için sınır koşulları ortadan kalkmış olur.

Periyodik sınır koşulları kullanılarak hücredeki atomlar arası etkileşimler hesaplanırken “kısa mesafelerdeki” etkileşimleri göz önünde tutarız. Bunun anlamı, ana hücredeki bir i atomunun toplam potansiyel enerjisi bir “ r_{cut} ” kesim mesafesinden küçük uzaklıklarda bulunan komşu atomlarla yaptığı etkileşimlerden oluşur. Periyodik sınır koşulları kullanıldığında r_{cut} ’ın periyodik hücre boyutunun yarısından küçük olması ($r_{cut} < L/2$) önemlidir. Çünkü bu durumda i atomunun en yakın komşularla yaptığı etkileşimler dikkate alınmaktadır. Periyodik sınır koşulları, korunum yasalarını sağlamaktadır. Sistemin toplam atom sayısı sabit ve sanal atomlar ana hücredeki atomlarla özdeş olduğundan kütle korunmaktadır.

5.2. Moleküler Dinamikte Kullanılan Algoritmalar

MD, moleküler modellemede temel olarak kullanılan tekniklerden bir tanesidir. MD tekniğinde, bir sistemdeki moleküller arası ve molekül içi etkileşimleri göz önüne alınarak, Newton hareket denkleminin çözümünden her bir atom üzerindeki kuvvet hesaplanıp, sistemdeki atomların ivmeleri belirlenir.

Hareket denkleminin integrasyonundan parçacığın zaman içinde değişen ivmesi, hızı ve yerini belirten yörüngesi elde edilir. Daha sonra yörüngeden istenilen özelliklerin ortalama değerleri belirlenebilir. Bu metot belirleyicidir (deterministik) çünkü herhangi bir anda her bir atomun yeri ve hızı biliniyorsa, sistemin durumu geçmişte veya gelecekteki herhangi bir zaman için belirlenebilir.

N tane atomdan oluşan bir sistem için Newton hareket denklemleri Eşitlik 5.7’deki gibi yazılabilir.

$$m_i \frac{d^2 r_i(t)}{dt^2} = F_i(t) \quad (i = 1, 2, 3, \dots, N). \quad (5.7)$$

Bu eşitlik de, r_i ve m_i , i . atomunun pozisyonunu ve kütlesini ifade etmektedir. F_i ise t zamanındaki i . atom üzerine uygulanan kuvveti gösterir.

Kuvvet, potansiyel enerjinin gradyanı olarak ifade edilebildiğinden;

$$F_i = -\vec{\nabla}_i V(r_1, r_2, \dots, r_N) \quad (5.8)$$

Bu iki denklem birleştirilirse;

$$-\frac{\partial V}{\partial r_i} = m_i \frac{d^2 r_i(t)}{dt^2} \quad (5.9)$$

ifadesi oluşturulabilir. Hareket denklemi olan bu ifadenin basit çözümünden Eşitlik 5.10' ifade edilen terimler elde edilir.

$$\begin{aligned} \vec{a} &= \frac{\vec{F}}{m} \\ \vec{v} &= \vec{a}t + \vec{v}_0 \\ x &= \frac{1}{2}at^2 + v_0t + x_0 \end{aligned} \quad (5.10)$$

Bu denklemlerden görüleceği gibi yörüngenin hesaplanması için atomların başlangıç yerlerinin, başlangıç hız dağılımlarının ve potansiyel enerjinin gradyantından belirlenebilen ivmelerinin bilinmesine ihtiyaç vardır. Hareket denklemi belirleyicidir; atomların başlangıçtaki yerleri ve hızları biliniyor ise her hangi bir zamandaki hız ve yerleri belirlenebilir.

Simülasyonda atomların yerleri, yapıları deneysel yapılardan belirlenebilir. Hızların başlangıç dağılımları genellikle rastgele dağılımlardan elde edilir. Rastgele hız dağılımlarının büyüklükleri istenilen sıcaklığı sağlamalı ve bütün momentumların toplamları sıfır olmalıdır. MD yönteminde başlangıç konfigürasyonları sayısal algoritmalar tarafından belirlenmektedir. Başlangıç konfigürasyonları simülasyonun sonucu açısından önemlidir. Uygun olmayan bir konfigürasyondan başlanıldığında doğru sonuçlar elde etmek için çok uzun zaman dilimlerine ihtiyaç duyulmaktadır. MD yöntemi birçok kümeye uygulanmasına rağmen, büyük kanonik kümeye

uygulamaları sınırlıdır. Bunun nedeni büyük kanonik kümenin hesaplanmasında kullanılan moleküllerin ilave edilmesi ve yok edilmesi yöntemi moleküler dinamikte Newton denkleminin integrasyonunda kesiklik meydana getirmektedir.

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

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

Parçacıkların hareketlerini ifade eden denklemlerin çözümleri için çeşitli algoritmalar kullanılmaktadır. MD simülasyon yönteminde sıkça kullanılan algoritmalarından biri Verlet algoritmasıdır.

5.3. Verlet Algoritması

Verlet algoritması basit ve simetrik bir algoritmadır. Verlet algoritmasının başlangıç noktası Taylor serisidir. Taylor serisini kullanarak (Verlet, 1967)

Δt zamanı kadar öncesi ve sonrasını yazarsak aşağıdaki eşitlikler elde edilir.

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \frac{dr}{dt} \Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2r}{dt^2} \Delta t^2 + \dots \quad (5.11)$$

$$r(t - \Delta t) = r(t) - \frac{dr}{dt} \Delta t + \frac{1}{2!} \frac{d^2r}{dt^2} \Delta t^2 + \dots \quad (5.12)$$

Eşitlik 5.11 ve Eşitlik 5.12 toplanıp düzenlendiğinde ise Eşitlik 5.13' de verilen form oluşturulur.

$$r(t + \Delta t) = 2r(t) - r(t - \Delta t) + \frac{1}{2!} \frac{d^2 r}{dt^2} \Delta t^2 \quad (5.13)$$

Eşitlik 5.13, Verlet algoritması olarak bilinmektedir ve hızlar gerekmeden, moleküllerin pozisyonlarını belirler. Ancak kinetik enerjiyi belirlemek için hızların hesaplanması gerekmektedir. Eşitlik 5.13 kullanılarak hızlar hesaplanabilir.

$$V(t) = \frac{r(t + \Delta t) - r(t - \Delta t)}{2\Delta t} \quad (5.14)$$

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

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

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

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

$$r(t + \Delta t) = r(t) + \Delta t v(t) + \frac{\Delta t^2 a(t)}{2} \quad (5.15)$$

$$v(t + \Delta t) = v(t + \frac{\Delta t}{2}) + \frac{\Delta t a(t + \Delta t)}{2} \quad (5.16)$$

$$r(t + \frac{\Delta t}{2}) = v(t + \frac{\Delta t}{2}) + \frac{\Delta t a(t)}{2} \quad (5.17)$$

Bunların dışında MD yönteminde kullanılan daha birçok integrasyon yöntemleri mevcuttur.

5.4. Etkileşme Hesapları İçin Kullanılan Algoritmalar

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

5.4.1. Bağlı etkileşimler

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

- Shake Metodu

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

- Lincs Metodu

Lincs algoritması, sınırlandırılmamış güncellemeden sonra bağları kendi gerçek uzunluklarına eşitleyen bir algoritmadır. Tekrarlamalı bir metot değildir ve genellikle iki adımda kullanılır. Shake metoduna göre daha kararlı ve hızlıdır fakat bu metot, sadece bağ sınırlamaları ve izole edilmiş açı sınırlamaları ile kullanılabilir. Kararlılığından dolayı bilhassa Brownian dinamiği için kullanışlıdır. Lincs algoritması moleküler dinamikte Leap-Frog veya Verlet tipi (MD) algoritması için uygun olarak hazırlanmıştır.

5.4.2. Bağlı olmayan etkileşimler

Uzun-mesafe Coulomb etkileşimleri 3 boyutlu “Ewald” toplamı (Ewald, 1921) tekniği ile çözülür. Çünkü Ewald toplamı, çoğu sistem için daha güvenilir enerji tahminleri verir. Yüklerden oluşan sistemin elektrostatik potansiyeli, kısa ve uzun mesafe katkıların toplamı olarak ifade edilir.

Şunu da hatırlatmak gerekir ki; elektrostatik kısım için olduğu gibi, kısa mesafeli potansiyeller için de r_{cut} değeri kesme (cut-off) olarak kullanılır. Seçilen değer potansiyelin elektrostatik olmayan kısmının doğasını hesaba katmaz.

5.5. Enerji Minimizasyonu

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

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

5.5.1. Steepest Descent algoritması

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

Atomların yeni konumları şu denklem ile bulunur;

$$r_{n+1} = r_n + \frac{F_n}{\max(|F_n|)} \quad (5.18)$$

h_n ; maksimum yer değiştirme

F_n ; kuvvet veya potansiyel enerjinin gradyanı

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

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

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

5.5.2. Conjugate Gradient algoritması

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

$$r_{m+1} = r_m + \alpha_m d_m \quad (5.19)$$

Burada d_m adım (araştırma) yönüdür ve α araştırma yönünde potansiyel enerjiyi minimize eden sayıdır. α 'nın çözümü, $r_{m+1} = r_m + \alpha_m d_m$ noktasında potansiyel enerjinin gradyantının araştırma yönüne dik olmasını gerektirir.

5.6. Benzetişimli Tavlama (Simulated Annealing) Algoritması

Benzetişimli tavlama (SA; Simulated Annealing) ilk olarak Kirkpatrick, Gelatt ve Vecchi tarafından önerilmiş, olasılık tabanlı bir algoritmadır (Kirkpatrick et al., 1983). İncelediğimiz fiziksel sistemlerin en büyük veya en küçük enerji değerlerinin bulunması ve özellikle pek çok yerel minimuma sahip sistemlerin en küçük enerji değerlerinin bulunması için tasarlanmıştır, zaten SA algoritmasını diğer optimizasyon metotlarından ayıran önemli özelliklerden biriside büyük oranda yerel minimumlardan kurtulabilme kabiliyetinin olmasıdır.

Bu algoritma katı cisimlerin soğurken mükemmel şekilde atomik dizilişlerini örnek olarak tasarlanmıştır. Malzemelerin atomları yüksek sıcaklıklarda yüksek enerji seviyelerindedir ve düzgün dizilimler için daha fazla hareket serbestliğine sahiptirler. Sıcaklık düştüğünde ise atomik enerji azalır ve düzgün yapılı bir kristal

sağlandığında sistem minimum enerjiye sahip olur. Fiziksel sistemin hızlı soğutulması sonucu sistem, her zaman en düşük enerjili duruma gelmeyebilir. Fakat soğutma işlemi yavaş yapılırsa sistem en düşük enerjili durumuna erişecektir (Dowland, 1995).

Verilen bir T sıcaklığında incelenen sistemin enerjilerinin olasılık dağılımı aşağıda verilen formül ile belirlenir:

$$P(E) = e^{-E/kT} \quad (5.20)$$

Burada, E sistemin enerjisi, k ise Boltzmann sabitidir. Sistemin durumunda değişiklik yaratılarak yani yüksek sıcaklıklara çıkarılan sistemin soğutulmuş düzenli adımlarla SA algoritmasına göre yeni enerjisi hesaplanır.

Eğer enerji azalmış ise sistem bu yeni duruma geçer. Eğer enerji artmış ise düzgün dağılımdan $[0,1]$ aralığında rastgele bir " δ " sayısı üretilir ve Eşitlik 5.21'da verilen şart sağlanırsa durum, yeni durum olarak kabul edilir. Aksi takdirde, mevcut durum değiştirilmez.

$$\delta \leq e^{\Delta E / kT} \quad (5.21)$$

Burada, ΔE , iki durumun enerji seviyeleri arasındaki farktır. SA yöntemi işte bu mantıkla çalışır.

Eşitlik 5.20' ye göre, yüksek sıcaklıklarda tüm enerji durumları için $P(E)$, 1'e yakınsar. Düşük sıcaklıklarda bile sistemin yüksek enerji seviyesine sahip olması küçük bir olasılıkla görülebilir. Bu nedenle enerjilerin istatistiksel dağılımı sistemin bir bölgesel enerji minimumundan çıkmasına izin verir.

SA algoritmasının performansı büyük oranda seçilen soğutma planına bağlıdır. Literatürde önerilen en eski plan Kirckpatrick ve arkadaşlarının ileri sürdükleri plandır. Bu plana göre T sıcaklık parametresinin başlangıç değeri denenen tüm hareketler kabul edilecek kadar yüksek seçilmiştir. Sıcaklık parametresinin değerini azaltmak için ise,

$$T(t+1) = r.T(t) \quad (5.22)$$

bağıntısı kullanılmıştır. Burada, r değeri 1' den küçük fakat 1'e yakın bir sabittir ve genellikle değeri 0.80 ile 0.99 arasında seçilir. Bu sıcaklık fonksiyonu ile sıcaklık parametresinin değeri sıfıra yaklaştıkça daha da yavaş azalmaktadır. Bu tavlama planında, sıcaklık parametresinin her değerinde elde edilen çözüm belirli sayıda ardışık sıcaklık değişimleri boyunca aynı kalırsa SA algoritması durdurulmaktadır.

5.7. Moleküler Dinamikte Sıcaklık-Basınç Kontrolü

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

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

5.7.1. Hız ölçeklendirmesi metodu

İncelenen sistemin sıcaklığı sistemin ortalama kinetik enerjisi ile ilişkilidir.

$$\langle KE \rangle = \frac{3}{2} k_B N T \quad (5.23)$$

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

$$\Delta T = \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{2}{3} \frac{m_i}{N k_B} (\lambda v_i)^2 - \frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \frac{2}{3} \frac{m_i}{N k_B} (v_i)^2 \quad (5.24)$$

$$\Delta T = (\lambda^2 - 1) T(t) \quad (5.25)$$

Eşitlik 5.24 ve Eşitlik 5.25'de verilen formlar oluşacaktır. Her iki eşitlikten de " λ " faktörü,

$$\lambda = \sqrt{\frac{T_{yeni}}{T(t)}} \quad (5.26)$$

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

5.7.2. Berendsen sıcaklık çiftlenimi

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

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

$$\frac{dT(t)}{dt} = \frac{1}{\tau}(T_{bath} - T(t)) \quad (5.27)$$

“ τ ” çiftlenim parametresidir. Bu parametrenin büyüklüğü sistem ile ısı banyosu (heat bath) arasındaki etkileşimin boyutunu belirler.

Sıcaklıktaki değişim;

$$\Delta T = \frac{\delta t}{\tau}(\tau_{bath} - T(t)) \text{ bu durumda} \quad (5.28)$$

$$\lambda^2 = 1 + \frac{\partial t}{\partial \tau} \left(\frac{T_{bath}}{T(t)} - 1 \right) \quad (5.29)$$

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

5.7.3. Genişletilmiş sistem metodu

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

Simülasyon çalışmamızı kanonik kümede gerçekleştirmek için “genişletilmiş sistem metodunu” kullanırız. Genişletilmiş sistem metodu, Nose-Hoover tarafından geliştirilmiş bir metottur (Nose, 1984; Hoover, 1985). Bu metot, incelenen fiziksel sistemle birleşik ve ek serbestlik derecesine sahip bir ısı-tankı ile etkileşim mantığına dayanır. Bu ısı banyosunun kinetik enerjisi;

$$K = \left(\frac{Q}{2} \right) \left(\frac{ds}{dt} \right)^2. \quad (5.30)$$

Q, boyutu (enerji)×(zaman)² olan ekstra serbestlik derecelerinin kütesidir ve gerçek sistemle ısı-tankının çiftlenim büyüklüğünü belirler.

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

Gerçek sistemimizde bulunan parçacıkların hızlarını;

$$V_i = s \frac{dr_i}{dt} \quad (5.31)$$

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

$$dt = s dt' \quad (5.32)$$

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

5.7.4. Parinello-Rahman basınç çiftlenimi

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

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

$$\frac{d^2b}{dt^2} = V W^{-1} b^{l-1} (P_{ref} - P_{dış}) \quad (5.33)$$

ile verilir. Burada, V simülasyon kutusunun hacmi, P_{ref} istenilen basınç değeri, P_{dis} sisteme uygulanan dış basınçtır. W matrisi Eşitlik 5.34 ile ifade edilir ve sistem ile basınç tankının etkileşiminin büyüklüğünü belirler.

$$(W^{-1})_{i,j} = \frac{4\pi^2\beta_{i,j}}{3\tau_p^2L} \quad (5.34)$$

Parinello-Rahman yaklaşımı ile simülasyonda basınç zaman sabiti τ_p , izotermal sıkıştırılabilirlik β belirlenerek sistemin basıncı kontrol altına alınır. Burada L ise, seçilen simülasyon kutusunun en büyük kenar uzunluğunu temsil eden matris elemanıdır.

6. SİMÜLASYON ÇALIŞMASI

Bu tez çalışmasında gıda zehirlenmelerine sebep olan Staphylococcal enterotoxin B (SEB) toksinlerinin saptanmasında biyosensör olarak kullanılabilirliklerini incelemek amacıyla, deneysel yöntemler ile sentezlenmiş 3 farklı peptit diziliminin oda sıcaklığındaki ikincil yapılarının Moleküler Dinamik simülasyon teknikleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu peptitleri oluşturan amino-asitlerin dizilimi, amino- asitlerin 3 harfli gösterimi kullanılarak, aşağıda listelenmiştir.

1. Trp-Ser-Tyr-Pro-Pro-Leu-Ala-Phe-Phe-Arg(+)-Ser-Trp.
2. Thr-Leu-Leu-Ala-Asp(-)-Thr-Hid/Hie-Hid/Hie-Arg(+)-Pro-Leu-Thr.
3. Leu-Gln-Tyr-Gly-Phe-Trp-Gln-Tyr-Asp(-)-Ala-Ser-Arg(+).

Burada her bir peptit dizilimi 12 amino-asitden oluşmuştur ve amino-asitlerin dizilim içerisinde aldığı yükler parantezler içerisinde belirtilmiştir. Bu dizilimlerin her biri sırasıyla peptit I, peptit II ve peptit III olarak adlandırılmıştır.

Deneysel yöntemler ile sentezlenmiş bu peptitlerin X-ışınları veya NMR gibi spektral teknikler ile elde edilmiş kararlı 3 boyutlu konformasyonlarını gösteren deneysel sonuçları henüz mevcut değildir. Dolayısıyla MD simülasyonlarımızın başlangıç koşullarında hiçbir deneysel veri kullanılmamıştır. İlgili tüm peptitlerin başlangıç konformasyonları sahip oldukları basit zincir diziliminden (primary structure) oluşturulmuştur.

Peptit dizilimlerinin MD simülasyonu için kullanılan yazılım, MD simülasyonlarımız için kullanılan sayısal değerleri ve ilgili teknik detayları aşağıda alt başlıklar altında anlatılmıştır. Belirlenen uygulama yöntemlerine göre elde edilen veriler ve sonuçları ise “Simülasyon Sonuçları” alt başlığı altında verilmiştir.

6.1. Kullanılan Yazılım

Bu tez çalışmasında, yapılan moleküler dinamik simülasyonu için Gromacs programı kullanılmıştır. “Groningen Machine for Chemical Simulations”ın baş harflerinden oluşan Gromacs (Gromacs, <http://www.Gromacs.org>) ilk olarak Groningen Üniversitesi'nin Biyofiziksel Kimya bölümü tarafından geliştirilen açık kaynak kodlu bir yazılım paketidir. Gromacs projesi aslında 1990'ların başında

halka mimarisine dayanan moleküler simülasyonlar için paralel bilgisayar sistemi oluşturmak amacıyla dizayn edilmiştir. Gromacs protein, lipit, polimer gibi biyomolekülleri simüle etmeye yarayan bir programdır. Birçok sistem üzerinde derlenebilir ve standart mesaj geçiş arayüzü olarak adlandırılan (MPI: Message Passing Interface) kullanılarak paralel olarak çalıştırılabilme olanağına sahiptir. Bununla birlikte Gromacs birden fazla kuvvet alanını destekler ve açık kaynak kodlu doğasından dolayı oldukça esnek bir programdır.

6.2. Metod

İlgili peptitlerin oda sıcaklığında ($T = 300 \text{ K}$) sahip olabileceği yapılara karşılık gelen potansiyel enerji değişimi ve diğer yapısal özelliklerini MD simülasyon tekniği ile incelemek için tarafımızca yol haritası (protokol) belirlenmiştir. Bu protokol temelde ilgili peptitlerin denge aşamasında üretim verilerinin elde edilmesi amacı ile uygulayacağımız MD simülasyonları için başlangıç konformasyonlarının belirlenmesine yöneliktir.

Öncelikle, her bir peptitin başlangıç yapıları Tinker modelleme programı (Ren and Ponder, 2002) kullanılarak, düz bir zincir şeklinde oluşturulmuştur. Oluşturulan bu başlangıç yapılar kullanılarak yapılan MD simülasyon çalışmalarımız iki aşamalı olarak gerçekleştirilmiştir. Bunların ilk aşaması vakum ortamında yapılan simülasyon, diğeri ise sisteme eklenen çözücü etkisi göz önüne alınarak yapılan simülasyon aşamasıdır. Vakum ortamındaki simülasyon sonucu elde edilen yapılar, ortama çözücü eklenerek yapılan simülasyon aşamasında başlangıç yapısı olarak kullanılmıştır. Bu sayede daha gerçekçi ortam koşullarına sahip, çözücü içeren simülasyon çalışmasına daha kararlı bir yapı ile başlanması amaçlanmıştır.

Peptitlerin vakum simülasyonları NVT (parçacık sayısı, hacim ve sıcaklık sabit: canonical ensemble) ve çözücü içeren ortamdaki simülasyonlarımız ise NPT kümesi (parçacık sayısı, basınç ve sıcaklık sabit: "isobaric-isothermal ensemble") kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Molekül içi ve moleküller arası etkileşimleri hesaplamak için kullanılan kuvvet alanı (force field), OPLS-AA/L olarak seçilmiştir. Biyomolekülleri oluşturan atomların hızları $T = 300 \text{ K}$ için, Maxwell-Boltzman hız dağılım fonksiyonu ile belirlenmiştir. MD simülasyonu için atomların konumlarının

ve hızlarının belirlenmesi için standart Verlet algoritması kullanılmış ve moleküler dinamik zaman adımı 2 fs olarak seçilmiştir.

Yapılan simülasyon çalışmalarında periyodik sınır koşullarını kullanabilmek ve sistemin büyüklüğünü sınırlamak için incelenen yapılar bir simülasyon kutusuna yerleştirilmiştir. Bu sayede sadece kutu içerisindeki kuvvetlerin hesaplanması amaçlanmıştır. Simülasyon kutusunun şekli ve büyüklüğü, simülasyon zamanını önemli ölçüde etkileyeceğinden kutunun boyutları minimum olacak şekilde belirlenmiştir.

6.2.1. İzlenen yol haritası ve teknik detaylar

Simülasyon çalışmasına vakum ortamından başlanılmıştır. Tinker moleküler modelleme paketi kullanılarak oluşturulan peptitlerin basit yapıları, boyutları 3*3*3 nm³ olan kübik simülasyon kutusunun merkezine yerleştirildi. Simülasyon kutusuna yerleştirilen yapılar, sahip oldukları yüksek enerjiden dolayı kararlı durumda olamayacaklarından enerji minimizasyonu işlemine geçildi. Enerji minimizasyonundaki amaç; tüm kinetik enerjiyi sistemden atıp, yapıdaki termal gürültüyü azaltırken, sistemin potansiyel enerjisinde de bir azalma olmasını sağlamaktır.

Sistemin enerji minimizasyonu, her peptit sisteminin yakın van der Waals temaslarını yok etmek için yerel tarama tekniklerinden sırasıyla “Steepest Descent” ve “Conjugate Gradient” algoritmaları kullanılarak yapıldı. Minimizasyon işleminde enerji gradyanı 100 kJmol⁻¹nm⁻¹ olarak seçildi ve 1000 adımda tamamlandı.

Simülasyon çalışmalarında, başlangıç şartları sistemin faz uzayındaki beklenen yörünge konumu civarında bulunamayabilir. Sistemin istenilen enerji değerine (faz uzayındaki yörüngesine) ayarlanması, sisteme enerji vererek veya sistemden enerji alarak sağlanabilir. Enerji verme veya alma işlemi genellikle, termostat parametresi olarak adlandırılan bir değer ile atom hızları çarpılarak sağlanır. Bu işlemin yapıldığı süreç, moleküler dinamikte dengeleme süreci veya termalizasyon olarak adlandırılır ve bu bölgedeki sisteme dengeleme fazı denir (Haile, 1992). Bu doğrultuda, sistemin enerji minimizasyonunun ardından termalizasyon adımına geçildi.

200 ps'lik termalizasyon sürecinde sıcaklık kontrolü Nose-Hoover ısı banyosu kullanılarak sağlandı. Çiftlenim parametresi 0.1 ps olarak ayarlandı. Termalizasyon adımı sonrasında simülasyon çalışmasının ürün aşamasına geçildi.

Vakum ortamında yapılan simülasyonun 1000 ps'lik ürün aşamasında, sıcaklık, v-rescale ısı banyosu (Bussi et al., 2007) ile çiftlenim sabiti 0.1 ps seçilerek kontrol edildi. SA algoritması yardımı ile biyomoleküllerin sıcaklığı aniden 1000 K'e yükseltip aşama aşama 300 K'e düşürüldü. Bu sayede oluşturulan tüm konformasyonların birbirleri ile korelasyonuna bakılarak birbirlerinden farklı ya da benzer konformasyonlar kümesi oluşturulmaya çalışıldı.

Vakum ortamında yapılan bu simülasyon aşamasının sonucunda elde edilen yapılardan, en olası konformasyon seçildi. Ortama çözücü eklenerek yapılan simülasyon aşamasına seçilen bu yapı ile başlandı. Seçilen yapılar yine kenar uzunluğu 3 nm olan kübik bir kutunun merkezine yerleştirildi. Kutu içerisindeki yapıların atomları ile simülasyon kutusu arasındaki uzaklık minimum 1 nm olarak belirlendi.

Her bir peptit için atomlar arası etkileşimlerden, elektrostatik etkileşimler için gerçek uzay kesim değeri (r_{cut}) 0.9 nm olarak alındı ve "Particle Mesh Ewald" (PME) yöntemi kullanıldı (Darden et al., 1993). PME yöntemi gereği peptit i'ni nötralize etmek için 1 Cl⁻ iyonu eklendi. Lennard Jones etkileşimleri, r_{cut} 1.4 nm alınarak, kesim değeri (cut-off) yaklaşımı ile hesaplandı. Bağ uzunlukları Lincs algoritması kullanılarak sınırlandırıldı.

Bu işlemi takiben, vakum ortamından farklı olarak, daha gerçekçi bir simülasyon yapmak amacı ile SPC/216 su modeli kullanılarak simülasyon kutuları peptit I, peptit II, peptit III için sırasıyla 2303, 2053 ve 2112 su molekülü ile dolduruldu.

Hidrojenin ve kırılmış hidrojen bağlarının su içerisine eklenmesi çok büyük kuvvetlerin oluşmasına ve aynı zamanda yapının bozulmasına neden olduğundan, bu kuvvetleri sistemden çıkarma işlemi, enerji minimizasyonu adımı ile sağlandı.

Peptitlerin başlangıç yapısı vakum ortamında olduğu gibi 100 kJmol⁻¹nm⁻¹ enerji gradyanı kullanılarak sırası ile "Steepest Descent" ve "Conjugate Gradient"

algoritmaları kullanılarak minimizasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlemi takiben termalizasyon adımına geçildi.

Termalizasyon adımı yapılırken sisteme konum sınırlaması işlemi de yapıldı. Konum sınırlaması (position restrain) sabit pozisyonda tutulan özelleşmiş atomların harmonik etkileşimleridir. Çözücü eklenen sistemimizde konum sınırlaması ile, su moleküllerinin simülasyon kutusu içerisinde serbestçe dolaşmasına imkan verilirken atom pozisyonları da sınırlandırılarak, makromoleküllerin içinin su ile kaplanması sağlandı.

Simülasyonun bu aşamasında suyun gevşeme zamanı da göz önünde tutularak 200 ps'lik termalizasyon işlemi yapıldı. Sıcaklık ve basınç sırasıyla v-rescale (Bussi et al., 2007) ısı banyosu ve Berendsen (Berendsen et al., 1984) basınç tankı ile kontrol edildi.

Simülasyon çalışmasında, son olarak çözücü eklenen ortamın ürün aşaması yapıldı. Bu aşama için de 2 fs zaman adımı kullanıldı. Sıcaklık için v-rescale ısı banyosu, basınç tankı için ise Parrinello–Rahman (Parrinello and Rahman, 1981) olarak seçildi. Sıcaklık ve basınç çiftlenim sabitleri 0.1 ps ve 0.5 ps olarak ayarlandı. 30 ns'lik ürün aşamasının sonucunda elde edilen yapılar analiz edildi.

30 ns'lik ürün aşamasından sonra elde edilen yapılar, DSSP (Kabsch and Sander, 1983) ikincil yapı analiz programı kullanılarak incelendi.

6.3. Simülasyon Sonuçları

Tinker moleküler programlaması ile oluşturulup ve aynı paket programının sağladığı minimizasyon opsiyonu ile minimize edilmiş her bir peptidin üç boyutlu konformasyonları ve sahip oldukları ikincil yapıları Şekil 6.1'de verilmiştir. Bu konformasyonlar, vakum aşamasında gerçekleştireceğimiz simülasyonlarımızın başlangıç verisini oluşturmaktadır.

Peptitlerin 3 boyutlu konformasyonlarının bu görsel sunumu “Visual Molecular Dynamics” (VMD) (Humphrey et al., 1996) kullanılarak oluşturulmuştur. Peptitlerin içerdiği atomlardan oksijen kırmızı, nitrojen mavi, hidrojen beyaz ve karbon turkuaz rengi ile gösterilmiştir. Yine bu üç boyutlu konformasyon şekillerinde görülen ikincil yapılardan beta-dönüşleri (turn) sarı, rastgele sarmallar (random

coil) beyaz renk ile temsil edilmiştir. Bu renk bilgileri aşağıda verilen tüm 3 boyutlu konformasyonları ve ikincil yapıları gösteren grafiklerdeki atomlar ve yapılar için de kullanılmıştır.

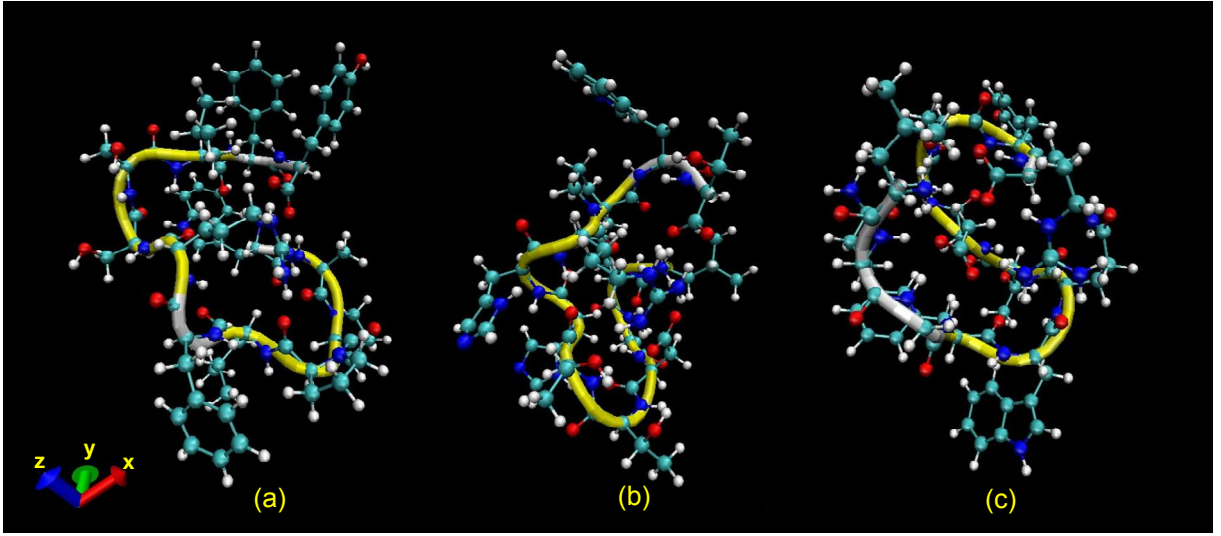
Metod kısmında anlatıldığı üzere, Şekil 6.1'de verilen bu konformasyonlar daha sonra SA yöntemi ile vakum ortamında sıcaklığı 1000 K'e yükseltilmiş ve aşamalı olarak 1000 ps'de, 300 K sıcaklığına düşürülmüştür. SA yöntemi sonucunda 300 K'de oluşturulan peptit konformasyonlarından ikincil yapıların en çok gözlemlendiği konformasyonlar seçilmiştir. Seçilen bu konformasyonlar ve sahip oldukları ikincil yapılar Şekil 6.2'de verilmiştir.

Bu konformasyonlara çözücü eklenmiş ve eklenen çözücü olarak su seçilmiştir. Bilindiği gibi literatürde bulunan çok sayıda su modeli vardır. Bu çalışmamızda su modeli olarak SPC modeli kullanılmıştır. Seçilen konformasyonlar kübik yapıda bir kutu içerisine yerleştirildikten sonra kutu SPC modeli ile doldurulmuştur.

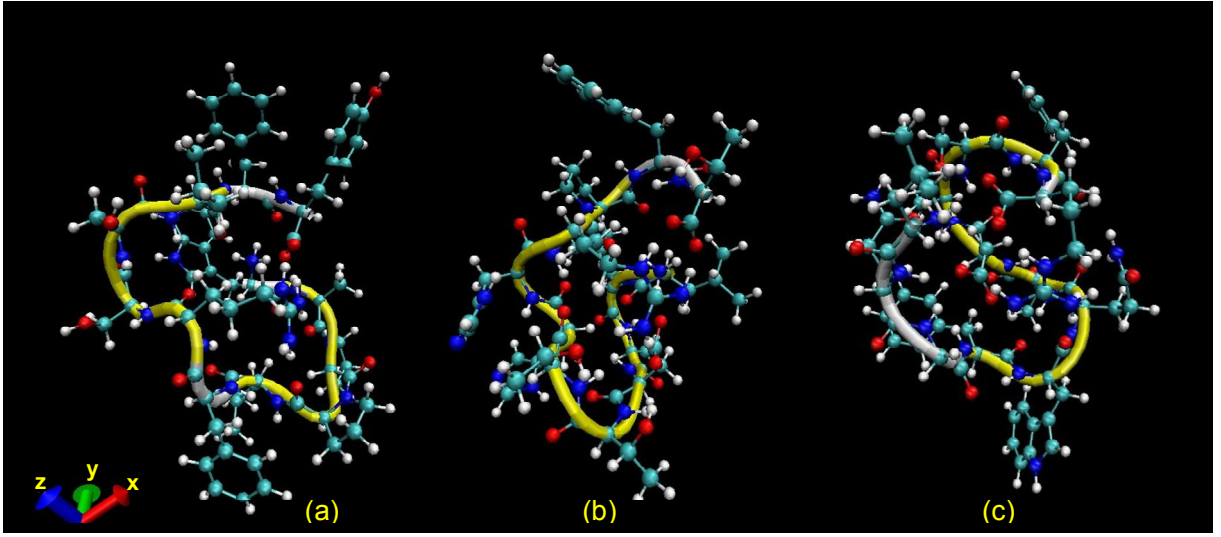
İlgili peptit ve su moleküllerinin bulunduğu kutu içerisinde peptit-kutu, peptit-su, su-kutu arasında oluşabilecek istenilmeyen etkileşimleri veya kutu içerisinde su ve protein arasında başlangıçta oluşacak boşlukları ortadan kaldırmak için tüm sistem minimize edilmiştir.

Minimize edilmiş olan sistemde üretim aşamasına geçmeden önce suyun 300 K de dengeye gelmesinin sağlanması için peptit diziliminin sahip olduğu konformasyon sabit tutularak sadece suyun hareketi sağlanmıştır. Bu aşama 1 ns süresince gerçekleştirilmiştir.

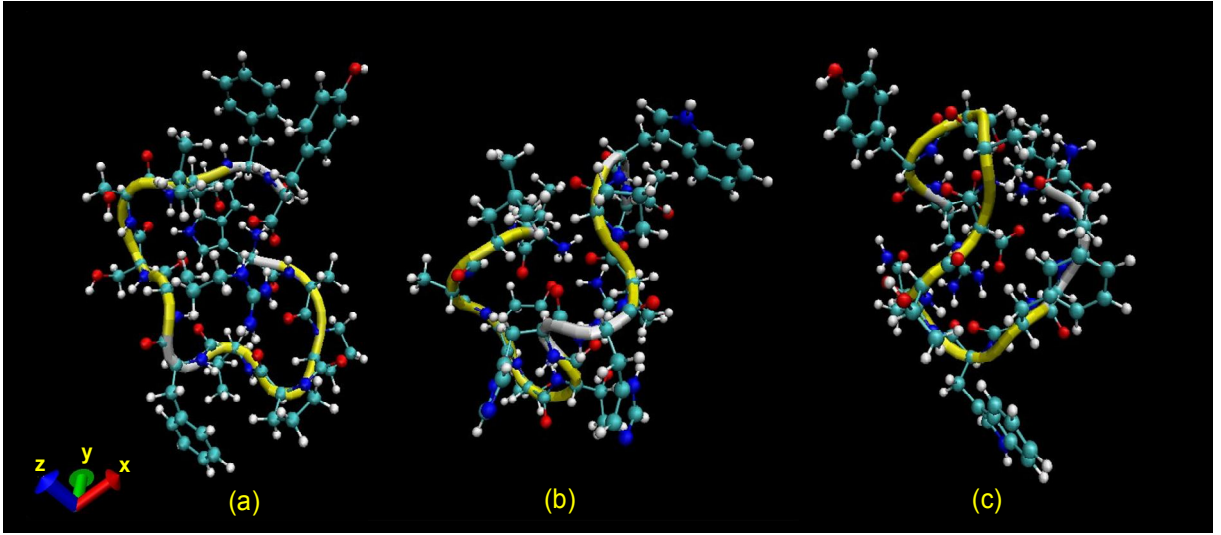
Suyun dengeye gelmesi sağlandıktan sonra her bir peptitin son konformasyonu üretim aşamasında başlangıç konformasyonu olarak kullanılmıştır. Peptitlerin bu aşamada oluşturulan başlangıç konformasyonları ve ilgili ikincil yapıları Şekil 6.3'de verilmiştir.



Şekil 6.1. Vakum simülasyonları için başlangıç konformasyonları ve ikincil yapılar.
(a) Peptit I (b) Peptit II (c) Peptit III



Şekil 6.2. Vakum ortamında SA yöntemi sonucu elde edilen konformasyonlar ve ikincil yapılar. (a)Peptit I(b) Peptit II (c) Peptit III



Şekil 6.3. Çözelti ortamında üretim aşaması için kullanılan başlangıç konformasyonu ve ikincil yapılar. (a) Peptit I (b) Peptit II (c) Peptit III

Üretim aşaması ise hem peptit hem de suyun hareketi serbest bırakılarak 300 K ve 1 atm (1 atm = 1.013 bar) basınçta 30 ns sürede gerçekleştirilmiştir. Görüldüğü gibi; yaptığımız MD simülasyon çalışmalarında üretim aşamasına kadar belirli bir protokol izlenmiştir. Bu protokolün izlenmesindeki ana neden Bölüm 2’de anlatılmıştır. Protein ve peptitler düşük sıcaklıklarda yüksek bariyerlerle ayrılmış çok sayıda enerji düzeylerine sahiptirler. Bu durum sistemin çok sayıda yerel minimumlara sahip olması anlamına gelir. Yapılan simülasyon çalışmasında bu yerel minimumlara takılma durumu ile karşılaşılma olasılığı mevcuttur. İstenilmeyen bu durumdan kurtulma olasılığını artırabilmek için bu şekilde bir protokolün uygulanması ihtiyacı doğmuştur.

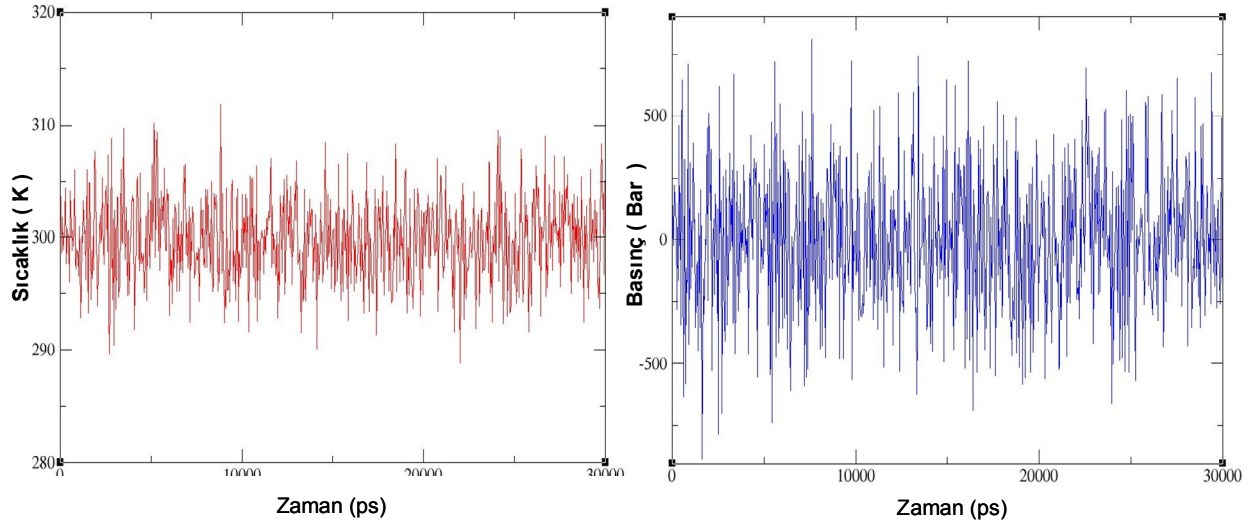
Üretim aşamasında gerçekleştirilen MD simülasyonlarında öncelikli olarak sıcaklık-basınç dengesini gözleyebilmek için sıcaklık-zaman ve basınç-zaman değişimi incelendi. Bilindiği üzere moleküler dinamik simülasyonlarında sıcaklık ve basıncın zamana bağlı değişimleri biyomoleküllerin davranış biçimleri üzerinde oldukça etkilidir. Bu nedenle NPT kümesinde yapılan üretim aşamasındaki bu değişimlerin gözlenmesi son derece önemlidir. Simülasyon çalışmasında biyomoleküllerin yapısal özelliklerini oda koşullarında incelemek istediğimiz için üretim aşamasının başlangıcında, sıcaklık $T=300$ K, basınç $P=1$ bar olarak belirlenmiştir. NPT kümesinde parçacık sayısı, sıcaklık ve basınç sabit olduğundan sıcaklık-zaman ve basınç-zaman grafiklerindeki dalgalanmaların da belirlenen bu değerler civarında olması beklenilmektedir.

Her bir peptit dizilimi için bu niceliklerin değişimi Şekil 6.4, Şekil 6.5 ve Şekil 6.6’da verilmiştir. İlgili şekillerden de görüldüğü üzere sistem sıcaklıklarının 290-310 K arasında zamana bağlı olarak beklenildiği gibi dalgalandığı görülmektedir. Benzer şekilde basıncın zamana bağlı değişiminin de beklenildiği gibi 1 bar civarında olduğu gözlenmiştir. Her bir peptit dizilimi için bu dalgalanmadan elde edilen ortalama sıcaklık ve basınç değerleri Çizelge 6.1’de verilmiştir.

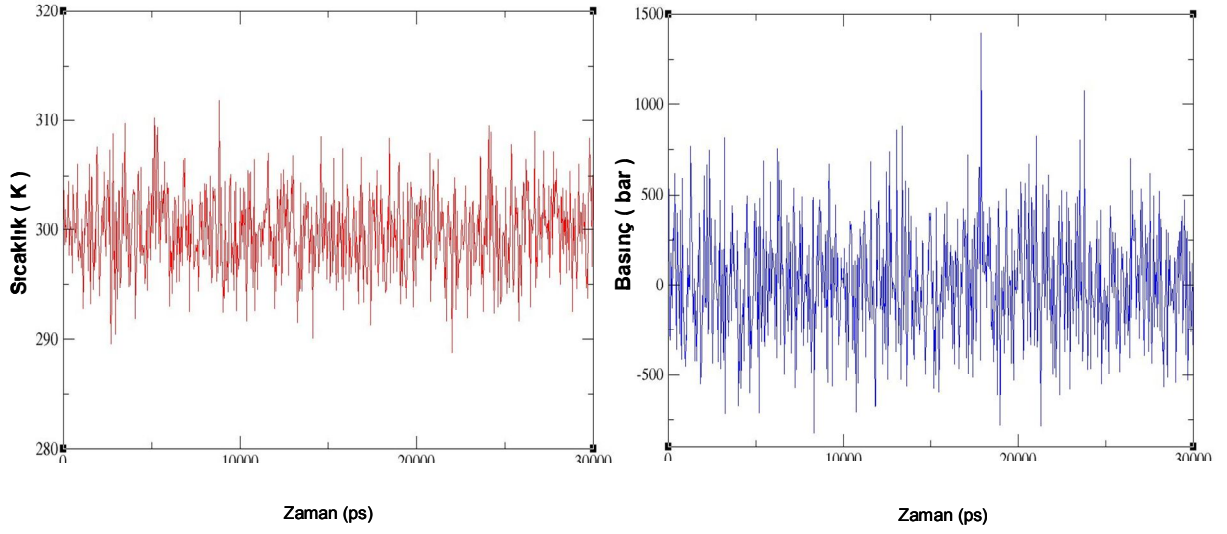
Çizelge 6.1. Peptitlerin ortalama sıcaklık-basınç değerleri.

PEPTİT	SICAKLIK (K)	BASINÇ (Bar)
Peptit 1	299.9 (3.6)	1.2 (283)
Peptit 2	299.9 (3.8)	1.2 (302)
Peptit 3	299.9 (3.7)	1.2 (298)

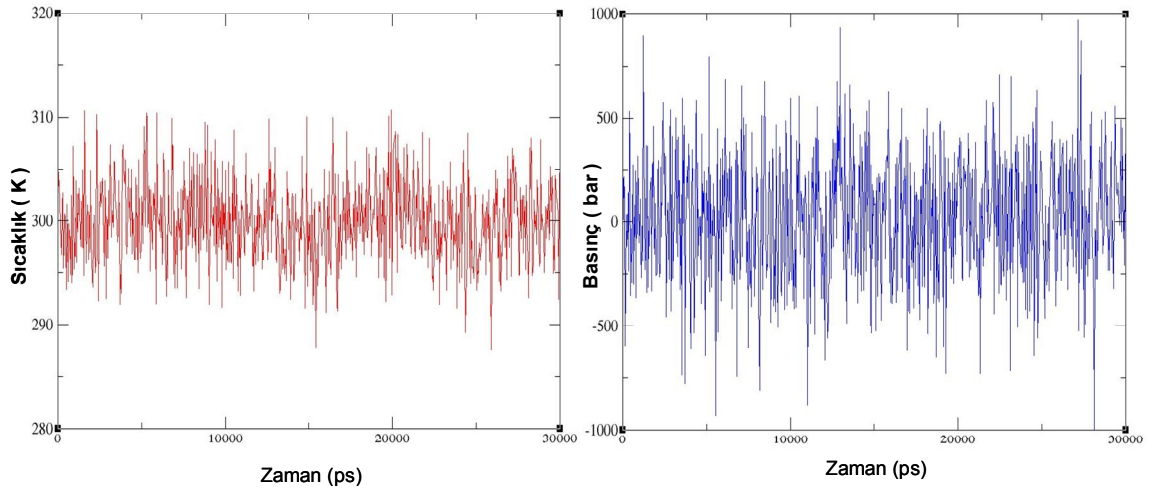
İlgili peptitlerin deneysel koşullara uyumunu sağlayabilmek amacı ile simülasyonlarımızda sıcaklığın $T=300$ K ve basıncın $P=1$ bar büyüklüğünde olması, bu fiziksel niceliklere bağlı olarak elde edeceğimiz sonuçların güvenilirliği açısından son derece önemlidir. Bu nedenle üretim aşamasındaki simülasyonlarımızda sıcaklık-basınç değişiminin gözlenmesi ve deneysel koşullara uygun büyüklüklerde olup olmadığının test edilmesi gereklidir. Çizelge 6.1'de verilen sıcaklık-basınç değerleri denge aşamasının sağlandığının bir göstergesi olarak kabul edilebilir.



Şekil 6.4. Peptit I için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.



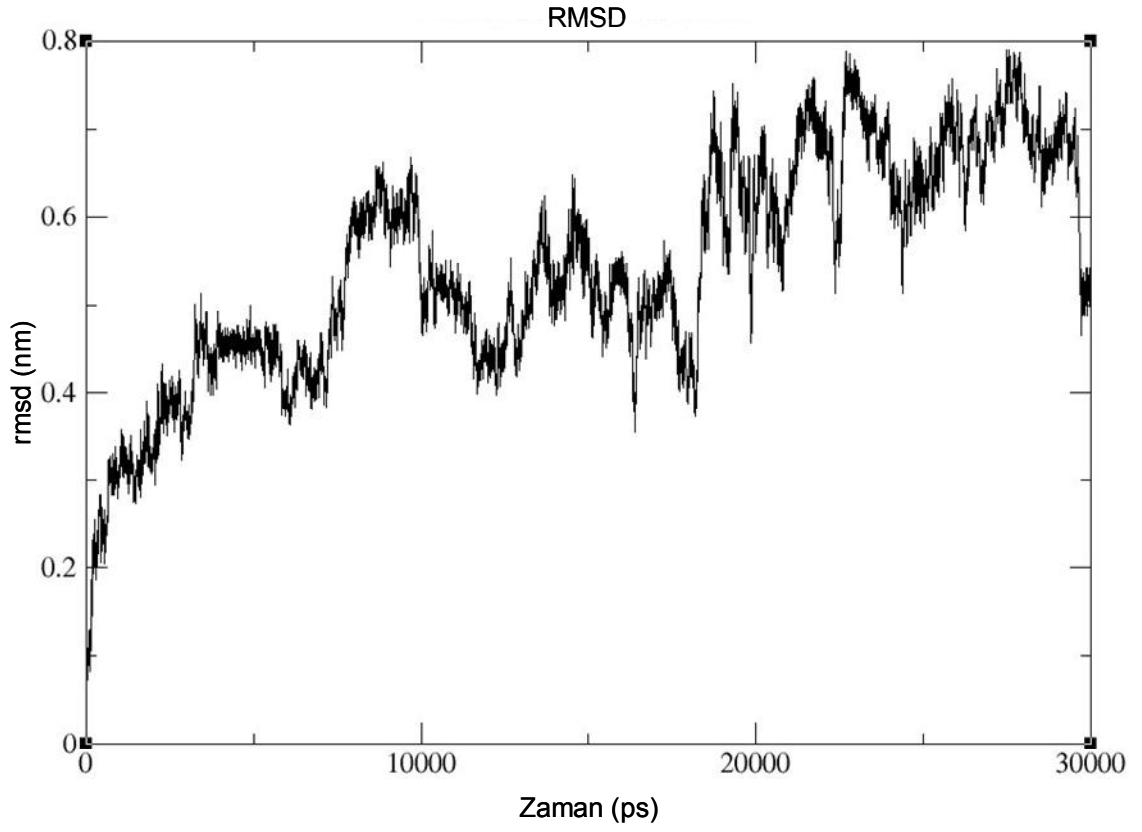
Şekil 6.5. Peptit II için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.



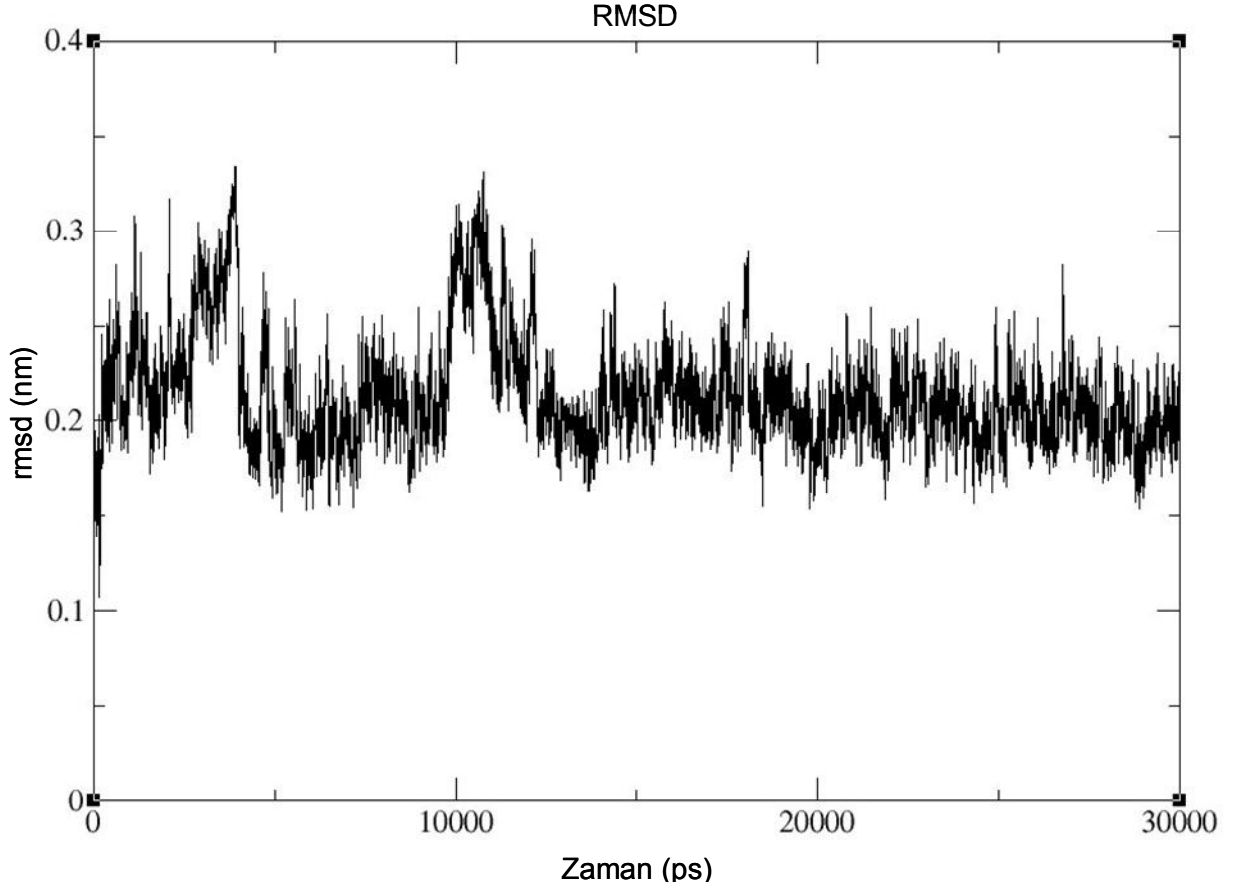
Şekil 6.6. Peptit III için sıcaklık ve basıncın zamana bağlı olarak değişimi.

30 ns'lik üretim zamanı içinde ayrıca her bir peptidin başlangıç konformasyonlarındaki atomların konum değerleri ile zamana bağlı olarak değişen konum değerlerinin ortalama kare yer değiştirme (RMSD) davranışları da elde edilmiştir. RMSD değerlerinin zamana bağlı değişiminin incelenmesindeki temel amacı ifade etmek gerekir ise: Biyomolekülleri oluşturan parçacıkların hareketleri göz önüne alındığında, yapının daha kararlı duruma geçme süresince, yapıyı oluşturan parçacıkların başlangıç konumlarından uzaklaştıkları görülür. Bu uzaklaşmayı hesaplamak için parçacıkların arka arkaya olan her adımı toplanabilir fakat bu durumda sonucun sıfır çıkma olasılığı vardır. Bunun nedeni bu adımlar ileri artı yönlü olabileceği gibi geriye doğru eksi yöne doğru da olabileceğidir. Eğer, her bir adımı toplamak yerine, karelerinin toplamını alırsak sürekli pozitif değerleri toplamış olacağımızdan bu bize mesafe hakkında daha iyi bir bilgi verir. Moleküler bir sistemde, bu yöntemi kullanarak elde edilen verilerle çizilen grafikler yapının zamanla nasıl değiştiği ile ilgili ipuçları verirler. Bu düşünceye paralel olarak elde edilmiş olan RMSD değerlerinin zamana bağlı değişimleri Şekil 6.13-15'de verilmiştir.

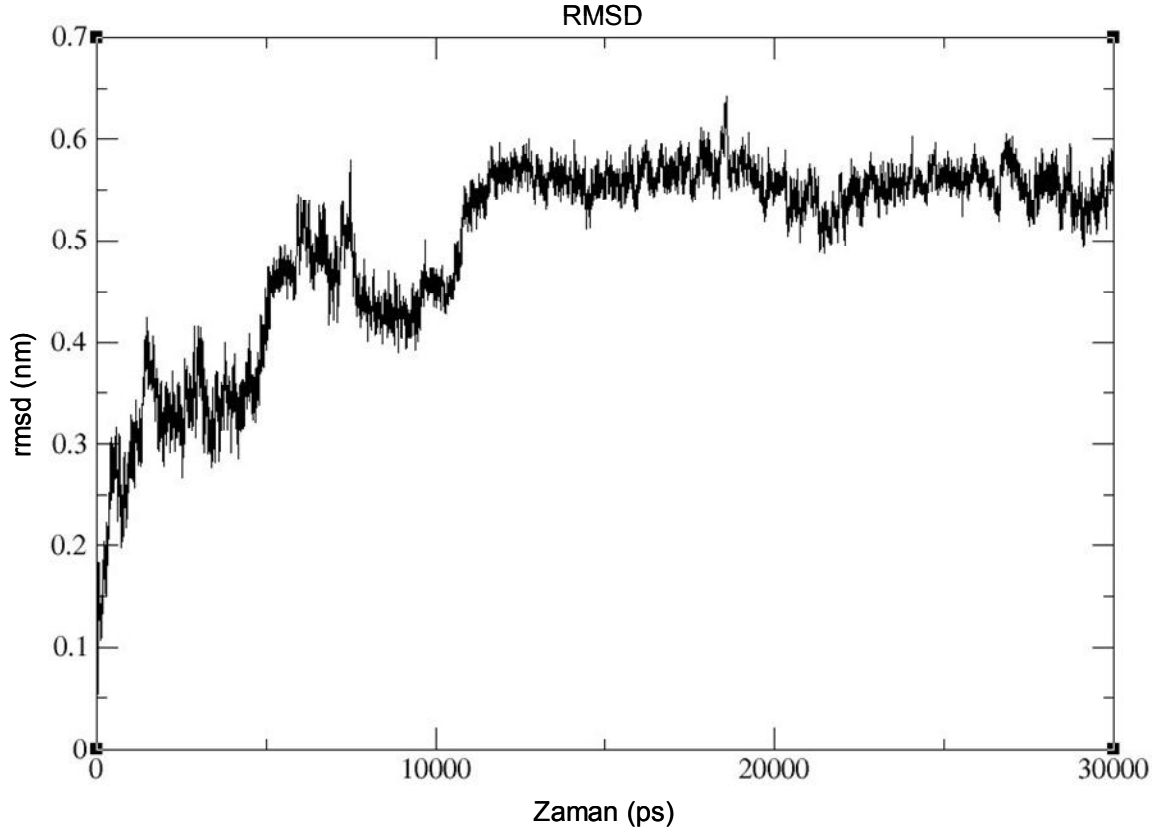
RMSD grafiklerinde, her bir peptidin kendi içinde bağımsız olarak farklı değerler etrafındaki dalgalanmaları gözlenmektedir. Bu dalgalanmalar, incelenen peptitlerin sahip oldukları yapıların farklı davranışlarını açıklamada yardımcı olabilir. Söz konusu dalgalanmaların gerçekleştiği simülasyon zaman adımlarından sonra, amino-asit birimlerinin sahip oldukları baskın yapıların bir başka yapıya dönüşümü söz konusu olabilir.



Şekil 6.7. Peptit I için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.



Şekil 6.8. Peptid II için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.



Şekil 6.9. Peptit III için RMSD değerlerinin zamana bağlı olarak değişimi.

Son olarak ilgili peptitlerin zaman bağılı olarak sahip oldukları konformasyonlarda gözlemlenen ikincil yapılar Şekil 6.10, 6.11 ve 6.12'de verilmiştir. Bu şekillerde düşey eksendeki sayılar peptit diziliminde yer alan amino-asitlere karşılık gelmektedir. Şekillerdeki renk bilgilerine göre rastgele sarmallar beyaz, beta-dönüşler sarı, kıvrılmalar (bend) yeşil, helisler ise türüne göre mavi ya da gri, beta-köprüleri (beta-bridge) siyah ve son olarak beta-yaprağı da (beta-sheet) kırmızı ile gösterilmiştir.

Her üç şekilden de açıkça görüldüğü üzere simülasyon zamanı süresince incelenen peptitlerin hepsinde ortak olarak ilk ve son rezidüler rastgele sarmal yapıya sahiptir. Bu terminal amino-asitler zwitter-iyon forma sahip olduklarından rastgele yapı gözlenmesi beklenen bir durumdur.

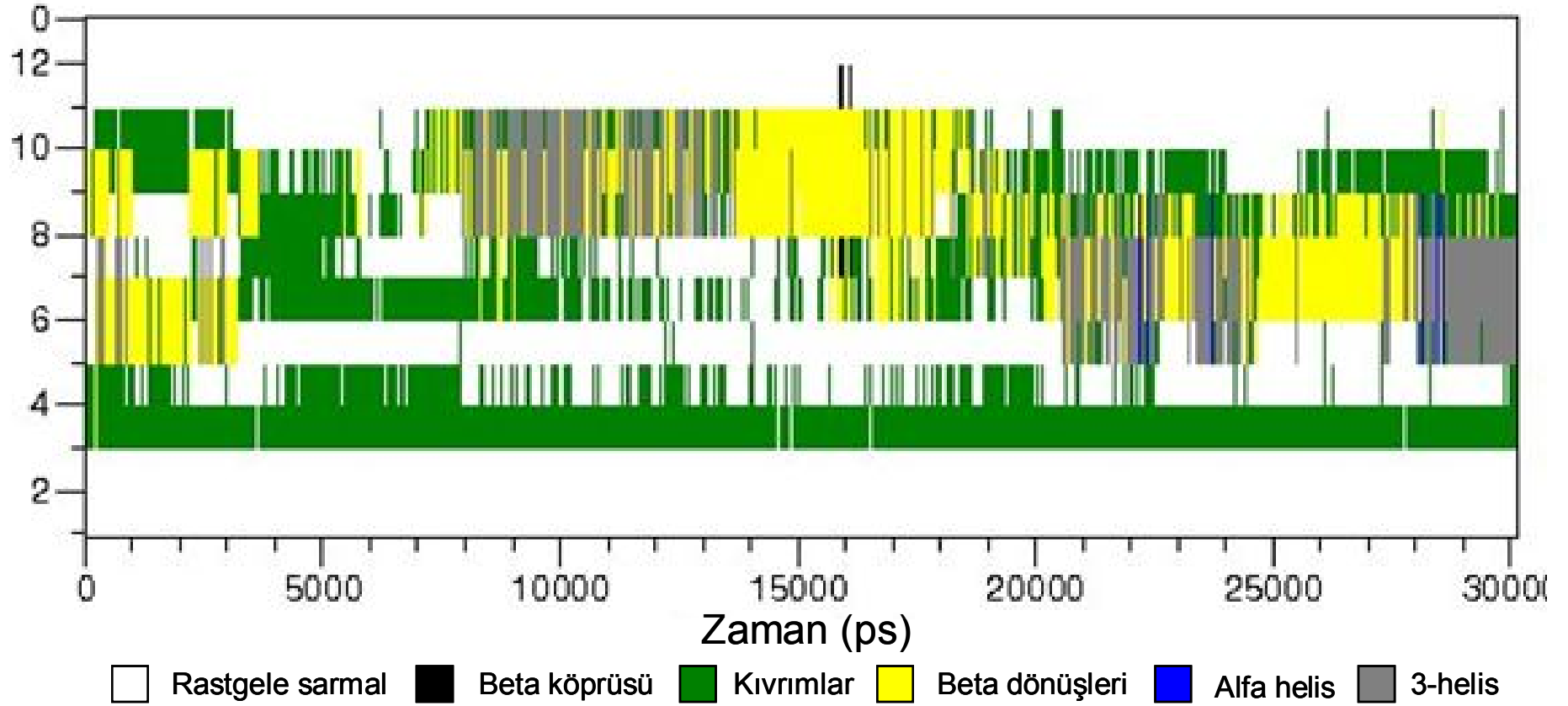
Öncelikli olarak Şekil 6.10'na bakıldığında, peptit l'in başlangıç ve son rezidülerinde (1-2 ve 11-12), görülen rastgele sarmal yapı dışında, 3. rezidü civarında kıvrılma başka bir deyişle bend yapı yaygın olarak bulunmaktadır. Aynı peptitin orta bölgelerinde bulunan rezidülerin, simülasyon boyunca daha kararsız yapıda olduğu söylenebilir. Orta bölgedeki bu az kararlılığın aksine, kıvrılma yapısının daha kararlı olması, peptit l'in 3. ve 4. pozisyonlarda içerdiği 2 prolin rezidüsünden kaynaklanabilir.

Peptit l'in orta bölgesinde (5-10) başlıca gözlenen yapılar turn ve random coil yapılarıdır. Bu yapıların dışında yine orta bölgede 3 ns süresince 3-helis yapı gözlenmektedir. Daha sonra bu yapı 3 ns – 7 ns'den sonra yerini kıvrılma ve rastgele sarmal yapılara bırakmaktadır. 8-10 rezidülerinde 7 ns ve 14 ns'de çoğunlukla 3-helis yapı mevcutken bu rezidüler 14 ns ve 19 ns'de beta-dönüşleri göstermeye başlamışlardır. Diğer taraftan 19 ns'den sonra 9-10 rezidülerinde kıvrılmış ve rastgele sarmal yapılar yaygınken, 5-8 rezidülerinde ise beta-dönüşleri ve 3-helis yapılar kendilerini göstermektedir.

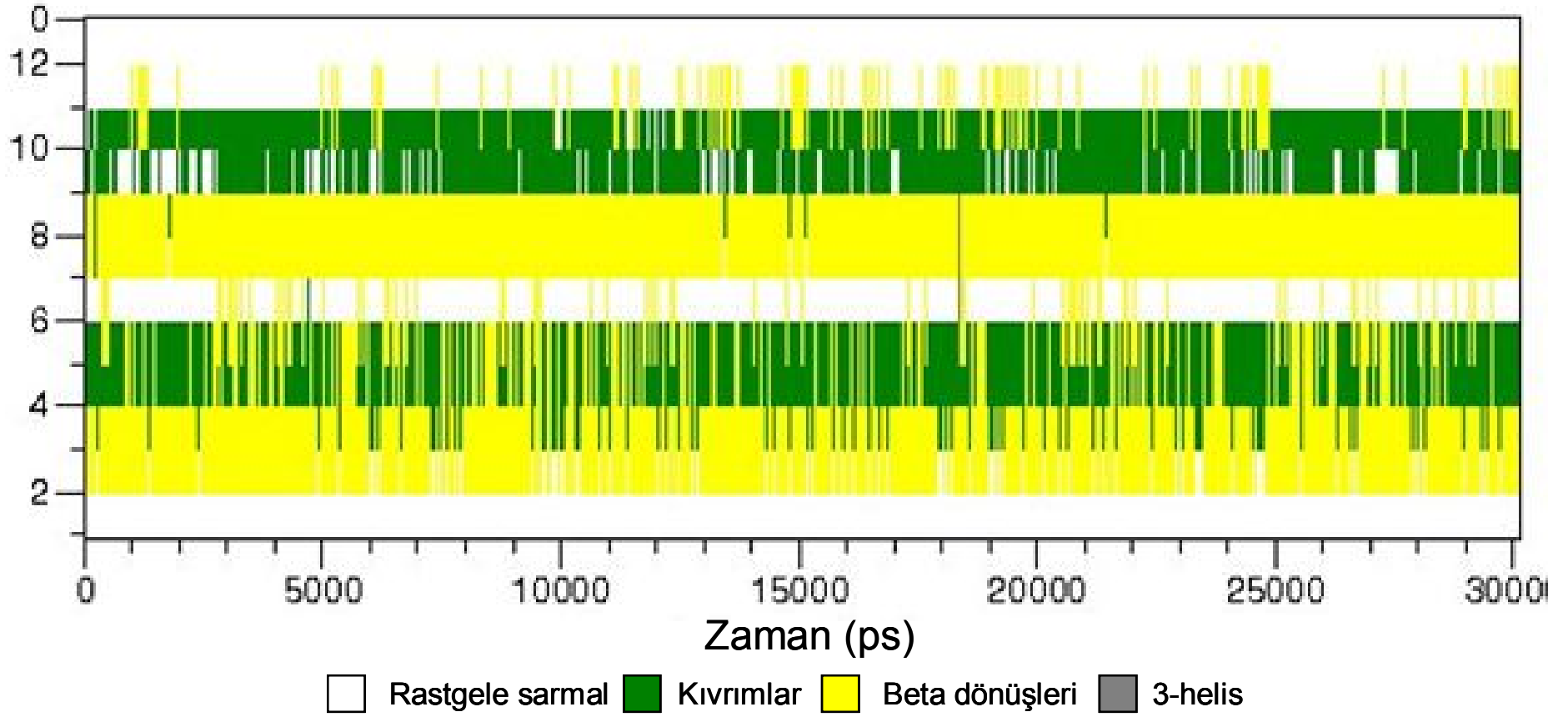
Şekil 6.11'de gösterilen ikincil yapılara göre peptit ll'nin tüm simülasyon süresince 1, 6, 11 ve 12 rezidülerinde bütünüyle rastgele sarmal yapının olduğu görülmektedir. Bunun yanı sıra lösin ve alanin rezidülerine sahip 2-3 segmentleri ve 2 histidin rezidüsüne sahip 7-8 segmentlerinde turn yapılar ortaya çıkarken, 9-10 segmentlerinde ana olarak kıvrılma yapılar bulunmaktadır.

Simülasyonun başlangıcında 4–5 segmentlerinde kıvrılma yapılar baskınken, ilerleyen süreçte bu baskınlık kaybolmuş, simülasyonun sonlarında karışık olarak beta-dönüşleri ve kıvrılma yapıları gözlenmeye başlanmıştır.

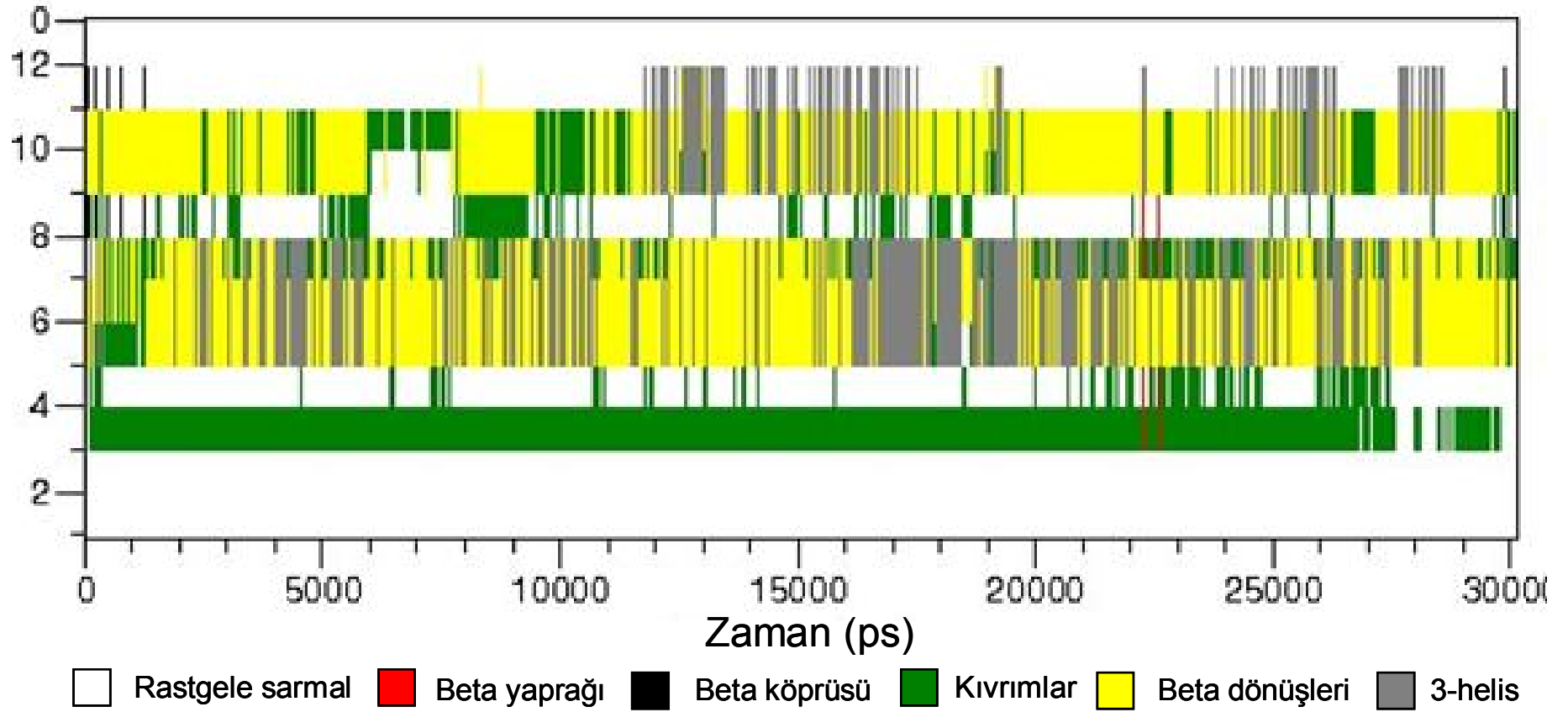
Son olarak, Şekil 6.11’de gösterilmiş olan peptit III’ün sahip olduğu olası ikincil yapılar incelendiğinde ise 1-2, 4 ve 11-12 rezidülerinde gözlenen başlıca yapı rastgele sarmallardır. Rezidü 3’de tüm simülasyon boyunca kıvrılma yapıları gözlenirken, rezidü 5-7 ve rezidü 9-10’da ise karışık olarak beta-dönüşleri, 3-helis ve kıvrılma yapılar görülmektedir. Şekil 6.12’den görüleceği üzere peptit III’ün sahip olduğu dönüş yapıların oranı, 3-helis ve kıvrılma yapılardan daha fazladır. Simülasyonun başlangıcında 8 ve 11 rezidülerinde beta-köprüsü yapısı gözlenirken bu yapılar 1,5 ns’den sonra hızlıca rastgele sarmal, kıvrım ve 3-helis yapıyla yer değiştirmiştir. Diğer taraftan 21 ns’den sonra 3-4 ve 7-8 rezidülerinde beta-yaprağı, 3 ve 8 rezidülerinde beta-köprü yapıları görülmektedir.



Şekil 6.10. Peptit l'in zamana bağlı ikincil yapıları.



Şekil 6.11. Peptid II'nin zamana bağlı ikincil yapıları.

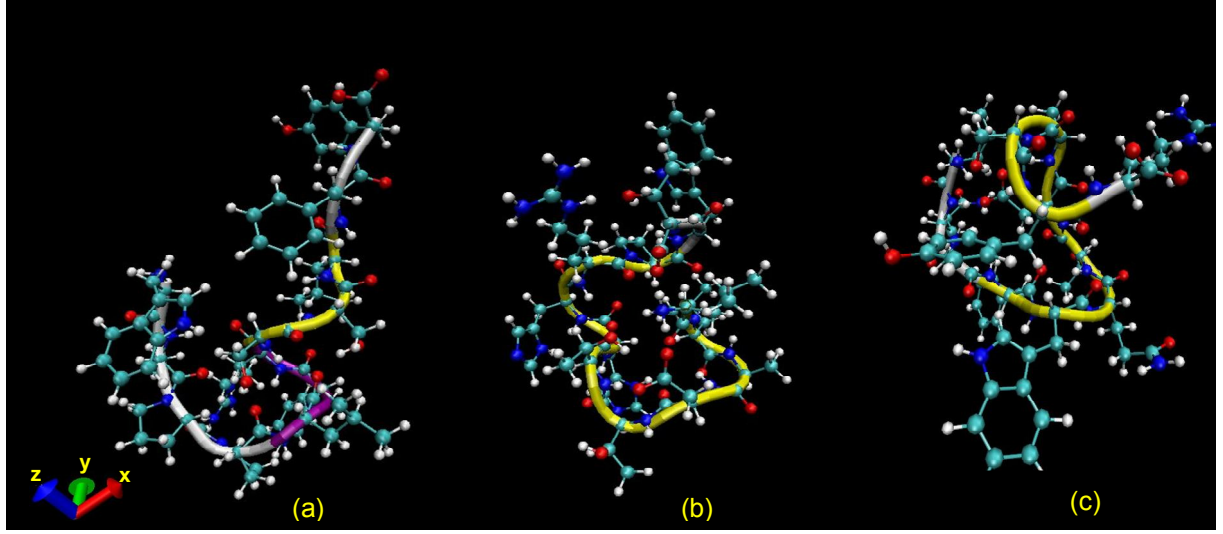


Şekil 6.12. Peptid III'nin zamana bağlı ikincil yapıları.

CD spektroskopisi ölçümleri incelenen bu peptitlerde yaygın olarak rastgele yapılar, beta-yaprağı ve beta-dönüş yapıları gözlenmiş olmasına karşın (Ceyda et al., 2010) yapılan MD simülasyon çalışmalarımız sonucunda peptit I ve peptit II'nin ikincil yapılarında beta-yaprağı yapısı gözlenememiştir. İlgili peptitler kendi aralarında karşılaştırma yapıldığında, peptit II'de gözlemlenen yapıların, peptit I ve peptit III'e göre daha kararlı olduğu görülmektedir. Bu durum ayrıca RMSD değerlerinin zamana bağlı değişiminden de görülmektedir.

Peptit I için başlangıç konformasyonuna bağlı olarak hesaplanan RMSD değerlerinin 20 ns'lik zaman dilimine kadarlık kısımda oluşan konformasyonların başlangıç konformasyonuna göre hızlı bir değişim gösterdiği ve bu zaman diliminden sonra da belirli bir ortak yapıya karşılık gelebilecek bir konformasyon oluşturduğu ifade edilebilir. Bu durum peptit III için ise, 12 ns'lik zaman dilimine kadar konformasyon yapılarında bir değişime işaret ederken, bu zaman diliminden sonra ise belirgin bir değişim gözlenmediği ve belirli bir RMSD değeri etrafında dalgalandığıdır. Peptit I ve III'ün RMSD grafiklerinde gözlemlenen ve belirli bir zaman diliminden sonra konformasyonlardaki kararlı durumun aksine, peptit II'nin zamana bağlı olarak oluşturulan konformasyonlarının, başlangıç konformasyonuna göre çok farklı bir değişim göstermediği ve daha kararlı olduğu görülmektedir.

Her üç peptitin zaman bağlı olarak RMSD değerlerinin belirli bir değer etrafında dalgalandığı, başka bir ifade ile oluşturulan konformasyonların belirgin olarak değişmediği bölgeden seçilen konformasyon ve sahip oldukları ikincil yapılar Şekil 6.13'de verilmiştir.



Şekil 6.13. Üretim aşaması sonucu elde edilen konformasyonlar ve ikincil yapılar. (a) Peptit I (b) Peptit II (c) Peptit III.

SONUÇ VE YORUM

Bilgisayar teknolojisindeki hızlı gelişmelere bağlı olarak kompleks yapı özellikleri gösteren protein gibi sistemler yoğun araştırma alanlarından biri olarak günümüzde ön plana çıkmıştır. Özellikle ilaç dizaynından polimer teknolojisine kadar geniş alanda yapılan deneysel araştırmalara ilaveten simülasyon çalışmaları geniş ölçekte yapılmaktadır.

Bilindiği üzere, sentezlenen birçok peptidin yarı ömrü kısa olabileceğinden herhangi bir spektral teknikle incelenme olanağı olmayabilir veya deneysel yöntemlerle incelenme olanağı olmayan herhangi bir etkiyi simülasyon teknikleri ile incelemek mümkündür.

Temelde incelenecek olan protein veya peptidin artan serbestlik derecesine (seçilen protein/peptide bağlı olarak serbestlik derecesi değişim göstermektedir) bağlı olarak sistemin sahip olacağı faz uzayının doğru olarak örneklenebilmesi ve doğru istatistiğin oluşturulabilmesi gerekmektedir. Protein veya peptitler oldukça esnek bir yapıya sahip olmalarından dolayı faz uzayları anormal sayıda mümkün konformasyonlara neden olurlar. Diğer taraftan protein / peptitler genellikle sıvı içerisinde bulduklarından, bu sıvının konformasyonlara etkisi kaçınılmazdır. Bu nedenle, bir proteinin çözücü içerisinde sahip olacağı konformasyonu vakum ortamından oldukça farklıdır. Vakum ortamında protein veya peptit konformasyon enerjisinin mümkün olan en düşük enerji seviyesinde bulunma eğiliminde olmasına karşın, çözücü daha da düşük enerjili konformasyona neden olur. Diğer taraftan protein ve peptitlerin oluşturduğu sistemlerin enerji düzeyleri yüksek enerji bariyerleri ile ayrılmış çok sayıda yerel minimumlara sahiptirler. Simülasyon açısından bakıldığında, MC ya da MD simülasyonlarının, protein veya peptitlerin gerçek konformasyon uzaylarının tümünü elde etmede zorlukları vardır. Bu zorluğu yaratan ana sebep, özellikle düşük sıcaklıkta, yüksek enerjili bariyer ile ayrılmış çok sayıda enerji vadilerinden birinde takılıp kalmasıdır.

Bu temel düşünceler ışığı altında yaptığımız tez çalışması, üç farklı peptit diziliminin MD simülasyon çalışmalarını ve sonuçlarını kapsamaktadır. Her biri 12 adet amino-asit içeren bu peptitler kolabratörlerimiz tarafından deneysel yöntemlerle sentezlenmiş dizilimlerdir (Dudak et al., 2010). Gıda zehirlenmelerine

sebepe olan SEB toksinlerinin saptanmasında biyosensör olarak kullanılabilirlikleri öngörülen bu peptitlerin oda sıcaklığında sahip olabilecekleri ikincil yapılar MD simülasyon teknikleri ile incelenmiştir.

Bu tez kapsamında incelenmiş peptit zincirlerinin olası konformasyonları ve sahip olabilecekleri olası ikincil durumları belirleyebilmek için deneysel şartları mümkün olduğu kadar sağlayabilmek gerekir. Bu amaca yönelik olarak çözücü için “explicit” su modeli kullanılmıştır. Bu peptitlerin X-ışınları veya NMR gibi tekniklerle elde edilmiş kararlı 3 boyutlu konformasyonlarını gösteren deneysel sonuçlar henüz mevcut olmadığından, simülasyon aşamalarına başlangıç olarak tamamı ile basit zincir diziliminden başlanmıştır.

Protein ve peptitlerin oluşturduğu sistemlerin enerji düzeyleri yüksek enerji bariyerleri ile ayrılmış çok sayıda yerel minimumlara sahip olduklarından dolayı MD simülasyonlarımızı gerçekleştirirken yerel minimumlardan herhangi birine takılmasını engelleyebilmek için bir yol haritası (protokol) belirlenmeye çalışılmıştır. Belirlediğimiz bu yol haritasına benzer bir çok protokol literatürlerde de yer almaktadır (Drabik et al., 2001).

MD simülasyonlarımız için izlediğimiz yol haritasına göre her bir peptit dizilimi için amaca yönelik olarak elde edilen ikincil yapılarda belirgin olarak göze çarpan ortak nokta, simülasyon zaman adımları süresince her bir peptitin ilk ve son amino-asit birimlerinin rastgele sarmallar göstermesidir. N ve C-terminallerine karşılık gelen bu birimlerin sahip oldukları bu durumların zwitter-iyon formuna sahip olmaları ile açıklanması mümkün olabilir. Diğer taraftan her bir peptit diziliminin 300 K civarında sahip oldukları ikincil yapıların simülasyon zamanına göre değişimleri karşılaştırıldığında peptit II'nin oldukça farklı olduğu Şekil 6.10-12'de açıkça görülmektedir. Özellikle peptit II'nin sahip olduğu ikincil yapıların simülasyon zamanı boyunca kararlı olduğu görülmektedir.

Her bir peptit dizilimi için gerçekleştirdiğimiz 30 ns'lik simülasyon zamanı içerisinde sahip olabildikleri olası konformasyonlarının gösterdikleri ikincil yapıların değişimine bakıldığında, her bir peptit dizilimi çoğunlukla rastgele sarmal, beta-dönüşü ve kıvrılma yapılarına sahiptir. Diğer taraftan peptit I ve peptit III'de, helis yapı belirgin olarak gözlenmesine rağmen peptit II'de bu yapıya çok az

rastlanılmıştır. Benzer şekilde, peptit II'den farklı olarak peptit I ve III için beta-köprüleri gözlemlenmiştir. Beta-yaprağı yapısı ise sadece peptit III'de çok az oranda görölmüştür.

SEB toksinlerinin saptanmasında biyosensör olarak kullanılabilmeleri için sentezlenmiş bu peptitlerin termodinamik özelliklerine bağlı olarak yapılmış deneysel çalışmalar literatürde bulunmaktadır (Dudak et al., 2010). Literatürde bulunan bu çalışmada ilgili peptitlerin CD sonuçları yer almaktadır. CD sonuçlarına göre, bu peptitlerin sahip oldukları ikincil yapıların oranı verilmiştir. Bu sonuçlara göre her üç peptit diziliminde genel olarak rastgele sarmal, beta-dönüşleri, beta-yaprağı ve helis yapısı göstereceği ifade edilmiştir. Bu çalışmada vurgulanan önemli bir nokta ise peptit II olarak adlandırdığımız dizilimin afinitesinin diğer peptit dizilimlerine göre daha yüksek olduğudur.

Bu bilgileri de dikkate aldığımızda MD simölasyonlarımızdan elde edilen sonuçların deneysel sonuçları desteklediği ve bu sonuçlarla uyumu içerisinde olduğu görölmektedir. Bilindiği üzere CD yönteminin belirlediği bu ikincil yapıların hangi rezidüleri kapsadığı bilgisi yer almamaktadır. MD simölasyonu ile bu peptitlerin sahip olabilecekleri bu yapıların hangi rezidüel arasında oluşabileceğinin bilgisini verebildiği açıkça görölmektedir.

KAYNAKLAR

Alder, B. J. and Wainwright, T. E., 1957, Phase Transition for a Hard Sphere System J. Chem. Phys., 27, 1208.

Andrew R. L., 2001, Molecular Modelling Principles and Application Prentice Hall, New Jersey.

Alder, B. J. and Wainwright, T. E., 1957, Temperature Dependent Lattice Mechanical Properties of some fcc transition Metals, Journal Chem. Phys., 27, 1207.

Baysal, C., Meirovitch, H., 1997, Novel Procedure for Developing Implicit Solvation Models for Peptides and Proteins, J. Phys. Chem. B, 101, 7368.

Branden C, Tooze J., 1999, Introduction to Protein Structure 2nd ed. Garland Publishing, New York.

Brendsens, H.J.C., Grigera, J.R., Straatsma J.P., 1987, The missing term in effective pair potentials, J. Phys. Chem., 91, 6269.

Brendsens, H.J.C., Postma, J.P.M., van Gusteren, W.F. and Hermans, J., 1981, In Intermolecular Forces, B. Pullman Ed., Reidel, Dordrecht.

Berendsen, H. J. C., Postma, J. P. M., van Gusteren, W. F. & Hermans, J., 1981, In Intermolecular forces (Pullman, B., ed.), Dordrecht , The Netherlands.

Briesmeister, 1993, RSIC Computer Code Collection MCNP4A, Monte Carlo N-Particle Transport Cod System, Los Alamos National Laboratory, New Mexico.

Burkert, U. and N.L. Allinger Reminly, 1982, Molecular Mechanics, American Chemical Society, Washington, D.C.

Bussi, G., Donadio, D., Parrinello, M., 2007, Canonical sampling through velocity rescaling, J. Chem. Phys., 126, 014101.

Cornell, W. D., Cieplak P., Bayly C., Gould IR, Merz K.M.Jr., Ferguson D.M., Spellmeyer D.C., Fox T., Caldwell J.W., Kollman P.A., 1995, A Second Generation

Force Field for the Simulation of Proteins, Nucleic Acids, and Organic Molecules, *J. Am. Chem. Soc.* 117: 5179–5197.

Darden, T., York, D., Pedersen, L., 1993, Particle mesh Ewald: An N-log(N) method for Ewald sums in large systems, *J. Chem. Phys.* 98, 10089–10092.

Dobson, C. M., and M. Karplus., 1999, The fundamentals of protein folding: bringing together theory and experiment, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 9, 92–101.

Dowland, K. A., 1995, Simulated Annealing. In *Modern Heuristic Techniques for Combinatorial Problems* (Editor, Reeves, C.R.), McGraw-Hill.

Drabik, P., Liwo, A., Czaplewski, C., Ciarkowski, J., 2001, The investigation of the effects of counterions in protein dynamics simulations, *Protein Eng. Des. Sel.*, 14, 747–752.

Dudak, F. C., Soykut, E. A., OĞUZ, M. E., Yaşar, F., Boyacı, İ. H., 2010, Thermodynamic and structural analysis of interactions between peptide ligands and SEB, *J. Mol. Recognit.*, 23, 369–378.

Eisenberg, D., McLachan, A. D., 1986, Solvation energy in protein folding and binding, *Nature*, 319, 199-203.

Eisenberg, D., Wesson, M., Yamashita, M., *Chem. scrip. A*, 29, 217 (1989).

Eisenberg, D., Wesson, M., Yamashita, M., 1989, Interpretation of protein folding and binding with atomic solvation parameters, *Chem. Scripta* 29A, 217.

Erkut, H. 1983, *Benzetim Ders Notları*, Askeri Bilimler Yöneylem Araştırma/ Yönetim Grup Başkanlığı Yayımı.

Ewald, P. P., 1921, Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale, *Ann. Phys.*, 64, 253–287.

Gooding J.J., 2006, Biosensor technology for detecting biological warfare agents: Recent progress and future trends, *Analytica Chimica Acta*, 559, 139-142.

Gonen T., Cheng Y., Sliz P., Hiroaki Y., Fujiyoshi Y., Harrison S.C., Walz T., 2005, Lipid-protein interactions in double-layered two-dimensional AQP0 crystals, *Nature* 438, 633-638.

Haile, J.M., 1992, *Moleküler Dynamics Simulation Elementary Methods* 2nd ed., John Wiley Sans Inc., Canada.

Hansmann, U. H. and Okamoto, 1993 Y., Prediction of peptide conformation by multicanonical algorithm: New approach to the multiple-minima problem, *J. Comput. Chem.*, 14, 1333-1338.

Hao, M. H. and Scheraga, H. A., 1994, Monte Carlo simulation of a first order transition for protein folding, *J. Phys. Chem.*, 98, 4940.

Hess, B., Bekker, H., Berendsen, HJC., Fraaije, JGEM., 1997, LINCS: a linear constraint solver for molecular simulations, *J. Comput. Chem.*, 18, 1463–1472.

Hehre, Warren J., Leo Radom, Paul v.R. Schleyer, John A. Pople, 1986 *Ab Initio Molecular Orbital Theory*, John Wiley & Sons, NewYork.

Hoover, W. G., 1985 Canonical dynamics: equilibrium phase-space distributions, *Phys. Rev.*, A 31, 1695–1697.

Humphrey, W., Dalke, A., Schulten, K., 1996, VMD: Visual molecular dynamics, *J. Mol. Graph.*, 14, 33–38.

Jorgensen W.L., Madura, J.D., 1985, Temperature and Size Dependence for Monte Carlo Simulations of TIP4P Water, *Mol. Phys.*, 56, 1381.

Juffer, A. H., Eisenhaber, F., Hubbard, S. J., Walther, D., Argos, P., 1995, Comparison of atomic solvation parametric sets: Applicability and limitations in protein folding and binding *Protein Sci.*, 4, 2499.

Kabsch, W., Sander, C., 1983, Dictionary of protein secondary structure: pattern recognition of hydrogen bonded and geometrical features, *Biopolymers*, 22, 2577–2637.

Kim, A., Amino acid side chain contribution to free energy of transfer of tripeptides from water to octanol distertation (University of California, 1990).

Kirkpatrick, S., C.D. Gelatt, M.P. Vecchi, 1983, Optimization by Simulated Annealing, *Science*, 220, 671-680.

MacKerell, A.D., Bashford, D., Bellott, M., Dunbrack, R. L., Evanseck, J. D., Field, M. J., Fischer, S., Gao, J., Guo, H., Ha, S., Joseph-McCarthy, D., Kuchnir, L., Kuczera, K., Lau, F. T. K., Mattos, C., Michnick, S., Ngo, T., Nguyen, D. T., Mahoney, M. W., Jorgensen, W. L., 2000, A five-site model liquid water and the reproduction of the density anomaly by rigid, non-polarizable models, *J. Chem. Phys.*, 112, 8910-8922.

Meirovitch, H. and Meirovitch, E., 1997, Efficiency of Monte Carlo Minimization Procedures and their Use in the Analysis of NMR Data Obtained from Flexible Peptides, *J. Comput. Chem.*, 18, 240.

Metropolis N., Ulam S., ve Amer J., 1949, T4he Monte Carlo Method, *Journal of the American Statistical Association* , 44, 335.

Nos'e, S. A , 1984, molecular dynamics method for simulations in the canonical ensemble, *Mol. Phys.*, 52, 255–268.

Parrinello, M., Rahman A., 1981, Polymorphic transitions in single-crystals: a new molecular dynamics method, *J. Appl. Phys.*, 52: 7182–7190.

Prodrom, B., Reiher, W. E., Roux, B., Schlenkrich, M., Smith, J. C., Stote, R., Straub, R., Watanabe, M., Wiorcikiewicz-Kuczera, J., Yin, D., Karplus, M., 1998, All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies of Proteins, *J. Phys. Chem. B*, 102, 3586.

Okamoto, Y., 1998, Protein folding problem as studied by new simulation algorithms, *Recent Research Developments in Pure & Applied Chemistry*, 2, 1 – 23.

Ooi, T., Obatake, M., Nemethy, G., Scheraga, H. A., 1987, Accessible surface areas as a measure of the thermodynamic parameters of hydration of peptides, *Prod. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 3086.

Radford, S. E., 2000, Protein folding: progress made and promises ahead, *Trends Biochem. Sci.*, 25, 611–618.

Rapaport, D.C., 2004, *The Art Of Molecular Dynamics Simulation*, Cambridge University Press, Cambridge.

Ren, P. Y., Ponder, J. W., 2002, Consistent treatment of inter- and intramolecular polarization in molecular mechanics calculations, *J. Comput. Chem.*, 23, 1497–1506.

Ryckaert, J. P., Ciccotti, G., Berendsen, H. J. C., 1977, Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints; molecular dynamics of n-alkanes, *J. Comp. Phys*, 23, 327–341.

Schiffer, C. A., Caldwell, J. W., Kollman, P. A., Stroud, R. M., 1993, Protein structure prediction with a combined solvation free energy-molecular mechanics force field, *Mol. Simul.*, 10, 121.

Shah, J., Wilkins E., 2003, Electrochemical Biosensors for Detection of Biological Warfare Agents, *Electroanalysis*; 15, 157.

Shannon, R. E., 1975, *System Simulation: The Art and Science*, Prentice Hall, New Jersey.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı: Murat Erman OĞUZ

Doğum Yeri: İSTANBUL

Doğum Yılı: 21.02.1984

Medeni Hali: Bekar

Eğitim ve Akademik Durumu:

Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Fizik Mühendisliği

Bölümü (2003-2008)

Y. Lisans: Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Fizik Mühendisliği

A.B.D. (2008-devam ediyor)

Yabancı Dil: İngilizce

Yayınlar

Dudak, F. C., Soykut, E. A., OĞUZ, M. E., Yaşar, F., Boyacı, İ. H., 2010, Thermodynamic and structural analysis of interactions between peptide ligands and SEB, J. Mol. Recognit., 23, 369–378

İş Tecrübesi: Sistem Uzmanı, ŞekerBank T.A.Ş, İSTANBUL (2010- devam ediyor)

Araştırma Görevlisi, Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Fizik Mühendisliği Bölümü, ANKARA (2009 – 2010)