

**ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Y. LİSANS TEZİ**

**UNIFORM VE HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ PROTEİN SPESİFİK  
MODELLERİN KATLANMA KİNETİĞİNE ETKİLERİ**

**Zeynep UZUNOĞLU**

**FİZİK ANABİLİMDALI**


**ERZURUM**

**2009**

**Her hakkı Saklıdır**

Doç Dr. Hüseyin KAYA danışmanlığında, Zeynep UZUNOĞLU tarafından hazırlanan bu çalışma 13.08.2009 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından, Fizik Anabilim Dalı'nda Y. Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: Doç. Dr. Hüseyin KAYA

imza : 

Üye : Doç. Dr. Ali GÜROL

imza : 

Üye : Doç. Dr. Ertan ŞAHİN

imza : 

**Yukarıdaki sonucu onaylarım**

Prof. Dr. Ömer AKBULUT

**Enstitü Müdürü**

## ÖZET

Y. Lisans Tezi

### UNIFORM VE HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ PROTEİN SPESİFİK MODELLERİN KATLANMA KİNETİĞİNE ETKİLERİ

Zeynep UZUNOĞLU

Atatürk Üniversitesi  
Fen Bilimleri Enstitüsü  
Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Hüseyin KAYA

İki durum davranışı gösteren küçük tek bölgeli proteinlerin, deneysel olarak elde edilen katlanma oranları ile proteinin katlanmış yapısında birbirleriyle etkileşen amino asitlerin zincir üzerindeki mesafelerinin ortalama bir ölçüsü olarak tanımlanan etkileşim düzen parametresi arasında gözlemlenen yüksek korelasyon, katlanmış yapı topolojisinin katlanma kinetiğinde belirleyici olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, katlanmış yapıda hasil olan etkileşmelerin diğer etkileşmelerden daha güçlü olacağını ima eden topolojik veya protein spesifik modeller, protein dinamiğini anlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasında, protein katlanma kinetiğini etkileyebilecek farklı topolojik ve enerjetik parametreleri, yine farklı model yaklaşımları kullanarak, farklı protein ailelerine mensup proteinler için inceledik. Çalışmalarımız sonucunda tamamıyla alfa yapılı proteinlerin katlanma kinetiğini sadece yerel etkileşimlerin ve entropik faktörlerin etkilediğini gözlemledik. Yerel olmayan etkileşimlerin çoğunlukta olduğu beta ve alfa+ beta katlanmış yapısına sahip proteinlerde ise yerel olmayan etkileşimlere bağlı olarak tanımlanan parametrelerin, katlanma oranları ile yüksek korelasyona sahip olduğu gözlemlenmiştir. Tüm protein ailelerinde katlanma oranlarını belirleyen fiziksel büyüklük serbest enerji bariyeridir.

Diğer taraftan uniform ve heterojen etkileşimli modellerden elde edilen katlanma oranlarının deneysel katlanma oranlarıyla arasındaki ilişki incelendiğinde, en yüksek korelasyon heterojen etkileşimli modeller için elde edilmiştir. Ayrıca deneylerde gözlemlenen en yavaş ve en hızlı katlanma oranları arasındaki  $10^6$ 'lık farklılığa en yakın değer yine heterojen etkileşimli modellerde elde edilmiştir.

**2009, 121 sayfa**

**Anahtar Kelimeler:** Protein katlanması kinetiği, protein topolojisi, katlanma oranı, etkileşim düzeni.

## ABSTRACT

MS Thesis

### EFFECTS OF PROTEIN SPECIFIC MODELS WITH UNIFORM AND HETEROGENEOUS INTERACTIONS TO FOLDING KINETICS

Zeynep UZUNOĞLU

Atatürk University  
Graduate School of Natural and Applied Sciences  
Department of Physics

Supervisor: Associate Professor Hüseyin KAYA

The remarkable empirical correlation obtained for small single domain proteins exhibiting two-state behaviors between their folding rates and relative contact order (CO), which is defined as an average distance on chain between interacting amino acids in native structure, clearly indicates that the topology of native structure is determinant for protein folding kinetics. Therefore, topological or protein specific models, which assume that interactions present in the native structure are stronger than the other interactions, are widely used to understand protein dynamics.

In this thesis, we examined different topological and energetic parameters that could affect protein folding kinetics using different approaches of models for proteins that are members of the different protein families. As a result of our investigation, we have observed that only local interactions and entropic factors affect folding kinetics of proteins having all alpha structures. For proteins containing all beta and alpha+beta structures, in which the majority of interactions in native structures are non-local, notable correlation between the parameters defined by considering non-local interactions and the folding rates is also observed. Free energy barrier height is the physical quantity which determines folding rates in all of the protein families.

On the other hand, by analyzing the relationship between the experimental folding rates and the folding rates obtained from models with uniform and heterogeneous interactions, the highest correlation is obtained for the models with heterogeneous interactions. In addition, the closest value to the diversity in experimental folding rates, i.e., difference between the fastest and slowest ones, which is approximately equal to  $10^6$ , is also been achieved by using the models with heterogeneous interaction.

**2009, 121 pages**

**Keywords:** Protein folding kinetics, protein topology, folding rate, contact order.

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek lisans tezi olarak sunduğum bu alıőmanın planlanıp yürütülmesinde tecrübe ve bilgileri ile her zaman yanımızda olan çok değerli hocam Sayın Do. Dr. Hüseyin KAYA'ya en içten őükranlarımı arz ederim.

Zeynep UZUNOĞLU

Temmuz 2009

## İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xi
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
<b>2. KURAMSAL TEMELLER</b> .....	5
2.1. Proteinlerde Zincir-Yapı ve Fonksiyon İlişkileri.....	5
2.1.1. Proteinler hakkında genel bilgiler.....	5
2.1.2. Üç boyutlu yapılarına göre proteinler.....	10
2.1.3. Katlanmış yapı ve biyolojik fonksiyonlar.....	13
2.2. Protein Dinamiğini Etkileyen Faktörler.....	15
2.3. Protein Kinetiği.....	25
2.3.1. Levinthal paradoksu.....	25
2.3.2. Proteinlerin kinetik spektrumu.....	27
2.3.3. Deneysel yaklaşımlar.....	29
2.3.4. Teorik yaklaşımlar.....	32
2.3.4.a. Enerji yüzey (landscape) teorisi.....	32
2.3.4.b. Katlanma/açılma oranlarının dağılımı.....	37
2.4. Protein Topolojisi ve Kinetiği Arasındaki İlişki.....	40
2.4.1. Yerel ve yerel olmayan etkileşimler.....	40
2.4.2. Topolojik parametreler.....	42
2.4.2.a. Etkileşim düzen parametresi.....	42
2.4.2.b. Relatif etkileşim düzen parametresi.....	43
2.4.2.c. Uzun erişimli etkileşim parametresi.....	44
2.5. Simülasyon Yöntemleri.....	44
2.5.1. Monte Carlo simülasyon tekniği.....	47
2.5.2. Moleküler dinamik simülasyon tekniği.....	48

<b>3. MATERYAL ve YÖNTEM.....</b>	<b>50</b>
3.1. Modeller.....	50
3.2. Metodlar.....	60
3.2.1. Moleküler dinamik simülasyon adımları.....	60
3.2.2. Etkileşim potansiyelleri.....	65
<b>4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA.....</b>	<b>72</b>
4.1. Proteinlerde Katlanma Kinetiğini Etkileyen Parametreler.....	75
4.1.1. Tamamen $\alpha$ – yapısına sahip olan proteinler.....	78
4.1.2. Tamamen $\beta$ – yapısına sahip olan proteinler.....	85
4.1.3. $\alpha + \beta$ yapısına sahip olan proteinler.....	91
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER.....</b>	<b>115</b>
KAYNAKLAR.....	118
ÖZGEÇMİŞ.....	122

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

$a$	İvme
$\text{Å}$	Angstrom
$C_\alpha$	Alfa karbonu
$C_p$	Sabit basınçta ısı kapasitesi
$C_{p,max}$	Sabit basınçta, maksimum sıcaklıktaki ısı kapasitesi
$E_{min}^D$	Açık durumdaki minimum enerji
$E_{min}^N$	Katlı durumdaki minimum enerji
$E_{min}^D - E_{min}^N$	Açık ve katlı durum popülasyonları arasındaki fark
$\frac{E_{katlı}}{N}$	Amino asit sayısı başına düşen katlı durum enerjisi
$E_{katlı}$	Proteinin katlanmış durumdaki enerjisi
$EDP$	Etkileşim düzen parametresi
$F_{konf}$	Konformasyonel kuvvet
$F_{min}^D$	Açık durumdaki serbest enerji minimumu
$F_{min}^N$	Katlı durumdaki serbest enerji minimumu
$F_{max}^{TS}$	Geçiş durumundaki maksimum serbest enerji
$H$	Entalpi
$HP$	Hidrofobik- polar
$\text{İGS}$	İlk geçiş süresi
$k_B$	Boltzman sabiti
$k_f$	Katlanma oranı
$k_u$	Açılma oranı
$L$	Amino asit sayısı
$m$	Kütle
$MJ$	Miyazawa Jernigan
$N$	Amino asit sayısı
$N_{katlı}^{kontak}$	Katlı durumdaki kontak sayısı
$N_{toplam}^{katlı}$	Katlı durumdaki toplam kontak sayısı
$\frac{N_{katlı}^{kontak}}{N}$	Amino asit sayısı başına düşen kontak sayısı
$N_{yo}$	Yerel olmayan etkileşim sayısı



$\frac{Ny_0}{N}$	Amino asit sayısı başına düşen yerel olmayan kontak sayısı
OİGS	Ortalama ilk geçiş süresi
$R$	Rastgele sayı
$REDP$	Relatif etkileşim düzen parametresi
$r_{ij}^0$	$i$ . ve $j$ . Amino asitler arasındaki denge mesafesi
$r$	Amino asitler arası mesafe
$t_f$	Katlanma süresi
$t_u$	Açılma süresi
$T$	Sıcaklık
$T_{max}$	Maksimum sıcaklık
$Q$	Benzerlik parametresi
$UEEP$	Uzun erişimli etkileşim parametresi
$v$	Hız
$v_f$	Katlanma hızı
$\alpha$	Alfa
$\beta$	Beta
$\gamma$	Viskozite
$\delta t$	İntegrasyon zaman aralığı
$\epsilon_0$	Enerji ölçeği
$\epsilon_{ij}^{nat}$	Katlı durumda $i$ . ve $j$ . amino asitler arasındaki etkileşim potansiyeli
$\xi_i$	Rastgele sayı üreten fonksiyon
$\tau$	Zaman ölçeği
$T_f$	Geçiş sıcaklığı
$T_g$	Camsı geçiş sıcaklığı
$\Delta E$	Enerjideki değişim
$\Delta G$	Serbest enerji değişimi
$\Delta G_u$	Açılma serbest enerjisi
$\Delta H_{vH}$	Van't Hoff entalpi değişimi
$\Delta H_{cal}$	Kalorimetrik entalpi değişimi
$\Delta t$	Zaman adımı
$\Delta G^\ddagger$	Bariyer yüksekliği

$\sigma_{enerji}$	Amino asit başına düşen enerjideki standart sapma
$\sigma_{kontak}$	Amino asit başına düşen kontak sayısındaki standart sapma

### **Kısaltmalar**

D	Açık durum
DNA	Deoksiribo nükleik asit
EDP	Etkileşim düzen parametresi
EM	Enerji minimizasyonu
LD	Langevin dinamikleri
MC	Monte Carlo
MD	Moleküler Dinamik
N	Katlı Durum
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PDB	Protein veri bankası
TS	Geçiş durumu
X-Ray	X – ışını

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Amino asitlerin yapısı.....	5
Şekil 2.2. Standart amino asitler.....	6
Şekil 2.3. Amino asitler arasındaki peptid bağlarının oluşumu.....	9
Şekil 2.4. Proteinlerin üç boyutlu yapısı.....	12
Şekil 2.5. Yapılarına göre protein bölgeleri.....	14
Şekil 2.6. Protein denatürasyonu.....	16
Şekil 2.7. Proteinlerin sentezlenmesinden sonra meydana gelen olaylar.....	16
Şekil 2.8. Açılma ya da katlanma hızlarının tersinir bir reaksiyonda zamanla dengeye ulaşması.....	18
Şekil 2.9. Hidrofobik ve polar moleküllerin çözücü içerisindeki davranışları.....	20
Şekil 2.10. Serbest enerjinin reaksiyon koordinatı (E) ile değişimi.....	21
Şekil 2.11. Proteinlerin iki durumlu ve çok durumlu geçişleri.....	22
Şekil 2.12. Proteinlerin termodinamik ve kinetik kooperativitesi için deneysel kriterler.....	25
Şekil 2.13. Katlanma paradoksu.....	26
Şekil 2.14. Levinthal paradoksu.....	27
Şekil 2.15. $\alpha$ , $\beta$ , $\alpha + \beta$ ve $\alpha/\beta$ protein ailelerine ait proteinler ve katlanma süreleri.....	28
Şekil 2.16. Protein hareketleri için zaman ölçeği.....	28
Şekil 2.17. Deneysel şartlarda açılma ve katlanma oranlarının farklı çözücü konsantrasyonları ile lineer değişimi.....	30
Şekil 2.18. Barnase proteinin kinetik davranışı.....	32
Şekil 2.19. Açık ve katlı durumdaki bir heteropolimerin enerji yüzeyi.....	34
Şekil 2.20. Bir proteinin 3 boyutlu enerji yüzeyi, yerel ve global minimumları....	35
Şekil 2.21. Protein Katlanma Yüzeyi Modeli.....	36
Şekil 2.22. 500 trajektori üzerinden elde edilen kinetik verisi ile trajektori sayısına karşı katlanma sürelerinin farklı iki model için dağılımı.....	39
Şekil 2.23. Amino asit zinciri üzerinde yerel ve yerel olmayan etkileşimler.....	41
Şekil 2.24. Zincir üzerinde etkileşen i ve j amino asitleri ile bu amino asitler arasındaki native etkileşim parametresi.....	43
Şekil 2.25. Deney, teori ve bilgisayar simülasyonları arasındaki ilişki.....	45
Şekil 2.26. Simülasyonlarda zaman ölçekleri.....	46
Şekil 2.27. Kare ve kübik latis modellerinde katlanma dinamikleri için kullanılan hareket setleri.....	47
Şekil 3.1. $C_{\alpha} - C_{\alpha}$ mesafelerinin gözlenme sıklığı.....	58
Şekil 3.2. Bağırsız kısa ve uzun erişimli etkileşimler.....	59
Şekil 3.3. Gerilme etkileşim enerjisinin mesafeye bağlı değişimi.....	67
Şekil 3.4. Eğilme etkileşim enerjisinin eğilme açısına bağlı değişimi.....	68
Şekil 3.5. Bükülme açısının ( $\Phi$ ) zamanla değişimi.....	68
Şekil 3.6. İtme ve çekme terimlerini içeren Lennard Jones potansiyelinin konuma bağlı değişimi.....	70
Şekil 4.1. Tamamen $\alpha$ - sarmallarından oluşan proteinler.....	72

<b>Şekil 4.2.</b> Tamamen $\beta$ - plakalarından oluşan proteinler.....	73
<b>Şekil 4.3.</b> Tamamen $\alpha + \beta$ yapılarından oluşan proteinler.....	74
<b>Şekil 4.4.</b> Katlanma sürelerinin tek eksponansiyelli dağılımının, 3 farklı protein ailesi için ve her farklı protein ailesi için de 4 farklı modelle gösterimi.....	76
<b>Şekil 4.5.</b> Katlanma oranları ile proteinlerin amino asit zincir uzunluklarının korelasyonu.....	97
<b>Şekil 4.6.</b> Katlanma oranlarının, katlanmış yapıdaki etkileşim sayısı ile korelasyonu.....	98
<b>Şekil 4.7.</b> Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen katlanmış yapıdaki etkileşim sayısı ile korelasyonu.....	99
<b>Şekil 4.8.</b> Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen yerel olmayan etkileşim sayısı ile korelasyonu.....	100
<b>Şekil 4.9.</b> Katlanma oranlarının, etkileşim düzen parametresi ile korelasyonu...	101
<b>Şekil 4.10.</b> Katlanma oranlarının, relatif etkileşim düzen parametresi ile korelasyonu.....	102
<b>Şekil 4.11.</b> Deneysel olarak iki durum davranışı gösteren en yavaş ve en hızlı proteinler arasındaki hız farkı.....	103
<b>Şekil 4.12.</b> Katlanma oranları ile uzun erişimli etkileşimler arasındaki korelasyonu.....	104
<b>Şekil 4.13.</b> Katlanma oranları ile geçiş sıcaklıklarının korelasyonu.....	105
<b>Şekil 4.14.</b> Teorik olarak hesaplanan katlanma oranlarının geçiş sıcaklığında elde edilen deneysel katlanma oranları ile korelasyonu.....	106
<b>Şekil 4.15.</b> Katlanma oranlarının, çözücü miktarı sıfır olduğunda elde edilen deneysel katlanma oranları ile korelasyonu.....	107
<b>Şekil 4.16.</b> Deneysel ve teorik olarak hesaplanan katlanma oranlarının kinetik korelasyonu.....	108
<b>Şekil 4.17.</b> Katlanma oranlarının, serbest enerji bariyer yüksekliği ile korelasyonu.....	109
<b>Şekil 4.18.</b> Serbest enerji bariyer genişliğinin, katlanma oranları ile korelasyonu.....	110
<b>Şekil 4.19.</b> Serbest enerji bariyer yüksekliği ve genişliğinin katlanma süreleri ile ilişkisi.....	111
<b>Şekil 4.20.</b> Katlanma oranlarının, proteinlerin katlı durum enerjisi ile korelasyonu.....	112
<b>Şekil 4.21.</b> Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen katlı durum (native) enerjisi ile korelasyonu.....	113
<b>Şekil 4.22.</b> Katlanma oranlarının, katlı durumdaki etkileşim başına düşen katlı durum enerjisi ile korelasyonu.....	114

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> Standart Amino Asitler, üç harfli ve tek harfli gösterimleri, kimyasal yapı, kimyasal formül ve yan zincir polariteleri.....	7
<b>Çizelge 3.1.</b> Miyazawa-Jernigan etkileşim potansiyeli.....	55
<b>Çizelge 3.2.</b> Miyazawa-Jernigan etkileşim potansiyel değerlerinin ortalamasının sıfır olduğu durumdaki etkileşim potansiyelleri.....	56
<b>Çizelge 4.1.</b> Farklı protein aileleri için yerel ve yerel olmayan etkileşim sayıları.	77
<b>Çizelge 4.2.</b> Tamamen $\alpha$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	81
<b>Çizelge 4.3.</b> Tamamen $\alpha$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	82
<b>Çizelge 4.4.</b> Tamamen $\alpha$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	83
<b>Çizelge 4.5.</b> Tamamen $\alpha$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	84
<b>Çizelge 4.6.</b> Tamamen $\beta$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	86
<b>Çizelge 4.7.</b> Tamamen $\beta$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	87
<b>Çizelge 4.8.</b> Tamamen $\beta$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	89
<b>Çizelge 4.9.</b> Tamamen $\beta$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	90
<b>Çizelge 4.10.</b> $\alpha + \beta$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	93
<b>Çizelge 4.11.</b> $\alpha + \beta$ yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	94

	95
<b>Çizelge 4.12.</b> $\alpha + \beta$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	
<b>Çizelge 4.13.</b> $\alpha + \beta$ yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.....	96

## 1. GİRİŞ

Protein katlanma çalışmaları, ilk kez 1910 yıllarında proteinlerde topaklanma sürecinin iki adımdan oluştuğu, bunların protein katlanması ve denatürasyon olduğu ve denatürasyonun da protein katlanmasından önce meydana geldiğinin bulunması ile başlamıştır. Denatürasyon sırasında proteinler daha az çözüldüğü için enzimin aktivitesini kaybettiği ve kimyasal olarak daha aktif hale geldiği gözlemlenmiştir. 1920 yılı ortalarında Tim Anson ve Alfred Mirsky denatürasyonun tersinir bir süreç olduğunu öne sürmüşlerdir (Anson and Mirsky 1925). Ancak doğru olan bu hipotez önceleri bazı bilim adamları tarafından "yumurtanın pişmesinin geri alınması" benzetmesi ile dikkate alınmamıştı. Daha sonra Anson, denatürasyonun iki durumlu ("ya var, ya yok") bir süreç olduğunu, moleküler geçişler sonucunda çözünürlüğün, enzim aktivitesinin ve kimyasal aktifliğinin büyük ölçüde değiştiğini ileri sürmüştür. 1929 yılında ise Hsien Wu, denatürasyonun aslında protein katlanması olduğunu ve çözücü içerisinde bazı amino asit yan zincirlerinin konformasyonel değişikliğe uğradığı hipotezini ileri sürmüştür (Wu 1929). Bu hipoteze göre, suya maruz bırakılan alifatik ve reaktif yan zincirler proteini daha az çözünür hale getirerek onların daha reaktif hale gelmelerine neden olmaktadır. Ancak o dönemlerde proteinlerin yapısı ve gözlemlenen değişikliklere, nelerin neden olabileceği hakkında çok az şey bilindiği için Wu'nun hipotezi kabul görmemişti. 1960'ların başlarında Christian B. Anfinsen, herhangi bir dış etken olmaksızın ribonükleaz A'nın katlanmasının tamamen tersinir olduğunu göstererek protein katlanmasıyla ilgili "termodinamik hipotezi" doğrulamıştır (Anfinsen *et al.* 1961; Epstein *et al.* 1963). Bu hipoteze göre proteinlerin katlanmış yapısı, onların serbest enerjilerinin global minimum noktasına karşılık gelmekteydi. Daha sonra proteinlerde katlanmış yapı kararlılığı ve bu kararlılığı sağlayan fiziksel etkileşimlerin ne olduğu konusunda araştırmalar başlamıştır. Dorothy Wrinch ve Irving Langmuir proteinlerin kararlılığı için hidrofobik etkileşimlerin oldukça önemli olduğunu ileri sürmüşlerdir (Langmuir and Wrinch 1939). 1930'larda ise hidrojen bağlarının protein yapı kararlılığını sağladığı savunulmuştur (Pauling and Niemann 1939). Protein yapılarının araştırılması için 1950 yıllarında dairesel dikroizm, flöresans, yakın-

morötesi ve kızılötesi absorpsiyonu gibi spektroskopik yöntemler geliştirilmiştir. 1960 yıllarında X- Ray kristalografisi ve 1980 yıllarında NMR ile proteinlerin atom çözünürlüklü kristal yapıları çözülmüştür. 2009 yılı itibari ile X- ışını kristalografisi ve Nükleer Manyetik Rezonans gibi deneysel yöntemler kullanılarak kristal yapısı çözülen 58414 tane protein, protein veri bankası (PDB) içerisinde yer almaktadır (Anonim 2009).

Proteinlerin bilinen üç boyutlu yapılarına nasıl katlandıkları sorusu günümüzde hala anlaşılammış bir problem olup üzerinde oldukça fazla çalışılan konular arasında yerini almıştır. Proteinlerin yapısının, her bir proteinin sahip olduğu zincirdeki amino asit dizilimi ile belirlendiği ve proteinlerin yapısının da onların fonksiyonlarını belirlediği bilinmektedir. Protein fonksiyonları ise onların fonksiyonel 3- boyutlu katlanmış yapılarına nasıl ulaştığı ve bu süreçte ne tür kimyasal reaksiyonların tetiklendiğine bağlıdır. Proteinlerin çoğu sulu bir çözelti içerisinde fonksiyonel olarak aktif (native) yapılarına kendiliğinden katlanabilmektedir. Bu katlanma sürecinde proteinlerin termodinamik olarak bir tek kararlı (en düşük enerjili) yapıya ulaşmaları gerektiği ve kinetik olarak da uygun bir zaman ölçeğinde native duruma katlanmaları gerektiği düşünülmektedir. Örneğin, 100 amino asitten oluşan bir proteinin doğru katlanmış yapısını temsil eden konformasyona, tamamıyla gelişigüzel bir şekilde ulaşma süresi ortalama  $10^{36}$  s ya da  $10^{29}$  yıldır. Ancak, gerçekte proteinler ms ya da s lik bir zaman ölçeğinde katlanabilmektedirler. İlk kez 1968 yılında Levinthal tarafından önerilen bu düşünce katlanma süreci boyunca konformasyonel uzayın küçük bir miktarının örneklendiği ve kinetik katlanma yollarının var olduğunu işaret etmektedir (Levinthal 1968). Proteinlerin nasıl hızlı katlandıkları ve doğru bir şekilde native konformasyonlarına nasıl ulaştıkları paradoksu protein katlanması problemi olarak bilinmektedir (Anonim 2009).

Protein katlanması, bir polipeptidin gelişigüzel bir amino asit zincirden, fonksiyonel üç boyutlu yapısına katlanmasının incelendiği fiziko-kimyasal bir süreçtir. Canlıların yaşamsal faaliyetlerini düzenli bir şekilde sürdürebilmesi için 20 farklı amino asitin farklı miktarlarda biraraya gelerek oluşturdukları proteinlerin, kimyasal ve biyolojik



aktivitelerini yerlerine getirmeleri gerekmektedir. Fakat her protein gerçekleştirmesi gereken görevi sadece kendisine has ve en düşük enerjiye sahip olduğu düşünülen 3-boyutlu konformasyona (katlanmış yapı) ulaştığı zaman yerine getirebilmektedir. Yani, proteinler biyolojik görevlerini gerçekleştirecekleri katlanmış yapıya ulaşmadıklarında ya görevlerini yerlerine getiremiyorlar ya da yanlış görevde bulunuyorlar. Bir proteinin aktif bölgesindeki sadece bir veya birkaç amino asidin bile yerinin değişmesi, proteinin şeklini değiştirip görevini yerine getirmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle protein sentezi sonrasında zincir şeklindeki aminoasit dizisinin katlanarak sahip olması gereken 3- boyutlu şeklini nasıl aldığına anlaşılması oldukça önemlidir. Diğer taraftan, proteinlerin yanlış katlanması veya yanlış biraraya gelmesinden kaynaklanan hastalıkların (Parkinson, Alzheimer, Creutzfeldt-Jakob (Deli dana hastalığı), Huntington vb.) keşfi de her geçen gün artmaktadır. Bu yüzden, protein dizilerinin biyolojik olarak aktif oldukları 3-boyutlu katlanmış yapıya nasıl ulaştıkları ve bu yapıda ne tür fonksiyonları yerlerine getirdikleri modern bilimin dikkate aldığı araştırma konularından birisi haline gelmiştir.

Proteinlerin etkinlikleri ve yapıları hem *in vitro* hem de *in vivo* olarak çalışılmaktadır. Biyoloji ve tıp alanlarında sıkça kullanılan bu terimlerden *in vivo* “canlı ortamda ya da yaşayan koşullarda”, *in vitro* ise “laboratuvar ortamında ya da yapay koşullarda” anlamını taşımaktadır. Saflaştırılmış proteinlerin kontrol edilebilir ortamlarda incelendiği *in vitro* çalışmalar bir proteinin işlevini anlamaya yararırken, proteinlerin hücre içinde hatta bütün organizmadaki işlevleri ile ilgili *in vivo* deneyler ise bir proteinin nerede işlev gördüğü ve nasıl düzenlendiği hakkında bilgi vermektedir. Proteinler için bir başka araştırma yöntemi ise *in silico* çalışmalarıdır. Bu çalışmalar ise bilgisayara dayalı benzeşim modellerinin kullanılması ile yapılan simülasyon çalışmalarını ve veri madenciliğine dayalı biyoinformatik çalışmalarını içermektedir. Yapılan çalışmalarda deneysel yöntemlerin kullanılması; hem katlanma ve açılmalar çok hızlı gerçekleştiği için konformasyonel geçişlerin takip edilmesinin zor olması hem de maliyetlerinin yüksek olması yönünden bir takım zorluklar içermektedir. Bu zorluklar arasında amino asitlerin çeşitliliği ve su, tuz, üre, GdnHCl, sıcaklık, pH gibi fizyolojik şartlardan kaynaklanan teknik zorluklar da yer almaktadır. Teorik

çalışmalarda ise simülasyon süresi istenildiği zaman durdurulabildiği için araştırmalarda kolaylık sağlamasına rağmen bilinen bütün fiziksel ve kimyasal etkileşim potansiyellerinin proteinlerin canlı organizmada ulaştığı fonksiyonel yapıyı bulmasında yetersiz kalmaktadır.

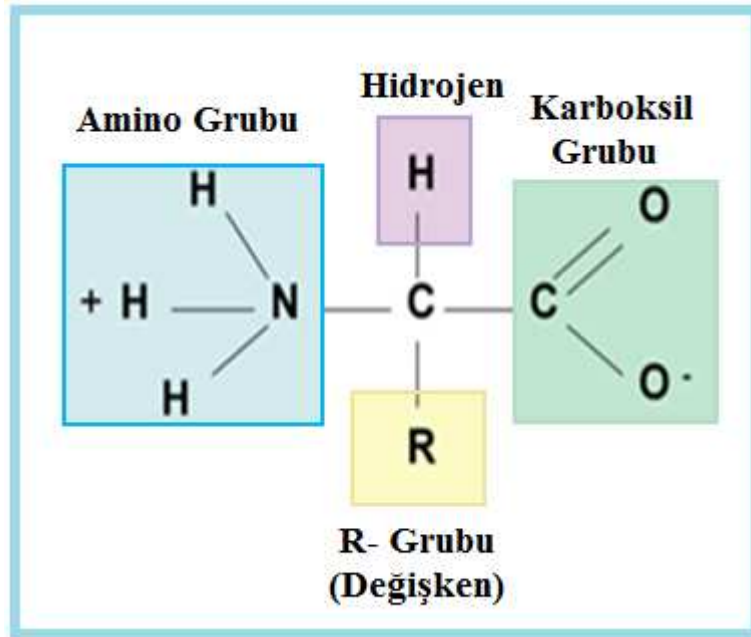
Proteinlerin açık bir zincirden spesifik 3-boyutlu yapılarına ne kadar hızlı ya da yavaş katlandıklarının bir ölçüsü olan katlanma oranları ile proteinlerin zincir uzunlukları, kararlılıkları, topolojileri arasındaki ilişkilerin anlaşılmasının protein katlanmasının dinamik problemi ve dolayısıyla protein zincir- fonksiyon- yapı ilişkilerini açıklayabilmek için oldukça önemlidir. Bu tez çalışması ile farklı protein aileleri, farklı zincir uzunlukları, farklı enerjetik terimler ve farklı katlanma topolojileri göz önünde bulundurularak termodinamik olarak iki durum davranışı gösteren, küçük tek bölge proteinlerin zamana bağlı davranışlarında etkin fiziksel büyüklükleri belirleyebilmek için, farklı etkileşim modelleri geliştirilerek detaylı bir analiz gerçekleştirilmiş bulunmaktadır.

## 2. KURAMSAL TEMELLER

### 2.1. Proteinlerde Zincir- Yapı ve Fonksiyon İlişkileri

#### 2.1.1. Proteinler hakkında genel bilgiler

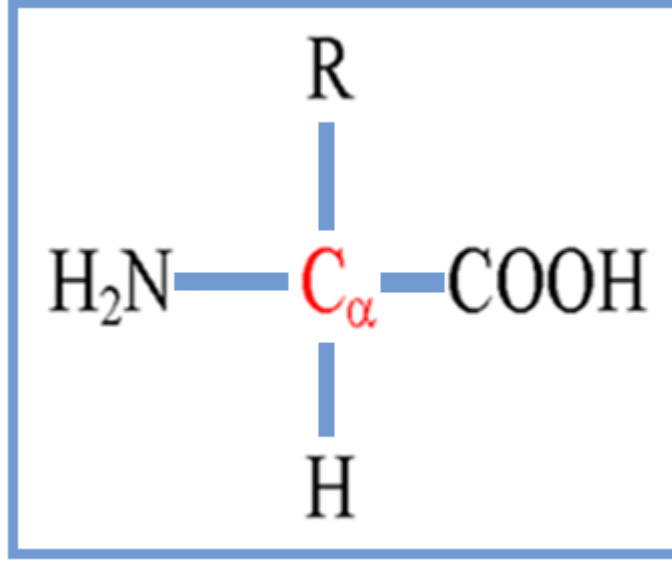
Aminoasitler proteinlerin temel yapı taşları olup, yapılarında hem amino ( $-NH_2$ ) grubu hem de karboksil ( $-COOH$ ) grubu içeren bileşiklerdir. Amino asitlerin yapısı Şekil 2.1' de gösterilmektedir.



Şekil 2.1. Amino asitlerin yapısı.

Amino asitlerin kovalent bağlarla uç uca eklenmesiyle oluşturdukları kısa polimer zincirler "peptid", uzun polimer zincirler ise "polipeptid" veya "protein" olarak adlandırılır. Doğada bulunan 300 tane amino asitten sadece 20 tanesi proteinlerde bulunmaktadır. Farklı amino asitler, 20 temel amino asitle oluşturulmuş polipeptidlerin

daha sonra farklılaşmaları ile oluşurlar. Bu tür amino asit farklılaşmaları, proteinin özelliklerini ve işlevlerini değiştirmektedir. Örneğin; çözünürlüklerini arttırabilir, azaltabilir ya da diğer moleküllerle etkileşmelerini düzenleyebilir. Ayrıca amino asitlerin birbirlerinden farklılaşmalarını sağlayan, sahip oldukları yan zincirlerdir. DNA tarafından kodlanan ve proteinleri oluşturan bu 20 amino asit standart amino asitler olarak adlandırılmaktadır (Şekil 2.2). Standart amino asitler, aynı karbon atomuna bağlanmış bir amino grubu ve bir karboksil grubu içerirler.

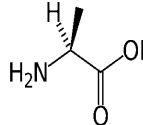
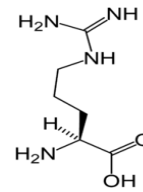
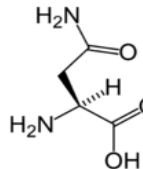
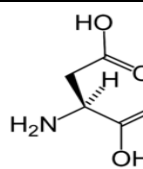
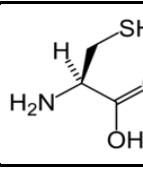
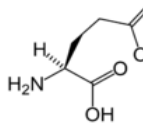
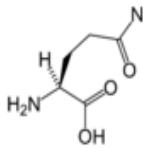
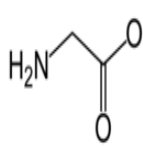
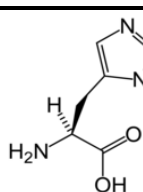


**Şekil 2.2.** Standart amino asitler.

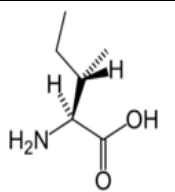
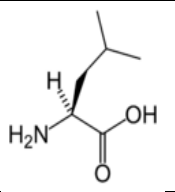
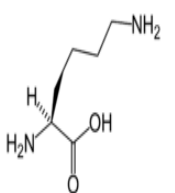
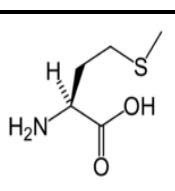
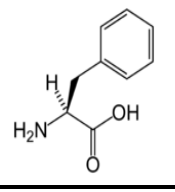
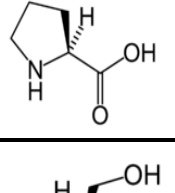
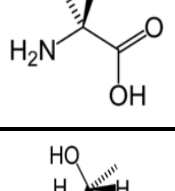
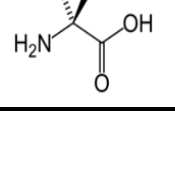
Standart amino asitler, üç harfli kısaltmalar ve tek harfli sembollerle gösterilmektedirler (Çizelge 2.1). Standart amino asitler, R yan gruplarının özellikle polarite veya biyolojik pH'da su ile etkileşmeye eğilim özelliklerine göre dört sınıfa ayrılmaktadırlar. Bunlar;

1. Polar R gruplu amino asitler,
2. Nonpolar R gruplu amino asitler,
3. Asidik R gruplu amino asitler,
4. Bazik R gruplu amino asitlerdir.

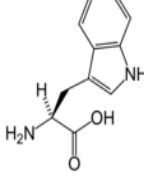
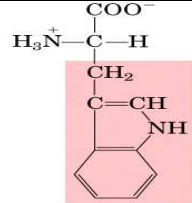
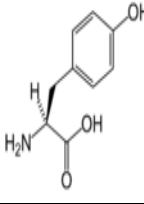
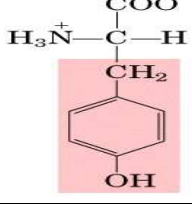
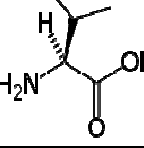
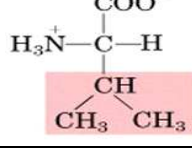
**Çizelge 2.1.** Standart Amino Asitler, üç harfli ve tek harfli gösterimleri, kimyasal yapı, kimyasal formül ve yan zincir polariteleri (Anonim 2009).

Amino Asit	Üç Harf Gösterim	Tek Harf Gösterim	Kimyasal Yapısı	Kimyasal Formülü	Yan Zincir Polaritesi
Alanin	ALA	A		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Apolar Nötr
Arginin	ARG	R		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH} \\   \\ \text{C} = \text{NH}_2 \\   \\ \text{NH}_2 \end{array}$	Polar Kuvvetli Bazik
Asparagin	ASN	N		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} = \text{O} \\   \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	Polar Nötr
Aspartik asit	ASP	D		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \end{array}$	Polar Asidik
Sistein	CYS	C		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{SH} \end{array}$	Apolar Nötr
Glutamik asit	GLU	E		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{COO}^- \end{array}$	Polar Asidik
Glutamin	GLN	Q		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} = \text{O} \\   \\ \text{H}_2\text{N} \end{array}$	Polar Nötr
Glisin	GLY	G		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Apolar Nötr
Histidin	HIS	H		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+ - \text{C} - \text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C} = \text{NH} \\   \\ \text{C} = \text{N} \\   \\ \text{H} \end{array}$	Polar Hafif Bazik

Çizelge 2.1. (devam)

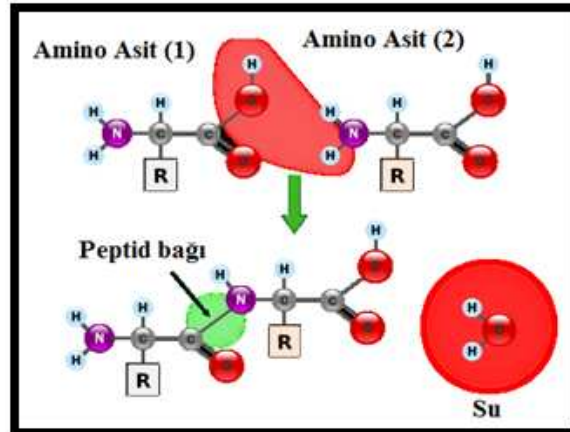
İzolösin	ILE	I		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{CH}_3 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Apolar Nötr
Lösin	LEU	L		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH} \\ / \quad \backslash \\ \text{CH}_3 \quad \text{CH}_3 \end{array}$	Apolar Nötr
Lizin	LYS	K		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{NH}_3^+ \end{array}$	Polar Bazik
Metiyonin	MET	M		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{S} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Apolar Nötr
Fenilalanin	PHE	F		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{C}_6\text{H}_5 \end{array}$	Apolar Nötr
Prolin	PRO	P		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_2\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2 \\   \\ \text{H}_2\text{C}-\text{CH}_2 \end{array}$	Apolar Nötr
Serin	SER	S		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	Polar Nötr
Treonin	THR	T		$\begin{array}{c} \text{COO}^- \\   \\ \text{H}_3\text{N}^+-\text{C}-\text{H} \\   \\ \text{H}-\text{C}-\text{OH} \\   \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Polar Nötr

Çizelge 2.1. (devam)

Triptofan	TRP	W			Apolar Nötr
Tirozin	TYR	Y			Polar Nötr
Valin	VAL	V			Apolar Nötr

Çizelge 2.1’de 20 farklı standart amino asit ve bu amino asitlerin üç harfli kısaltılmış gösterimleri, tek harfli sembolleri, kimyasal yapısı, kimyasal formülü ve yan zincirlerinin özellikleri yer almaktadır.

Bir amino asitin karboksil grubu ile diğer bir amino asitin amino grubu su çıkışını sağlayarak birbirlerine kovalent olarak bağlanabilirler. Bu sırada oluşturdukları bağlara peptid bağları denilmektedir. Bu bağların oluşumu Şekil 2.3’de görülmektedir.



Şekil 2.3. Amino asitler arasındaki peptid bağlarının oluşumu (Anonim 2009).

Peptit bağları, azotun sahip olduğu elektron çiftinden kaynaklanan rezonans yapılarından dolayı çift bağ karakterine sahiptir; öyle ki buradaki  $C - N$  bağı normal amin  $C - N$  bağından %10 daha kısadır ve yaklaşık %40 çift bağ karakteri taşır. Peptid bağının uzunluğu  $C = N$  bağının uzunluğundan büyük,  $C - N$  bağının uzunluğundan ise küçüktür. (Bir  $C - N$  tek bağının uzunluğu  $1,49 \text{ \AA}$ , bir  $C = N$  çift bağının uzunluğu  $1,27 \text{ \AA}$  ve bir peptid bağının uzunluğu  $1,32 \text{ \AA}$  dir). Bu durum  $C - N$  bağının kendi ekseninde dönebilmemesini büyük ölçüde engeller ve peptid bağındaki C, O, N ve H atomlarının aynı düzlemde bulunmasını sağlar. Peptid bağının her iki yanındaki  $\alpha$ -karbon atomları, tek bağ etrafında  $\Phi$  ve  $\Psi$  ile gösterilen açılarla döner. Peptid bağı ile oluşan molekülün enerjisi bu açılara bağlı olarak değişmektedir. İşte bu  $\Psi$  ve  $\Phi$  açılarına karşı çizilen diagrama Ramachandran Diyagramı denir. Böylece peptid bağı düzlemi hareketsiz olmasına rağmen,  $\alpha$ -karbon etrafındaki rotasyon polipeptid zincirine esneklik kazandırır. Bu diyagramlar vasıtasıyla proteinlerin ikincil yapıları hakkında bilgi edinilmektedir.

### 2.1.2. Üç boyutlu yapılarına göre proteinler

Proteinler, amino asitlerin belirli türde, belirli sayıda ve belirli diziliş sırasında birbirlerine kovalent bağlar ile bağlanması sonucu oluşan polipeptidlerdir. Bir proteinin kovalent yapısı yüzlerce tek bağdan oluştuğu ve bu bağların birçoğunun etrafında serbest rotasyon mümkün olduğu için proteinlerin sınırsız sayıda konformasyonda bulunabileceği düşünülmektedir. Ancak her proteinin kendine özgü bir kimyasal ve yapısal işleve sahip olması, yine her proteinin kendine özgü 3- boyutlu bir yapıya sahip olmasını sağlamaktadır. Bir proteinin yapısında bulunan atomların uzaysal düzenlenimi protein konformasyonu olarak adlandırılır. Proteinlerin olası konformasyonları ise, kovalent bağları kırılmaksızın elde edilen herhangi bir yapısal duruma karşılık gelmektedir. Bir proteinin biyolojik olarak üstlendiği görevi yerine getirebilmesi için aşağıdaki yapıları kazanması gerekmektedir.



1. Birincil (Primer) Yapı: Bir proteinin birincil yapısı protein için karakteristik ve genetik olarak tespit edilmiş olan amino asit dizilişidir. Yani, proteinlerin primer yapısı bir BİLGİ DİZİSİDİR! Bu bilgi, proteinin üç boyutlu yapısını, işlevini ve diğer moleküllerle etkileşimini de belirler.

2. İkincil (Sekonder) Yapı: Birincil yapıda birbirlerine yakın olan amino asitlerin molekül içindeki düzenli ya da düzensiz hareketleri sonucu oluşan yapılardır.

a)  $\alpha$  –Heliks Yapı: Mümkün olan bütün hidrojen bağlarının oluşabilmesi için heliks şeklindeki bükülmeler sonucu oluşan yapılardır.

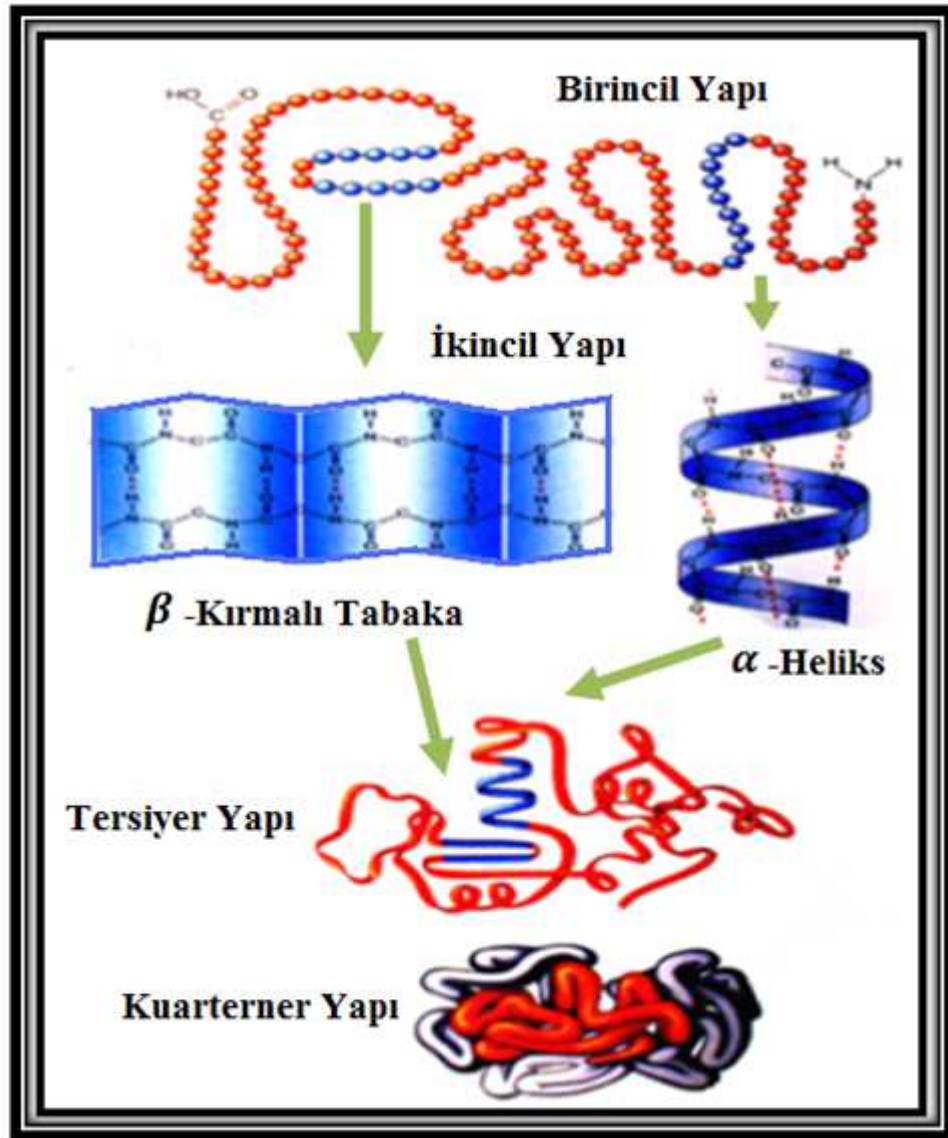
b)  $\beta$  –Kırmalı Tabaka Yapı: Primer zinciri meydana getiren amino asitler heliks yapı oluşturmak yerine kıvrılmalar yaparak akordiyon şeklini alırlar. Proteinlerin  $\beta$  – kırmalı tabaka yapısında polipeptit zincirindeki amino asitlerin R- grupları ya aynı yönde sıralanma ile paralel dizilim gösterir ya da zıt yönde sıralanma ile antiparalel dizilim gösterir. Bu yapılarda hidrojen bağları oldukça önemlidir.

c) Tesadüfi Kıvrılmalar (Random Coil): Polipeptit zincirinin, R- yan zincirlerinin bir örneğine tekrar rastlanmayacak şekilde  $\alpha$  –karbonlar etrafında dönmesi sonucu oluşurlar. Bu yapılarda hidrojen bağları rol almaz. Biyolojik fonksiyon bakımından diğer ikincil yapılarla aynı öneme sahiptir.

d) Sarılmış Sarmal (Coiled Coil) Süper Sekonder Yapı: İki ya da daha çok  $\alpha$  –heliks zincirinin birbirlerine sarılmasıdır. Enerjetik olarak protein yapısına uygun olup stabildirler.

3. Üçüncül (Tersiyer) Yapı: R (radikal) yan zincirleri arasında meydana gelen bağlar ile şeklini kazanmaya başlayan ve sekonder yapıyı takip eden bu konfigürasyonda proteinin yapısı daha da kompleks bir hal almaya başlar. Böylece amino asit zinciri yün yumağını andırır bir şekilde katlanır, bükülür ve çeşitli bağlarla bağlanır. Üçüncül yapılar, ikincil yapıların kıvrılmış hali olarak düşünülmektedir.

4. Dördüncül (Kuarterner) Yapı: Birden fazla polipeptit zinciri içeren proteinlerde zincirler arası etkileşimlerdir. Polipeptid (protein) zincirlerini meydana getiren amino asitlere bağlı R gruplarının kendileri de alt birimlere ayrılırlar. Kuarterner yapıyı meydana getiren yapı ise, bu alt gruplar arasında meydana gelen iyonik veya H (hidrojen) bağları ile şekillenir. En karmaşık şekillere sahip olan kuarterner konfigürasyonundaki proteinler şekillerini alt birimler olan radikal ve diğer gruplara bağlı alt gruplar arasındaki bağlar ile kazanırlar.



Şekil 2.4. Proteinlerin üç boyutlu yapısı.

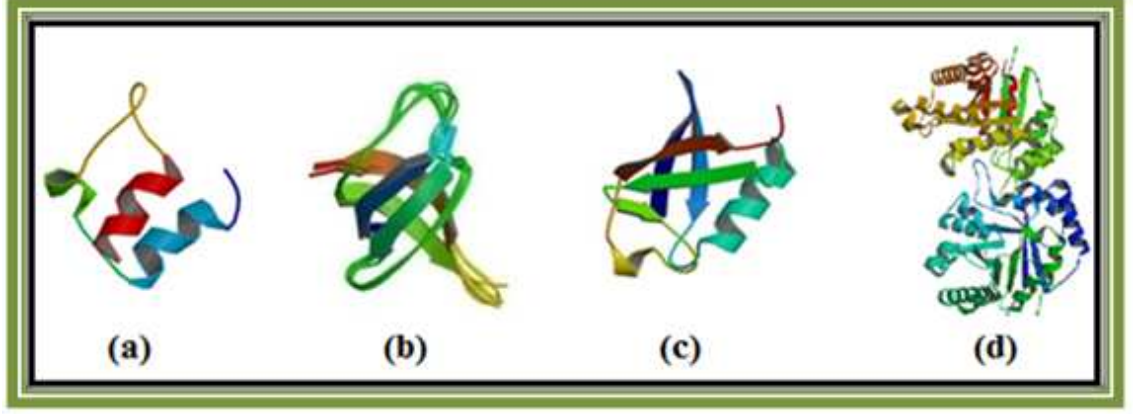
### 2.1.3. Katlanmış yapı ve biyolojik fonksiyonlar

Proteinlerin yapısında bulunan tüm atomların 3- boyutlu uzaydaki düzenlenmiş yapısına konformasyon denilmektedir. Proteinlerin olası konformasyonları ise, sahip olduğu kovalent bağları kırılmaksızın proteinlerin yapısındaki tekli bağlardan kaynaklanan dönmeler (dönmeler çözelti, sıcaklık gibi faktörler ile değişebilmektedir) sonucunda alabileceği her türlü geometrik düzenlemedir. Örneğin, belirli bir yükseklikten defalarca yere bırakılan bir zincir parçasının alacağı her yeni şekil proteinlerde meydana gelebilecek farklı konformasyonların oluşmasına örnek olarak verilebilir. Teorik olarak mümkün olan çok sayıda konformasyonun, biyolojik şartlar altında ancak bir ya da ikisi baskın olarak bulunur. Bu durumda protein bölgeleri önemlilik arz etmektedir.

Bir protein bölgesi (domain) proteinin geri kalanından bağımsız bir şekilde varlığını sürdürüp, fonksiyonunu devam ettiren protein dizi ve yapısının bir parçasıdır. Her bir bölge üç boyutlu tıktır bir yapı oluşturmaktadır. Çoğu proteinde yapısal olarak birkaç bölge bulunmaktadır. Bu bölgelerin uzunluğu yaklaşık olarak 25 amino asit ile 500 amino asit arasında değişmektedir. Zincir uzunlukları arttıkça proteinlerde farklı bölgeler (domain) oluşmaktadır. Böylece zincir uzunluklarına bağlı olarak proteinler yapılarına göre aşağıdaki gibi sınıflandırılabilirler (Anonim 2009).

1.  $\alpha$ - Bölgeli Proteinler: Tamamen  $\alpha$ -heliks yapılarından oluşmaktadır. Genellikle küçük proteinlerin katlandığı yapısal bir sınıftır.
2.  $\beta$ - Bölgeli Proteinler: Tamamen  $\beta$ -kırmalı tabaka yapılarından oluşan yapısal bir sınıf olup, zincir uzunlukları  $\alpha$ -bölgeli proteinlere nazaran daha büyüktür. Bu sınıfta yer alan proteinlerin  $\beta$  tabakaları birbirlerine paralel ya da antiparalel olabilmektedirler.
3.  $\alpha+\beta$  Bölgeli Proteinler: Tamamı ile  $\alpha$  ve tamamı ile  $\beta$  yapılarına sahip proteinlerin bir arada bulunduğu yapısal bir sınıftır. Yani, birbirlerinden bağımsız  $\alpha$ -sarmalı ve antiparalel  $\beta$  plakalardan oluşan çok bölgeli proteinlerdir.

4.  $\alpha/\beta$  Bölgesi Proteinler: Birbirlerine paralel olan  $\beta$  kırmalı tabaka yapılarının meydana geldiği “ $\beta$ -  $\alpha$ -  $\beta$ ” yapısal birimlerinden oluşan çok bölge proteinlerdir.



**Şekil 2.5.** Yapılarına göre protein bölgeleri.

\*(a) Tamamen  $\alpha$ -yapı (PDB KODU: 1BBL). (b) Tamamen  $\beta$ - yapı (PDB KODU: 1G6P). (c)  $\alpha$ +  $\beta$  yapı (PDB KODU: 1UBQ). (d)  $\alpha/\beta$  yapı (PDB KODU: 1TIM) (Anonim 2009).

Proteinler hücrelerdeki bütün biyolojik olayların yapıtaşları olduğu için hücreler içerisinde gerçekleşen olaylar, yüzbinlerce farklı proteinin kendilerine verilmiş olan görevleri mucizevi bir şekilde yerine getirmeleri ile mümkündür. Mesela, kandaki hemoglobin proteini oksijen taşımacılığında, antikor denilen proteinler vücudun savunma sisteminin temelini oluşturmakta, insülin hücreler içersine glikoz/şeker alımını sağlamakta, keratin saç ve tırnak yapısını meydana getirmekte, enzim adı verilen proteinler hücre içi kimyasal reaksiyonları mükemmel bir hız ve doğrulukta yerine getirmektedir. İşte, canlıların yaşamsal faaliyetlerini uygun şekilde sürdürebilmesi, 20 farklı amino asitin farklı miktarlarda biraraya gelerek oluşturdukları proteinlerin gerçekleştirmeleri gereken kimyasal ve biyolojik aktiviteleri yerlerine getirmeleri ile mümkün olabilmektedir. Fakat her protein gerçekleştirmesi gereken görevi en düşük enerjiye sahip olduğu düşünülen 3- boyutlu konformasyona ulaştığı zaman yerine getirmektedir. Yani, protein biyolojik görevini gerçekleştireceği katlanmış yapıya ulaşmadığı zaman ya görevini yerine getiremiyor ya da yanlış görevde bulunuyor. Bir proteinin aktif bölgesindeki sadece bir amino asidin bile yerinin değişmesi, proteinin şeklini değiştirip işlevini yerine getirmesini engelleyebilmektedir. Bu nedenle protein

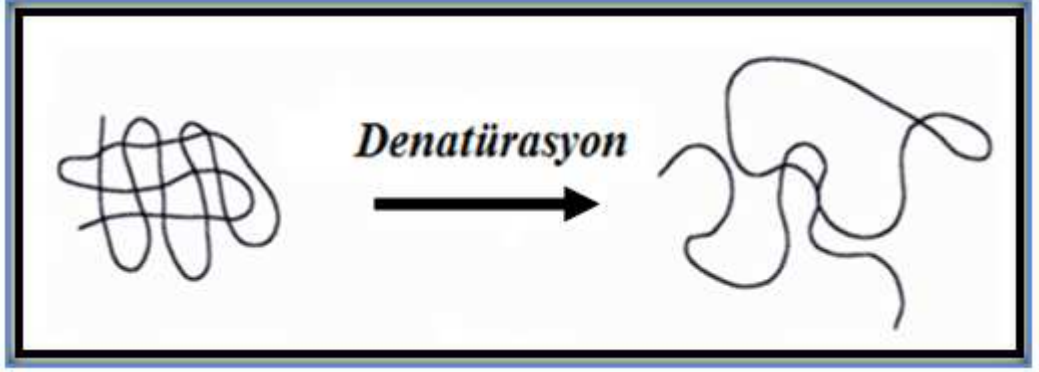
sentezi sonrasında aminoasit dizisinin doğru katlanmış yapıya ulaşması biyolojik fonksiyonlarını yerine getirmesi açısından oldukça önemlidir.

## **2.2. Protein Dinamiğini Etkileyen Faktörler**

Proteinleri oluşturan amino asitlerin meydana getirdikleri zincirin uzunluğu arttıkça proteinlerde farklı bölgeler oluşacaktır. Zincir uzunluğuna bağlı olarak oluşan bu bölgeler ve bu bölgelerin oluşturduğu protein yapıları 2.1.3 kısmında anlatılmıştır. Çok bölgeli proteinlerin deneysel olarak çalışılması oldukça uzun süre ve maliyet gerektirdiği için, teorik çalışmalar ile deneysel çalışmaların kıyaslanabilmesi bakımından gerek deneysel çalışmalarda gerekse teorik çalışmalarda küçük tek bölgeli proteinler tercih edilmektedir. Protein zincir bilgisi onların üç boyutlu yapısını belirlediği için protein dinamiğini etkileyen bir özellik olarak gündeme gelmektedir.

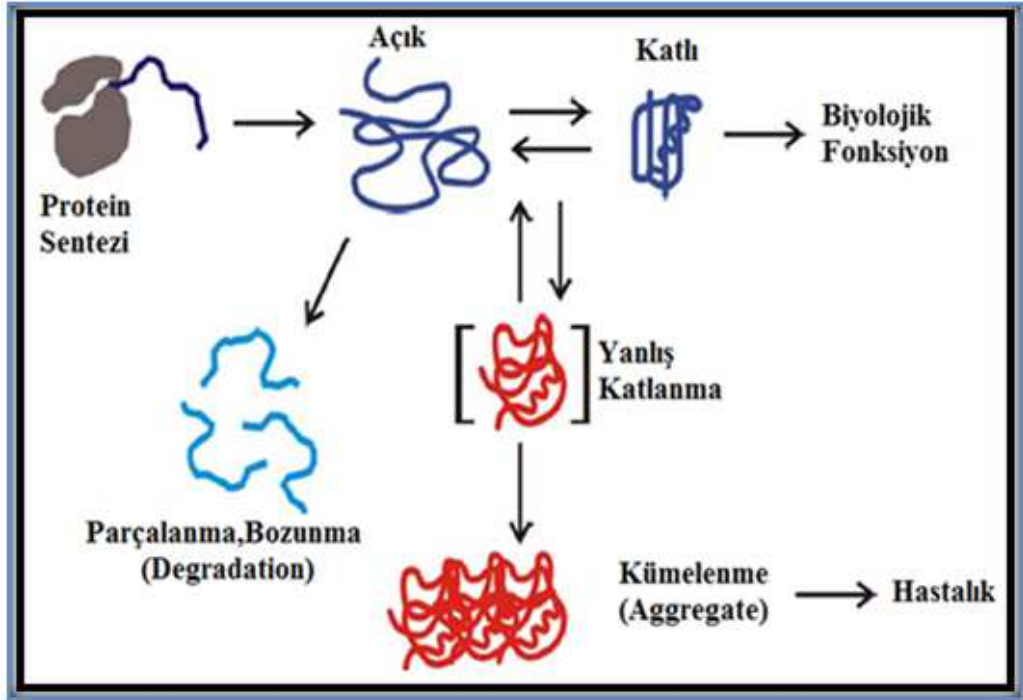
Proteinler bazı fizyolojik koşullarda biyokimyasal fonksiyonlarını yerine getirecekleri katlanmış yapıya ulaşamazlar. Örneğin, çok yüksek ve çok düşük sıcaklıklar termal olarak proteinlerin açılmalarına ya da denatüre olmalarına neden olmaktadır. Böyle bir durumda proteinler destabilize olur. Yüksek çözücü konsantrasyonları, yüksek pH, mekanik kuvvetler, kimyasal çözücüler (denatüran) de aynı etkiye neden olmaktadır. Tamamen denatüre olmuş bir protein ikincil ve üçüncül yapılarını kaybederek gelişigüzel bir zincir (random coil) halini alır. Çoğu durumda denatürasyon geri dönüşümlü olmamasına rağmen bazı proteinler yeniden katlanır. Isı veya kimyasal etkiler ortadan kaldırıldığında ise bu denatüre olmuş düz zincir eski yapısını kazanarak, yani tekrar eski haline dönerek renatürasyon olayı gerçekleşir. Eğer bir proteinin denatürasyonu proteinin tersiyer yapısının bozulması, birincil ve ikincil yapısının korunması şeklinde ise geri dönüşümlü (reversible) bir durum meydana gelir. Proteinlerde denatürasyon çoğunlukla hidrojen bağlarının kırılması sonucu oluşur ve proteinin denatüre olması ile fiziksel ve kimyasal özelliklerinde değişimler görülür. Böylece proteinin çözünürlüğü oldukça azalır ve biyolojik aktivitesini kaybeder. Bu bağlamda çözücü konsantrasyonu da dinamiği etkilemektedir. Şekil 2.6'da katlanmış bir

yapının denatürasyon sonrasında yapısının bozulup açık bir yapıya ulaştığı görülmektedir (Shirley 1995).



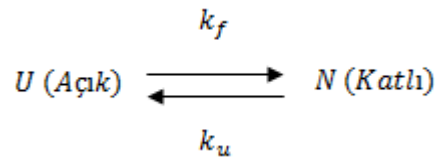
**Şekil 2.6.** Protein denatürasyonu (Shirley 1995).

Şekil 2.7’de proteinlerin sentezlendikten sonra sıcaklık, çözücü konsantrasyonu, pH gibi etkiler sonucunda doğru katlanmış yapıya ulaşip biyolojik fonksiyonlarını yerlerine getirebilecekleri gibi yanlış katlanma, parçalanma ve kümelenme gibi oluşabilecek durumlar sonucunda biyolojik işlevlerini yerlerine getiremeyip hastalıklara neden olabilecekleri görülmektedir.



**Şekil 2.7.** Proteinlerin sentezlenmesinden sonra meydana gelen olaylar (Anonim 2009).

Termodinamik açıdan bir proteinin en kararlı ve en küçük serbest enerjiye sahip olduğu durum katlanmış yapı yani, o proteinin doğal konformasyonu olarak nitelendirilmektedir. Kinetik açıdan kararlılık ise katlanmış yapının çok yavaş kaybedildiği ve dönüşümsüz olduğu durumlarda denatürasyonun hızı ile tanımlanmaktadır. Aşağıda katlı ve açık olmak üzere iki fazlı durumlar arasındaki reaksiyonun geri dönüşümlü olduğu gösterilmektedir.



Açılma oranı  $k_u$  ve açık durum konsantrasyonu  $[U]$  olmak üzere açılma hızı;

$$v_u = k_u[U] \quad (2.1)$$

ile ifade edilmektedir. Yine katlanma oranı  $k_f$  ve katlı durum konsantrasyonu  $[N]$  olmak üzere katlanma hızı 2.2 eşitliği ile ifade edilmektedir.

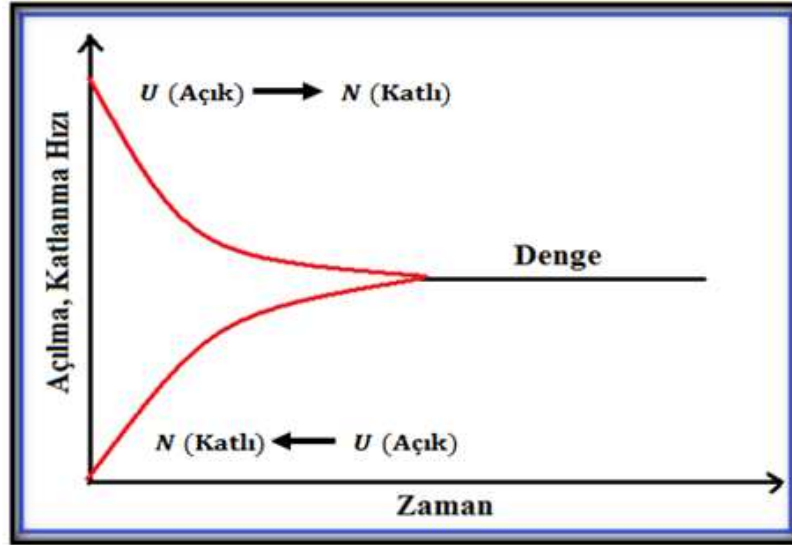
$$v_f = k_f[N] \quad (2.2)$$

Şekil 2.8'de gösterildiği gibi kimyasal olarak iki yönlü yani tersinir bir reaksiyonda ancak açılma ve katlanma hızları (reaksiyon hızı) eşit olduğu zaman kimyasal dengeye ulaşılmaktadır. Bahsedilen denge durumu için;

$$k_u[U] = k_f[N] \quad (2.3)$$

eşitliği yazılabilir. Bu durumda katlanma ve açılma oranı ya da katlanma ve açılma konsantrasyonuna bağlı olarak sistemin denge sabiti olan  $K_d$ , 2.4 eşitliği ile ifade edilir.

$$K_d = \frac{[U]}{[N]} = \frac{k_f}{k_u} \quad (2.4)$$



**Şekil 2.8.** Açılma ya da katlanma hızlarının tersinir bir reaksiyonda zamanla dengeye ulaşması.



Proteinlerin katlanmış yapılarını kararlı kılan etkiler; elektrostatik etkileşmeler, hidrojen bağları, disülfit bağları ve hidrofobik etkileşmelerdir.

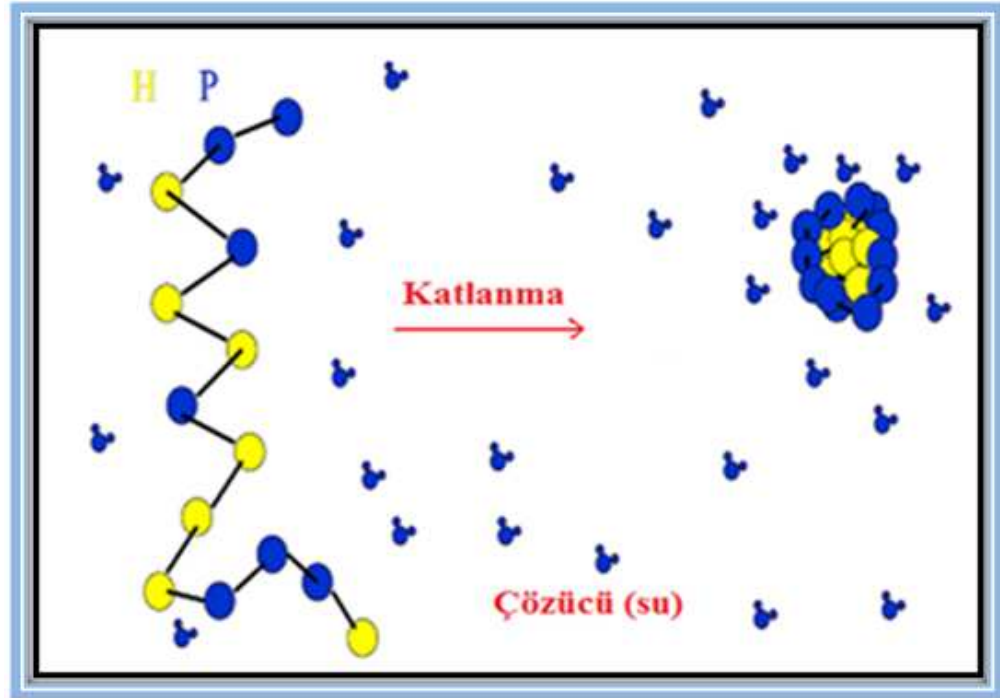
Proteinlerde amino asitlerin yan zincirlerinde iyonize olabilen ve buldukları ortam pH'sına göre artı ya da eksi yük taşıyan birçok grup bulunmaktadır. Bu grupların birbirleri ile etkileşimleri elektriksel kurallar ile belirlenir (Coulomb kuvvetinde olduğu gibi). Bu tür etkileşmelere elektrostatik etkileşmeler denilmektedir.

Bir iyon çiftinin oluşması için gereken enerji ile sulu ortamda bu iyonların etrafını saran su moleküllerinin ayrılması için gereken enerji hemen hemen aynı olduğundan ve net serbest enerji değişimi sıfıra yakın olduğundan iyon çiftlerinin proteinlerin kararlılığına katkısının çok küçük olduğu düşünülmektedir.

İki yüksüz atom birbirlerine çok yaklaştığında, bu iki atomun üzerindeki elektron bulutları birbirlerini etkiler. Bir çekirdeğin etrafındaki elektronların konumlarındaki değişiklik, geçici bir elektrik dipolün oluşmasına neden olur. Bu arada çok yakınında bulunan diğer atomun elektron bulutu geçici dipole zıt bir dipol oluşturabilir. Oluşan bu iki dipol arasında zayıf bir çekim olduğu için iki çekirdek birbirlerine daha da yaklaşabilir. İşte bu zayıf güçteki çekimlere Van der Waals etkileşimleri adı verilir. Bu çekim sırasında, iki çekirdek birbirine çok yaklaşırsa, elektron bulutları birbirini itmeye başlar. Van der Waals çekiminin bu itme ile birlikte dengeye ulaştığı noktada, çekirdeklerin birbirleriyle Van der Waals temasında olduğu söylenir. Her bir atomun diğer bir atoma ne kadar yakınlaştılabileceğinin bir ölçüsü olarak van der Waals çapı vardır. Örneğin, 2 tane H atomu birbirlerine 2 Å mesafeye kadar, H ve O atomları 2,4 Å mesafeye kadar, O ve N 2,7 Å mesafeye kadar etkileşebilmektedirler. Kalıcı dipoller arasındaki etkileşimler, iyonik etkileşime göre çok daha zayıf olmalarına rağmen, protein yapısının kararlılığı için önemlidirler. Örnek olarak alfa sarmal yapısındaki kalıcı dipoller verilebilir. Dielektrik sabitinin çok düşük olduğu protein merkezinde dipol-dipol etkileşimleri, proteinlerin katlanmasına şekil vermelerini ve kararlılıklarını devam ettirmelerini sağlar. Geçici olarak oluşan bu dipoller arasındaki çekim

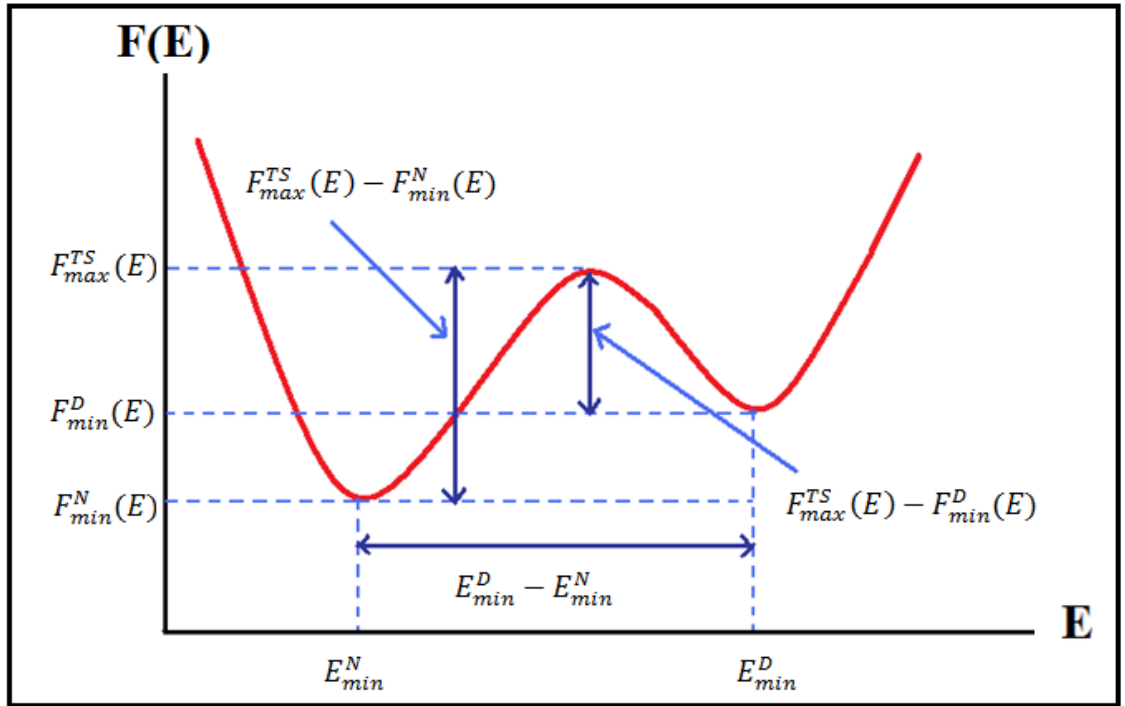
kuvvetlerine ise London kuvvetleri denir. Bu kuvvetler de çok zayıf olmalarına rağmen, molekül içinde aynı anda yüzlerce sayıda oluştuğunda protein kararlılığına büyük katkı sağlarlar.

Polar olmayan moleküllerin sulu ortamla etkileşimini azaltan etkileşimler ise hidrofobik etkileşimlerdir. Hidrofobiklik bir molekülün sudan kaçınma özelliği olup, bu moleküller polar değildir. Bu yüzden diğer nötr moleküller ve polar olmayan çözücüler ile etkileşimleri termodinamik olarak daha karardır. Polar olmayan molekülleri sulu ortamdan uzaklaştıran fiziksel bir mekanizma vardır ki bu mekanizma entropik bir etkidir. Bu yüzden hidrofobik etkileşimler, proteinlerin katlanmasında ve üç boyutlu katlanmış yapılarının korunmasında oldukça önemlidir (İşcan 2007) . Şekil 2.9'da çözücü olarak suyun kullanıldığı bir ortamda H ile gösterilen hidrofobik moleküller su ile hidrojen bağı yapma eğilimleri düşük olduğu için proteinin merkezinde yerleşirken, P ile gösterilen polar moleküllerin su ile hidrojen bağı yapma eğilimleri yüksek olduğu için katlanmış bir proteinin yüzeyine yerleşmektedirler.



Şekil 2.9. Hidrofobik ve polar moleküllerin çözücü içerisindeki davranışları.

Protein dinamiği için önemli olan bir başka faktör ise kooperativitedir. Basit bir kimyasal reaksiyon düşünüldüğü zaman reaksiyondan önceki ve reaksiyondan sonraki olmak üzere sadece 2 durum söz konusudur. Oysa, bir protein zinciri düşünüldüğü zaman milyonlarca farklı konformasyon vardır ve her konformasyon bir termodinamik duruma karşılık gelmektedir. Bu yüzden, açık (D) ve katlı (N) durum olmak üzere iki duruma sahip olan proteinler iki durumlu (two state) proteinler olarak adlandırılmaktadır. Bu proteinlerin açılma ve katlanma geçişleri sırasında geçiş konformasyonları oldukça düşük popülasyona sahip olmaktadır ve bu davranış kooperatif davranış olarak adlandırılmaktadır. İki durum davranışı gösteren proteinlerde aşılması gereken bir tek serbest enerji bariyeri vardır (Şekil 2.11a).



**Şekil 2.10.** Serbest enerjinin reaksiyon koordinatı (E) ile değişimi.

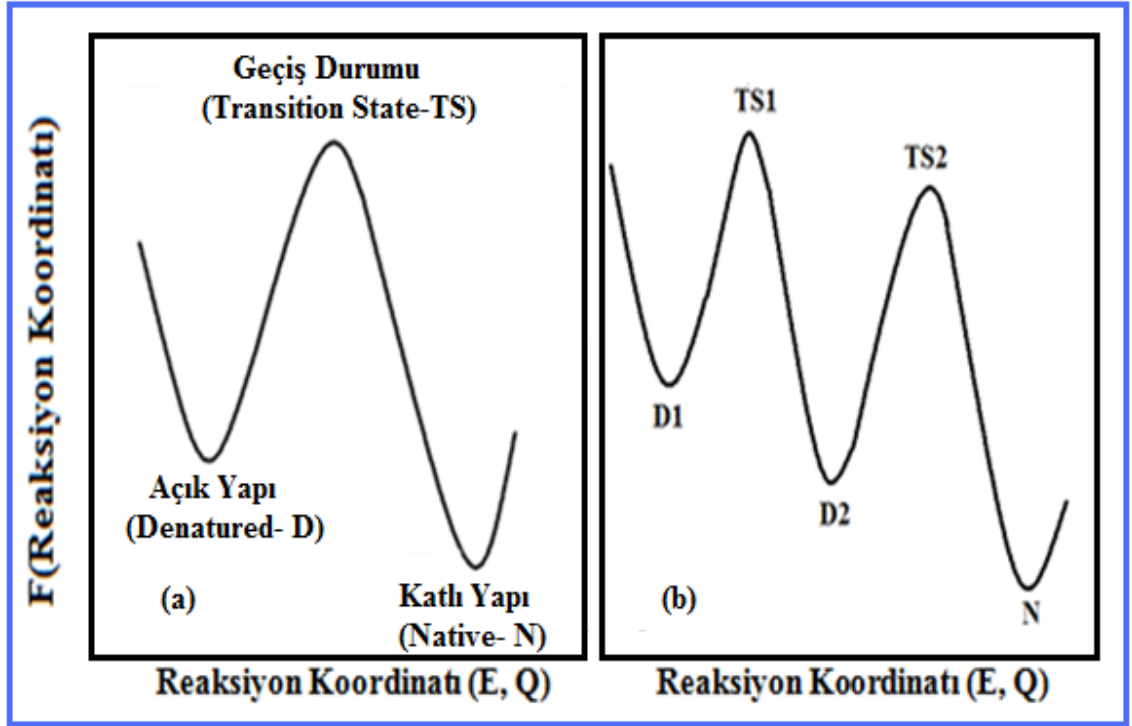
Serbest enerji termodinamiksel olarak, reaksiyon koordinatı popülasyonunun tersinin logaritması;

$$F(E) = -\ln P(E) \quad (2.5)$$

ile ifade edilmektedir.

Katlanmış ve açık konformasyonların her birinin ayrı durumlar olarak değil, sadece açık ve katlı durum olmak üzere iki ayrı durum olarak ele alınmaktadır. İşte bu açık ve katlı konformasyon toplulukları arasında Şekil 2.10'da gösterildiği gibi geçişler gözlemlenmektedir. Bu durumda geçiş durum konformasyonları düşük yoğunlukla gözlemlenmekte ve bu konformasyonların oluşturduğu bariyerin aşılması gerekmektedir. Katlanmış yapıdan açık yapıya geçişin gerçekleşebilmesi için  $F_{\max}^{TS}(E) - F_{\min}^N(E)$  yüksekliğinde bir bariyerin aşılması gerekirken, açık yapıdan katlanmış yapıya geçişin gerçekleşebilmesi için  $F_{\max}^{TS}(E) - F_{\min}^D(E)$  yüksekliğinde bir bariyerin aşılması gerekmektedir. Proteinlerin kararlılığı ve kooperativitesi serbest enerji bariyer yükseklikleri ve açık ile katlı durum topluluklarının serbest enerji minimumları arasındaki fark olan bariyer genişliği ile tanımlanmaktadır. Bu serbest enerji bariyer genişliği de  $E_{\min}^N - E_{\min}^D$  ile ifade edilmektedir. İki durumun popülasyonlarının  $F_{\max}^{TS}(E) - F_{\min}^N(E) \approx F_{\max}^{TS}(E) - F_{\min}^D(E)$  eşit olduğu sıcaklık ise geçiş sıcaklığı olarak tanımlanmaktadır (Kaya 2009). Bu yüzden geçiş sıcaklığındaki serbest enerji bariyer yüksekliği kararlılığı belirleyen bir parametre olarak düşünülmektedir.

İki durumlu proteinlerin yaklaşık olarak 120 amino asitten daha az sayıda amino asit içerdiği ve çok durumlu proteinlerin ise daha fazla sayıda amino asit içerdiği bilinmektedir. İki durumlu ve çok durumlu proteinler için geçişler Şekil 2.11'de serbest enerjinin reaksiyon koordinatına bağlı değişimi ile gösterilmektedir.



**Şekil 2.11.** Proteinlerin iki durumlu ve çok durumlu geçişleri.

\*(a) Amino asit sayısının yaklaşık olarak 120'den küçük olduğu durumda iki durum geçişi. (b) Amino asit sayısının yaklaşık olarak 120'den büyük olduğu durumdaki çoklu durum geçişleri.

Kooperativite terimi, biyofizikte termodinamik geçişlerin keskinliğini açıklamak için kullanılmaktadır. Aynı zamanda sistemin fiziksel parametrelerindeki küçük değişimlerle düzensizlikten düzene (açık yapıdan, katlı yapıya) keskin ve hızlı geçişlerin olması olarak da tanımlanmaktadır. Kooperatif olan bu geçişler sigmoidal bir dağılım göstermektedirler. Kalorimetrik deneylerde iki durum davranışı gösteren küçük tek bölgeli proteinler için; Van't Hoff entalpinin kalorimetrik entalpiye oranı yaklaşık olarak 1 kabul edilmektedir.

$$\Delta H_{vH} / \Delta H_{cal} \cong 1 \quad (2.6)$$

Bu entalpi oranı deneysel çalışmalar sonucu, sıcaklığın bir fonksiyonu olarak ısı kapasitesi ölçümlerinden elde edilmiştir. Isı kapasitesi ise,

$$C_p = \left( \frac{\partial \langle H \rangle}{\partial T} \right)_p = \frac{\langle H^2(T) \rangle - \langle H(T) \rangle^2}{k_B T^2} = \frac{\sigma_H^2}{k_B T^2} \quad (2.7)$$

şeklinde ifade edilmektedir. Kalorimetrik entalpi ( $\Delta H_{cal}$ ), geçiş ile ilgili olmayan kısımların çıkarımı (baseline subtraction) yapıldıktan sonra, ısı kapasitesi ( $C_p$ ) fonksiyonunun altında kalan alan olarak tanımlanmaktadır. Bu değer açık durumdaki ortalama entalpi ile katlı durumdaki ortalama entalpi arasındaki fark olarak aşağıdaki gibi ifade edilebilir.

$$\Delta H_{cal} = \int_{T_0}^{T_1} C_p(T) dT = \int_{T_0}^{T_1} \left( \frac{\partial \langle H \rangle}{\partial T} \right) dT \quad (2.8)$$

$$= \langle H(T_1) \rangle - \langle H(T_0) \rangle$$

$$= \langle H \rangle_D - \langle H \rangle_N$$

Geçişin van't Hoff entalpisi ise yine ısı kapasitesi fonksiyonunda, ısı kapasitesinin maksimum olduğu  $C_{p,max}$  değerinden elde edilir. Van't Hoff entalpi, geçiş sıcaklığı etrafında tanımlanmaktadır. Geçiş sıcaklığı ise katlanma ve açılma populasyonlarının birbirlerine eşit olduğu sıcaklık değerine karşılık gelmektedir.

$$\Delta H_{vH} = 2T_{max} \sqrt{k_B C_{p,max}} = 2(\sigma_H)_{max} \quad (2.9)$$

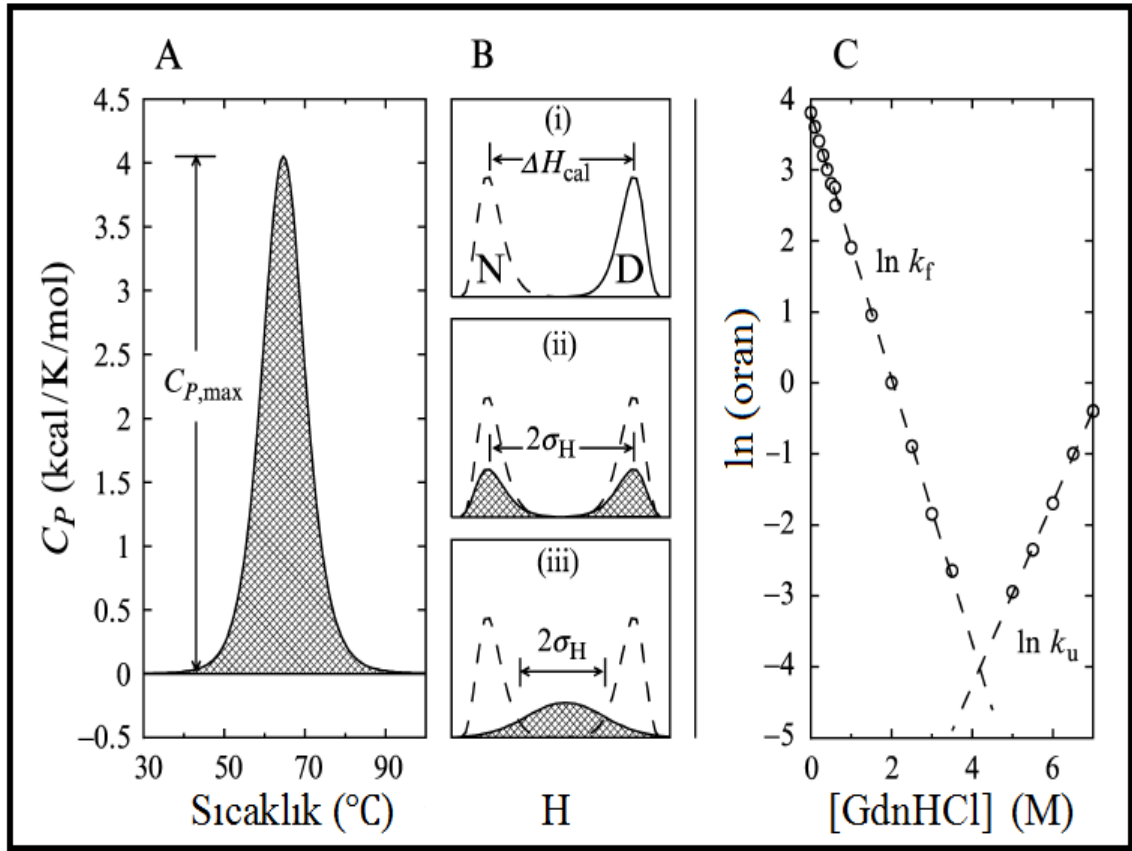
Yukarıdaki Van't Hoff entalpi formülünde  $\sigma_H$ ,  $T_{max}$  sıcaklığındaki entalpinin standart sapmasını ifade etmektedir.

$T_{max}$  değerinde katlı ve açık durumdaki entalpi değerleri birbirlerine eşit olacak ve her iki durum için entalpi dağılımları da bu sıcaklıkta simetrik olacaktır (Şekil 2.12 Bi) . Bu durumda kalorimetrik olarak iki durum davranışı elde edilerek,

$$\Delta H_{vH} / \Delta H_{cal} \cong 1$$

kriteri sağlanmış olmaktadır.

Şekil 2.12'de proteinlerin termodinamik ve kinetik kooperativitesi için deneysel kriterler gösterilmektedir. Şekil 2.12 A'da ısı kapasitesi eğrisi altında kalan alan kalorimetrik entalpiyi vermektedir (Jackson *et al.* 1993) . Şekil 2.12 Bi'de N ve D sırasıyla  $T_0$  ve  $T_1$  deki entalpi dağılımlarını ve  $\Delta H_{cal}$  ise bu iki durumun ortalama entalpileri arasındaki farkı göstermektedir. Zincir popülasyonu native durumda düşük entalpiye, açık durumda ise yüksek entalpiye sahiptir ( $\Delta H_{vH} = 2(\sigma_H)_{max}$  . i'de kalorimetrik iki durum davranışı sağlanırken iii'de sağlanmaz. Bunun nedeni de iii'de geçiş bölgesindeki ara durum konformasyonlarından dolayı termodinamik iki durum kriterinin 1' den küçük olmasıdır (Chan *et al.* 2004). Şekil 2.12 C'de logaritmik açılma ve katlanma oranlarının çözücü konsantrasyonu ile lineer değişiminin kinetik kooperativiteyi sağlaması (Jackson *et al.* 1993).



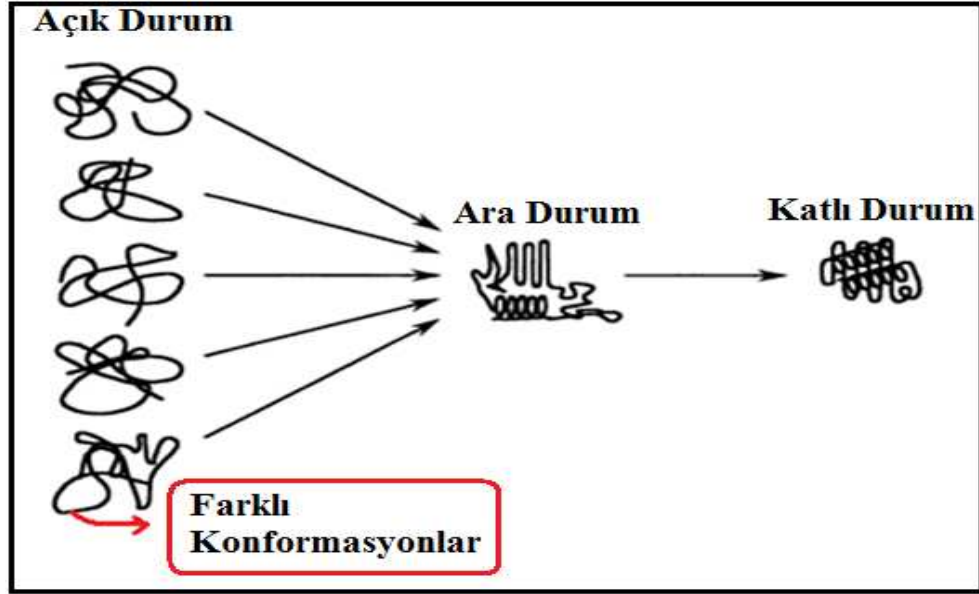
**Şekil 2.12.** Proteinlerin termodinamik ve kinetik kooperativitesi için deneysel kriterler (Jackson *et al.* 1993; Chan *et al.* 2004).

### 2.3. Protein Kinetiği

#### 2.3.1. Levinthal paradoksu

Levinthal paradoksu protein katlanmasındaki fiziksel problemlerden biridir. Proteinlerde farklı katlanma süreçleri ile aynı katlanmış yapıya ulaşılabilir. Renatürasyonun kendiliğinden gerçekleşen bir olay olması ve protein zincirlerinin kimyasal olarak sentezlendikten sonra doğru katlanması, native durumun termodinamik olarak en kararlı duruma karşılık geldiğini göstermektedir. Açık bir polipeptit zincirinin serbestlik derecesinin yüksek olması, bu zincirin çok sayıda konformasyona sahip olabileceğini göstermektedir (Şekil 2.13).

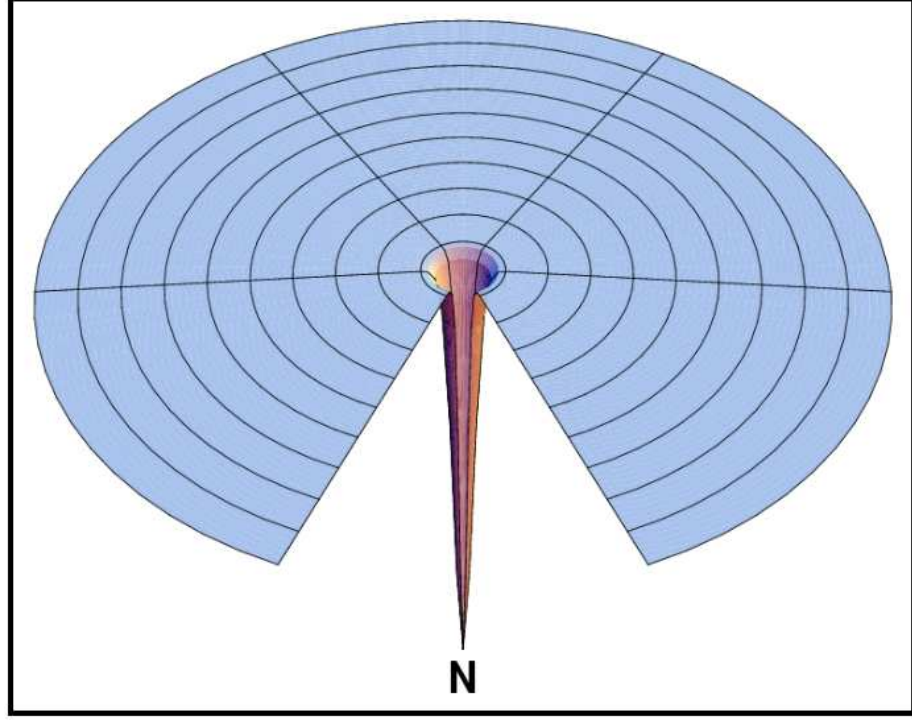




Şekil 2.13. Katlanma paradoksu (Nölting 2006).

Gerçekleşebilecek milyonlarca konformasyona sahip bir zincirin oluşturduğu proteinde, globüler yapıdaki 1 Å değerinde bir sapma bile zincirin enerjisini artıracığı için ancak en düşük enerjili konformasyona ulaşıldığı zaman doğru ve kararlı olan yapıya ulaşılacaktır (Finkelstein and Ptitsyn 2002). Bu durumda, en kararlı katlanmış yapının tahmininde zincirdeki tüm mümkün konformasyonların örneklenmesi ve proteinin doğru katlanmış yapıya (native yapı) ulaşma süresi için evrenin yaşından daha uzun bir süreye ihtiyaç duyulacaktır (Anonim 2009). Örneğin, 100 amino asit içeren bir protein zincirinde her bir amino asitin girebileceği 3 farklı konformasyon (uzatılmış, heliks, dönüş) olduğu göz önüne alındığı zaman, oluşabilecek tüm farklı konformasyonların sayısı  $3^{100}$  olur ki bu değer yaklaşık olarak  $10^{48}$  değerine karşılık gelmektedir. Bağ rotasyonları ise yaklaşık olarak  $10^{14} \text{ s}^{-1}$  'de tahmin edilebilir. Bu da sadece rastgele bir araştırma ile doğru katlanmış yapıya ulaşma zamanının  $10^{34}$  s ya da  $10^{26}$  yıl alacağı anlamına gelmektedir (Schwede 2005). Yani, eğer her bir konformasyonun örneklenmesi sadece 1ns alırsa bu konformasyonların tamamının örneklenmesi milyonlarca yıl alırdı. Her konformasyonun gerçekleşme olasılığı birbirlerine eşit kabul edildiğinde doğru katlanmış yapıya ulaşma süresi de  $\sim 10^{30}$  yıl olduğu için bu golf

sahası şeklinde ve sadece bir global minimuma sahip Levinthal Paradoksu ile temsil edilmektedir.



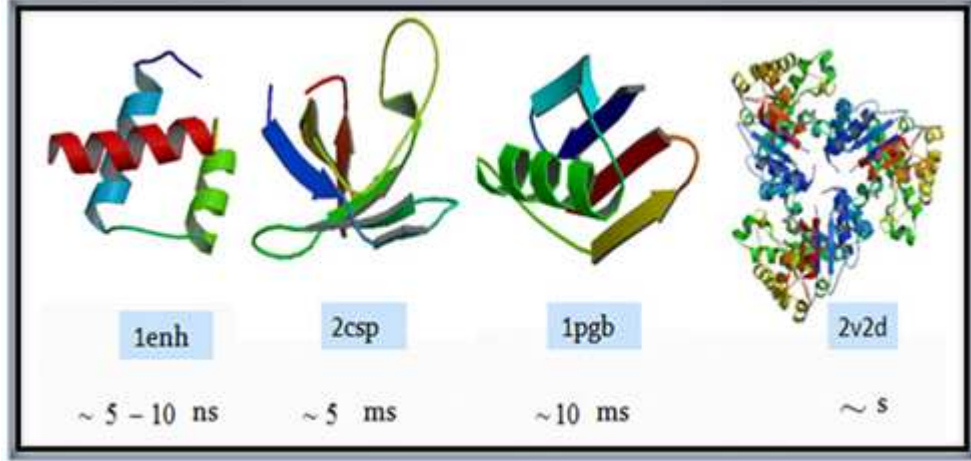
**Şekil 2.14.** Levinthal paradoksu (Dill and Chan 1997).

Şekil 2.14'de Levinthal paradoksu gösterilmektedir. Bu paradoks proteinlerin katlanmış yapısının rastgele bir araştırma ile bulunamayacağını anlatır. Her konformasyonun gerçekleşme olasılığı birbirlerine eşit ve doğru katlanmış yapıya ulaşma süresi de  $\sim 10^{30}$  yıl olduğu için golf sahası şeklinde ve pürüzsüz bir yüzeye sahiptir.

### 2.3.2. Proteinlerin kinetik spektrumu

Proteinlerde farklı zincir uzunlukları ve farklı protein aileleri düşünüldüğü zaman tamamıyla  $\alpha$  sarmallarını içeren protein aileleri için  $\sim 5 - 10 \text{ ns}$  ,  $\beta$  yapıdaki protein aileleri için  $\sim 5 \text{ ms}$  ,  $\alpha + \beta$  yapıdaki proteinler için  $\sim 10 \text{ ms}$  ve  $\alpha/\beta$  yapıdaki proteinler için ise yaklaşık olarak saniyeler içerisinde katlanma gerçekleşmektedir

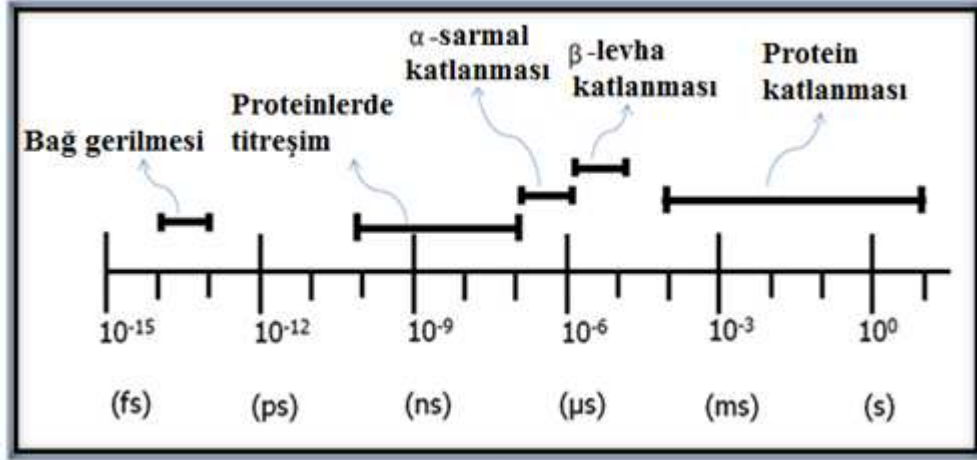
(Şekil 2.15).  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha + \beta$  ve  $\alpha/\beta$  protein ailelerinin sahip olduğu özellikler 2.1.3 kısmında anlatılmıştı.



**Şekil 2.15.**  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha + \beta$  ve  $\alpha/\beta$  protein ailelerine ait proteinler ve katlanma süreleri.

Proteinlerde bağ titreşimleri  $10^{-15}$  s, DNA eğilmesi  $10^{-12}$  s, dönüş (loop) hareketleri ( $10^{-9} - 10^{-6}$ ) s, bölge (domain) hareketleri  $10^{-6}$  s içerisinde gerçekleşmektedir. Özellikle pek çok küçük proteinin katlanması saniyeler içerisinde. hatta mili saniyenin altında ve çok hızlı gerçekleşmektedir.

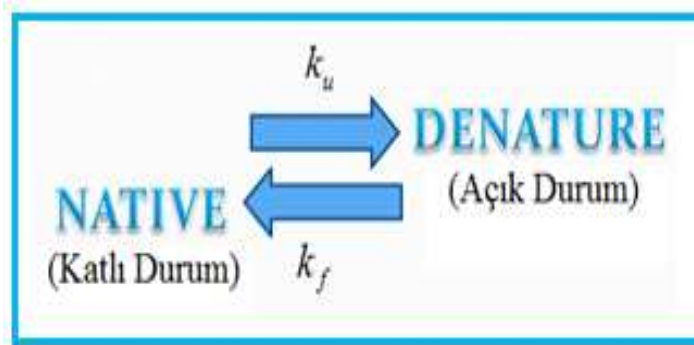
Şekil 2.16'da proteinleri hareketleri için zaman ölçekleri gösterilmektedir. Şekildeki çizelge üzerinde;  $10^{-13} - 10^{-14}$  s de bağlarda gerilme,  $10^{-7} - 10^{-10}$  s de proteinlerde titreşim,  $10^{-6} - 10^{-7}$  s de heliks yapıdaki  $\alpha$ - proteinleri için katlanma,  $10^{-5} - 10^{-6}$  s'de  $\beta$ - proteinleri için katlanma gerçekleşmektedir (Jiang 2006).



Şekil 2.16. Protein hareketleri için zaman ölçeği.

### 2.3.3. Deneysel yaklaşımlar

Küçük tek bölgeli proteinlerin tersinir açılma ve katlanma geçişleri için deneysel olarak çoğunlukla iki durum kinetiği gözlemlenmiştir. Katlanma oranı, açık durumdan 3-boyutlu native duruma proteinlerin ne kadar hızlı ya da yavaş katlandıklarının ölçüsüdür. Bu durumun tersi açılma oranı için de doğrudur. Açılma oranları  $k_u$ , katlanma oranları ise  $k_f$  ile gösterilmektedir.

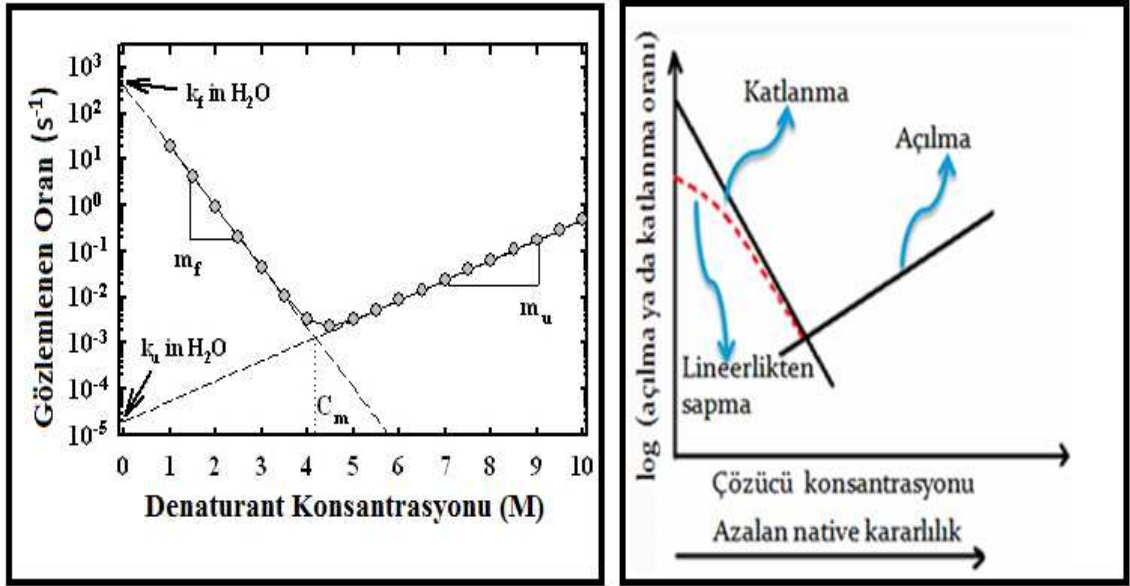


Katlanma ve açılma oranlarının logaritması ile çözücü konsantrasyonları arasında lineer bir ilişki olduğu bilinmektedir. Bu lineer davranış iki durum davranışı olarak tanımlanmaktadır. Yapılan bu analizlere ise “Chevron Plot” denilmektedir.

Chevron plot (Şekil 2.17), proteinlerin tersiyer yapılarını bozan farklı konsantrasyonlardaki çözücülerin (denaturant) varlığında protein katlanma ve açılma oranlarını gösterme şeklidir. Çizilen grafiklerin chevron plot olarak adlandırılmasının nedenine gelince, gözlemlenen relaksasyon oranının logaritmasının çözücü (denaturant) konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizildiğinde gözlemlenen V şekli ya da rütbe görünümünden kaynaklanmaktadır.

Düşük çözücü konsantrasyonlarında katlanma oranı baskın iken yüksek çözücü konsantrasyonlarında açılma oranı baskındır.

İki durumlu bir sistemde açılma ve katlanma oranları, denaturasyon ortasında çözücü konsantrasyonunun ( $C_m$ ) altında veya üzerinde gözlemlenen relaksasyon oranlarına baskındır.  $C_m$ , denge deneylerinden elde edilmektedir. İki durumlu proteinlerde denaturasyonun ortası, dengede hem açık hem de katlı durum popülasyonlarının eşit olması durumunda sıcaklık  $T_m$  ve denaturant konsantrasyonu  $C_m$  olarak tanımlanır. Katlı ve açık durumların eşit olduğu düşünülürse, her iki durum da orta noktada benzer serbest enerjiye sahip olacaktır. Ancak, doğal proteinler için durum böyle değildir. Aralarındaki farklılıklardan dolayı ısı kapasitelerinde de farklılıklar vardır. Katlı durum açık durumdan düşük bir ısı kapasitesine sahiptir. Denaturant orta noktasında katlı durumun serbest enerjisi açık durumdan daha düşüktür. Deneylerde çözücü olarak genellikle üre ve GdnHCl kullanılmaktadır.



**Şekil 2.17.** Deneysel şartlarda açılma ve katlanma oranlarının farklı çözücü konsantrasyonları ile lineer değişimi.

Grafikteki bu kollar için açılma ve katlanma kolları terminolojisi kullanılmaktadır. Açılma ve katlanma oranlarının logaritması iki durumlu proteinler için çözücü konsantrasyonu ile lineer olarak değişmektedir (Şekil 2.17). Eğimler  $m_f$  ve  $m_u$  ile gösterilir ve sırası ile katlanma ve açılma  $m$ -değerleri (kinetik  $m$ -değeri) olarak adlandırılırlar. İki oranın toplamı gözlemlenen relaksasyon oranıdır. Kinetik  $m$ -değerlerinin toplamı ve denge  $m$ -değerleri arasındaki uyum proteinlerdeki iki durum davranışının bir göstergesidir. Denatürasyon deneylerinin çoğu 298 K sıcaklıkta, ure ve guanidinium chloride (GuHCl) gibi denatürantlar kullanılarak yapılmaktadır. Denge relaksasyonu Flöresans ya da Dairesel Dichroism (CD) gibi yöntemler kullanılarak elde edilir. Elde edilen relaksasyon oranlarının çözücü (denaturant) konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak çizilmesi ile chevron kolları oluşur.

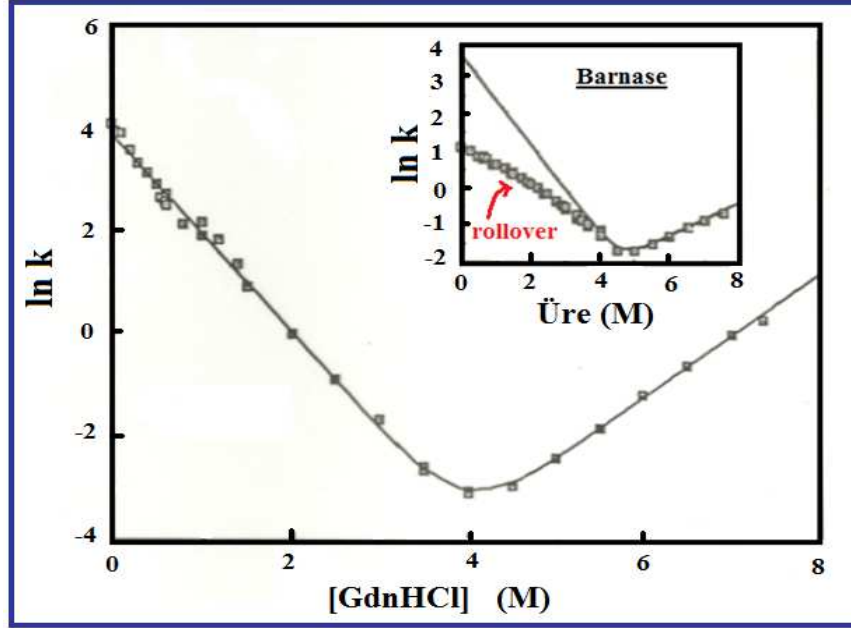
Chevron kollarının denaturant konsantrasyonu ile lineer olarak değiştiği düşünülmesine rağmen durum her zaman böyle değildir. Chevronların tek kolunda ya da her iki kolunda görülen bu lineer olmayan durumlar chevron rollover olarak adlandırılmaktadır. İki durumlu proteinlerde amino asit sayısı 120' den küçük, çok durumlu proteinlerde ise 120' den büyüktür. İki durumlu proteinler düşük yoğunluklu geçiş durum

konformasyonlarına sahip olup daha kısa sürelerde katlanırken, çok durumlu proteinler yüksek yoğunluklu geçiş durum konformasyonlarına sahip olup daha uzun sürelerde katlanmaktadırlar.

İki durum davranışı gösteren küçük proteinlerin iki durumlu kinetik davranışları, termodinamik davranışları ile uyumludur. Yani, termodinamik olarak hesaplanan açılma serbest enerjisi ( $\Delta G_u$ ) ile kinetik olarak ölçülen ya da ekstrapole edilen lineer katlanma ve açılma oranları ( $k_f, k_u$ );

$$\Delta G_u = kT \ln(k_f/k_u) \quad (2.10)$$

şeklinde ilişkilendirilmektedir. Ayrıca bu açılma serbest enerjisi çözücü konsantrasyonunun lineer bir fonksiyonudur (Lineer açılma ve katlanma oranlarının logaritmasının da çözücü konsantrasyonunun bir fonksiyonu olduğu Şekil 2.12C’de gösterilmiştir). Kinetik olarak iki durum davranışı gösteren her protein termodinamik olarak da iki durum davranışı göstermektedir (Chan *et al.* 2004). Ancak Şekil 2.18’de gösterildiği gibi kalorimetrik olarak iki durum davranışı göstermesine rağmen kinetik olarak iki durum davranışı göstermeyen barnase (PDB KODU: 1brs) gibi proteinler de vardır. Bu proteinin katlanma oranları çözücü konsantrasyonu ile lineer olarak değişmemektedir (Jackson and Fersht 1991).



**Şekil 2.18.** Barnase proteinin kinetik davranışı (Jackson and Fersht 1991).

Bir proteinin kinetik katlanma mekanizmalarını açıklamak, proteinlerin tüm katlanma yollarını karakterize edebilmek için önemlidir. İşte bu yüzden proteinlerin zamana bağlı (kinetik) davranışlarını incelemek amacı ile Flöresans, Tek molekül deneyi (Single Molecule Experiment), Nükleer Manyetik Rezonans (NMR), Dairesel Dichroizm (CD), Laser Spectroscopy ve Stopped Flow gibi deneysel yöntemler kullanılmaktadır.

### 2.3.4. Teorik yaklaşımlar

#### 2.3.4.a. Enerji yüzey (landscape) teorisi

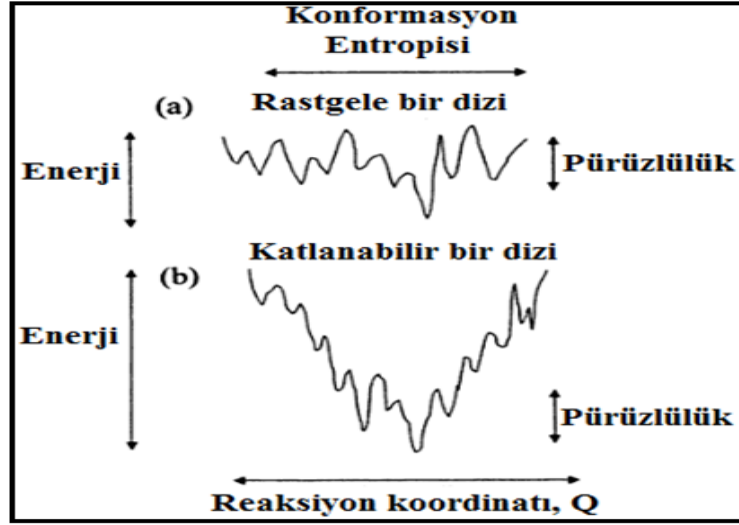
Proteinlerin katlanma süreçlerine katkıda bulunan etkileşimlerin teorik olarak gösterildiği yüzey, enerji yüzeyi olarak adlandırılır. Bir enerji yüzeyi molekülün tüm konformasyonlarını ve her birinin potansiyel enerjilerini gösteren ve konformasyon uzayı üzerinden tanımlanan çok boyutlu yüzeydir. Bir enerji yüzeyi içerisindeki vadiler kararlı ve düşük enerjili konformasyonları, tepeler ise kararsız ve yüksek enerjili konformasyonları göstermektedir. Teorik çalışmalarda, küçük moleküller potansiyel



enerji yüzeyi ile temsil edilebilirken, çok boyutlu proteinlerde sıcaklığa bağlı olan enerji yüzeyleri (serbest enerji yüzeyi) ön plana çıkarılmıştır. Bu durumda, uygun bir reaksiyon koordinatı ile böyle bir yüzey, mümkün olan enerjilerin Boltzman ağırlıklı ortalaması ile bulunabilir. Reaksiyon koordinatı, sistemin durumunu reaksiyon süresince en iyi tasvir eden parametredir. Böyle bir reaksiyon koordinatı reaksiyonun başından sonuna kadar olan tüm süreçleri içerir. Ancak, çok boyutlu enerji yüzeyi üzerinde birbirlerinden farklı oldukça fazla yolak vardır.

Protein katlanması, proteinlerin birincil yapısı olan amino asit dizileri ile belirlendiği için açık ve katlı durum arasındaki farklılıkların enerji yüzeyi üzerinde gösterilmesi gerekmektedir. Katlanmış yapıda olmayan kontaklardan dolayı pürüzlü bir yüzeye sahip olan katlanmış yapıdaki konformasyonlarının enerjisi, reaksiyon koordinatı olarak seçilen katlı durum (native) benzerlik parametresi (Q) ile değişmektedir. Yani açık yapıdan katlanmış yapıya giderken enerjide azalma ve entropide yerel minimumlardan dolayı artma meydana gelirken katlanmış yapı benzerlik parametresi 1'e yaklaşmaktadır. Enerji ve yapı arasındaki bu korelasyon, diğer konformasyonlara nazaran katlanmış yapı konformasyon eğiliminin daha yüksek olduğunu gösterir ve yüzeyin huni şeklini (funnel- like) almasına neden olur (Şekil 2.19b). Huni şeklindeki bu topoloji, yüzeyin pürüzlülüğünden çok daha büyük olan katlı (native) durum enerjisi ile karakterize edilir.

Açık yapıdan başlayan rastgele bir dizi göz önüne alındığında ise, enerji ve konformasyon arasında böyle bir korelasyon yoktur ve bu enerji yüzeyi pürüzlü olacaktır (Şekil 2.19a). Bu durumda enerji yüzeyindeki pürüzlülükten dolayı, dizi katlı (native) durumdan uzak olan düşük enerjili durumlarda muhtemelen tuzaklanır.



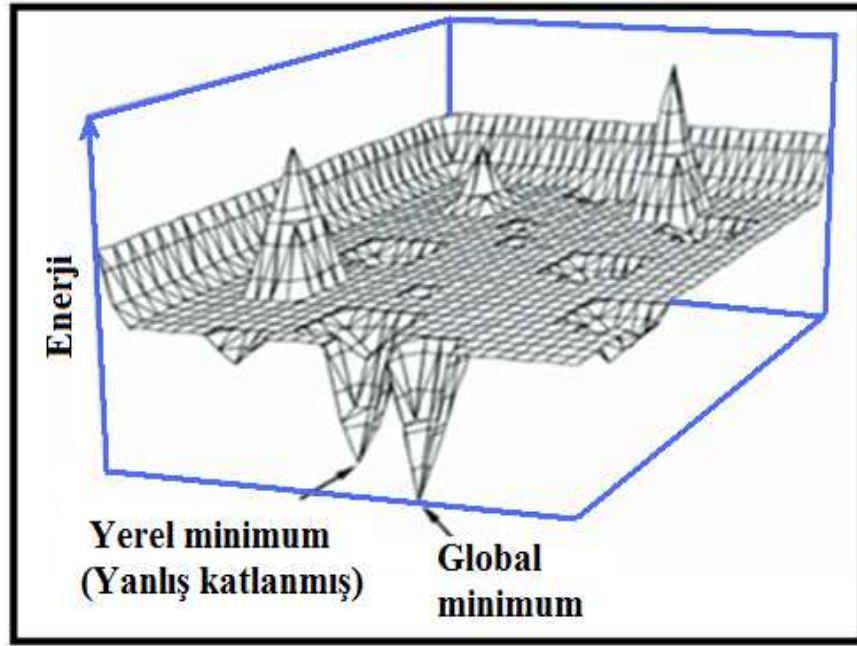
**Şekil 2.19.** Açık ve katlı durumdaki bir heteropolimerin enerji yüzeyi.

\*(a) Gelişigüzel açık bir heteropolimer için enerji yüzeyi (b) Katlı bir heteropolimer için enerji yüzeyi (Becker 2001).

Sıcaklık düştükçe proteinlerin kararlılığı artmaktadır. Bu yüzden sonlu bir sistem olan proteinlerde katlanma ya da geçiş sıcaklığının ( $T_f$ ) belirlenmesi gerekmektedir. Enerji yüzeyinin pürüzlülüğünden kaynaklanan ve kinetiklerin katlı durum ile değil katlı olmayan tuzaklarla kontrol edildiği geçiş sıcaklığından daha düşük sıcaklık değerleri vardır. Bu sıcaklık camlardaki geçiş sıcaklığına benzer olduğu için camsı geçiş sıcaklığı olarak adlandırılır ve  $T_g$  ile gösterilir. Bir protein zincirinin katlanması için, katlanma sıcaklığının camsı sıcaklıktan daha büyük olması gerekir ( $T_f > T_g$ ). Proteinlerin katlanma süreçlerinde bu pürüzlü yüzeylerin rolü kaçınılmaz bir gerçektir. Bu bakımdan enerji yüzey teorisi protein katlanmasının termodinamik ve kinetik karmaşıklığı için çözüm sunmaktadır. Kinetik olarak, native durum etrafındaki büyük bunalımların olması ya da hunide native yapıya doğru bir akışın meydana gelmesi enerji yüzeyinde katlanma eğiliminin olduğunu göstermektedir. Katlı durum konformasyonları, yapı kararlılığı ve yüzeyin pürüzlülüğü arasındaki etkileşimler katlanma sürecinin sıcaklığa bağlılığını güçlendirmektedir (Becker 2001).

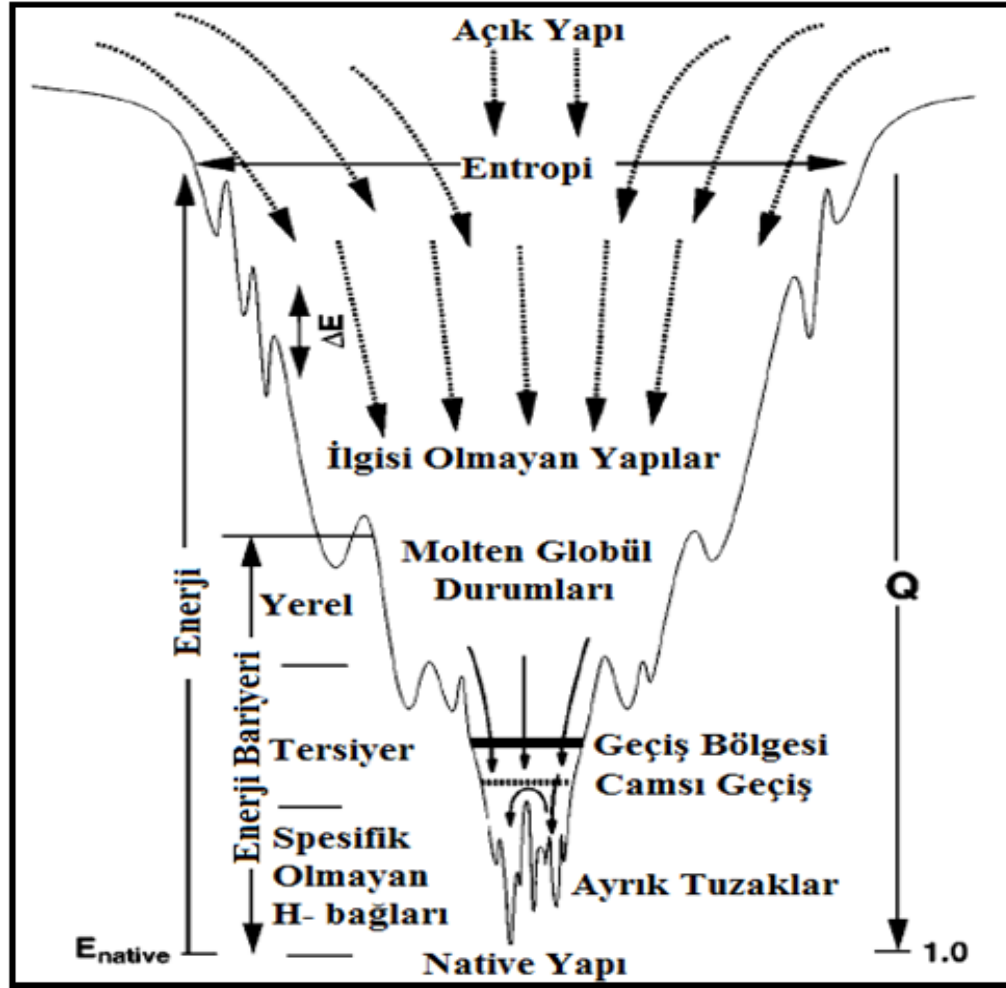
Bilindiği gibi enerji yüzeyi üzerinde katlanmış ya da açık durum popülasyonları bulunmaktadır. Aynı zamanda bu yüzeyde minimumlar arasında aşılması gereken enerji

bariyerleri düşük olup yanlış geometriye sahip (tuzak konformasyonlar) yerel minimumlar da bulunmaktadır (Şekil 2.20). Sadece birkaç tane minimuma sahip olan küçük sistemler için tüm yerel minimumların belirlenerek potansiyel enerji yüzeyinin tasvir edilmesi durumunda bu yaklaşım uygun bir yaklaşım olmasına rağmen, çok sayıda yerel minimum ile tasvir edilen ve serbestlik derecesinin fazla olduğu sistemler için ise uygun bir yaklaşım değildir.



**Şekil 2.20.** Bir proteinin 3 boyutlu enerji yüzeyi, yerel ve global minimumları (Nölting 2006).

Büyük sistemlerin çok sayıda minimuma sahip enerji yüzeylerini açıklamak için Stillinger ve Weber tarafından yapılan bir araştırma ile suyun enerji yüzeyi incelendi ve enerji yüzeyinde yerel minimumlar gözlemlendi (Stillinger and Weber 1984). Daha sonra bu çalışma gaz (Berry 1993), miyogloblin (Elber and Karplus 1987) ve bovine pancreatic trypsin inhibitor (BPTI) (Noguti and Go 1989) gibi proteinler için de uygulandı. Bu protein çalışmaları ile proteinin native durumu civarında çok sayıda yerel minimumun olduğunu gösterildi.



Şekil 2.21. Protein Katlanma Yüzeysel Modeli (Onuchic *et al.* 1997).

Şekil 2.21’de katlı (native) duruma doğru bir akışın olduğu küçük bir proteinin huni şeklindeki pürüzlü bir katlanma enerji yüzeyi görülmektedir. Proteinlerdeki omurga (backbone) ve kenar zincirlerinin pekçok farklı oryantasyonundan kaynaklanan çok sayıdaki açık konformasyonlardan dolayı huninin üst kısımlarında enerji ve entropide (konformasyon sayısında) artış gerçekleşmektedir. Enerji yüzeyi pürüzlü olduğu için molten globül olarak adlandırılan birçok ara durumdan geçilerek tuzak konformasyonlara ulaşılabilir ya da yanlış katlanma gerçekleşebilir. Bilgisayar simülasyonları katlanma reaksiyonunda çok sayıda zayıf native olmayan kondağın olduğunu ortaya koydu. Geçiş durum bariyeri entropik olarak oluşan bir boğazından dolayı artar. Camsı geçişten sonra yanlış katlanma meydana gelebilir, yani protein

molekülleri çok düşük oranda derin enerji vadilerinden kaynaklanan konformasyonlara tuzaklanabilir. Katlanmanın kolay gerçekleştiği dizilerde tamamen katlanmış durumun enerjisi huni şeklindeki bir yüzeyin pürüzlülüğünden daha büyük olan bir enerji yüzeyine sahiptir. Huninin alt kısımlarına doğru enerji ve entropideki düşüş ile birlikte native yapıya ulaşılmaktadır. Proteinlerin native yapısı moleküllerinin biyolojik olarak aktif ve tamamen katlı oldukları bir durumu ifade eder.  $Q$  native benzerlik parametresi,  $\Delta E$  enerjideki değişimini göstermektedir (Nölting 2006).

#### 2.3.4.b. Katlanma / açılma oranlarının dağılımı

Aynı fizyolojik şartlarda elde edilen açılma ve katlanma sürelerinin tek exponansiyelli olması, ortalama ilk geçiş süresi (OİGS)' nin tersinin katlanma oranı olarak kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. Katlanma oranı, açık yapıdan katlanmış yapıya ulaşma süresinin ortalamasının tersine eşittir. Açılma oranı ise katlanmış yapıdan açık yapıya ulaşma süresinin ortalamasının tersine eşittir.

$$\langle t_f \rangle = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N t_f^i \quad (2.11)$$

$$k_f = \frac{1}{\langle t_f \rangle} = \frac{1}{OİGS} \quad (2.12)$$

$$k_u = \frac{1}{\langle t_u \rangle} = \frac{1}{OİGS} \quad (2.13)$$

Yukarıdaki formüllerde  $N$  trajektori sayısını,  $t_f^i$  i. trajektorinin katlanma süresini,  $t_u^i$  i. trajektorinin açılma süresini,  $\langle t_f \rangle$  ortalama katlanma süresini;  $\langle t_u \rangle$  ortalama açılma süresini,  $k_f$  katlanma oranını,  $k_u$  ise açılma oranını temsil etmektedir (Kaya and Chan 2003).

Deneysel olarak iki durumlu 2ci2 gibi küçük tek bölgeli proteinlerin ve kinetik olarak lineerlikten sapan (chevron rollover lara sahip) iki durumlu olmayan proteinlerin kinetik relaksasyonunun tek eksponansiyelli olduğu bulunmuştur. Katlanma ve açılma sürelerinin tek eksponansiyelli bir dağılıma sahip olması da kinetik kooperativite için önemlidir. Eğer relaksasyon tek eksponansiyelli ise;

$$\int_{t_0}^{t_1} dt' P(t') = 1 - \exp(-k(t - t_0)) \quad (2.14)$$

$dt'$  gibi küçük bir zaman aralığı civarında,  $t'$  zamanında bulunma ihtimali  $P(t')dt'$  ile verilmektedir. (2.14) eşitliğinde  $k$ , kinetik orandır.  $t_0 = 0$  durumunda kinetik sürecin başlamasından sonra ihtiyaç duyulan sonlu bir zaman olarak düşünülen ilk geçiş (İGS) süresi,  $t_0 \geq 0$  durumunda minimumdur.

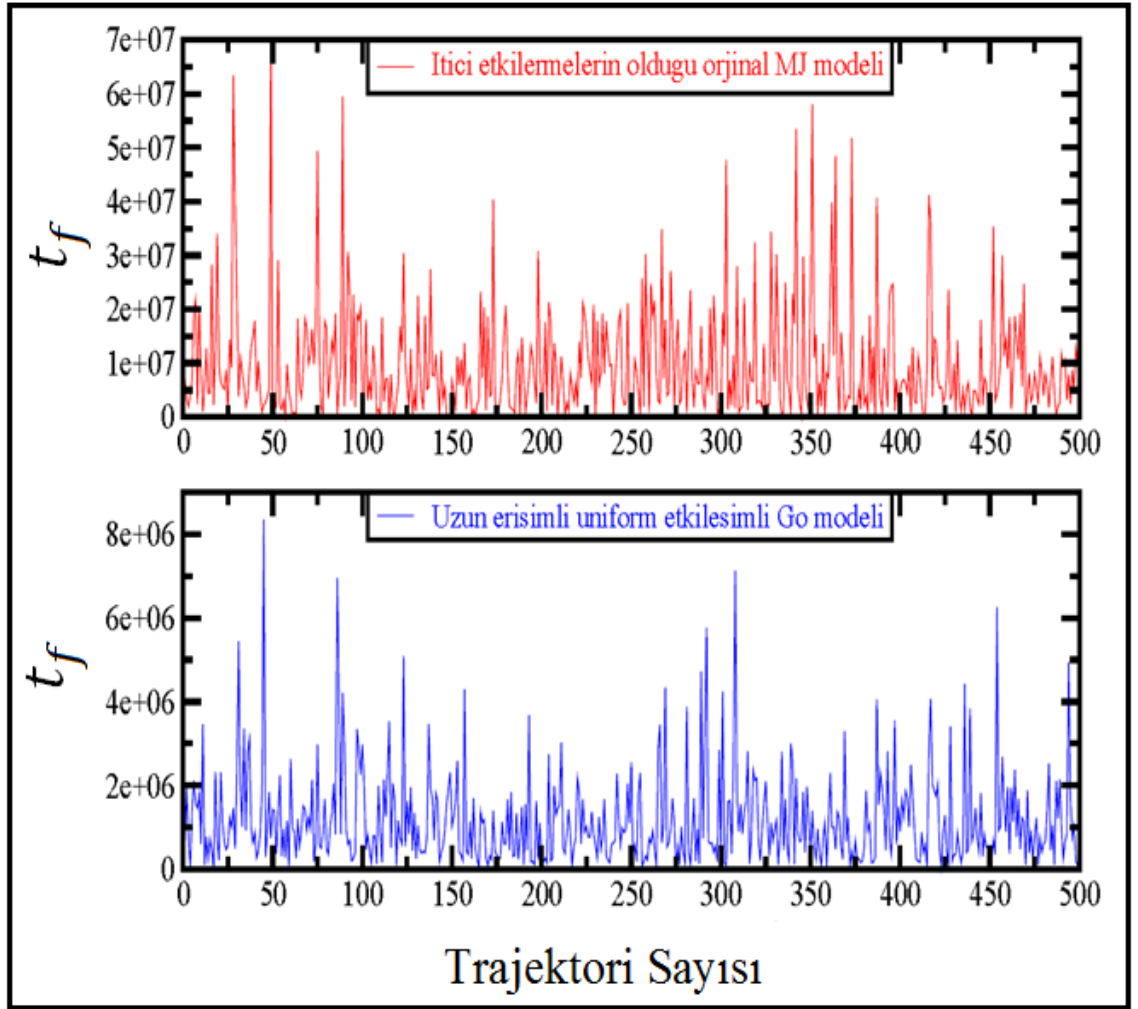
$$OİGS = \int_{t_0}^t dt' t' P(t') = t_0 + 1/k \quad (2.15)$$

$$\ln[P(t)\Delta t] = \left\{ \ln\left(\frac{\Delta t}{OİGS - t_0}\right) + \frac{t_0}{OİGS - t_0} \right\} - \frac{t}{OİGS - t_0} \quad (2.16)$$

$$t - \Delta t/2 < İGS < t + \Delta t/2 \quad (2.17)$$

İlk geçiş süresi (İGS) ile belirlenen katlanma kinetikleri tek eksponansiyelli bir dağılıma sahiptir. Kaya and Chan (2003) çalışmalarında katlanma oranını, ortalama ilk geçiş süresinin tersi olarak ele almışlardır ( $k_f = 1/OİGS$ ). Herbir OİGS, 500 trajektori üzerinden ortalama alınarak bulunmuştur. Ortalama ilk geçiş süresi (OİGS), ilk geçiş süresinin (İGS) medyanının  $\ln 2$  ile bölümü olarak yazılabildiği için, yine tek eksponansiyelli bir dağılım elde etmişlerdir (OİGS= medyan İGS/  $\ln 2$ ) (Kaya and Chan 2003).

Katlanma süreleri ya farklı açık konformasyonlar kullanılarak ya da aynı açık zincir için farklı tohum sayıları kullanılarak hesaplanabilmektedir. Biz çalışmamızda katlanma sürelerini 500 trajektori üzerinden ortalama olarak hesapladık. Ayrıca açık konformasyondan başlayarak native kontakların %90'ı olduğu zaman katlanmış konformasyona ulaşıldığı varsayımını kullandık. Şekil 2.22'de 500 trajektori üzerinden elde edilen kinetik verisi ile trajektori sayısına karşı katlanma sürelerinin farklı iki model için dağılımı gösterilmektedir.



**Şekil 2.22.** 500 trajektori üzerinden elde edilen kinetik verisi ile trajektori sayısına karşı katlanma sürelerinin farklı iki model için dağılımı (Modeller kısmında detaylıca yer verilecektir).

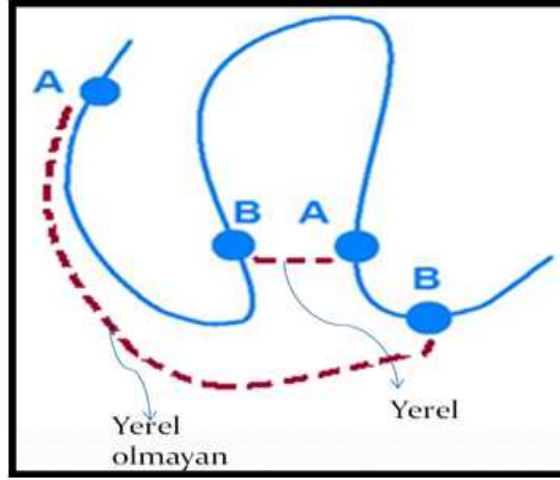
## 2.4. Protein Topolojisi ve Kinetiği Arasındaki İlişki

### 2.4.1. Yerel ve yerel olmayan etkileşimler

Protein katlanması ve kararlılığının anlaşılması, proteinlerin kendilerine has spesifik özellikleri ve mekanizmalarını çözmek açısından gereklidir. Bu mekanizmaların anlaşılmasında serbest enerji bariyerinin yüksekliği ile açık ve katlı durumların serbest enerji minimumları arasındaki farkların (bariyer genişliği) önemli olduğu düşünülmektedir. Bu bariyerin oluşumunda da birbirlerine kovalent bağlarla bağlı olan amino asitler arasındaki native etkileşimler ile birbirlerine kovalent bağlarla bağlı olmayan amino asitler arasındaki native olmayan etkileşimler önem taşımaktadır. Proteinlerde etkileşimler, etkileşen amino asitler arasında dizi mesafesine göre yerel (local) ve yerel olmayan (non- local) etkileşimler olmak üzere iki çeşittir. Bunlar geometrik olarak önemli ölçüde birbirlerinden farklıdırlar. Yerel etkileşimler ikincil (sekonder) yapıları belirlemede, yerel olmayan etkileşimler ise üçüncül (tersiyer) yapıları belirlemede oldukça önemlidirler. Yine yerel etkileşimler serbest enerji bariyerinin düşmesine neden olurken, yerel olmayan etkileşimler bu bariyerin yüksekliğini artırmaktadır. Her iki etkileşim çeşiti de amino asit dizisine ya da amino asitlerin kimyasal yapısına bağlıdır. Bu bakımdan yerel ve yerel olmayan etkileşimlerin spesifik olarak etkilerinin ne olduğunun bilinmesi gerekir (Anonim 2009).

Yerel etkileşimlerin protein kararlılığının ve belirli 3- boyutlu yapısının devamı için etkisinin daha fazla olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, yerel etkileşimler katlanma sürecinin konformasyonel olarak araştırılmasında önemlidirler. Bu görüş çok kısa protein parçalarının sulu çözeltilerde katlanmış (native) yapıya benzer ikincil yapı oluşturabileceklerinin bulunmasıyla doğrulanmıştır. Bazı latis simülasyonları ile proteinlerin tıkHzlığının bir sonucu olarak ikincil yapıların oluştuğu ve native durumun kararlılığı için yerel etkileşimlerin katlanma hızına katkı sağladığı bulunmuştur.





**Şekil 2.23.** Amino asit zinciri üzerinde yerel ve yerel olmayan etkileşimler.

Şekil 2.23’de gösterdiği gibi yerel (local) etkileşimler bir amino asit zinciri üzerinde birbirlerine yakın olan komşu amino asitler arasındaki etkileşimler olarak, yerel olmayan (non local) etkileşimler ise bir amino asit zinciri üzerinde birbirlerine uzak olan amino asitler arasındaki etkileşimler olarak tanımlanmaktadır (Knott *et al.* 2004).

Proteinlerin yapı ve kararlılığı için yerel ve yerel olmayan etkileşimlerin oldukça önemli olduğu, ancak yerel konformasyonların tek başlarına kararlı ikincil yapıların oluşması için yeterli olmadığı düşünülmektedir (Kaya and Chan 2003). Irbäck *et al.* (1997) çalışmalarında protein katlanması için 3 boyutlu off-lattice modelini kullanarak proteinlerin termodinamik davranışlarını incelediler. Bu model için hidrofobik ve hidrofilik olmak üzere iki çeşit amino asit kullandılar. Yerel etkileşmelerin olmadığı durumda düşünülen sıcaklıklarda native yapı oluşumunun gerçekleşmediğini ve yerel etkileşimler dikkate alındığında ise pekçok protein dizisi için native duruma ulaşıldığı gözlemlendiler. Mesela,  $\alpha$  –sarmal yapılarında ve proteinlerin dönüş (turn) kısımlarında çoğunlukla yerel etkileşmeler bulunmaktadır. 6 amino asit mesafesinden daha kısa mesafelerde birbirlerine yakın amino asitler arasında yerel etkileşimlerin olduğu ve yerel olmayan etkileşimlerin de yerel yapıları kararlı kılan birbirlerinden uzak atomlar arasındaki etkileşimler olduğu düşünülmektedir (Tsigelny 2002).

## 2.4.2. Topolojik parametreler

### 2.4.2.a. Etkileşim düzen parametresi

Bir proteinin açık durumdan (denatured) katlanmış (native) duruma nasıl ulaştığı ve bir protein dizisinden 3-boyutlu native yapısının tahmini konuları yapısal biyolojideki karmaşık problemler arasındadır. 110 tane amino asitten daha az sayıda amino asit içeren küçük tek bölgeli proteinler iki durumlu davranış göstermeleri bakımından deneysel ve teorik olarak proteinlerin kinetik davranışlarının incelenmesinde kullanılmaktadırlar. Böyle özelliklere sahip proteinler kullanılarak yapılan gerek deneysel gerekse teorik çalışmalarda katlanma sürecinde topolojiyi belirleyen parametreler arasında etkileşim düzen parametresinin rolünün göz ardı edilemeyeceği bulunmuştur (Mi *et al.* 2006). Yine teorik çalışmalar amino asit zincir uzunluğu, kararlılık ve topoloji arasında bir ilişki olduğunu ortaya koymuştur (Fersht 1999; Faisca and Ball 2002). Yerel ve yerel olmayan etkileşimler dikkatle incelendiğinde bir amino asit dizisindeki yerel kontakların katlanmayı hızlandırdığı bulunmuştur. Bu durum da proteinlerin katlanma kinetikleri ve native durum topolojisi arasında önemli bir ilişkinin varlığına işaret eder. Native yapı topolojisi de etkileşim düzen parametresi ile verilmektedir (Plaxco *et al.* 1998).

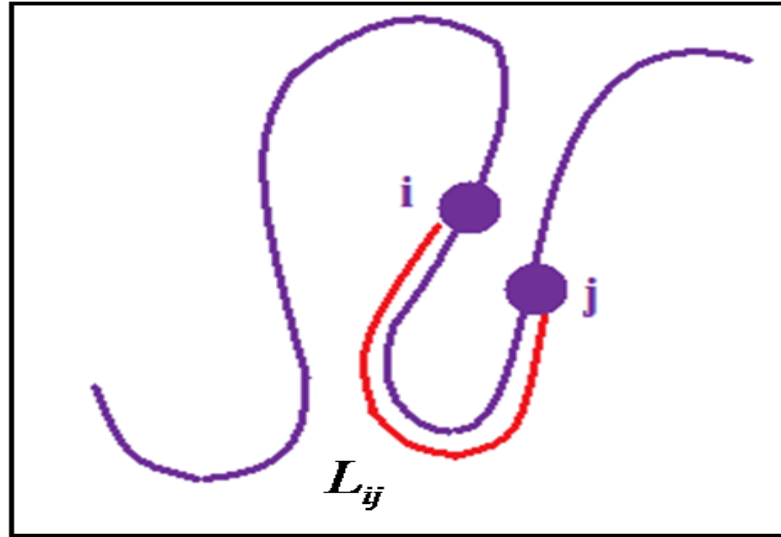
Etkileşim düzen parametresi (EDP), bir amino asit zinciri üzerinde birbirleriyle bağımsız olarak etkileşen amino asitler arasındaki mesafelerin farkları toplamının toplam native kontak sayısına oranlanması ile hesaplanmaktadır.

$$EDP = \frac{1}{N} \sum_{i,j}^N \Delta_{ij} L_{ij} \quad (2.18)$$

$$L_{ij} = |i - j|$$

Yukarıdaki formülde,  $N$  native kontak sayısı,  $L_{ij}$   $i$ . ve  $j$ . amino asitler arasındaki kontak mesafesi ve  $\Delta_{ij}$  ise amino asitler arasında etkileşim olup olmadığını gösteren bir sabittir. Eğer iki amino asit native yapıda birbirleri ile etkileşiyorsa  $\Delta_{ij} = 1$ , etkileşmiyorsa  $\Delta_{ij} = 0$  değerini almaktadır (Faisca and Ball 2002).

Şekil 2.24'de  $i$  ve  $j$  amino asitleri ve bu amino asitler arasındaki kontak mesafesi gösterilmektedir.



**Şekil 2.24.** Zincir üzerinde etkileşen  $i$  ve  $j$  amino asitleri ile bu amino asitler arasındaki native etkileşim parametresi.

#### 2.4.2.b. Relatif etkileşim düzen parametresi

Relatif etkileşim düzen parametresi  $REDP$ , etkileşim düzen parametresinin amino asit sayısı ile normalize edilmesi ile ifade edilmektedir. (2.19) eşitliğinde kullanılan  $L$ , amino asit sayısıdır.

$$REDP = \frac{1}{LN} \sum_{i,j}^N \Delta_{ij} L_{ij} \quad (2.19)$$

Protein dizisinde birbirlerine uzak olan atomların etkileşimi arttıkça relatif etkileşim düzen parametresi de artmaktadır. Protein katlanma oranları ile *REDP* arasında hem pozitif hem de negatif korelasyon olduğu bulunmuştur. Bu durumda proteinlerin katlanma oranları ve *REDP* arasındaki korelasyonlar, katlanma geçiş durumu ve katlanma özelliklerinin tahmin edilmesi açısından önemlidir (Shi *et al.* 2008).

#### 2.4.2.c. Uzun erişimli etkileşim parametresi

İki amino asit arasındaki mesafe artırılıp, daha uzun mesafede etkileştikleri düşünülerek uzun erişimli etkileşim parametresi *UEEP* aşağıdaki gibi ifade edilmektedir.

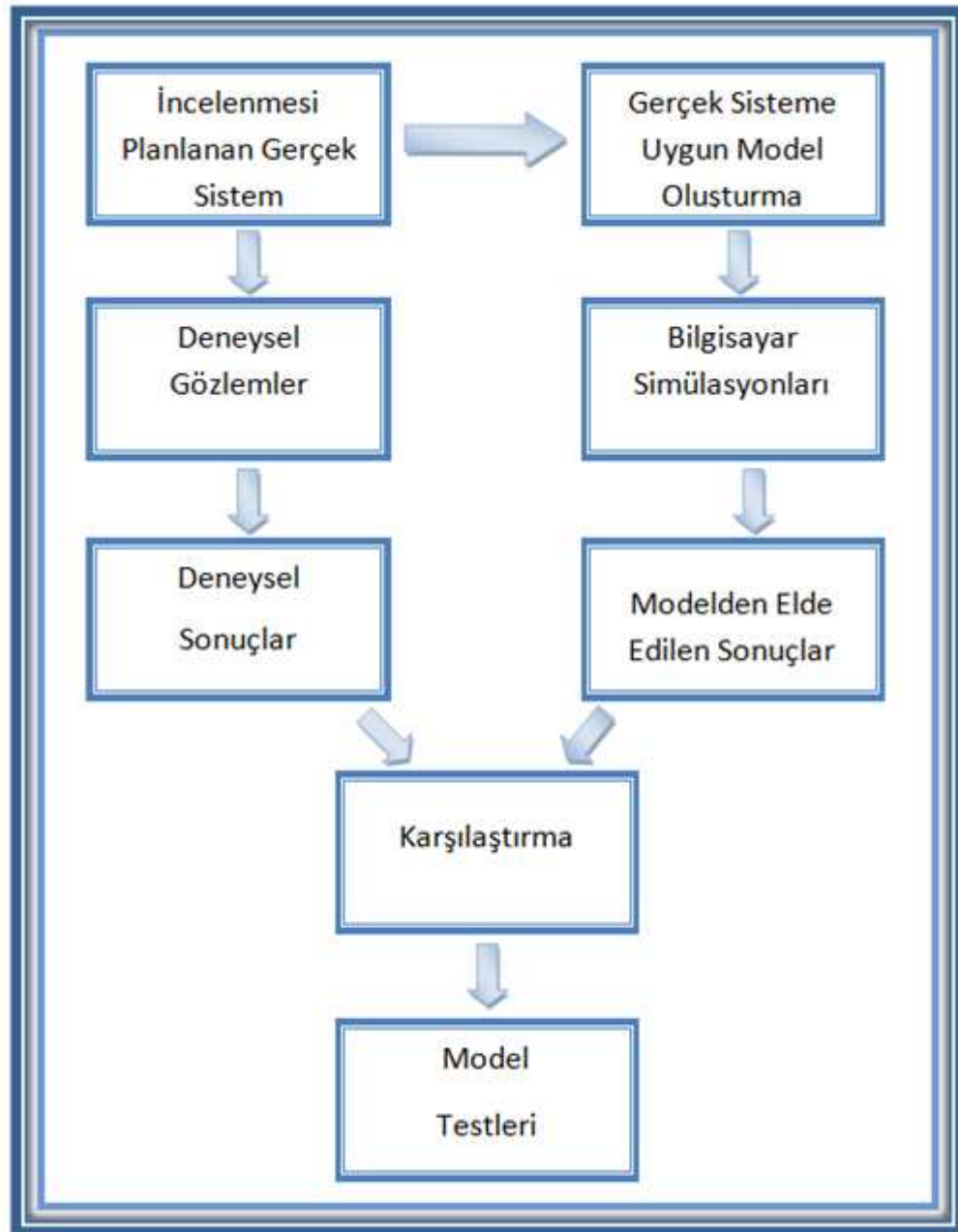
$$UEEP = \frac{1}{N} \sum_{i < j - l_c} n_{ij} \quad (2.20)$$

Yukarıdaki formülde  $N$  amino asit sayısı,  $l_c$   $i$  ve  $j$  amino asitleri arasındaki mesafe,  $n_{ij}$   $i$  ve  $j$  amino asitleri arasında etkileşim gerçekleştiğinde bu etkileşimlerin sayısıdır. Amino asitler etkileştiğinde  $n_{ij} = 1$ , etkileşmediklerinde ise  $n_{ij} = 0$  olmaktadır (Ferguson *et al.* 2009).

### 2.5. Simülasyon Yöntemleri

Simülasyon, gerçek ya da teorik olarak düşünülen bir sistemin belli bir zaman içerisindeki davranışının belirlenmesi veya bu sistemi etkileyen faktörlerin neler olduğunun anlaşılması bakımından uygun olan modellerin dizayn edilmesi işlemidir. Her ne kadar sürekli olarak yeni teknik ve yöntemlerin geliştirilse de, problemlerin doğasındaki karmaşıklıktan dolayı geliştirilen bu analitik çözümler yeterli olmamaktadır. Bu yüzden simülasyonlarda nümerik olarak bir model geliştirmek ve bu modelin karakteristiklerini doğru bir şekilde tahmin etmek için kullanılacak verilerin toplanması işleminde bilgisayarlardan faydalanılmaktadır. Simülasyon modelleri kullanılarak karmaşık ve analitik yöntemlerle çözülemeyen problemlerin modellenmesi

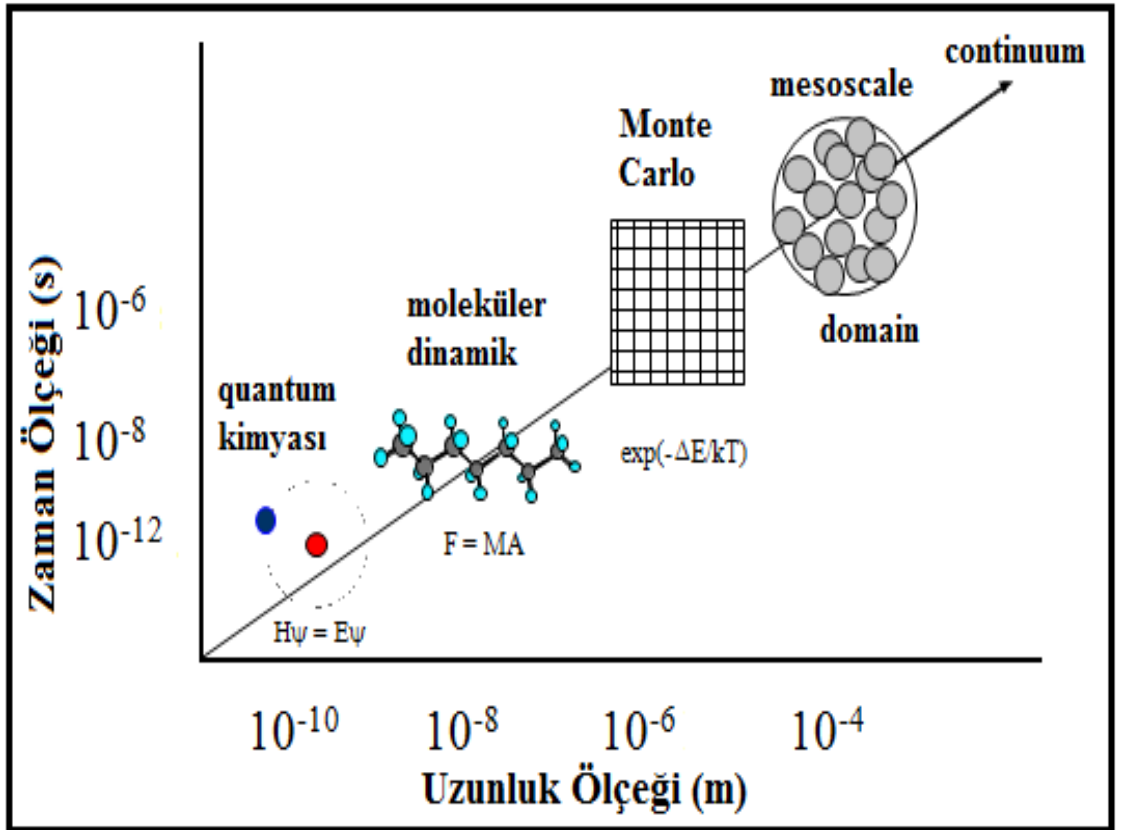
ve oluşturulan sistemlerin davranışlarını kontrol eden mekanizmaların anlaşılması sağlanmaktadır. Bilgisayar simülasyonları var olan teorilerle test edilebilmekte ve sonuçları deneysel sonuçlarla karşılaştırılabilmektedir. Simülasyonlar, deneysel sonuçlar ve teorik tahminler arasında da bir köprü görevi görmektedir. Şekil 2.25’de deney, teori ve bilgisayar simülasyonları arasındaki ilişki gösterilmektedir.



Şekil 2.25. Deney, teori ve bilgisayar simülasyonları arasındaki ilişki.

Bilgisayar simülasyonları ile bir sistemin mikroskopik ölçekteki davranış ve özelliklerinden (atomların kütleleri, atomlar arasındaki etkileşimler, moleküler geometri vs.) sistemin tümünü temsil eden makroskopik özelliklerine (kinetik enerji, potansiyel enerji vs.) birçok durumun anlaşılması sağlanmaktadır. Diğer taraftan yüksek sıcaklık ve basınç altında deneyleri gerçekleştirmek zor ya da imkansız olmasına rağmen, simülasyonlar ile bunu gerçekleştirmek mümkün olabilmektedir.

Simülasyonlar gerçekleştirilirken ilgilenilen sistem ve probleme göre; Enerji Minimizasyonu (EM), Moleküler Dinamik (MD), Langevin dinamikleri (LD), Brownian dinamikleri (BD) ve Monte Carlo (MC) gibi simülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Bu metodlarda klasik ve kuantum mekaniği ile istatistik mekanik metodlar uygulanmaktadır. Simülasyonlardaki uzunluk ve zaman ölçekleri Şekil 2.26'de verilmektedir.

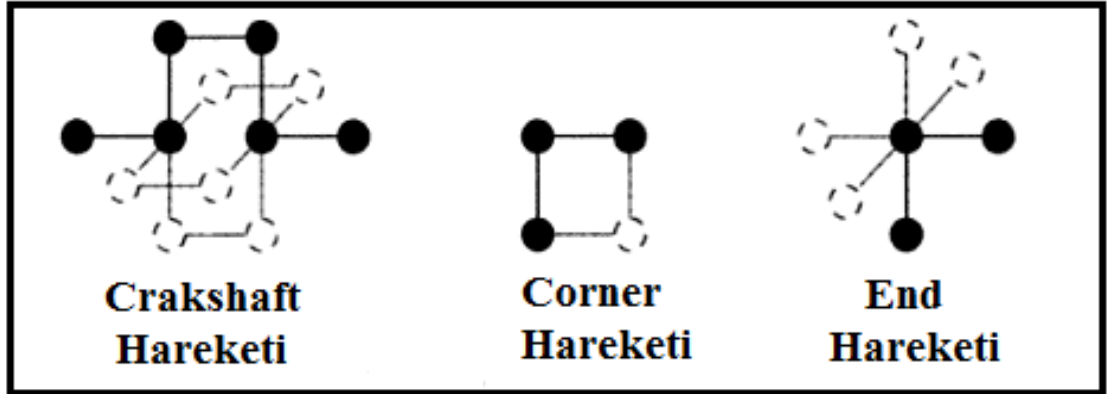


Şekil 2.26. Simülasyonlarda zaman ölçekleri (Smith 1999).

### 2.5.1. Monte Carlo simülasyon tekniği

Stokastik bir yaklaşım olan MC, istatistiksel ve matematiksel yöntemleri kullanarak bir deneyi veya çözülmesi gereken bir fiziksel olayı simüle edip istenen parametrelerin bu simülasyon sonuçlarından yararlanılarak yaklaşık olarak hesaplanması fikrine dayanmaktadır.

MC metodunda sayısal olarak bir deneyi veya olayı simüle etmek için 0-1 arasında değerler alan rastgele sayılar kullanılmaktadır. Bu sayılar bir bilgisayar programı ile de türetilir. Çok zor olan bir problemi analitik yollarla çözebilmek için aşırı basitleştirmek yerine, MC metodu kullanarak yaklaşık olarak çözmek daha doğru bir yaklaşım olacaktır. Bu metod kare ve kübik latis modellerinde kullanıldığı zaman hareket setleri belli olasılıklarla gerçekleşir. Bu hareket setleri Şekil 2.27'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.27.** Kare ve kübik latis modellerinde katlanma dinamikleri için kullanılan hareket setleri (Dillon 2006).

Crankshaft hareketi 4 nokta ve 3 bağın hareketi sonucu %65 olasılıkla gerçekleşirken. corner hareketi 3 nokta ve 2 bağın hareketi sonucu %25 olasılıkla ve end hareketi de iki uç nokta ve aralarındaki bir bağın hareketi sonucu %10 olasılıkla gerçekleşmektedir.

Monte Carlo simülasyonları yapılırken Metropolis algoritmasından faydalanılmaktadır. Bu algoritma için gerekli olan adımlar aşağıda sıralanmaktadır.

1. Rastgele bir şekilde açık bir konformasyon oluşturulur.
2. Rastgele bir şekilde bir atom ve hareket seti seçilir.
3. Yer değiştirmeye bağlı olarak konformasyonun potansiyel enerjideki değişimi hesaplanır.

$$\Delta E = E^{yeni} - E^{eski}$$

4. Eğer  $\Delta E < 0$  ise, yeni koordinatlar kabul edilerek 2. adıma dönülür.
5. Eğer  $\Delta E \geq 0$  ise, [0,1] aralığında rastgele bir sayı (R) seçilir ve ;
  - a) Eğer  $e^{-\Delta E/k_B T} < R$  ise kabul edilerek 2. adıma dönülür.
  - b) Eğer  $e^{-\Delta E/k_B T} \geq R$  ise reddedilerek 2. adıma dönülür.

Gerçeğe yakın modellerde korunumlu kuvvetlerden dolayı,  $\psi$ ,  $\phi$  ve  $\omega$  açlarına bağlı olarak dönme, simülasyon süresince hep aynı düzlem üzerinde gerçekleşmektedir. Bu yüzden birbirlerine kovalent bağla bağlı atomlar için süreksiz bir ortamda hareket setlerinin belirlenmesi güçtür. Hareket setlerinin simülasyon başlangıcında simülatör tarafından belirlenmesi oldukça zordur ve zamana bağlı nicelikleri içermediği için sistemin dinamik özellikleri hakkında tam bilgi edinilemez.

### 2.5.2. Moleküler dinamik simülasyon tekniği

Moleküler dinamik (MD), bilinen fizik kanunları ile belli bir zaman içerisinde atom ve moleküllerin etkileşmelerine izin veren bir bilgisayar simülasyon tekniğidir. Aynı zamanda fizik, kimya ve matematik gibi bilim dallarına ait teori ve kanunların kullanılması ile meydana getirilen algoritmaları da içermesi bakımından disiplinler arası



bir metod olarak oldukça büyük önem taşımaktadır. Deterministik bir metod olan, yani başlangıçtaki durumu bilinen bir sistemin belirli bir zaman sonrasındaki durumunun ne olduğunun fiziksel ve matematiksel denklemlere bağlı olarak bilindiği, MD simülasyonları moleküler yapı, moleküler hareket ve fonksiyonlar arasındaki ilişkiler ile moleküler sistemlerin zamana bağlı davranışlarını incelemek için kullanılmaktadır. Moleküler dinamikte süreklilik söz konusu olduğu için, proteinlerin konformasyonel değişimleri üzerine detaylı bilgiler sağlanıp biyolojik moleküllerin yapısı, termodinamik ve kinetik analizleri için bilgi elde edilmektedir. Newton mekaniğinin kullanıldığı bu simülasyon tekniği, atomik ölçekteki moleküler hareketlerin kavranılabilir olmasına, doğadaki kuvvetlerin animasyonunun yapılabilmesine, uygun algoritma ve parametrelerin seçimi ile yeteri kadar uzun zaman adımlarında kümülatif olarak meydana gelen hataların en aza indirilmesine katkıda bulunmaktadır.

MD simülasyonları ilk defa 1957'de Alder ve Wainwright tarafından, ani çarpışmaların meydana geldiği etkileşen katı küreciklerden oluşan bir sistemde katı-sıvı faz arasındaki geçişin açıklanması için kullanılmıştır (Alder and Wainwright 1957). 1964'de Rahman sıvı argon için gerçek bir potansiyel kullanarak simülasyonu gerçekleştirdi. Daha sonra Rahman ve Stillinger 1974'de gerçek bir sistem olan sıvı haldeki suyun simülasyonunu yaptılar. Protein simülasyonları ise ilk defa 1977 yılında BBTI (bovine pancreatic tyripsin inhibitor) 'nın simülasyonu ile yapılmıştır. Bugün moleküler dinamik çok farklı alanlarda kullanılmakta ve bu kullanım alanları aşağıda sıralanmaktadır (Anonim 2009).

1. Kimya ve Biyokimyada; moleküler yapılar, reaksiyonlar, ilaç dizaynı, büyük biyomoleküllerin yapısı ve dinamikleri, protein katlanması, konformasyonel değişimler, protein kararlılığı, ...
2. İstatistik mekanik ve Fizikte; akışkanlar teorisi, çoklu parçacık etkileşimleri, istatistiksel toplulukların özellikleri. küçük küme (dizi) lerin yapı ve özellikleri, faz geçişleri, ...

3. Madde Biliminde; kristallerdeki noktasal, çizgisel ve yüzeysel kusurların belirlenmesi ve etkileşimleri, yüzey oluşumu, film büyütme, sürtünme, nanoteknolojik uygulamalar, ...

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

#### 3.1. Modeller

Deneysel tekniklerdeki hızlı ilerlemelerin biyolojik verilerin artışına neden olmasının bir sonucu olarak katlanmış yapısı bilinen 58588 adet protein yapısı olduğu saptanmıştır. Ancak milyonlarca proteinin amino asit zincir bilgisi bilinmesine rağmen yapı ve fonksiyonu bilinmemektedir. Ayrıca proteinlerin katlanma ve açılma süreleri çok hızlı olduğu için konformasyonel geçişleri takip etmek de deneysel olarak mümkün değildir. Böyle durumlarda incelenen sistemi en etkin ve doğru şekilde tanımlayabilecek model yaklaşımlarına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bağlamda proteinlerin açılma katlanma davranışlarını ve işlevlerini anlamak için yaygın olarak Gō modelleri kullanılmaktadır. Gō modeli protein çalışmaları için ilk kez 1983 yılında Nobuhiro Gō tarafından kullanılmıştır (Gō 1983). Gō modeli kristal yapı bilgisine dayalı bir modeldir. Bu modellerde katlanmış yapı en düşük enerjili duruma karşılık gelmektedir. İşte bu modellerin katlanmış yapı bilgisine dayalı olması, gerçek sistemler ne kadar karmaşık olurlarsa olsunlar, bu sistemlerin davranışlarının dominant kuvvetlerle belirlenebilmesine imkan sağlamaktadır. Deneysel verilerle uyumun sağlandığı bu modelde, tümevarım bir yaklaşım ile problemin basitten başlanarak her geçen gün detaylandırılmasıyla proteinlerin gerçek davranışlarına adım adım yaklaşılabilmektedir. Bu yüzden bütün atomların dahil edildiği sistemlerde, teorik olarak protein katlanması probleminin incelenmesinde MD simülasyonları için büyük bilgisayar ağlarına ve de çok uzun simülasyon zaman adımlarına ihtiyaç duyulması, bu simülasyonların maliyetini artırdığından, sistemin tüm atomlarıyla temsil edilmediği basitleştirilmiş (coarse-grained) modeller kullanılmaktadır. Moleküllerin nasıl açılıp katlandığını ve onların işlevlerini anlamak için kullanılan bu basitleştirilmiş modellerde farklı kuvvetleri modellemek, proteinlerin neden yanlış katlandıklarına ve neden hastalıklara yol açtıkları konusunda ışık tutmaktadır. Ayrıca, açık konformasyondan katlı konformasyona kadar polipeptid zincirinde meydana gelen olayları, yani katlanma yollarını (pathway) analiz etmek için de kullanılmaktadırlar. Son yıllarda standart

moleküler dinamik tekniği kullanılarak proteinlerin kinetik karakteristikleri ve yolları üzerine çalışmalar yapmak için çoğunlukla tercih edilen modeller arasında yine Gō modeli yer almaktadır. Aynı zamanda, bu model protein spesifik (proteine özel ) bir model olup bulunan potansiyel ve etkileşimler yalnızca bir protein için kullanılmaktadır. Bu model ile dinamik süresince sadece katlanmış yapıda etkileşen amino asitler birbirleri ile etkileşebilmekte, en düşük enerjili yapı (native yapı) bilindiği için yerel minimumlar ve enerji bunalımları ortadan kaldırılarak hedeflenen katlanmış yapıya daha kolay ulaşılmaktadır. Bu modelde, katlı durumda (native) olmayan etkileşmelerin konformasyonel enerjiye katkısının minimum olduğu düşünülmektedir. Biz modelleme yaklaşımlarımızda, her bir amino asiti bir atom ile temsil edip ve bu atomların da alfa karbonları olduğu varsayımını kullanmaktayız.

Gō modellerinde; amino asitler arasındaki fizikokimyasal özelliklerin dikkate alınmadığı etkileşim büyüklüklerinin eşit olduğu homojen etkileşimler ve amino asitler arasındaki fizikokimyasal özelliklerin dikkate alındığı etkileşim büyüklüklerinin birbirlerinden farklı olduğu heterojen etkileşimler dikkate alınmaktadır. Homojen etkileşimli Gō modelinde katlı durumda (native) bulunan amino asitler arasındaki etkileşmeler için eşit etkileşim katsayıları kullanılır ve amino asitlerin fiziksel-kimyasal özellikleri gözardı edilerek etkileşimlerin gerçekleştiği düşünülmektedir. Bu modellerdeki katlanmış yapı bilgisine dayalı etkileşimler proteinlerin dinamiğinin ve fiziksel prensiplerinin anlaşılmasını sağlamasına rağmen, proteinlerin zincir-yapı-fonksiyon arasındaki ilişkileri ve mutasyonların dinamikleri hakkında çok fazla bilgi verememektedir. Bu yüzden protein spesifik modellere, amino asit spesifik etkileşimler dahil edilerek gerçek sistemlerde olduğu gibi heterojen etkileşimler göz önüne alınmaktadır. Böylece her amino asit çifti için uniform etkileşimler yerine heterojen etkileşimleri içeren Miyazawa-Jernigan (MJ) etkileşim potansiyellerinden yararlanılmaktadır.

Heterojen Etkileşimli Gō Modelinde Miyazawa ve Jernigan tarafından 20 farklı amino asit arasındaki etkileşmeler dikkate alınarak geliştirilen ve proteinlerin kristal yapı bilgilerinden elde edilen istatistiksel potansiyel kullanılmaktadır. 1985 yılında Sanzo

Miyazawa ve Robert L. Jernigan tarafından geliştirilen  $20 \times 20$  lik MJ matrisinin hesaplanmasında latis model yaklaşımı kullanılmıştır. Bir protein molekülünün çözelti içerisinde olduğu düşünülerek proteinin her bir amino asitinin latis köşelerinde ve bu çözelti moleküllerinin de boş kalan diğer kısımlara yerleştiği farz edilmiştir. Proteinlerin kristal yapılarında meydana gelen amino asit-amino asit kontaklarının özellikleri, amino asitler arasındaki etkileşimlerdeki farklılıkları yansıtmaktadır. Kontakların oluşumunun bir kimyasal reaksiyona benzetildiği yarı-kimyasal olan bu yaklaşım; kontak enerjileri ile kontak sayısının istatistiksel ortalamaları göz önünde bulundurularak, çözücü molekülleri ve proteinin birbirlerinden bağımsız olan amino asitlerinin oluşturduğu bir sisteme uygulanmıştır. Amino asitler arasındaki toplam etkileşim sayısının, çözücü molekülleri ve amino asitler arasındaki etkileşmelerin beklenen değerine eşit olduğu düşünülerek her bir proteinin çözücü moleküllerinin sayısı hesaplanmıştır. Bu durumda her bir amino asitin konumu, kenar zincir atomlarının konumları olarak alınmıştır. Amino asitler ve çözücü molekülleri arasındaki kontakların oluşum mesafesi  $6,5 \text{ \AA}$  olarak alınmıştır. Her bir amino asit türü için koordinasyon sayısı; amino asit-amino asit kontak sayısından çözücü-çözücü molekülleri arasındaki kontaklar ve amino asit-çözücü molekülleri arasındaki kontakların sayısının belirlenmesi için kullanılmaktadır. Kontak enerjileri ise, protein kristallerindeki amino asitlerin türe bağlı olduğunu göstermektedir. Böylece etkileşimlerin en yakın amino asitler ve çözücü molekülleri arasında olduğu farz edilir ve en yakın komşuların sayısı ya da amino asit sayısı başına düşen kontaklar, amino asit türüne bağlı olarak ifade edilir. (Miyazawa and Jernigan 1985; Miyazawa and Jernigan 1996; Li *et al.* 1997).

(3.1) eşitliğinde;  $q_i$   $i$  türündeki amino asitler için koordinasyon sayısını,  $n_i$   $i$  türündeki amino asitlerin kontak sayısını ve  $n_{ij}$  ise  $i$  ve  $j$  türündeki amino asitler arasındaki kontak sayısını ifade etmektedir. Bu eşitlikte  $n_{ij} = n_{ji}$  olarak tanımlanmaktadır.

$$\frac{q_i n_i}{2} = \sum_{j=0}^{20} n_{ij} \quad (3.1)$$

$$n_{ir} = n_{ri} \equiv \sum_{j=1}^{20} n_{ij} \quad (3.2)$$

$$n_{rr} \equiv \sum_{i=1}^{20} n_{ir} \quad (3.3)$$

$$n_{r0} = n_{0r} \equiv \sum_{i=1}^{20} n_{i0} \quad (3.4)$$

$$n_r \equiv \sum_{i=1}^{20} n_i \quad (3.5)$$

(3.3) eşitliğindeki  $n_{rr}$  amino asitler arasındaki toplam kontak sayısını, (3.4) eşitliğinde alt indis olarak yazılan 0 çözücü moleküllerini ve  $i$  ise 1'den 20'ye kadar olan amino asitlerin türlerini göstermek üzere  $n_{r0}$  amino asitler ile çözücü molekülleri arasındaki kontak sayısını ifade etmektedir. Böylece sistemin toplam kontak enerjisi ( $E_c$ ), protein konformasyonuna bağlı olup (3.6) eşitliği ile ifade edilmektedir.

$$E_c = \sum_{i=0}^{20} \sum_{j=0}^{20} E_{ij} n_{ij} \quad (3.6)$$

(3.6) eşitliğinde  $E_{ij} = E_{ji}$  olup,  $E_{ij}$   $i$  ve  $j$  türündeki amino asitler arasındaki kontak (etkileşim) enerjisidir. (3.1) ve (3.6) eşitlikleri kullanılarak (3.7) ifadesi elde edilmektedir.

$$E_c = \sum_{i=0}^{20} (2E_{i0} - E_{00}) \frac{q_i n_i}{2} + \sum_{i=1}^{20} \sum_{j=1}^{20} e_{ij} n_{ij} = \sum_{i=0}^{20} E_{ii} \frac{q_i n_i}{2} + \sum_{i=0}^{20} \sum_{i=0}^{20} e'_{ij} n_{ij} \quad (3.7)$$

Böylece proteinin kristal yapısından, (3.7) eşitliğindeki  $e_{ij}$  ve  $e'_{ij}$  kontak enerjileri aşağıdaki gibi ifade edilmektedir.

$$e_{ij} \equiv E_{ij} + E_{00} - E_{i0} - E_{j0}$$

$$e'_{ij} \equiv E_{ij} - (E_{ii} + E_{jj})/2$$

İfade edilen bu 20 farklı amino asit hidrofobik, hidrofilik, (+) yüklü ve (-) yüklü olarak şu şekilde sınıflandırılmaktadır;

- Hidrofobik amino asitler: Phe, Leu, Trp, Val, Ile, Met, Tyr, Ala.
- Hidrofilik (polar) amino asitler: Asn, Thr, Ser, Gln.
- Pozitif yüklü amino asitler: Arg, Lys.
- Negatif yüklü amino asitler: Asp, Glu.

Yukarıdaki amino asitlerin dışında kalan Cys, His, Gly ve Pro amino asitlerinin bu sınıflandırılmaya dahil edilmesi belirsiz özellik taşıdıkları için oldukça zordur. Hidrofobik amino asitler (HH) arasında güçlü çekim, hidrofobik ve polar amino (HP) asitler arasında zayıf bir itme ve polar amino asitler arasında ise hemen hemen etkileşiminin sıfır olduğu bilinmektedir. İşte bu 20 amino asitin sahip oldukları farklı özelliklerin dikkate alındığı, istatistiksel olarak geliştirilen ve heterojen etkileşimleri içeren MJ etkileşim potansiyelleri Çizelge 3.1'de yer almaktadır. Çizelge 3.1'deki etkileşim büyüklükleri incelendiği zaman, etkileşimlerin tamamının negatif yani çekici etkileşim olduğu ve katlı durumdaki (native) etkileşimleri içerdiği görülmektedir. Çizelgedeki değerlerden, pozitif yüklü polar amino asit olan Lys- Lys arasındaki etkileşim büyüklüğünün -0,12 ve güçlü hidrofobik özelliğe sahip Leu- Leu arasındaki etkileşim büyüklüğünün ise -7,37 olduğu görülmektedir. Bu etkileşim değerleri geniş bir enerji spektrumunun varlığını işaret ederken, homojen etkileşimli Gō modellerinde etkileşim büyüklüğünün  $\epsilon = -1$  olarak daha dar bir enerji spektrumunun varlığını işaret etmektedir. Çizelge 3.1'de verilen MJ tablo değerlerinin ortalaması alındığında ise ortalama etkileşim büyüklüğü  $\langle \epsilon_{ij} \rangle_{MJ} = -3,166$  olmaktadır. Homojen etkileşimli Gō modelindeki enerji spektrumunun daha küçük olması, etkileşimlerin daha da güçlendirildiği anlamını taşımaktadır. Katlı durumda (native) olmayan etkileşimler için ise, Çizelge 3.1'deki orijinal MJ değerlerine 3,166 değeri eklenerek bu çizelgedeki değerlerinin ortalaması sıfıra götürülür  $\langle \epsilon_{ij} \rangle_{MJ} = 0$  (Kaya 2009). Bu durumda Çizelge 3.2'de görüldüğü gibi hem pozitif hem de negatif etkileşimler meydana gelmektedir. Oluşan bu yeni çizelgede yer alan pozitif etkileşmelerin katlı durumda

olmayan itici etkileşimleri, negatif etkileşimlerin ise katlı durumda olmayan çekici etkileşimleri temsil ettiği düşünülebilir. Katlı durumdaki etkileşimlerin, katlı durumda olmayan etkileşimlere göre daha güçlü oldukları Çizelge 3.2’de görülmektedir.



Çizelge 3.1. Miyazawa-Jernigan etkileşim potansiyeli ( $\epsilon_{ij}^{\text{nat}}$ )

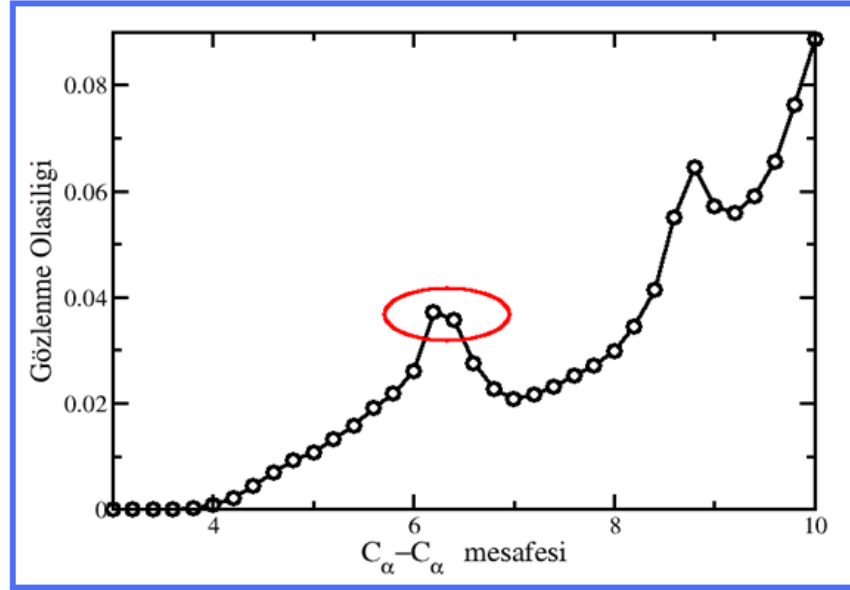
	CYS	MET	PHE	ILE	LEU	VAL	TRP	TYR	ALA	GLY	THR	SER	ASN	GLN	ASP	GLU	HIS	ARG	LYS	PRO
CYS	-5.44	-4.99	-5.80	-5.50	-5.83	-4.96	-4.95	-4.16	-3.57	-3.16	-3.11	-2.86	-2.59	-2.85	-2.41	-2.27	-3.60	-2.57	-1.95	-3.07
MET	-4.99	-5.46	-6.56	-6.02	-6.41	-5.32	-5.55	-4.91	-3.94	-3.39	-3.51	-3.03	-2.95	-3.30	-2.57	-2.89	-3.98	-3.12	-2.48	-3.45
PHE	-5.80	-6.56	-7.26	-6.84	-7.28	-6.29	-6.16	-5.66	-4.81	-4.13	-4.28	-4.02	-3.75	-4.10	-3.48	-3.56	-4.77	-3.98	-3.36	-4.25
ILE	-5.50	-6.02	-6.84	-6.54	-7.04	-6.05	-5.78	-5.25	-4.58	-3.78	-4.03	-3.52	-3.24	-3.67	-3.17	-3.27	-4.14	-3.63	-3.01	-3.76
LEU	-5.83	-6.41	-7.28	-7.04	-7.37	-6.48	-6.14	-5.67	-4.91	-4.16	-4.34	-3.92	-3.74	-4.04	-3.40	-3.59	-4.54	-4.03	-3.37	-4.20
VAL	-4.96	-5.32	-6.29	-6.05	-6.48	-5.52	-5.18	-4.62	-4.04	-3.38	-3.46	-3.05	-2.83	-3.07	-2.48	-2.67	-3.58	-3.07	-2.49	-3.32
TRP	-4.95	-5.55	-6.16	-5.78	-6.14	-5.18	-5.06	-4.66	-3.82	-3.42	-3.22	-2.99	-3.07	-3.11	-2.84	-2.99	-3.98	-3.41	-2.69	-3.73
TYR	-4.16	-4.91	-5.66	-5.25	-5.67	-4.62	-4.66	-4.17	-3.36	-3.01	-3.01	-2.78	-2.76	-2.97	-2.76	-2.79	-3.52	-3.16	-2.60	-3.19
ALA	-3.57	-3.94	-4.81	-4.58	-4.91	-4.04	-3.82	-3.36	-2.72	-2.31	-2.32	-2.01	-1.84	-1.89	-1.70	-1.51	-2.41	-1.83	-1.31	-2.03
GLY	-3.16	-3.39	-4.13	-3.78	-4.16	-3.38	-3.42	-3.01	-2.31	-2.24	-2.08	-1.82	-1.74	-1.66	-1.59	-1.22	-2.15	-1.72	-1.15	-1.87
THR	-3.11	-3.51	-4.28	-4.03	-4.34	-3.46	-3.22	-3.01	-2.32	-2.08	-2.12	-1.96	-1.88	-1.90	-1.80	-1.74	-2.42	-1.90	-1.31	-1.90
SER	-2.86	-3.03	-4.02	-3.52	-3.92	-3.05	-2.99	-2.78	-2.01	-1.82	-1.96	-1.67	-1.58	-1.49	-1.63	-1.48	-2.11	-1.62	-1.05	-1.57
ASN	-2.59	-2.95	-3.75	-3.24	-3.74	-2.83	-3.07	-2.76	-1.84	-1.74	-1.88	-1.58	-1.68	-1.71	-1.68	-1.51	-2.08	-1.64	-1.21	-1.53
GLN	-2.85	-3.30	-4.10	-3.67	-4.04	-3.07	-3.11	-2.97	-1.89	-1.66	-1.90	-1.49	-1.71	-1.54	-1.46	-1.42	-1.98	-1.80	-1.29	-1.73
ASP	-2.41	-2.57	-3.48	-3.17	-3.40	-2.48	-2.84	-2.76	-1.70	-1.59	-1.80	-1.63	-1.68	-1.46	-1.21	-1.02	-2.32	-2.29	-1.68	-1.33
GLU	-2.27	-2.89	-3.56	-3.27	-3.59	-2.67	-2.99	-2.79	-1.51	-1.22	-1.74	-1.48	-1.51	-1.42	-1.02	-0.91	-2.15	-2.27	-1.80	-1.26
HIS	-3.60	-3.98	-4.77	-4.14	-4.54	-3.58	-3.98	-3.52	-2.41	-2.15	-2.42	-2.11	-2.08	-1.98	-2.32	-2.15	-3.05	-2.16	-1.35	-2.25
ARG	-2.57	-3.12	-3.98	-3.63	-4.03	-3.07	-3.41	-3.16	-1.83	-1.72	-1.90	-1.62	-1.64	-1.80	-2.29	-2.27	-2.16	-1.55	-0.59	-1.70
LYS	-1.95	-2.48	-3.36	-3.01	-3.37	-2.49	-2.69	-2.60	-1.31	-1.15	-1.31	-1.05	-1.21	-1.29	-1.68	-1.80	-1.35	-0.59	-0.12	-0.97
PRO	-3.07	-3.45	-4.25	-3.76	-4.20	-3.32	-3.73	-3.19	-2.03	-1.87	-1.90	-1.57	-1.53	-1.73	-1.33	-1.26	-2.25	-1.70	-0.97	-1.75

**Çizelge 3.2.** Miyazawa-Jernigan etkileşim potansiyel değerlerinin ortalamasının sıfır olduğu durumdaki etkileşim potansiyelleri ( $\epsilon_{ij}^{\text{non-nat}}$ ).

	CYS	MET	PHE	ILE	LEU	VAL	TRP	TYR	ALA	GLY	THR	SER	ASN	GLN	ASP	GLU	HIS	ARG	LYS	PRO
CYS	-2.27	-1.8	-2.63	-2.33	-2.66	-1.79	-1.78	-0.99	-0.4	0.01	0.05	0.3	0.5	0.31	0.79	0.89	-0.43	0.59	1.21	0.09
MET	-1.8	-2.29	-3.39	-2.85	-3.24	-2.15	-2.38	-1.74	-0.77	-0.22	-0.34	0.13	0.21	0.13	0.99	0.27	-0.81	0.04	0.68	-0.28
PHE	-2.63	-3.39	-3.81	-3.67	-4.11	-3.12	-2.99	-2.49	-1.64	-0.96	-1.11	-0.85	-0.58	-0.93	-0.31	-0.39	-1.60	-0.81	-0.19	-1.08
ILE	-2.33	-2.85	-3.67	-3.34	-3.87	-2.88	-2.61	-2.08	-1.41	-0.61	-0.86	-0.35	-0.07	-0.50	-0.00	-0.10	-1.24	-0.46	0.15	-0.59
LEU	-2.66	-3.24	-4.11	-3.87	-4.20	-3.31	-2.97	-2.50	-1.74	-0.99	-1.17	-0.75	-0.57	-0.87	-0.23	-0.42	-1.37	-0.86	-0.20	-1.03
VAL	-1.79	-2.15	-3.12	-2.88	-3.31	-2.35	-2.01	-1.45	-0.87	-0.21	-0.29	0.11	0.33	0.09	0.68	0.49	-0.41	0.09	0.67	-0.15
TRP	-1.78	-2.38	-2.99	-2.61	-2.97	-2.01	-1.89	-1.49	-0.65	-0.25	-0.05	0.17	0.09	0.01	0.32	0.17	-0.81	-0.24	0.47	-0.56
TYR	-0.99	-1.74	-2.49	-2.08	-2.50	-1.45	-1.49	-1.00	-0.19	0.15	0.15	0.38	0.40	0.19	0.41	0.37	-0.35	0.01	0.56	-0.02
ALA	-0.4	-0.77	-1.64	-1.41	-1.74	-0.87	-0.65	-0.19	0.44	0.85	0.84	1.15	1.32	1.27	1.46	1.65	0.75	1.33	1.85	1.13
GLY	0.01	-0.22	-0.96	-0.61	-0.95	-0.21	-0.25	0.15	0.85	0.92	1.08	1.34	1.42	1.50	1.57	1.94	1.01	1.44	2.01	1.29
THR	0.05	0.34	-1.11	-0.86	-1.17	-0.29	-0.05	0.15	0.84	1.08	1.04	1.20	1.28	1.26	1.36	1.42	0.74	1.26	1.85	1.26
SER	0.3	0.13	-0.85	-0.35	-0.75	0.11	0.17	0.15	1.15	1.34	1.20	1.49	1.58	1.67	1.53	1.68	1.05	1.54	2.11	1.59
ASN	0.5	0.21	-0.58	-0.07	-0.57	0.33	0.09	0.40	1.32	1.42	1.28	1.58	1.48	1.45	1.48	1.65	1.08	1.52	1.95	1.63
GLN	0.31	-0.13	-0.93	-0.50	-0.87	0.09	0.01	0.19	1.27	1.50	1.26	1.67	1.45	1.62	1.70	1.74	1.18	1.36	1.87	1.43
ASP	0.79	0.59	-0.31	-0.00	-0.23	0.68	0.32	0.40	1.46	1.57	1.36	1.53	1.48	1.70	1.95	2.14	0.84	0.87	1.48	1.83
GLU	0.89	0.27	-0.39	-0.10	-0.42	0.49	0.17	0.37	1.65	1.94	1.42	1.68	1.65	1.74	2.14	2.25	1.01	0.89	1.36	1.90
HIS	-0.43	-0.81	-1.60	-1.24	-1.37	-0.41	-0.81	-0.35	0.75	1.01	0.74	1.05	1.08	1.18	0.84	1.01	0.11	1.01	1.81	0.91
ARG	0.59	0.04	-0.81	-0.46	-0.86	0.09	-0.24	0.01	1.33	1.44	1.26	1.54	1.52	1.36	0.87	0.89	1.01	1.61	2.57	1.46
LYS	1.21	0.68	-0.19	0.15	-0.20	0.67	0.47	0.56	1.85	2.01	1.85	2.11	1.95	1.87	1.48	1.36	1.81	2.57	3.04	2.19
PRO	0.09	-0.28	-1.08	-0.59	-1.03	-0.15	-0.56	-0.02	1.13	1.29	1.26	1.59	1.63	1.43	1.83	1.90	0.91	1.46	2.19	1.41

Proteinlerin kristal yapı bilgisinden yararlanılarak native ve native olmayan kontakların belirlenmesi gerekmektedir. Bunun için kristal yapıda atomlar arasındaki mesafeler dikkate alınarak native kontakları belirlemek için farklı kriterler kullanılmaktadır. Örneğin; iki amino asitin ağır atomları arasındaki mesafe 4,5 Å' dan küçük ise etkileştiklerinin kabulü ya da iki amino asitin ağır atomları arasındaki mesafe 4 Å' dan küçük olması veya  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  mesafesinin 8 Å' dan küçük olması durumunda etkileştiklerinin kabulü gibi farklı kriterler kullanılmaktadır. Böylece farklı kontak mesafeleri belirlenebilmektedir. Belirlenen kontak haritaları arasındaki fark %10'u geçmediği sürece proteinlerin genel davranışının değişmediği düşünülse de amino asit seviyesinde gerçekleşebilecek değişimlerin ne olabileceği henüz incelenmemiştir. Bizim kullandığımız modellerde ise  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  native etkileşme mesafesi 6,4 Å olarak alınmıştır ( $r_{ij}^{\text{rep}} = 6,4$ ). Diğer ağır atomlar için ise 4,5 Å kriteri kullanılmıştır. Yani, iki amino asitin  $C_{\alpha}$  atomları 6,4 Å' dan veya diğer ağır atomlar 4,5 Å' dan daha yakın oldukları zaman bu iki amino asit kristal yapıda birbirleriyle etkileşmekte ve bu etkileşmeler katlanmış yapıdaki (native) etkileşmeler olarak kabul edilmektedir. Kullandığımız modellerde itici etkileşmeler dikkate alındığında katlı durumda olmayan etkileşmelerin sayısı değişebilmektedir. Bu yüzden,  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  mesafelerinin belirlenebilmesi için Protein Veri Bankasından (PDB) zincir özdeşliği %30 ve rezölüsyonu (çözünürlüğü) 2 Å' dan küçük olan 6116 protein kullanılarak 0,02 Å' luk aralıklar oluşturulmuş ve oluşturulan her aralığa karşılık gelen mesafelerin gözlemlenme sıklığı incelenmiştir. Bu verilerden faydalanıldığında,  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  mesafesinin ilk maksimum olduğu bölgenin 6,2 – 6,4 Å ve 6,4 değerinden sonra azalmaya başladığı Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Kristal yapıda gözlemlenen etkileşmeler için optimum  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  mesafesi 6,4 Å olarak alınmasının nedeni de budur ( $r_{ij}^{\text{rep}} = 6,4$ ).

Şekil 3.1'de Protein Veri Bankasından (PDB) %30'luk zincir özdeşliğine sahip ve rezölüsyonları 2 Å'dan küçük kristal yapıya sahip 6116 protein için elde edilen  $C_{\alpha} - C_{\alpha}$  mesafelerinin gözlenme sıklığı gösterilmektedir.

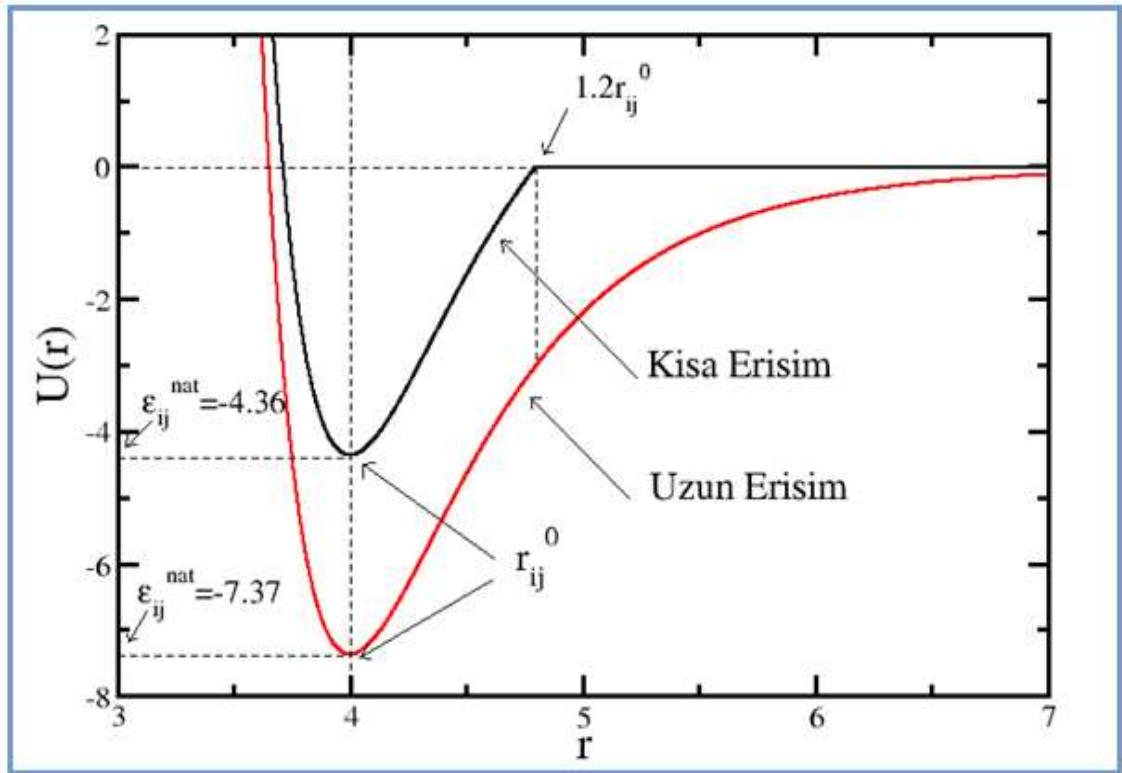


**Şekil 3.1.**  $C_\alpha - C_\alpha$  mesafelerinin gözlenme sıklığı (Kaya 2009).

Kimyasal etkileşmelerden dolayı proteinlerin *in vivo* ve *in vitro* davranışlarında farklılıklar olabilmektedir. Örneğin, hidrofobik amino asitler farklı sıcaklıklarda farklı davranışlar gösterebilmekte ya da su içerisinde etkileşen amino asitler perdelemeye maruz kalabilmektedir. Bu yüzden amino asitler arasındaki etkileşimler erişim mesafesine bağlı olarak protein dinamiğini etkilemektedir. Şekil 3.2'de amino asitler arasındaki bağımsız etkileşimler için kısa ve uzun erişimli etkileşimler gösterilmektedir. Bağımsız etkileşimler birbirlerine kovalent bağla bağlı olmayan ve protein zincirinde en az 4 amino asit mesafesinde bulunan amino asitler arasındaki etkileşmeler olup mesafeye bağlı olarak değişmektedirler. Protein spesifik modellerde reaksiyon koordinatı olarak genellikle native (konformasyon) benzerlik parametresi olarak tanımlanan  $Q$  parametresi kullanılmaktadır. Bu parametre konformasyondaki katlı durumdaki (native) kontak sayısının ( $N_{\text{kont}}^{\text{nat}}$ ), katlanmış yapıdaki katlı durumdaki toplam kontak sayısına ( $N_{\text{toplam}}^{\text{nat}}$ ) oranı olarak tanımlanmakta ( $Q = N_{\text{kont}}^{\text{nat}}/N_{\text{toplam}}^{\text{nat}}$ ) ve 0 ile 1 arasında değer almaktadır.  $Q = 1$  katlanmış yapının oluştuğunu ve  $Q = 0$  hiçbir native kontakların oluşmadığını yani katlanmış yapı konformasyonlarının oluşmadığını ifade etmektedir. Şekil 3.2'de görüldüğü gibi Lennard-Jones potansiyelinde  $r \rightarrow \infty$  iken  $U = 0$  değerini almaktadır. Eğer iki amino asit birbirleriyle denge mesafelerinin 1,2

katından daha yakınlarsa ( $r < 1,2 r_{ij}^0$ ) etkileşmekte veya native kontak sayısının arttığı kabul edilmektedir. Uzun etkileşmelerin varlığı vakum ortamında tartışılmaz olsa da, çözelti ortamında etkileşim mesafelerinin kısa olabileceği de gözönünde bulundurulmalıdır. Bu yüzden Şekil 3.2’de gösterildiği gibi  $r = 1,2 r_{ij}^0$ ’da sıfırı kesecek şekilde LJ potansiyeli yukarı kaydırılmış ve  $r > 1,2 r_{ij}^0$ ’dan itibaren sıfır olacak (yani etkileşim olmayacak) şekilde oluşturulmuştur. Böylece etkileşimin sadece bir tek noktada minimum değere sahip olması sağlanmış olmaktadır.

Şekil 3.2’de uzun erişimli Lennard Jones etkileşim potansiyelinin 10-12 formu kırmızı çizgi ile gösterilmektedir. Kısa erişimli etkileşim potansiyeli ise siyah çizgi ile gösterilmektedir. Lösin-Lösin etkileşmesi için uzun ve kısa erişimli durumda enerji minimumları sırasıyla  $\epsilon_{ij}^{\text{nat}} = -7,37$  ve  $\epsilon_{ij}^{\text{nat}} = -4,36$  değerlerindedir. Lösin-lösin amino asit çifti için denge mesafesi  $r_{ij}^0 = 4$  alınmıştır.



Şekil 3.2. Bağsız kısa ve uzun erişimli etkileşmeler.

Uzun erişimli native etkileşimlere sahip heterojen etkileşimli Gō modelinde (Orjinal MJ) enerji spektrumunun genişliği artırıldığından proteinler açılma ve katlanma geçişi göstermek yerine globüler bir yapıya ulaşip bu yapı etrafında dalgalanmalara neden olmaktadır. Yani güçlü etkileşimlerden dolayı yerel minimumlardan kurtulamaktadırlar. Bu yüzden çalışmalarımızda kısa erişimli MJ modelleri için native olmayan etkileşimlerin var olduğu ve olmadığı durumu ile homojen etkileşimli Gō modeli için hem kısa hem de uzun erişimli etkileşimleri kullanarak proteinlerin termodinamik ve kinetik davranışlarını incelemekteyiz.

## 3.2. Metodlar

### 3.2.1. Moleküler dinamik simülasyon adımları

Üzerinde çalıştığımız sistemde gerek amino asitlerdeki atomlar gerekse proteini oluşturan amino asitler birbirlerine kovalent bağ ile bağlıdırlar. Yani, hiçbir atom kendi başına serbestçe hareket edememektedir. Dolayısı ile sistemi oluşturan parçacıkların serbestlik derecesi düşüktür ve kovalent bağlardan dolayı parçacıklara etki eden kuvvetler de farklılaşabilmektedir.

Kütlesi  $m$ , koordinatları  $x, y, z$  ve hızları  $v_x, v_y, v_z$  olmak üzere  $3N$  serbestlik derecesine sahip,  $N$  parçacıklı bir sistem içerisinde her parçacığa üç farklı doğrultuda etki eden kuvvetler için Newton' un hareket denklemleri;

$$\sum F_x = ma_x, \sum F_y = ma_y, \sum F_z = ma_z \quad (3.1)$$

şeklinde ifade edilmektedir. Burada  $a$ ; sistemin ivmesi olup bu ivmenin bileşenleri ise (3.2) eşitliğindeki gibidir.

$$a_x = \dot{v}_x(t), a_y = \dot{v}_y(t), a_z = \dot{v}_z(t) \quad (3.2)$$

Newton' un birinci hareket kanununa göre bir cisim üzerine etki eden net kuvvet sıfır ise cisim ya durur ya da sabit hızla hareket eder. Bu kanun dikkate alındığında bir sistemin içerdiği tüm parçacıklar üzerine her doğrultuda etki eden ya da uygulanan net kuvvet sıfır olmalıdır. Bu şart denge şartı (equilibrium condition) olup,

$$\sum F_x = 0, \sum F_y = 0, \sum F_z = 0 \quad (3.3)$$

şeklinde ifade edilmektedir. Simülasyonun her zaman adımında enerji fonksiyonu bilindiği için sistemdeki herbir parçacık üzerine etki eden kuvvet konformasyonel enerji fonksiyonunun negatif gradyenti;

$$F_{konf} = -\nabla V = ma = m\dot{v}(t) \quad (3.4)$$

olarak hesaplanmaktadır.

Yine simülasyonlarda, sistemi denge durumundan uzaklaştırmadan ısı rezervuarı ile çok küçük bir miktarda pertürbe etmek için rastgele kuvvetler ve sürtünme kuvveti kullanılmaktadır. Böylece her zaman adımında bir sonraki zaman adımı hakkında bilgi sahibi olabilmek için sürtünme kuvveti stokastik, yani rastgele bir şekilde sisteme dahil edilerek sistemin hareketlilik kazanması sağlanmış olmaktadır. Bu durumda sistemin dinamik açıdan incelenmesi için Langevin Dinamikleri kullanılmaktadır.

Langevin dinamikleri, Fransız fizikçi Paul Langevin tarafından geliştirilen ve fizikte moleküler sistemlerin dinamiklerinin matematiksel olarak modellenmesi için kullanılan bir yaklaşımdır. Serbestlik derecesinin dikkate alınmadığı ve stokastik etkilerin etkin olduğu yaklaşıma (rastgele kuvvetler ve sürtünme kuvveti), serbestlik derecesinin dikkate alındığı Newton' un 2. kanununun ilave edilmesi ile elde edilen Langevin eşitliği aşağıdaki gibi ifade edilmektedir;

$$m\dot{v}(t) = F_{konf}(t) - m\gamma v(t) + \eta(t) \quad (3.5)$$

Yukarıdaki eşitlikte  $m$ ,  $v$ ,  $\dot{v}$ ,  $F_{\text{konf}}$ ,  $\gamma$  ve  $\eta$  sırasıyla, kütle, hız, ivme, konformasyonel kuvvet, sürtünme katsayısı ve rastgele kuvveti temsil etmektedir. (3.5) denkleminde verilen sürtünme kuvveti  $\gamma = 0.05 \tau^{-1}$  ve zaman ölçeği  $\tau = \sqrt{ma^2/\varepsilon_0}$  ile ifade edilmektedir. Zaman ölçeği ifadesindeki  $a = 4\text{\AA}$  (hardcore mesafesi) ve  $\varepsilon_0 = 1$  enerji ölçeğidir ve  $m = 1$  olmak üzere indirgenmiş birimler kullanılmıştır. Rastgele kuvvet  $\eta$ ;

$$\langle \eta(t)\eta(t') \rangle = 2m\gamma k_B T \delta(t - t') \quad (3.6)$$

otokorelasyon şartını sağlamaktadır. Bu ifadede yer alan  $k_B$ , Boltzman sabitidir. Rastgele değişimli olayları bir denklemlerle belirleyip bunları bilinen klasik matematik metodlarla incelemek mümkün değildir. Bu bakımdan rastgele fonksiyonların incelenmesinde istatistik metodlar, özellikle çok hızlı gelişmeler göstermiş olan korelasyon tekniği kullanılır. Herbir integrasyon zaman adımında  $i$ . parçacık üzerine etki eden rastgele kuvvet ise şu şekilde ifade edilir;

$$\eta_i = \sqrt{\left(\frac{2m\gamma k_B T}{\delta t}\right)} \xi_i \quad (3.7)$$

(3.7) denklemindeki  $\xi_i$ , Gaussian dağılımına uyan ve rastgele sayı üreten bir fonksiyondan elde edilen bir sayıdır.  $\delta t$ , integrasyon zaman adımı (birim zaman aralığı) olarak kullanılmaktadır ( $\delta t = 0,005 \tau$ ). Gaussian dağılımı ise ortalaması sıfır ve standart sapması bir olan simetrik, normal bir dağılımdır.

Sabit bir  $T$  sıcaklığında, parçacıkların sahip oldukları başlangıç hızları (ilk hız) da yine bu Gaussian dağılımından elde edilen  $\xi_i$ ' a bağlı olarak şu şekilde ifade edilir;

$$v_i = \sqrt{\left(\frac{k_B T}{m}\right)} \xi_i \quad (3.8)$$



Klasik istatistik mekanikte eş bölüşüm teoremi bir sistemin ortalama enerjisi ile sıcaklığı arasında ilişki kuran genel bir teoremdir. Aynı zamanda termal dengede enerjinin çeşitli formları eşit olarak paylaşılmaktadır. Örneğin, bir molekülün öteleme hareketindeki ortalama kinetik enerjisi, dönme hareketindeki ortalama kinetik enerjisine eşit olmalıdır.  $N$  tane parçacıktan oluşan bir sistemin koordinatları  $x, y, z$  olmak üzere sebestlik derecesi  $3N$  ise, bu sistemin toplam enerjisi  $\frac{3}{2}Nk_B T$  olacaktır.

$$\sum_i \frac{1}{2} m v_i^2 = \frac{3}{2} N k_B T \quad (3.9)$$

Bu durumda başlangıç hızları bilindiğine göre  $x, y, z$  doğrultularında parçacıkların sahip olduğu toplam hız ;

$$v_{toplamlam} = \sum_i^{3N} v_i \quad (3.10)$$

ile bulunur ve ardından  $\bar{v} = v_{toplamlam}/3N$  ile parçacıkların hızları normalize edilir. Daha sonra  $v_i = v_i - \bar{v}$  ile ortalama değerden sapmaları engellemek için hız dağılımı ortalama değer etrafında simetrik hale getirilip sıcaklığa uygun ortalama bir hız belirlenmiş olur. Bu durumda sistemin kinetik enerjisi;

$$KE = \sum_i \frac{1}{2} m v_i^2 \quad (3.11)$$

ile hesaplanabilir. Daha sonra  $F_{konf}^{\text{önceki}} = F_{konf}^{\text{yeni}}$  ve  $F_{rastgele}^{\text{önceki}} = F_{rastgele}^{\text{yeni}}$  atamaları gerçekleştirilir. Böylece hesaplanan konformasyonel kuvvetler ve rastgele kuvvetler eski kuvvetler olarak, yeni koordinatlardan elde edilecek kuvvetler ise yeni kuvvetler olarak kabul edilmektedir. Yani, bilinen bir  $t$  zamanında parçacıkların konum, hız ve diğer dinamik bilgileri bilindiğine göre  $(t + \delta t)$  gibi bir zaman sonrasındaki konum, hız gibi nicelikleri de bulunabilir. Bunun için de moleküler dinamikte en çok tercih edilen

zaman integrasyon algoritması olan Verlet algoritması kullanılmaktadır. Bu algoritma ilk kez 1967 yılında Verlet tarafından ortaya çıkarılmıştır ve  $t$  zamanı civarındaki Taylor açılımı ile  $(t + \delta t)$  zamanındaki konum ve hızları bulunabilmektedir.

$$r(t + \delta t) = r(t) + v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 + \dots \quad (3.12)$$

$$r(t - \delta t) = r(t) - v(t)\delta t + \frac{1}{2}a(t)\delta t^2 - \dots \quad (3.13)$$

(3.12) ve (3.13) eşitlikleri taraf tarafa toplandıklarında konum için;

$$r(t + \delta t) = 2r(t) - r(t - \delta t) + a(t)\delta t^2 \quad (3.14)$$

ifadesi elde edilmiş olur. (3.12) ve (3.13) eşitlikleri taraf tarafa çıkarıldıklarında ise konuma bağlı olarak hız ifadesi aşağıdaki gibi yazılabilir;

$$v(t) = \frac{[r(t + \delta t) - r(t - \delta t)]}{2\delta t} \quad (3.15)$$

Ancak Verlet algoritması ile hesaplanan (3.15) eşitliğindeki hızlara trajektoriler için ihtiyaç duyulmaz, sadece toplam enerjide yer alan kinetik enerji için kullanılırlar. Kullandığımız algorithmada Verlet algoritması kullanılarak konumlar şu şekilde hesaplanmaktadır (Veitshans *et al.* 1996);

$$x(i) = x(i) + \delta t v_x(i) + \delta t^2 [F_{x,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{x,rastgele}^{\text{önceki}}(i) - \gamma v_x(i)]/2 \quad (3.16)$$

$$y(i) = y(i) + \delta t v_y(i) + \delta t^2 [F_{y,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{y,rastgele}^{\text{önceki}}(i) - \gamma v_y(i)]/2 \quad (3.17)$$

$$z(i) = z(i) + \delta t v_z(i) + \delta t^2 [F_{z,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{z,rastgele}^{\text{önceki}}(i) - \gamma v_z(i)]/2 \quad (3.17)$$

Herbir integrasyon zaman adımında parçacıkların sahip olduğu hızlar ise şu şekilde hesaplanmaktadır;

$$v_x(i) = c_1 v_x(i) + c_2 [F_{x,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{x,rastgele}^{\text{önceki}}(i) + F_{x,konf}^{\text{yeni}}(i) + F_{x,rastgele}^{\text{yeni}}(i)] \quad (3.18)$$

$$v_y(i) = c_1 v_y(i) + c_2 [F_{y,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{y,rastgele}^{\text{önceki}}(i) + F_{y,konf}^{\text{yeni}}(i) + F_{y,rastgele}^{\text{yeni}}(i)] \quad (3.19)$$

$$v_z(i) = c_1 v_z(i) + c_2 [F_{z,konf}^{\text{önceki}}(i) + F_{z,rastgele}^{\text{önceki}}(i) + F_{z,konf}^{\text{yeni}}(i) + F_{z,rastgele}^{\text{yeni}}(i)] \quad (3.20)$$

Yukarıdaki hız ifadelerinde bulunan  $c_1$  ve  $c_2$  sabitleri ise aşağıda verilmektedir;

$$c_0 = \frac{\gamma \delta t}{2m} \quad (3.21)$$

$$c_1 = (1 - c_0)(1 - c_0 + c_0^2) \quad (3.22)$$

$$c_2 = \frac{\delta t}{2m} (1 - c_0 + c_0^2) \quad (3.23)$$

Böylece kinetik ve potansiyel enerjisi bilinen sistemin toplam enerjisi hesaplanır ve yine  $F_{konf}^{\text{önceki}} = F_{konf}^{\text{yeni}}$  ve  $F_{rastgele}^{\text{önceki}} = F_{rastgele}^{\text{yeni}}$  atamaları gerçekleştirilip, simülasyon adımı artırılarak simülasyon süresince Verlet algoritması tekrar tekrar çalıştırılarak simülasyon gerçekleştirilir.

### 3.2.2. Etkileşim potansiyelleri

Protein katlanması için simülasyonlar gerçekleştirilirken etkileşim potansiyellerinin belirlenmesi gerekmektedir. Proteinlerdeki atomik etkileşimler yerel (local) ve yerel olmayan (non-local) etkileşimler olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Yerel ve yerel olmayan etkileşimler 2.4.1 kısmında açıklanmıştır.

$$V_{yerel} = V_{gerilme} + V_{eğilme} + V_{bükülme}$$

$$V_{yerel-olmayan} = V_{bağısız}$$

$$V_{Toplam} = V_{yerel} + V_{yerel-olmayan}$$

$$V_{Toplam} = V_{gerilme} + V_{eğilme} + V_{bükülme} + V_{bağısız}$$

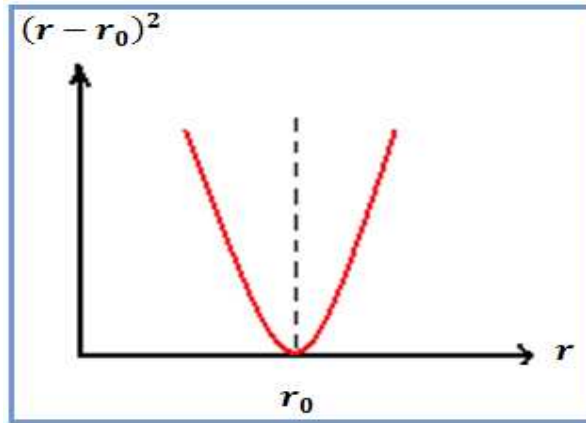
Katlanmış yapı bilgisine dayalı modellerde tüm  $\alpha$ - karbonları ( $C_\alpha$ ) ile temsil edilen bir protein için toplam konformasyonel etkileşim potansiyeli (3.24) eşitliği ile ifade edilmektedir (Kaya and Chan 2003; Knott *et al.* 2003);

$$\begin{aligned}
V_{Toplam} = & \sum_{\text{bağlar}}^{N-1} K_r (r - r_0)^2 + \sum_{\substack{\text{eğilme} \\ \text{açıları}}}^{N-2} K_\theta (\theta - \theta_0)^2 \\
& + \sum_{\substack{\text{bükülme} \\ \text{açıları}}}^{N-3} \left\{ K_\phi^{(1)} [1 - \cos(\Phi - \Phi_0)] + K_\phi^{(3)} [1 - \cos 3(\Phi - \Phi_0)] \right\} \\
& + \sum_{i < j-3}^{\text{native}} \epsilon_{ij}^{\text{nat}} \left[ 5 \left( \frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^{12} - 6 \left( \frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^{10} \right] + \sum_{i < j-3}^{\text{native} \\ \text{olmayan}} \epsilon \left( \frac{r_{rep}}{r_{ij}} \right)^{12} \\
& + \sum_{i < j-3}^{\text{native} \\ \text{olmayan}} \epsilon_{ij}^{\text{non-nat}} \left( \frac{r_{rep}}{r_{ij}} \right)^{12} \tag{3.24}
\end{aligned}$$

Yukarıda konformasyonel durum için verilen toplam potansiyel enerji ifadesinde ilk üç potansiyel terimi yerel etkileşimleri, son iki potansiyel terimi ise yerel olmayan etkileşimleri içermektedir. Bu formülde yer alan  $r_0, \theta_0$  ve  $\Phi_0$  parametreleri PDB (protein veri bankası)'de yer alan proteinin kristal (katlanmış) yapısından elde edilen sırası ile gerilme, eğilme ve bükülme enerji terimleri için denge değerleridir.

$K_r, K_\theta, K_\phi^{(1)}$  ve  $K_\phi^{(3)}$  parametreleri ise etkileşim katsayıları olup değerleri sırası ile  $100\epsilon, 20\epsilon, \epsilon$  ve  $100\epsilon'$  dur. Bu etkileşim parametreleri  $\epsilon$  ile verilen bir tek parametre ile kontrol edilmektedir (Kaya and Chan 2003). Bizim kullanmakta olduğumuz model için  $\epsilon = 1$  olarak kabul edilmektedir. Aşağıda bu toplam potansiyeli meydana getiren herbir terim açıklanmaktadır.

**Gerilme (Stretching) Etkileşim Potansiyeli:** İki amino asitin birbirlerine bir yay ile bağlı olduğu düşünülecek olursa, bu durumda sistem bir harmonik osilatör gibi davranacaktır. Bir amino asit zinciri üzerinde birbirlerine komşu olan iki amino asit için gerilme etkileşim potansiyeli aşağıdaki formül ile verilmektedir.

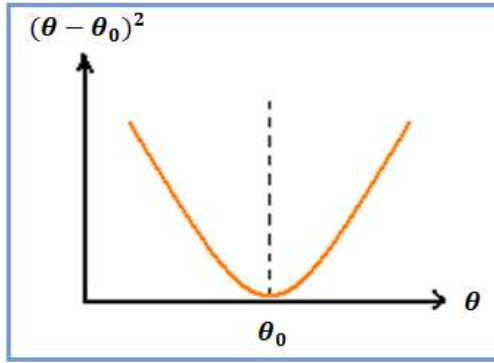


$$V_{gerilme} = \sum_{bağlar}^{N-1} K_r (r - r_0)^2$$

**Şekil 3.3.** Gerilme etkileşim enerjisinin mesafeye bağlı değişimi.

Burada  $N$ , toplam parçacık ya da amino asit sayısı olup, toplam potansiyel iki amino asit arasındaki mesafenin ( $r$ ), denge mesafesinden ( $r_0$ ) çıkarılması ile elde edilen farkların karelerinin toplamı şeklinde ifade edilmektedir. Şekil 3.3' de gerilme etkileşim enerjisinin mesafeye bağlı değişimi gösterilmektedir.

**Eğilme (Bending) Etkileşim Potansiyeli:** Birbirlerine bir yay ile bağlı üç amino asitten meydana gelen sistem bir harmonik osilatör gibi davranacaktır. Bu durumda bir amino asit zinciri üzerinde birbirlerine komşu olan üç amino asit arasındaki eğilme etkileşim potansiyeli aşağıdaki formül ile ifade edilmektedir.

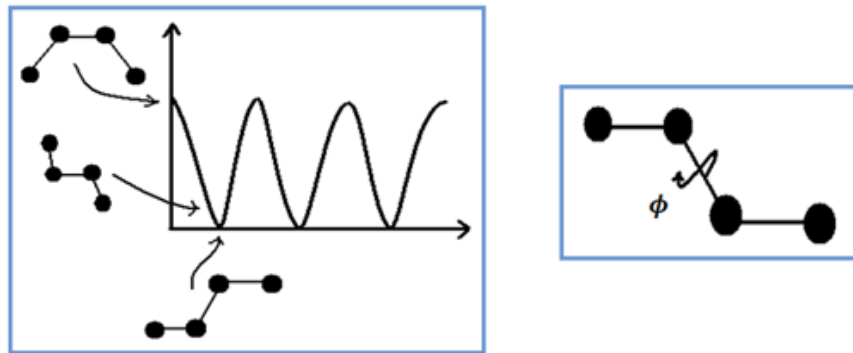


$$V_{\text{eğilme}} = \sum_{\text{eğilme açılıarı}}^{N-2} K_{\theta} (\theta - \theta_0)^2$$

**Şekil 3.4.** Eğilme etkileşim enerjisinin eğilme açısına bağlı değişimi.

Toplam potansiyel üç amino asit arasındaki bağ açılarının denge açılarından çıkarılması ile elde edilen farkların kareleri toplamı şeklinde ifade edilmektedir. Şekil 3.4' de eğilme etkileşim enerjisinin, eğilme açısına bağlı değişimi gösterilmektedir.

**Bükülme (Torsion) Etkileşim Potansiyeli:** Bir amino asit dizisi üzerinde birbirlerine komşu olan 4 amino asit arasındaki etkileşim potansiyeli bükülme etkileşim potansiyeli ile ifade edilmektedir. Dört amino asitin meydana getirdiği iki yüzey arasındaki açı, bükülme açısı olarak adlandırılmaktadır. Şekil 3.5'de  $\Phi$  değerinin zamanla değişimi gösterilmektedir.



**Şekil 3.5.** Bükülme açısının ( $\Phi$ ) zamanla değişimi.

$$V_{\text{bükülme}} = \sum_{\text{bükülme açılıarı}}^{N-3} \left\{ K_{\Phi}^{(1)} [1 - \cos(\Phi - \Phi_0)] + K_{\Phi}^{(3)} [1 - \cos 3(\Phi - \Phi_0)] \right\}$$

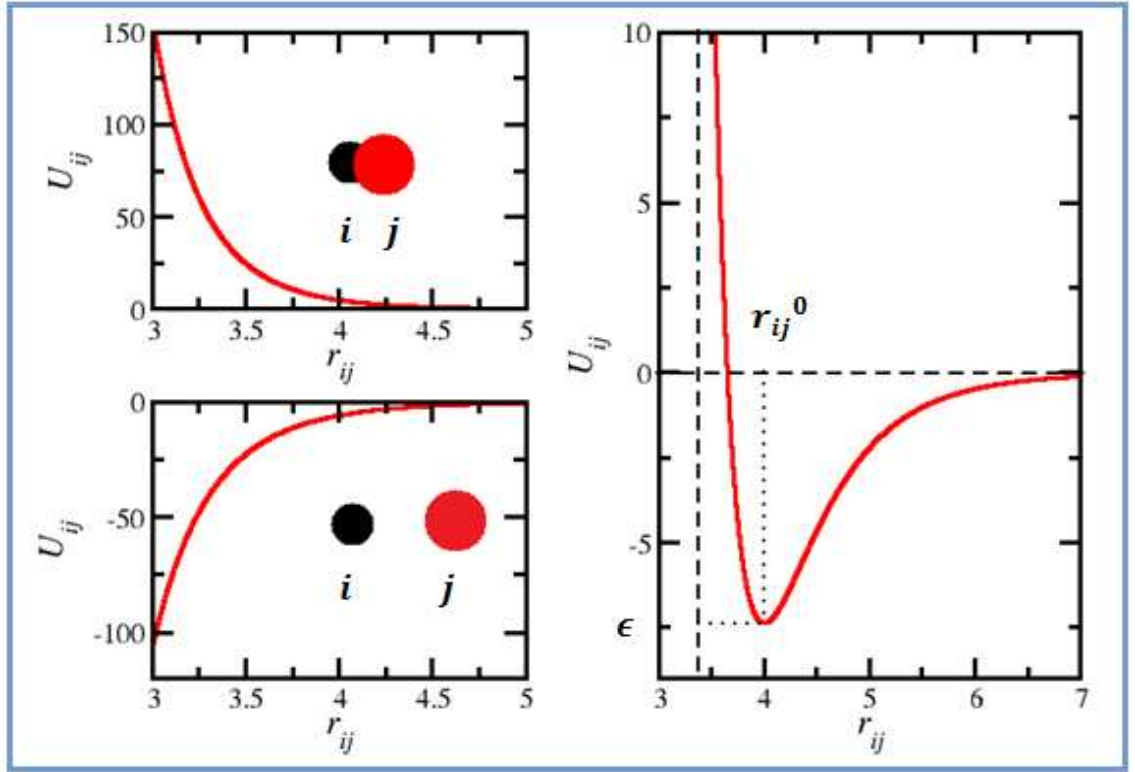
**Bağısız (Non- bonded) Etkileşim Potansiyeli:** Bağısız etkileşimler aşağıdaki etkileşim potansiyeli ile verilebilmektedir.

$$V_{bağısız} = \sum_{i < j-3}^{native} \epsilon_{ij}^{nat} \left[ 5 \left( \frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^{12} - 6 \left( \frac{r_{ij}^0}{r_{ij}} \right)^{10} \right] + \sum_{i < j-3}^{native\ olmayan} \epsilon \left( \frac{r_{rep}}{r_{ij}} \right)^{12} \\ + \sum_{i < j-3}^{native\ olmayan} \epsilon_{ij}^{non-nat} \left( \frac{r_{rep}}{r_{ij}} \right)^{12}$$

Yukarıdaki eşitlikte verilen eşitlikte;

İlk terim 10- 12 Lennard Jones potansiyelidir. Bu potansiyelde  $5(r_{ij}^0/r_{ij})^{12}$  atomlar arasında kısa erişimli itme enerjisini ve  $-6(r_{ij}^0/r_{ij})^{10}$  ise uzun erişimli olan çekim enerjisini ifade etmektedir. Bu potansiyel, zincir üzerinde birbirinden en az 4 amino asit mesafesinde bulunan amino asitler için kullanılmaktadır.  $\epsilon_{ij}^{nat}$ , katlanmış (native) yapıda birbirleri ile etkileşen amino asitler için çekici etkileşim büyüklüğü olup MJ tablo değerlerine karşılık gelmektedir.  $r_{ij}^0$ , katlanmış yapıda etkileşen i ve j. amino asitlerin  $C_{\alpha}$  atomları arasındaki denge mesafesidir.

Moleküller arasındaki uzaklığın bir fonksiyonu olarak, Lennard Jones potansiyeli için ifade edilen çekme, itme ve toplam potansiyel enerji şekil 3.6'da gösterilmektedir.



**Şekil 3.6.** İtme ve çekme terimlerini içeren Lennard Jones potansiyelinin konuma bağlı değişimi.

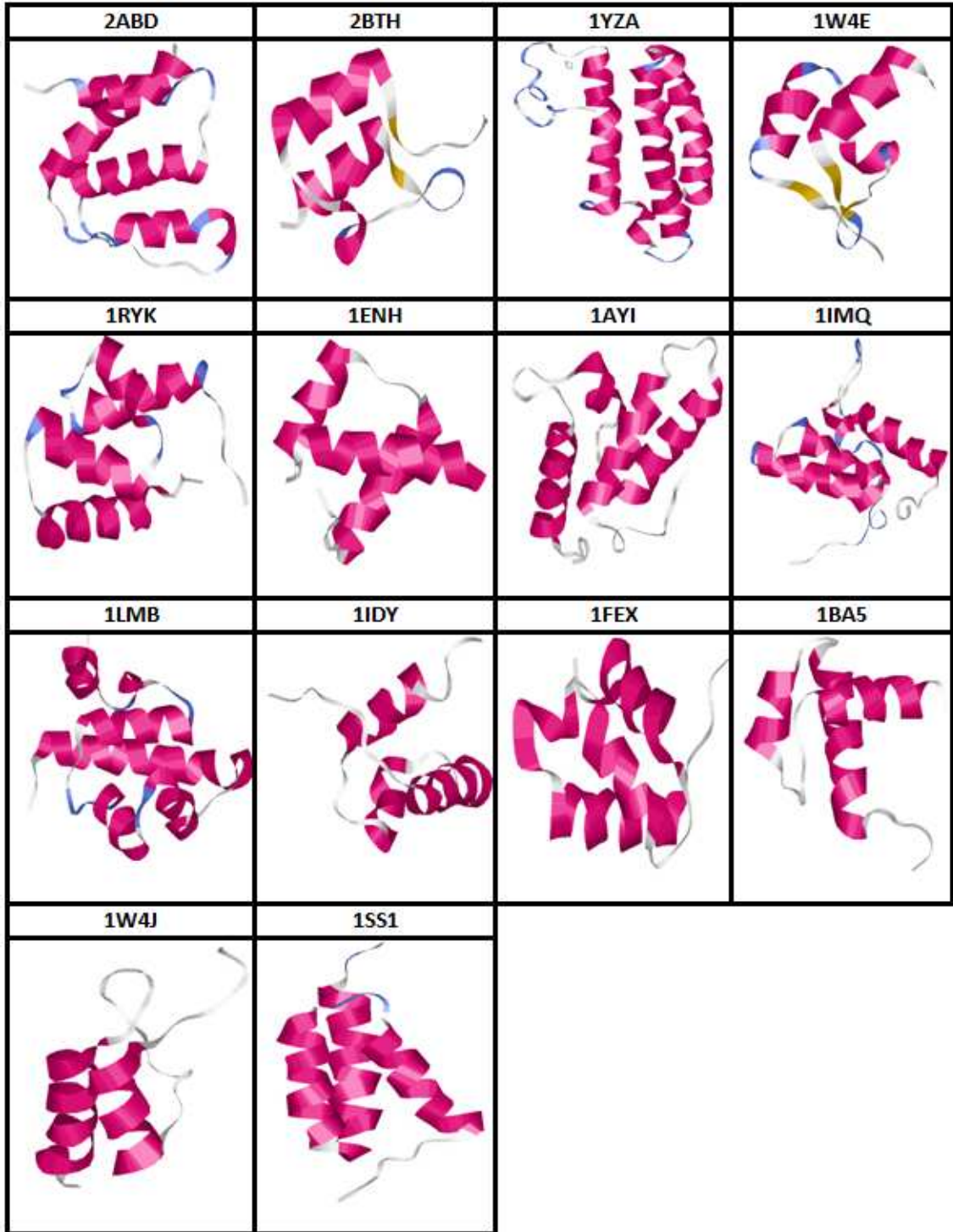
Bu etkileşimleri açıklayabilmek için iki molekülün birbirlerine çok yakın bir konumda buldukları düşünülecek olursa, bu iki molekülü birbirlerinden tamamen ayırmak için onlar üzerine iş yapmak gerekecektir. Yapılan bu iş miktarı da potansiyel enerjiye katkı sağlayacaktır. Bu nedenle moleküllerin birbirlerinden uzaklaştırılması sistemin potansiyel enerjisinin artması anlamını taşımaktadır. Moleküller arasındaki uzaklığın çok fazla artırılması potansiyel enerjinin limit bir değere ulaşmasını sağlar. Eğer moleküller birbirlerine çok yakınlaşacak olurlarsa, bu kez birbirlerini itmeye başlayacaklardır. İşte bu molekülleri bir arada tutmak için gerekli olan enerji Lennard Jones potansiyeli ile verilmektedir. Burada onikinci kuvvet ile ifade edilen terim moleküller arasındaki uzaklığın azalmasıyla potansiyel enerjideki artışı, onuncu kuvvet ile ifade edilen terim ise moleküller arasındaki uzaklığın azalması ile potansiyel enerjideki azalmayı işaret etmektedir. Moleküller arasındaki mesafe sonsuza gittiği zaman potansiyel enerji de sıfıra gitmektedir.



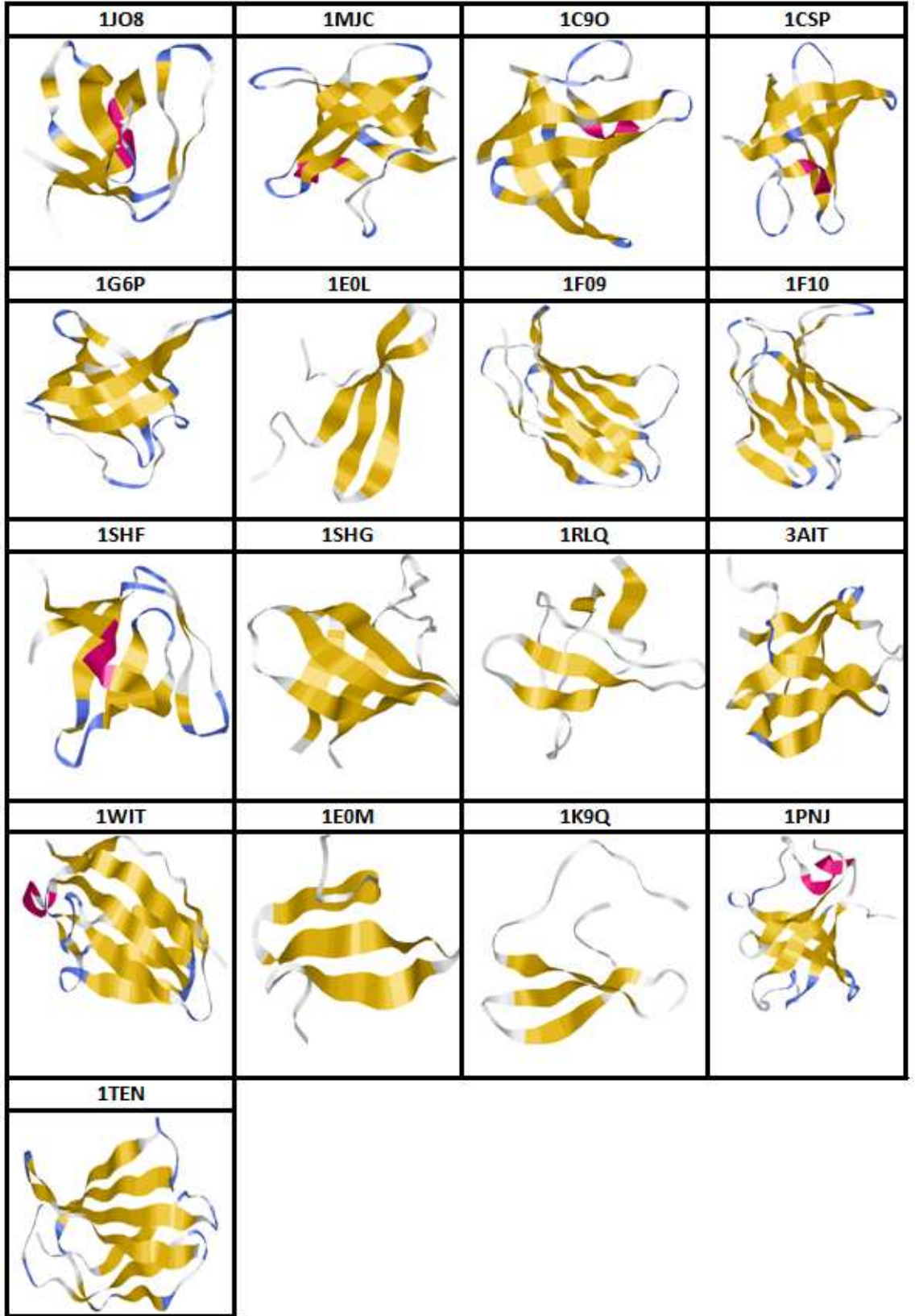
İkinci terim ise, katlanmış yapıda birbirleri ile etkileşmeyen fakat konformasyonel geçişler sırasında amino asitlerin birbirlerine 4 Angstrom'dan daha yakın mesafeye gelmelerini engelleyen itme potansiyelidir (excluded- volume).  $r_{rep}$ , iki atomun birbirlerine yaklaşabileceği maksimum mesafe yani hard- core mesafesidir ( $r_{rep} = 4\text{\AA}$ ).

Üçüncü terim ise, katlanmış yapıda birbirleriyle etkileşmeyen amino asitlerin (latis modellerdeki hidrofobik- polar ve polar- polar amino asitler) konformasyonel geçişler sırasında birbirleriyle etkileşecek kadar yaklaştıkları zaman birbirlerini itmelerini sağlayan (native olmayan itici etkileşimler) etkileşme terimidir ( $r_{ij}^{rep} < 6,4$ ).  $N$  ise toplam amino asit sayısını ifade etmektedir.

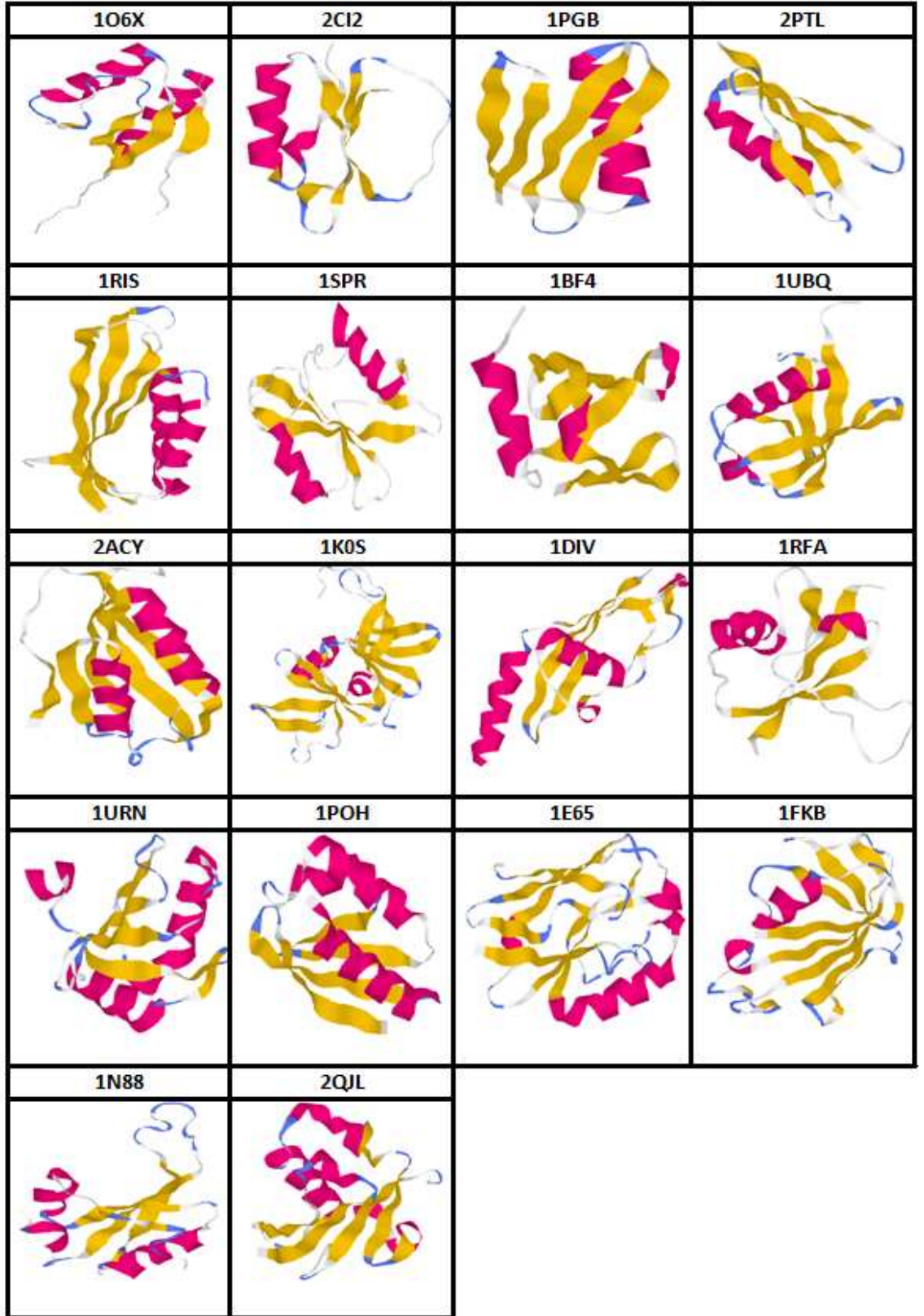
#### 4. ARAŞTIRMA BULGULARI ve TARTIŞMA



Şekil 4.1. Tamamen  $\alpha$ - sarmallarından oluşan proteinler.



Şekil 4.2. Tamamen  $\beta$ - plakalarından oluşan proteinler.

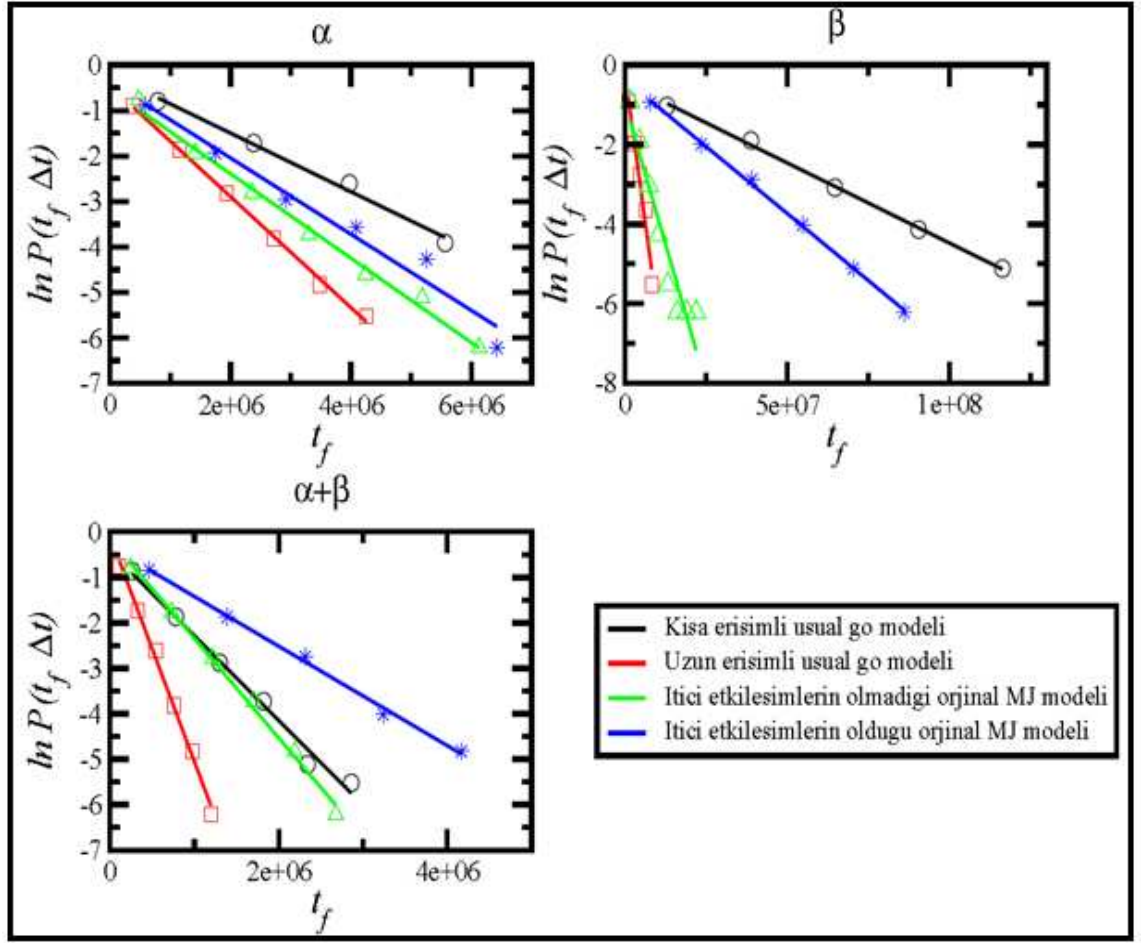


Şekil 4.3. Tamamen  $\alpha + \beta$  yapılarından oluşan proteinler.

#### 4.1. Proteinlerde Katlanma Kinetiğini Etkileyen Parametreler

Araştırmalarımızda Şekil 4.1, Şekil 4.2 ve Şekil 4.3’de sırasıyla  $\alpha, \beta$  ve  $\alpha + \beta$  gibi farklı yapılara sahip protein ailelerinden, termodinamik olarak iki durum davranışı gösteren proteinlerden oluşan setler kullanılarak, proteinlerin açık bir zincirden spesifik 3-boyutlu yapılarına ne kadar hızlı ya da yavaş katlandıklarının bir ölçüsü olan katlanma oranları ile proteinlerin zincir uzunlukları, kararlılıkları, topolojileri arasında nasıl bir ilişki olduğunu inceledik. Yine, bu araştırmamızda farklı protein aileleri, farklı zincir uzunlukları, farklı enerjetik terimler ve farklı katlanma topolojilerini göz önünde bulundurarak kinetik için belirleyici olan parametrelerin belirlenmesi için; homojen etkileşimli-kısa erişimli Gō modeli, homojen etkileşimli-uzun erişimli Gō modeli, heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli ve heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli olmak üzere dört farklı etkileşim modelini kullandık.

Proteinlerin kinetik davranışlarını incelemek üzere yaptığımız araştırmada, önce geçiş sıcaklığını bulmak amacıyla 500 000 000 simülasyon zaman adımında farklı sıcaklıklar için farklı trajektoriler elde edildi. Katlanma oranlarını elde etmek için simülasyonun açık yapıdan başlanmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Bu açık konformasyonlar yüksek sıcaklıkta, katlı yapı ile başlayan dinamiklerden elde edilmiştir. Açık konformasyondan başlayarak, 500 tane farklı katlanma trajektorisi elde edilip, onların da ortalamaları alınarak katlanma süreleri hesaplanmıştır. Ayrıca, katlanma kriteri olarak tüm native kontakların oluşması değil de %90’ ının oluştuğu zaman katlanmış konformasyona ulaşıldığı farzedilmektedir. Aynı fizyolojik şartlarda elde edilen bu katlanma sürelerinin tek exponansiyelli olması, ortalama ilk geçiş süresi olan (OİGS)’ nin tersinin katlanma oranı olarak kullanılabilmesine olanak sağlamaktadır. Bu yüzden biz de çalışmalarımızda  $\alpha, \beta$  ve  $\alpha + \beta$  gibi farklı protein aileleri için katlanma sürelerinin tek exponansiyelli bir dağılıma sahip olduğunu 4 farklı model için Şekil 4.4 ile göstermiş bulunmaktayız.



**Şekil 4.4.** Katlanma sürelerinin tek eksponansiyelli dağılımının, 3 farklı protein ailesi için ve her farklı protein ailesi için de 4 farklı modelle gösterimi.

Proteinlerin katlanmış yapısındaki mevcut yerel ve yerel olmayan bağımsız etkileşim miktarının proteinlerin katlanma sürelerine katkısını incelemek için, yerel etkileşimleri birbirlerine zincir üzerinde 6 amino asit mesafesi veya daha yakın etkileşimler, yerel olmayan etkileşimleri ise yine protein zinciri üzerinde aralarında kovalent bağ olmayan yani amino asit zinciri üzerinde birbirlerinden 6 amino asit mesafesinden daha uzak olan etkileşimler olarak tanımladık. Bu amaçla yerel ve yerel olmayan etkileşim sayılarını farklı protein ailelerine ait protein setleri için belirledik. Farklı protein ailelerine ait olan bu protein setleri için bahsettiğimiz yerel ve yerel olmayan etkileşim sayıları Çizelge 4.1’de yer almaktadır.

**Çizelge 4.1.** Farklı protein aileleri için yerel ve yerel olmayan etkileşim sayıları.

$\alpha$ Yapı	$N_{yerel}$	$N_{yerel\ olmayan}$	$\beta$ Yapı	$N_{yerel}$	$N_{yerel\ olmayan}$	$\alpha + \beta$ Yapı	$N_{yerel}$	$N_{yerel\ olmayan}$
2abd	67	96	1jo8	16	133	1o6x	37	111
2bth	32	39	1mjc	22	144	2ci2	27	115
1yza	101	43	1c9o	21	136	1pgb	27	94
1w4e	52	66	1g6p	24	135	2ptl	25	109
1ryk	57	70	1e0l	17	54	1iris	38	187
1enh	44	55	1f09	20	248	1spr	60	219
1ayi	62	97	1f10	16	247	1bf4	35	110
1imq	97	148	1shf	12	125	1ubq	39	139
1lmb	70	86	1shg	15	127	2acy	43	211
1idy	60	44	1rlq	17	145	1e65	41	296
1fex	72	65	3ait	31	204	1k0s	53	270
1ba5	62	58	1wit	26	226	1fkb	45	240
1w4j	57	62	1e0m	22	54	1n88	64	222
1ssl	46	45	1k9q	18	67	1div	53	160
			1pnj	26	200	1rfa	48	189
			1ten	16	210	1urn	49	170
						2qjl	60	179
						1poh	44	157
						1aps	45	237

Çizelge 4.1'deki değerler incelendiği zaman,  $\alpha$ - protein ailesine sahip olan proteinlerde yerel etkileşim sayıları  $\beta$  ve  $\alpha + \beta$  yapılarına nazaran daha fazla iken,  $\beta$  ve  $\alpha + \beta$  yapılarına ait proteinlerde ise yerel olmayan etkileşim sayılarının zincir uzunluklarına bağlı olarak yerel etkileşim sayılarına kıyasla daha fazla olduğu görülmektedir.

Proteinlerin kinetik davranışlarını incelemek amacıyla, aşağıdaki çizelgelerde yer alan hesapladığımız parametreler sırasıyla şu anlamlara gelmektedir;

*PDB ID* Protein Veri Bankası (PDB) içerisinde yer alan protein isimleri,  $N$  amino asit sayısı yani protein zincir uzunluğu,  $N_{kontak}^{katli}$  proteinlerin katlanmış yapısındaki kontak sayısı yani etkileşim sayısı,  $N_{kontak}^{katli}/N$  amino asit sayısı başına düşen etkileşim sayısı,  $N_{yo}/N$  amino asit sayısı başına düşen yerel olmayan etkileşimlerin sayısı,  $k_m$  deneysel olarak geçiş sıcaklığında elde edilen katlanma oranı,  $k_f$  çözücü miktarı sıfır olduğunda deneysel olarak elde edilen katlanma oranı

*OIGS* ortalama ilk geçiş süresi,  $T_f$  geçiş sıcaklığı, *EDP* etkileşim düzen parametresi, *REDP* relatif etkileşim düzen parametresi, *UEEP* uzun erişimli etkileşim parametresi;  $\Delta G^\ddagger$  serbest enerji bariyer yüksekliği,  $E_{min}^D - E_{min}^N$  açık durum topluluğu ile katlı durum topluluğunun minimumları arasındaki fark yani serbest enerji bariyerinin genişliği,  $E_{katlı}$  proteinin katlanmış durumundaki enerjisi,  $E_{katlı}/N$  amino asit sayısı başına düşen katlı durum enerjisi,  $E_{katlı}/N_{kontak}^{katlı}$  etkileşim sayısı başına düşen katlı durum enerjisi,  $\sigma_{kontak}$  amino asit başına düşen etkileşimlerdeki standart sapma ve  $\sigma_{enerji}$  amino asit başına düşen enerjideki standart sapmayı göstermektedir.

Kuramsal temeller kısmında bahsedildiği gibi; etkileşim düzen parametresi (EDP), bir amino asit zinciri üzerinde birbirleriyle bağımsız olarak etkileşen amino asitler arasındaki mesafelerin farkları toplamının, katlı durumdaki toplam kontak (etkileşim) sayısına oranlanması ile (2.18) eşitliğindeki gibi hesaplanmıştır. Relatif etkileşim düzen parametresi (REDP), etkileşim düzen parametresinin amino asit sayısı ile normalize edilmesi ile (2.19) eşitliğindeki gibi hesaplanmıştır. Yine amino asit zinciri üzerinde birbirleriyle bağımsız olarak etkileşen ve aralarında 12 ya da daha fazla amino asit bulunan, amino asitler arasındaki etkileşimler de uzun erişimli etkileşim parametresi (UEEP), (2.20) eşitliği ile temsil edilmektedir. Bariyer yüksekliği ve bariyer genişliği ise serbest enerji grafiklerinden (Şekil 2.10) elde edilmiştir.

#### 4.1.1. Tamamen $\alpha$ – yapısına sahip olan proteinler

Çizelge 4.2’de yer alan değerler incelendiğinde,  $\alpha$ - protein ailesine ait proteinlerden 1yza proteinin 106 amino asitle aynı protein ailesine ait incelenen diğer proteinlerden daha büyük zincir uzunluğuna sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca amino asit başına düşen kontak sayısı ( $N_{kontak}^{katlı}/N$ ), amino asit başına düşen yerel olmayan kontak sayısı ( $N_{yo}/N$ ) ve amino asit başına düşen kontak sayısındaki standart sapma ( $\sigma_{kontak}$ ) değerlerinin en küçük olduğu protein yine 1yza proteindir. Dolayısıyla, bu proteinde yerel etkileşim sayısı yerel olmayan etkileşimlere nazaran daha yüksek olduğu için açılma ve katlanma geçişleri oldukça sık ve hızlı gerçekleşmektedir. Şekil 4.1’de görüldüğü gibi 1yza ve 1idy gibi katlanmış yapısında kısa dönüş bölgelerine sahip olan



proteinlerin daha hızlı katlanması, proteinlerin topolojik özelliklerinin, katlanma hızını belirlediğini göstermektedir.

Homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli için, 1yza proteininin serbest enerjisi incelendiği zaman açık ve katlı durum arasında herhangi bir bariyer yüksekliği ( $\Delta G^\ddagger$ ) gözlemlenemediği için bariyersiz (downhill) davranış gözlemlenmektedir. Yine aynı protein ailesindeki diğer proteinlere nazaran geçiş sıcaklığı ( $T_f$ ), katlı durum enerjisi ( $E_{katlı}$ ) ve amino asit başına düşen katlı durum enerjisi ( $E_{katlı}/N$ ) en büyük olan ve relatif etkileşim düzen parametresi (REDP) ile uzun erişimli etkileşim parametresi (UEEP) en düşük olan proteindir.

1imq proteini ise katlı durumda en yüksek etkileşime sahip, yerel olmayan etkileşim sayısı yerel etkileşimlere göre daha büyük, bariyer yüksekliği ( $\Delta G^\ddagger$ ) ve bariyer genişliği ( $E_{min}^D - E_{min}^N$ ) en büyük, katlı durum enerjisi ( $E_{katlı}$ ) en küçük protein olduğu için, incelenen protein ailesi içerisinde en yavaş katlanan ve en kararlı olan proteindir. 1imq proteini; uzun erişimli etkileşim parametresi (UEEP), geçiş sıcaklığı ( $T_f$ ), amino asit başına düşen kontak sayısındaki standart sapması ( $\sigma_{kontak}$ ) en büyük ve amino asit başına düşen native enerji değeri en düşük olan proteindir. 1yza dışında 2bth, 2abd, 1ryk, 1idy, 1w4j, 1ss1 proteinlerinde de bariyersiz bir davranış ile birlikte hızlı açılma katlanma geçişleri gözlemlenmektedir.

Çizelge 4.3'te verilen homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için, 1yza proteini yine en düşük geçiş sıcaklığına sahip, bariyersiz bir davranış göstermekte olup, amino asit başına düşen katlı durum enerjisi en büyük ve en hızlı katlanan protein olduğu görülmektedir. 1imq proteini ise geçiş sıcaklığı ile serbest enerji bariyeri en yüksek ve amino asit başına düşen katlı durum enerjisi en düşük olan proteindir. Kullanılan bu model için, 2bth, 1yza, 1ryk, 1idy, 1ba5, 1w4j, 1ss1 proteinleri için bariyersiz katlanma gözlemlenmektedir. Homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli, homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli ile karşılaştırıldığında ara durum konformasyonlarının sayısı daha fazla olup açılma ve katlanma geçişleri daha hızlı gerçekleşmektedir. Bunun nedeni de uzun erişimli modellerde birbirleri ile uzak mesafede olan amino asitler

arasındaki etkileşimin mümkün olmasıdır. Çizelge 4.4’de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli için, geçiş sıcaklığı yine en düşük, amino asit başına düşen katlı durum enerjisi ve katlı durumdaki etkileşim sayısı başına düşen katlı durum enerjisi en büyük olan proteinin yine 1yza olduğu görülmektedir. 1imq proteini ise geçiş sıcaklığı en yüksek protein iken, bariyer yüksekliği en büyük olan protein 1w4e proteinidir. 2bth ve 1w4e proteinleri dönüş kısımlarında beta yapısına benzer bir yapı içermektedir. Fakat katlanmış yapısı benzer olan bu proteinlerden 2bth proteininde bariyersiz bir geçiş ile birlikte hızlı açılma ve katlanma geçişleri gözlemlenirken, 1w4e proteini için en yüksek bariyer gözlemlenmektedir. Bunun nedenini, 2bth proteinindeki dönüş kısmının 1w4e proteininden daha kısa olmasına bağlıyoruz. Bu model kullanıldığında, 2bth, 1yza, 1enh, 1idy ve 1ss1 proteinleri için açılma ve katlanma geçişleri çok hızlı olup bariyersiz geçişler gözlemlenmektedir.

Çizelge 4.5’de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olduğu kısa erişimli Gō modeli için, yine 1yza proteininin en hızlı katlanan, 1imq proteininin en yavaş katlanan proteinler olduğu görülmektedir. 1yza, 1enh, 1idy ve 1ss1 proteinlerinde yine bu model için de açılma ve katlanma geçişleri çok hızlıdır ve bariyersiz geçişler gözlemlenmektedir.

**Çizelge 4.2.** Tamamen  $\alpha$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

ALFA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GÖ MODELİ- KISA ERİŞİM																	
PDB ID	$N$	$N_{\text{kata}}^{\text{kata}}$	$\frac{N_{\text{kata}}^{\text{kata}}}{N}$	$\frac{N_{\text{yo}}}{N}$	$k_m$	$k_f$	$OIGS$	$T_f$	$EDP$	$REDP$	$UEEP$ (12)	$\Delta G^\ddagger$	$E_{\text{min}}^D - E_{\text{min}}^N$	$\frac{E_{\text{kata}}}{N}$	$\frac{E_{\text{kata}}}{N_{\text{kata}}^{\text{kata}}}$	$E_{\text{kata}}$	$\sigma_{\text{kata}}$
2abd	86	163	1.89	1.12	1.50	1.05E+03	910029	0.604	25.65	0.29	1.07	0.23	35.00	-1.12	-0.59	-96.46	3.22
2bth	45	71	1.57	0.87	1.97E+04	1.13E+05	102947	0.599	12.32	0.27	0.64	0.00	0.00	-0.93	-0.59	-42.01	3.01
1yza	106	144	1.35	0.41	4.28	4.43E+03	172578	0.477	13.93	0.13	0.37	0.00	0.00	-0.80	-0.59	-85.21	2.17
1w4e	45	118	2.62	1.47	6.53E+02	2.75E+04	558831	0.792	12.94	0.28	1.16	1.99	54.00	-1.55	-0.59	-69.83	4.35
1ryk	69	127	1.84	1.01	1.24E+03	8.78E+03	216838	0.622	16.63	0.24	0.81	0.22	32.00	-1.09	-0.59	-75.15	3.06
1enh	54	99	1.83	1.02	6.92E+03	3.99E+04	262331	0.649	16.56	0.30	0.85	0.67	38.00	-1.08	-0.59	-58.58	3.03
1ayi	86	159	1.84	1.13	3.40E+01	1.34E+03	748807	0.603	22.18	0.26	0.91	1.61	62.00	-1.09	-0.59	-94.09	3.24
1imq	86	245	2.84	1.72	5.08E-01	1.52E+03	1.85E+06	0.793	22.08	0.25	1.42	1.93	108.00	-1.68	-0.59	-144.98	4.78
1lmb	80	156	1.95	1.08	3.70E+02	3.22E+04	454152	0.605	18.07	0.22	0.76	1.20	50.00	-1.15	-0.59	-92.31	3.06
1idy	54	104	1.92	0.81	4.58E+01	6.20E+03	148871	0.680	12.11	0.22	0.63	0.34	27.96	-1.32	-0.59	-61.54	3.54
1fex	59	137	2.32	1.10	9.38E+01	3.60E+03	341839	0.712	15.34	0.26	0.97	0.77	46.04	-1.37	-0.59	-81.07	3.84
1ba5	53	120	2.26	1.09	1.00E+01	3.70E+02	172634	0.736	12.62	0.24	0.91	0.35	40.00	-1.34	-0.59	-71.01	3.75
1w4j	51	119	2.33	1.22	3.71E+03	2.10E+05	305379	0.771	12.42	0.24	0.94	0.05	46.00	-1.38	-0.59	-70.42	4.27
1ss1	60	91	1.51	0.75	2.08E+02	9.68E+04	155925	0.569	13.81	0.23	0.58	0.06	18.00	-0.89	-0.59	-53.85	2.65

**Çizelge 4.3.** Tamamen  $\alpha$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ- UZUN ERİŞİM</b>																	
<b>PDB ID</b>	<b><math>N</math></b>	<b><math>N_{kath}^{kath}</math></b>	<b><math>\frac{N_{kath}^{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{yo}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b><math>OIGS</math></b>	<b><math>T_f</math></b>	<b><math>EDP</math></b>	<b><math>REDP</math></b>	<b><math>UEEP</math> (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{min}^D - E_{min}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}</math></b>	<b><math>E_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{kath}</math></b>
<b>2abd</b>	86	163	1.89	1.12	1.50	1.05E+03	544987	0.938	25.65	0.29	1.07	0.09	55.00	-1.89	-1	-163.00	3.22
<b>2bth</b>	45	71	1.57	0.87	1.97E+04	1.13E+05	102832	0.903	12.32	0.27	0.64	0.00	0.00	-1.58	-1	-71.00	3.01
<b>1yza</b>	106	144	1.35	0.41	4.28	4.43E+03	185783	0.726	13.93	0.13	0.37	0.00	0.00	-1.36	-1	-144.00	2.17
<b>1w4e</b>	45	118	2.62	1.47	6.53E+02	2.75E+04	230068	1.219	12.94	0.28	1.16	1.09	74.00	-2.62	-1	-118.00	4.35
<b>1ryk</b>	69	127	1.84	1.01	1.24E+03	8.78E+03	376448	0.945	16.63	0.24	0.81	0.10	48.00	-1.84	-1	-127.00	3.06
<b>1enh</b>	54	99	1.83	1.02	6.92E+03	3.99E+04	178796	0.981	16.56	0.30	0.85	0.19	48.00	-1.83	-1	-99.00	3.03
<b>1ayi</b>	86	159	1.84	1.13	3.40E+01	1.34E+03	525309	0.922	22.18	0.26	0.91	1.28	92.00	-1.85	-1	-159.00	3.24
<b>1imq</b>	86	245	2.84	1.72	5.08E-01	1.52E+03	847465	1.229	22.08	0.25	1.42	1.62	154.00	-2.85	-1	-245.00	4.78
<b>1lmb</b>	80	156	1.95	1.08	3.70E+02	3.22E+04	457366	0.928	18.07	0.22	0.76	0.96	82.00	-1.95	-1	-156.00	3.06
<b>1idy</b>	54	104	1.92	0.81	4.58E+01	6.20E+03	95180	1.022	12.11	0.22	0.63	0.08	32.00	-1.92	-1	-104.00	3.54
<b>1fex</b>	59	137	2.32	1.10	9.38E+01	3.60E+03	281730	1.084	15.34	0.26	0.97	0.35	60.00	-2.32	-1	-137.00	3.84
<b>1ba5</b>	53	120	2.26	1.09	1.00E+01	3.70E+02	115706	1.113	12.62	0.24	0.91	0.05	48.00	-2.26	-1	-120.00	3.75
<b>1w4j</b>	51	119	2.33	1.22	3.71E+03	2.10E+05	213837	1.92	12.42	0.24	0.94	0.57	60.00	-2.33	-1	-119.00	4.27
<b>1ssl</b>	60	91	1.51	0.75	2.08E+02	9.68E+04	185056	0.868	13.81	0.23	0.58	0.07	30.00	-1.52	-1	-91.00	2.65

**Çizelge 4.4.** Tamamen  $\alpha$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA PROTEİNLER/ - İTİCİ ETKİLEŞİM YOK- KISA ERİŞİM</b>																		
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	<b><math>N_{\text{kath}}^{\text{kath}}</math></b>	<b><math>\frac{N_{\text{kath}}^{\text{kath}}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{\text{YO}}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b>OIGS</b>	<b><math>T_f</math></b>	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{\text{min}}^D - E_{\text{min}}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{\text{kath}}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{\text{kath}}}{N_{\text{kath}}^{\text{kath}}}</math></b>	<b><math>E_{\text{kath}}</math></b>	<b><math>\sigma_{\text{kath}}</math></b>	<b><math>\sigma_{\text{enerji}}</math></b>
2abd	86	163	1.89	1.12	1.50	1.05E+03	2.09E+06	1.375	25.65	0.29	1.07	2.57	220.00	-3.61	-1.91	-310.80	3.22	7.69
2bth	45	71	1.57	0.87	1.97E+04	1.13E+05	147411	1.484	12.32	0.27	0.64	0.29	76.00	-3.50	-2.22	-157.72	3.01	9.22
1yza	106	144	1.35	0.41	4.28	4.43E+03	713397	1.110	13.93	0.13	0.37	0.02	6.00	-2.38	-1.75	-252.65	2.17	5.14
1w4e	45	118	2.62	1.47	6.53E+02	2.75E+04	1.56E+06	1.99	12.94	0.28	1.16	3.78	192.00	-5.59	-2.13	-251.73	4.35	11.62
1ryk	69	127	1.84	1.01	1.24E+03	8.78E+03	478469	1.416	16.63	0.24	0.81	0.84	112.00	-3.50	-1.90	-241.57	3.06	8.34
1enh	54	99	1.83	1.02	6.92E+03	3.99E+04	206963	1.574	16.56	0.30	0.85	0.12	64.00	-4.04	-2.20	-217.89	3.03	9.49
1ayi	86	159	1.84	1.13	3.40E+01	1.34E+03	487750	1.564	22.18	0.26	0.91	0.81	178.00	-4.21	-2.28	-362.48	3.24	10.40
1imq	86	245	2.84	1.72	5.08E-01	1.52E+03	1.13E+06	2.094	22.08	0.25	1.42	0.47	174.00	-6.28	-2.20	-540.05	4.78	14.25
1lmb	80	156	1.95	1.08	3.70E+02	3.22E+04	469908	1.582	18.07	0.22	0.76	0.98	178.00	-4.57	-2.35	-365.99	3.06	10.00
1idy	54	104	1.92	0.81	4.58E+01	6.20E+03	155938	1.698	12.11	0.22	0.63	0.13	82.00	-4.06	-2.11	-219.40	3.54	9.90
1fex	59	137	2.32	1.10	9.38E+01	3.60E+03	436258	1.711	15.34	0.26	0.97	0.98	152.00	-4.75	-2.05	-280.50	3.84	10.36
1ba5	53	120	2.26	1.09	1.00E+01	3.70E+02	451173	1.794	12.62	0.24	0.91	1.87	156.00	-4.69	-2.07	-248.82	3.75	10.71
1w4j	51	119	2.33	1.22	3.71E+03	2.10E+05	541701	1.851	12.42	0.24	0.94	2.25	160.00	-4.67	-2.00	-238.09	4.27	10.58
1ss1	60	91	1.51	0.75	2.08E+02	9.68E+04	167408	1.322	13.81	0.23	0.58	0.00	6.00	-3.21	-2.12	-192.87	2.65	7.92

**Çizelge 4.5.** Tamamen  $\alpha$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA PROTEİNLER/ HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ - İTİCİ ETKİLEŞİM VAR- KISA ERİŞİM</b>																		
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	<b><math>N_{kath}^{kontak}</math></b>	<b><math>\frac{N_{kath}^{kontak}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{yo}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b>OIGS</b>	<b><math>T_f</math></b>	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{min}^D - E_{min}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kontak}}</math></b>	<b><math>E_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{kontak}</math></b>	<b><math>\sigma_{enerji}</math></b>
2abd	86	163	1.89	1.12	1.50	1.05E+03	1.59E+07	1.403	25.65	0.29	1.07	4.58	235.00	-3.61	-1.91	-310.80	3.22	7.69
2bth	45	71	1.57	0.87	1.97E+04	1.13E+05	221975	1.516	12.32	0.27	0.64	0.95	100.00	-3.50	-2.22	-157.72	3.01	9.22
1yza	106	144	1.35	0.41	4.28	4.43E+03	1.04E+06	1.119	13.93	0.13	0.37	0.22	64.00	-2.38	-1.75	-252.65	2.17	5.14
1w4e	45	118	2.62	1.47	6.53E+02	2.75E+04	2.81E+06	2.019	12.94	0.28	1.16	4.27	194.00	-5.59	-2.13	-251.73	4.35	11.62
1ryk	69	127	1.84	1.01	1.24E+03	8.78E+03	697766	1.458	16.63	0.24	0.81	1.17	134.00	-3.50	-1.90	-241.57	3.06	8.34
1enh	54	99	1.83	1.02	6.92E+03	3.99E+04	264981	1.637	16.56	0.30	0.85	0.22	100.00	-4.04	-2.20	-217.89	3.03	9.49
1ayi	86	159	1.84	1.13	3.40E+01	1.34E+03	719686	1.593	22.18	0.26	0.91	0.75	176.00	-4.21	-2.28	-362.48	3.24	10.40
1imq	86	245	2.84	1.72	5.08E-01	1.52E+03	1.32E+06	2.107	22.08	0.25	1.42	0.67	176.00	-6.28	-2.20	-540.05	4.78	14.25
1lmb	80	156	1.95	1.08	3.70E+02	3.22E+04	891318	1.608	18.07	0.22	0.76	1.50	216.00	-4.57	-2.35	-365.99	3.06	10.00
1idy	54	104	1.92	0.81	4.58E+01	6.20E+03	161251	1.733	12.11	0.22	0.63	0.27	94.00	-4.06	-2.11	-219.40	3.54	9.90
1fex	59	137	2.32	1.10	9.38E+01	3.60E+03	677710	1.737	15.34	0.26	0.97	1.49	168.00	-4.75	-2.05	-280.50	3.84	10.36
1ba5	53	120	2.26	1.09	1.00E+01	3.70E+02	646870	1.818	12.62	0.24	0.91	2.25	160.00	-4.69	-2.07	-248.82	3.75	10.71
1w4j	51	119	2.33	1.22	3.71E+03	2.10E+05	823351	1.873	12.42	0.24	0.94	2.98	168.00	-4.67	-2.00	-238.09	4.27	10.58
1ss1	60	91	1.51	0.75	2.08E+02	9.68E+04	172638	1.337	13.81	0.23	0.58	0.00	15.18	-3.21	-2.12	-192.87	2.65	7.92

#### 4.1.2. Tamamen $\beta$ – yapısına sahip olan proteinler

Şekil 4.2’de gösterilen, tamamen  $\beta$  yapısına sahip olan proteinlerden 1e0l, 1e0m ve 1k9q proteinleri diğer proteinlerle karşılaştırıldıklarında daha kısa zincir uzunluğuna ve en büyük katlı durum enerjisi ile bariyersiz açılma ve katlanma geçişlerine sahiptirler. Bu proteinlerin dönüş kısımları aynı protein ailesine ait diğer proteinlerle karşılaştırıldıklarında daha kısadır. Bu özellikler proteinlerin katlanması için herhangi bir topolojik zorluk oluşturmadığı için proteinlerin daha hızlı katlanmalarını sağlamaktadır. Çizelge 4.6’da verilen homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli için, geçiş sıcaklığı en düşük olan protein 1mjc’ dir. 1e0l, 1e0m ve 1k9q proteinlerinin katlı durum enerjileri daha büyük, bariyer yükseklikleri ve bariyer genişlikleri daha küçüktür. Bu üç proteinin dışındaki proteinlerin yerel olmayan etkileşim sayıları yerel etkileşimlere göre çok daha büyüktür. Bu yüzden bariyer yükseklikleri ve bariyer genişlikleri daha fazladır ve daha uzun katlanma sürelerine sahiptirler. Bu model kullanıldığında en yüksek geçiş sıcaklığına ve en büyük bariyer yüksekliğine sahip olan proteinin 3ait proteini olduğu görülmüştür.

Çizelge 4.7’deki homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için değerler incelendiğinde, yine 1e0l, 1e0m ve 1k9q proteinleri bariyersiz olarak çok hızlı katlanırken, kısa erişime göre geçiş sıcaklıklarında düşme gözlemlenmiştir.

Çizelge 4.8’de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli için 1e0l, 1e0m, 1k9q proteinleri için küçük de olsa serbest enerji bariyeri mevcuttur. Bu model için bariyer yüksekliği en fazla olan protein 3ait iken, geçiş sıcaklığı en yüksek olan protein 1rlq’ dur. Bu yüzden 1rlq proteini, aynı protein ailesindeki diğer proteinlerden daha yavaş katlanmaktadır.

Çizelge 4.9’de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olduğu kısa erişimli Gō modeli için, 1k9q proteini bariyersiz olarak katlanırken, 1jo8, 1wit, 1e0m ve 1e0l proteinlerinde bariyersize yakın geçişler gözlemlenmektedir. Bu model için yine 1rlq proteini en büyük bariyer yüksekliğine ve geçiş sıcaklığına sahiptir. Homolog

proteinlerin katlanma karakteristiklerini açıklamak için, Fibronectin proteininin 9 ve 10. modülleri kullanılmaktadır. Fibronectin type III tamamen  $\beta$  yapılarından oluşmaktadır. Bu modüller benzer topoloji ve çekirdek (core) yapılarına sahip olmalarına rağmen, yapısal farkları ve dizi benzerlikleri oldukça düşüktür. Bu iki proteinin amino asit dizileri %28 benzerlik göstermektedir. Ayrıca deneysel olarak bu proteinlerin termodinamik ve kinetik davranışları araştırılmış ve 9FNIII proteininin 10FNIII proteininden daha yavaş katlanıp daha kararsız bir yapıya sahip olduğu bulunmuştur (Plaxco *et al.* 1997). Biz de yaptığımız kinetik analiz sonucunda 9FNIII proteininin 10FNIII proteininden daha yavaş katlandığını doğruladık.



**Çizelge 4.6.** Tamamen  $\beta$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>BETA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GÖ MODELİ-KISA ERİŞİM</b>																	
<b>PDB ID</b>	<b><math>N</math></b>	<b><math>N_{kath}^{kath}</math></b>	<b><math>\frac{N_{kath}^{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{yo}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b><math>OIGS</math></b>	<b><math>T_f</math></b>	<b><math>EDP</math></b>	<b><math>REDP</math></b>	<b><math>UEEP</math> (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{min}^D - E_{min}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}</math></b>	<b><math>E_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{kath}</math></b>
<b>1jo8</b>	58	149	2.56	2.29	2.4E-01	1.17E+01	5.26E+06	0.708	21.49	0.37	1.84	3.78	90.00	-1.52	-0.59	-88.17	4.06
<b>1mjc</b>	69	166	2.40	2.09	7.53	2.64E+02	6.39E+07	0.602	21.72	0.31	1.62	4.64	90.00	-1.42	-0.59	-98.23	4.05
<b>1c9o</b>	66	157	2.37	2.06	2.25	1.37E+03	3.59E+07	0.678	21.51	0.32	1.59	4.16	85.00	-1.41	-0.59	-92.90	3.95
<b>1csp</b>	67	160	2.37	2.09	4.56E+01	1.07E+03	4.06E+07	0.678	21.96	0.33	1.63	4.74	90.00	-1.41	-0.59	-94.68	4.06
<b>1g6p</b>	66	159	2.40	2.05	1.47E-01	5.65E+02	3.95E+06	0.664	20.38	0.31	1.64	2.25	90.00	-1.43	-0.59	-94.09	3.96
<b>1e0l</b>	37	71	1.91	1.46	1.79E+04	4.10E+04	148677	0.736	13.02	0.35	0.89	0.25	25.00	-1.13	-0.59	-42.01	3.56
<b>1shf</b>	59	137	2.32	2.12	8.03E-02	9.43E+01	7.55E+06	0.682	21.91	0.37	1.66	4.01	84.80	-1.37	-0.59	-81.07	3.91
<b>1shg</b>	57	142	2.49	2.23	2.85E-01	8.72	2.58E+07	0.703	21.40	0.37	1.75	5.44	85.00	-1.47	-0.59	-84.03	4.12
<b>1rlq</b>	56	162	2.89	2.59	5.67E+01	5.67E+01	1.08E+07	0.775	21.47	0.38	2.02	4.76	100.00	-1.71	-0.59	-95.86	4.75
<b>3ait</b>	74	235	3.17	2.76	1.30E-02	6.66E+01	2.58E+08	0.801	25.91	0.35	2.36	7.84	140.00	-1.88	-0.59	-139.06	4.98
<b>1wit</b>	93	252	2.70	2.43	5.97E-03	1.50	2.95E+06	0.621	33.90	0.36	2.14	3.09	135.00	-1.60	-0.59	-149.12	4.08
<b>1e0m</b>	37	76	2.05	1.46	4.53E+03	7.00E+03	181262	0.727	11.84	0.32	0.86	0.35	30.00	-1.22	-0.59	-44.97	3.56
<b>1k9q</b>	40	85	2.12	1.68	2.25E+03	4.30E+03	227627	0.732	14.91	0.37	1.15	0.53	35.00	-1.26	-0.59	-50.30	3.82
<b>1pnj</b>	86	226	2.62	2.33	1.60E-02	3.53E-01	2.87E+06	0.958	29.59	0.34	1.95	1.93	80.00	-1.58	-0.59	-133.14	4.60
<b>1ten</b>	89	226	2.54	2.36	2.48E-03	6.02	7.61E+08	0.690	30.46	0.34	2.03	7.29	135.00	-1.50	-0.59	-133.74	3.91

**Çizelge 4.7.** Tamamen  $\beta$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>BETA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GÖ MODELİ-UZUN ERİŞİM</b>																	
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	$N_{kath}^{kontak}$	$\frac{N_{kath}^{kontak}}{N}$	$\frac{N_{yo}}{N}$	$k_m$	$k_f$	<b>OIGS</b>	$T_f$	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	$\Delta G^\ddagger$	$E_{min}^D - E_{min}^N$	$\frac{E_{kath}}{N}$	$\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kontak}}$	$E_{kath}$	$\sigma_{kontak}$
<b>1jo8</b>	58	149	2.56	2.29	2.4E-01	1.17E+01	1.29E+06	1.116	21.49	0.37	1.84	2.29	115.00	-2.57	-1	-149.00	4.06
<b>1mjc</b>	69	166	2.40	2.09	7.53	2.64E+02	1.62E+06	1.063	21.72	0.31	1.62	2.61	115.00	-2.41	-1	-166.00	4.05
<b>1c9o</b>	66	157	2.37	2.06	2.25	1.37E+03	1.17E+06	1.056	21.51	0.32	1.59	2.12	115.00	-2.38	-1	-157.00	3.95
<b>1csp</b>	67	160	2.37	2.09	4.56E+01	1.07E+03	1.57E+06	1.066	21.96	0.33	1.63	2.40	115.00	-2.38	-1	-160.00	4.06
<b>1g6p</b>	66	159	2.40	2.05	1.47E-01	5.65E+02	1.12E+06	1.042	20.38	0.31	1.64	2.08	120.00	-2.41	-1	-159.00	3.96
<b>1e0l</b>	37	71	1.91	1.46	1.79E+04	4.10E+04	94824	1.129	13.02	0.35	0.89	0.00	0.00	-1.92	-1	-71.00	3.56
<b>1fnf<sub>3</sub></b>	90	268	2.97	2.76	2.22E-01	4.00E-01	1.14E+07	1.237	32.03	0.35	2.37	4.41	207.00	-2.97	-1	-268.00	4.66
<b>1fnf<sub>4</sub></b>	94	263	2.79	2.63	3.83E-01	1.55E+02	7.47E+06	1.207	30.25	0.32	2.34	3.94	201.00	-2.79	-1	-263.00	4.47
<b>1shf</b>	59	137	2.32	2.12	8.03E-02	9.43E+01	912112	1.082	21.91	0.37	1.66	2.20	110.00	-2.32	-1	-137.00	3.91
<b>1shg</b>	57	142	2.49	2.23	2.85E-01	8.72	1.96E+06	1.115	21.40	0.37	1.75	3.03	110.00	-2.49	-1	-142.00	4.12
<b>1rlq</b>	56	162	2.89	2.59	5.67E+01	5.67E+01	1.19E+06	1.233	21.47	0.38	2.02	2.81	130.00	-2.89	-1	-162.00	4.75
<b>3ait</b>	74	235	3.17	2.76	1.30E-02	6.66E+01	9.39E+06	1.288	25.91	0.35	2.36	4.97	190.00	-3.17	-1	-235.00	4.98
<b>1wit</b>	93	252	2.70	2.43	5.97E-03	1.50	2.65E+06	1.038	33.90	0.36	2.14	3.06	195.00	-2.71	-1	-252.00	4.08
<b>1e0m</b>	37	76	2.05	1.46	4.53E+03	7.00E+03	113378	1.109	11.84	0.32	0.86	0.00	0.00	-2.05	-1	-76.00	3.56
<b>1k9q</b>	40	85	2.12	1.68	2.25E+03	4.30E+03	182211	1.138	14.91	0.37	1.15	0.00	0.00	-2.13	-1	-85.00	3.82
<b>1pnj</b>	86	226	2.62	2.33	1.60E-02	3.53E-01	276479	1.506	29.59	0.34	1.95	0.00	0.00	-2.68	-1	-225.00	4.60
<b>1ten</b>	89	226	2.54	2.36	2.48E-03	6.02	3.26E+06	1.089	30.46	0.34	2.03	2.99	160.00	-2.54	-1	-226.00	3.91

**Çizelge 4.8.** Tamamen  $\beta$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>BETA PROTEİNLER/ HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ - İTİCİ ETKİLEŞİM YOK- KISA ERİŞİM</b>																		
PDB ID	$N$	$N_{\text{kontak}}^{\text{nat}}$	$\frac{N_{\text{kontak}}^{\text{nat}}}{N}$	$\frac{N_{\text{yo}}}{N}$	$k_m$	$k_f$	$OIGS$	$T_f$	$EDP$	$REDP$	$UEEP$ (12)	$\Delta G^\ddagger$	$E_{\text{min}}^D - E_{\text{min}}^N$	$\frac{E_{\text{katlı}}}{N}$	$\frac{E_{\text{katlı}}}{N_{\text{katlı}}}$	$E_{\text{katlı}}$	$\sigma_{\text{kontakt}}$	$\sigma_{\text{enerji}}$
1jo8	58	149	2.56	2.29	2.4E-01	1.17E+01	1.47E+06	1.827	21.49	0.37	1.84	1.78	240.00	-5.75	-2.24	-333.30	4.06	11.75
1mjc	69	166	2.40	2.09	7.53	2.64E+02	5.83E+06	1.703	21.72	0.31	1.62	3.25	240.00	-5.16	-2.14	-355.86	4.05	10.89
1e9o	66	157	2.37	2.06	2.25	1.37E+03	1.44E+07	1.716	21.51	0.32	1.59	4.72	245.00	-5.24	-2.20	-345.93	3.95	10.85
1csp	67	160	2.37	2.09	4.56E+01	1.07E+03	4.29E+06	1.747	21.96	0.33	1.63	3.24	240.00	-5.32	-2.23	-356.11	4.06	11.27
1g6p	66	159	2.40	2.05	1.47E-01	5.65E+02	9.10E+06	1.626	20.38	0.31	1.64	4.08	250.00	-5.01	-2.08	-330.55	3.96	10.51
1e0l	37	71	1.91	1.46	1.79E+04	4.10E+04	149480	1.514	13.02	0.35	0.89	0.58	75.00	-3.30	-1.72	-122.13	3.56	7.31
1fnf <sub>3</sub>	90	268	2.97	2.76	2.22E-01	4.00E-01	4.44E+07	1.943	32.03	0.35	2.37	6.24	420.00	-6.18	-2.07	-555.78	4.66	12.00
1fnf <sub>4</sub>	94	263	2.79	2.63	3.83E-01	1.55E+02	2.49E+07	1.883	30.25	0.32	2.34	5.02	375.00	-5.76	-2.06	-541.32	4.47	11.62
1shf	59	137	2.32	2.12	8.03E-02	9.43E+01	1.90E+06	1.796	21.91	0.37	1.66	3.33	245.00	-5.25	-2.26	-309.54	3.91	11.14
1shg	57	142	2.49	2.23	2.85E-01	8.72	3.07E+06	1.881	21.40	0.37	1.75	3.84	265.00	-5.71	-2.29	-325.25	4.12	11.49
1rlq	56	162	2.89	2.59	5.67E+01	5.67E+01	2.11E+07	2.102	21.47	0.38	2.02	6.34	295.00	-6.57	-2.27	-368.02	4.75	13.52
3ait	74	235	3.17	2.76	1.30E-02	6.66E+01	5.64E+07	1.829	25.91	0.35	2.36	7.08	350.00	-5.91	-1.86	-437.62	4.98	11.13
1wit	93	252	2.70	2.43	5.97E-03	1.50	4.25E+06	1.629	33.90	0.36	2.14	3.75	350.00	-5.56	-2.05	-516.98	4.08	11.11
1e0m	37	76	2.05	1.46	4.53E+03	7.00E+03	218409	1.436	11.84	0.32	0.86	0.60	75.00	-3.33	-1.62	-123.10	3.56	7.03
1k9q	40	85	2.12	1.68	2.25E+03	4.30E+03	240134	1.716	14.91	0.37	1.15	0.38	80.00	-4.19	-1.97	-167.58	3.82	9.36
1pnj	86	226	2.62	2.33	1.60E-02	3.53E-01	269073	2.186	29.59	0.34	1.95	0.15	90.00	-4.68	-1.78	-402.44	4.60	11.71
1ten	89	226	2.54	2.36	2.48E-03	6.02	4.95E+06	1.671	30.46	0.34	2.03	3.38	330.00	-5.16	-2.03	-459.33	3.91	10.37

**Çizelge 4.9.** Tamamen  $\beta$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>BETA PROTEİNLER/ HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ - İTİCİ ETKİLEŞİM VAR- KISA ERİŞİM</b>																		
PDB ID	$N$	$N_{kath}^{kath}$	$\frac{N_{kath}^{kath}}{N}$	$\frac{N_{yo}}{N}$	$k_m$	$k_f$	$OIGS$	$T_f$	EDP	REDP	UEEP (12)	$\Delta G^\ddagger$	$E_{min}^D - E_{min}^N$	$\frac{E_{kath}}{N}$	$\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}$	$E_{kath}$	$\sigma_{kath}$	$\sigma_{enerji}$
1jo8	58	149	2.56	2.29	2.4E-01	1.17E+01	1.81E+06	1.836	21.49	0.37	1.84	0.84	129.52	-5.75	-2.24	-333.30	4.06	11.75
1mjc	69	166	2.40	2.09	7.53	2.64E+02	7.36E+06	1.702	21.72	0.31	1.62	4.25	255.00	-5.16	-2.14	-355.86	4.05	10.89
1c9o	66	157	2.37	2.06	2.25	1.37E+03	9.72E+06	1.684	21.51	0.32	1.59	6.31	255.00	-5.24	-2.20	-345.93	3.95	10.85
1csp	67	160	2.37	2.09	4.56E+01	1.07E+03	3.98E+06	1.730	21.96	0.33	1.63	3.70	245.00	-5.32	-2.23	-356.11	4.06	11.27
1g6p	66	159	2.40	2.05	1.47E-01	5.65E+02	1.38E+07	1.624	20.38	0.31	1.64	4.06	260.00	-5.01	-2.08	-330.55	3.96	10.51
1e0l	37	71	1.91	1.46	1.79E+04	4.10E+04	173389	1.509	13.02	0.35	0.89	0.98	90.00	-3.30	-1.72	-122.13	3.56	7.31
1fnf <sub>3</sub>	90	268	2.97	2.76	2.22E-01	4.00E-01	8.98E+07	1.929	32.03	0.35	2.37	8.34	435.00	-6.18	-2.07	-555.78	4.66	12.00
1fnf <sub>4</sub>	94	263	2.79	2.63	3.83E-01	1.55E+02	6.57E+07	1.878	30.25	0.32	2.34	6.42	405.00	-5.76	-2.06	-541.32	4.47	11.62
1shf	59	137	2.32	2.12	8.03E-02	9.43E+01	1.27E+07	1.806	21.91	0.37	1.66	4.87	250.00	-5.25	-2.26	-309.54	3.91	11.14
1shg	57	142	2.49	2.23	2.85E-01	8.72	1.63E+07	1.891	21.40	0.37	1.75	8.23	305.00	-5.71	-2.29	-325.25	4.12	11.49
1rlq	56	162	2.89	2.59	5.67E+01	5.67E+01	8.66E+07	2.127	21.47	0.38	2.02	7.86	355.00	-6.57	-2.27	-368.02	4.75	13.52
3ait	74	235	3.17	2.76	1.30E-02	6.66E+01	1.75E+08	1.845	25.91	0.35	2.36	5.07	375.00	-5.91	-1.86	-437.62	4.98	11.13
1wit	93	252	2.70	2.43	5.97E-03	1.50	6.04E+06	1.612	33.90	0.36	2.14	0.93	80.00	-5.56	-2.05	-516.98	4.08	11.11
1e0m	37	76	2.05	1.46	4.53E+03	7.00E+03	236771	1.445	11.84	0.32	0.86	0.77	95.00	-3.33	-1.62	-123.10	3.56	7.03
1k9q	40	85	2.12	1.68	2.25E+03	4.30E+03	276586	1.726	14.91	0.37	1.15	0.00	0.00	-4.19	-1.97	-167.58	3.82	9.36
1ten	89	226	2.54	2.36	2.48E-03	6.02	2.74E+07	1.667	30.46	0.34	2.03	5.31	360.00	-5.16	-2.03	-459.33	3.91	10.37

### 4.1.3. $\alpha + \beta$ yapısına sahip olan proteinler

Çizelge 4.10'da verilen homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli için, zincir uzunluğu en büyük ve katlı durumdaki etkileşim sayısı en fazla olan protein 1k0s, en düşük olan protein ise 2ptl' dir. Katlı durum enerjisi en küçük olan protein ise yine 1k0s proteinidir. Serbest enerji bariyeri en yüksek olan protein 2acy iken, en düşük olan protein ise 1bf4' dür. Bunun nedeninin Şekil 4.3 incelendiğinde 1bf4 proteininin daha kısa dönüş bölgelerine sahip olması olduğunu düşünmekteyiz.

Çizelge 4.11'deki homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için, 1pgb ve 1bf4 proteinlerinde bariyersize yakın davranış gözlemlenirken, en yüksek bariyer ve en büyük bariyer genişliği 1e65 proteinine aittir.

Çizelge 4.12'de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli için, yine en düşük bariyer yüksekliği 1bf4 proteinine, en büyük bariyer ve geçiş sıcaklığı ise uzun dönüş bölgelerine sahip 1rfa proteinine aittir.

Çizelge 4.13'de verilen heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli incelendiğinde, küçük bir bariyerle 1bf4 proteini en düşük bariyer yüksekliğine sahipken, geçiş sıcaklığı en büyük olan protein 1spr ve bariyer yüksekliği en büyük olan protein ise 2qjl proteinidir. Bu iki proteinlerin Şekil 4.3' deki topolojik gösterimleri incelendiğinde, 1spr proteinindeki dönüş bölgeleri ve beta plakaların uzunlukları daha büyüktür. Bu özellik de 1spr proteininin daha yavaş katlanmasına sebebiyet vermektedir.

Homojen etkileşimli- kısa erişimli Gō modeli, homojen etkileşimli- uzun erişimli Gō modeli, heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli ve heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olduğu kısa erişimli Gō modeli olmak üzere dört farklı etkileşim modelini kullanarak  $\alpha, \beta, \alpha + \beta$  ve bu üç protein ailesindeki

proteinlerin tamamı üzerinden katlanmakinetiğini etkileyen parametrelerin belirlenmesi için katlanma oranları ile olan korelasyonlarını elde ettik.

Aşağıdaki şekillerde siyah çizgi, homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modelini; kırmızı çizgi, homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modelini; yeşil çizgiler, heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modelini ve mavi çizgiler ise heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modelini göstermektedir.

**Çizelge 4.10.**  $\alpha + \beta$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, kısa erişimli G $\ddot{o}$  modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA+BETA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ- KISA ERİŞİM</b>																	
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	<b><math>N_{kath}^{kath}</math></b>	<b><math>\frac{N_{kath}^{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{yo}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b>OIGS</b>	<b><math>T_f</math></b>	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{min}^D - E_{min}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}</math></b>	<b><math>E_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{kath}</math></b>
1o6x	81	148	1.82	1.37	8.32	7.58E+02	4.58E+06	0.636	27.71	0.34	1.17	5.83	105.00	-1.08	-0.59	-87.58	3.29
2ci2	64	142	2.12	1.80	5.01E-02	4.78E+01	4.48E+06	0.656	22.28	0.34	1.59	2.79	75.00	-1.31	-0.59	-84.03	3.79
1pgb	56	121	2.16	1.68	1.12	4.12E+02	1.86E+06	0.663	20.31	0.36	1.34	2.08	55.11	-1.28	-0.59	-71.60	3.67
2ptl	62	134	2.16	1.76	2.96E-01	6.06E+01	4.83E+06	0.644	21.61	0.34	1.39	2.97	65.00	-1.28	-0.59	-79.29	3.53
1ris	97	225	2.32	1.93	4.49E-02	3.32E+02	1.19E+08	0.678	38.36	0.39	1.78	5.33	125.00	-1.37	-0.59	-133.14	3.72
1spr	103	279	2.71	2.13	5.11E-01	6.25E+03	3.98E+06	0.729	24.85	0.24	1.58	2.00	140.00	-1.60	-0.59	-165.10	4.42
1bf4	63	145	2.30	1.75	3.46	1.04E+03	585099	0.690	17.29	0.27	1.25	0.38	50.00	-1.36	-0.59	-85.80	3.91
1ubq	76	178	2.34	1.83	4.49E-01	1.52E+03	2.02E+07	0.679	24.78	0.32	1.51	4.95	95.00	-1.38	-0.59	-105.33	3.85
2acy	98	254	2.94	2.15	2.37E-02	2.31	1.05E+08	0.704	38.27	0.39	1.99	8.40	145	-1.53	-0.59	-150.30	4.01
1k0s	151	323	2.14	1.79	1.29E-02	1.70E+03	9.49E+08	0.656	38.75	0.25	1.47	4.54	165	-1.26	-0.59	-191.14	3.86
1div	92	213	2.31	1.74	2.41E-02	2.63E+01	3.89E+08	0.675	28.18	0.31	2.56	5.83	105.00	-1.37	-0.59	-126.04	3.70
1rfa	78	237	3.04	2.42	1.68	4.27E+03	3.46E+08	0.786	25.39	0.32	1.99	6.42	130.00	-1.79	-0.59	-140.24	4.68
1urn	96	219	2.28	1.77	1.37	3.78E+01	1.33E+08	0.674	33.23	0.34	1.61	6.66	115.00	-1.35	-0.59	-129.59	3.77
1poh	85	201	2.36	1.85	9.97E-02	1.49E+01	1.72E+07	0.660	31.89	0.37	1.62	4.18	150.00	-1.40	-0.59	-118.94	3.68

**Çizelge 4.11.**  $\alpha + \beta$  yapısına sahip proteinler için homojen etkileşimli, uzun erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA+BETA PROTEİNLER/ HOMOJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ- UZUN ERİŞİM</b>																	
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	$\frac{N_{kathit}}{N_{kontak}}$	$\frac{N_{kath}}{N_{kontak}}$	$\frac{N_{yo}}{N}$	$k_m$	$k_f$	<b>OIGS</b>	$T_f$	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	$\Delta G^\ddagger$	$E_{min}^D - E_{min}^N$	$\frac{E_{kath}}{N}$	$\frac{E_{kath}}{N_{kath}}$	$E_{kath}$	$\sigma_{kontak}$
<b>1o6x</b>	81	148	1.82	1.37	8.32	7.58E+02	799436	0.996	27.71	0.34	1.17	3.29	145.00	-1.83	-1	-148.00	3.29
<b>2ci2</b>	64	142	2.12	1.80	5.01E-02	4.78E+01	890171	1.028	22.28	0.34	1.59	1.76	105.00	-2.22	-1	-142.00	3.79
<b>1pgb</b>	56	121	2.16	1.68	1.12	4.12E+02	416371	1.016	20.31	0.36	1.34	0.70	70.00	-2.16	-1	-121.00	3.67
<b>2ptl</b>	62	134	2.16	1.76	2.96E-01	6.06E+01	533138	1.004	21.61	0.34	1.39	1.18	85.00	-2.16	-1	-134.00	3.53
<b>1ris</b>	97	225	2.32	1.93	4.49E-02	3.32E+02	1.20E+06	1.073	38.36	0.39	1.78	1.28	154.51	-2.32	-1	-225.00	3.72
<b>1spr</b>	103	279	2.71	2.13	5.11E-01	6.25E+03	1.05E+06	1.137	24.85	0.24	1.58	1.17	175.00	-2.70	-1	-279.00	4.42
<b>1bf4</b>	63	145	2.30	1.75	3.46	1.04E+03	270018	1.049	17.29	0.27	1.25	0.61	40.00	-2.30	-1	-145.00	3.91
<b>1ubq</b>	76	178	2.34	1.83	4.49E-01	1.52E+03	1.94E+06	1.062	24.78	0.32	1.51	2.89	135.00	-2.34	-1	-178.00	3.85
<b>2acy</b>	98	254	2.94	2.15	2.37E-02	2.31	4.85E+06	1.125	38.27	0.39	1.99	3.83	200.00	-2.59	-1	-254.00	4.01
<b>1e65</b>	128	337	2.63	2.31	1.13	1.36E+02	9.52E+07	1.131	40.81	0.32	2.05	6.80	280.00	-2.63	-1	-337.00	4.29
<b>1k0s</b>	151	323	2.14	1.79	1.29E-02	1.70E+03	1.00E+07	1.025	38.75	0.25	1.47	2.97	215.00	-2.14	-1	-323.00	3.86
<b>1fkb</b>	107	285	2.66	2.24	9.62E-03	4.30	8.75E+06	1.118	37.46	0.35	2.01	3.98	210.00	-2.66	-1	-285.00	3.96
<b>1n88</b>	96	286	2.98	2.31	6.27E-02	2.04E+01	5.80E+06	1.289	28.63	0.29	2.14	4.28	195.00	-2.98	-1	-286.00	4.86
<b>1div</b>	92	213	2.31	1.74	2.41E-02	2.63E+01	2.90E+06	1.053	28.18	0.31	2.56	3.29	145.00	-2.31	-1	-213.00	3.70
<b>1rfa</b>	78	237	3.04	2.42	1.68	4.27E+03	7.49E+06	1.249	25.39	0.32	1.99	4.20	170.00	-3.03	-1	-237.00	4.68
<b>1urn</b>	96	219	2.28	1.77	1.37	3.78E+01	4.93E+07	1.065	33.23	0.34	1.61	4.06	160.00	-2.28	-1	-219.00	3.77
<b>2qjl</b>	99	239	2.41	1.81	9.17E-01	1.32E+01	5.26E+06	1.054	30.55	0.31	1.63	3.99	175.00	-2.41	-1	-239.00	3.94
<b>1poh</b>	85	201	2.36	1.85	9.97E-02	1.49E+01	2.61E+06	1.045	31.89	0.37	1.62	2.46	150.00	-2.36	-1	-201.00	3.68

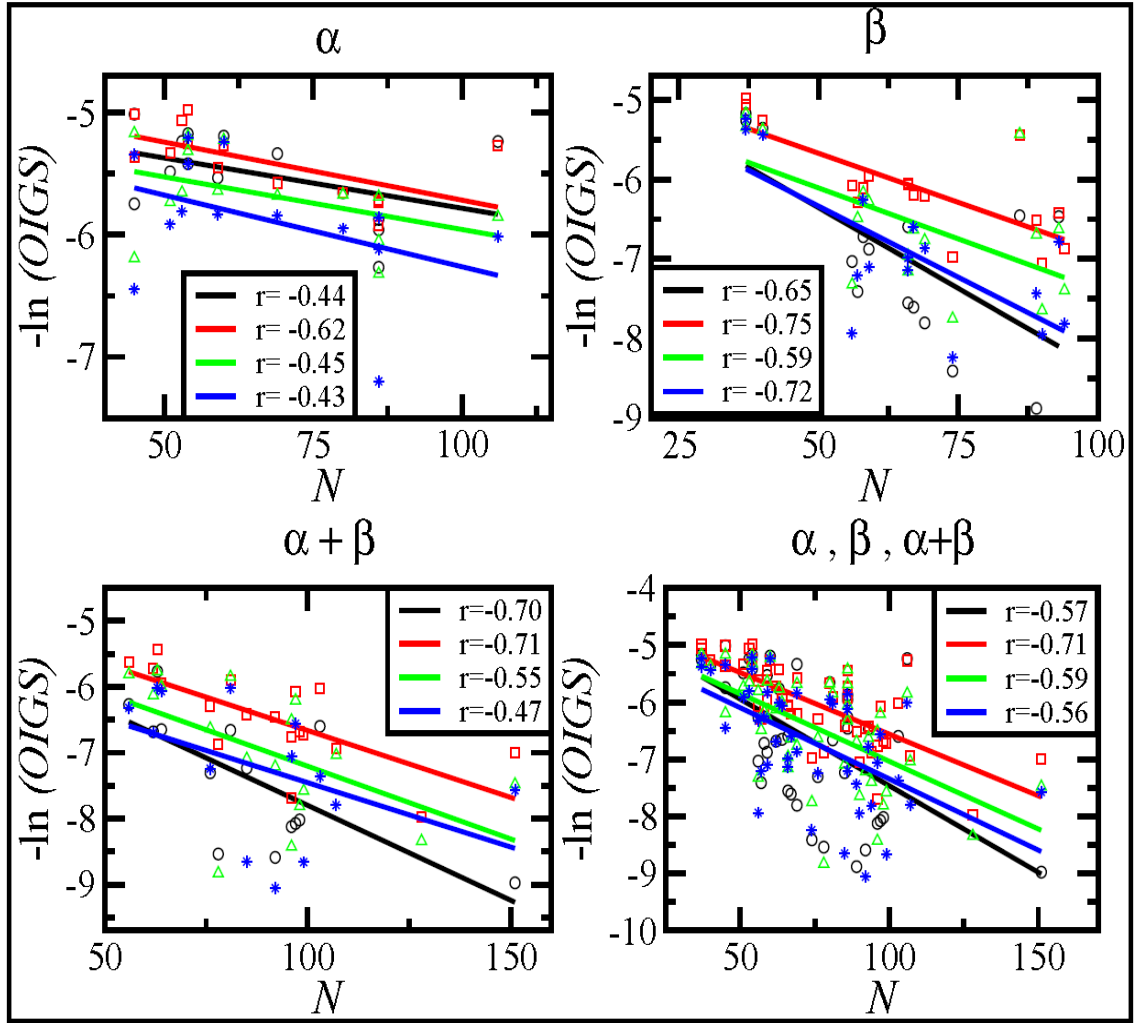


**Çizelge 4.12.**  $\alpha + \beta$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA+BETA PROTEİNLER/ HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ - İTİCİ ETKİLEŞİM YOK- KISA ERİŞİM</b>																		
PDB ID	$N$	$N_{kath}^{kath}$	$\frac{N_{kath}^{kath}}{N}$	$\frac{N_{yo}}{N}$	$k_m$	$k_f$	$OIGS$	$T_f$	$EDP$	$REDP$	$UEEP (12)$	$\Delta G^\ddagger$	$E_{min}^D - E_{min}^N$	$\frac{E_{kath}}{N}$	$\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}$	$E_{kath}$	$\sigma_{kath}$	$\sigma_{enerji}$
1o6x	81	148	1.82	1.37	8.32	7.58E+02	705592	1.591	27.71	0.34	1.17	5.60	340.00	-4.01	-2.19	-324.76	3.29	8.92
2ci2	64	142	2.12	1.80	5.01E-02	4.78E+01	1.01E+06	1.644	22.28	0.34	1.59	1.82	185.00	-4.88	-2.20	-312.47	3.79	10.35
1pgb	56	121	2.16	1.68	1.12	4.12E+02	642289	1.596	20.31	0.36	1.34	1.10	135.00	-4.37	-2.02	-244.95	3.67	9.74
2ptl	62	134	2.16	1.76	2.96E-01	6.06E+01	1.34E+06	1.599	21.61	0.34	1.39	2.38	215.00	-4.61	-2.13	-285.96	3.53	9.52
1ris	97	225	2.32	1.93	4.49E-02	3.32E+02	1.61E+06	1.695	38.36	0.39	1.78	1.46	265.00	-5.08	-2.19	-492.45	3.72	10.25
1bf4	63	145	2.30	1.75	3.46	1.04E+03	581241	1.740	17.29	0.27	1.25	0.54	180.00	-4.83	-2.10	-304.56	3.91	11.18
1ubq	76	178	2.34	1.83	4.49E-01	1.52E+03	4.29E+06	1.809	24.78	0.32	1.51	3.25	275.00	-5.42	-2.31	-412.01	3.85	11.90
2acy	98	254	2.94	2.15	2.37E-02	2.31	6.51E+07	1.776	38.27	0.39	1.99	6.71	435.00	-5.53	-2.13	-541.70	4.01	11.17
1e65	128	337	2.63	2.31	1.13	1.36E+02	2.20E+08	1.860	40.81	0.32	2.05	6.91	555.00	-5.87	-2.23	-751.36	4.29	12.21
1k0s	151	323	2.14	1.79	1.29E-02	1.70E+03	3.03E+07	1.887	38.75	0.25	1.47	3.11	380.00	-5.24	-2.45	-791.54	3.86	11.90
1fkb	107	285	2.66	2.24	9.62E-03	4.30	1.09E+07	1.826	37.46	0.35	2.01	3.52	350.00	-5.72	-2.15	-611.61	3.96	11.17
1n88	96	286	2.98	2.31	6.27E-02	2.04E+01	2.68E+08	2.09	28.63	0.29	2.14	8.45	429.56	-6.23	-2.09	-597.98	4.86	13.44
1div	92	213	2.31	1.74	2.41E-02	2.63E+01	1.63E+07	1.787	28.18	0.31	2.56	5.60	340.00	-5.27	-2.28	-484.62	3.70	11.63
1rfa	78	237	3.04	2.42	1.68	4.27E+03	6.78E+08	2.161	25.39	0.32	1.99	8.60	425.00	-7.04	-2.32	-549.19	4.68	13.74
1urn	96	219	2.28	1.77	1.37	3.78E+01	3.24E+06	1.837	33.23	0.34	1.61	2.61	305.00	-5.32	-2.33	-510.25	3.77	11.74
2qjl	99	239	2.41	1.81	9.17E-01	1.32E+01	3.80E+07	1.815	30.55	0.31	1.63	6.18	415.00	-5.70	-2.36	-564.57	3.94	11.96
1poh	85	201	2.36	1.85	9.97E-02	1.49E+01	1.24E+07	1.640	31.89	0.37	1.62	5.61	335.00	-5.11	-2.16	-434.15	3.68	10.71

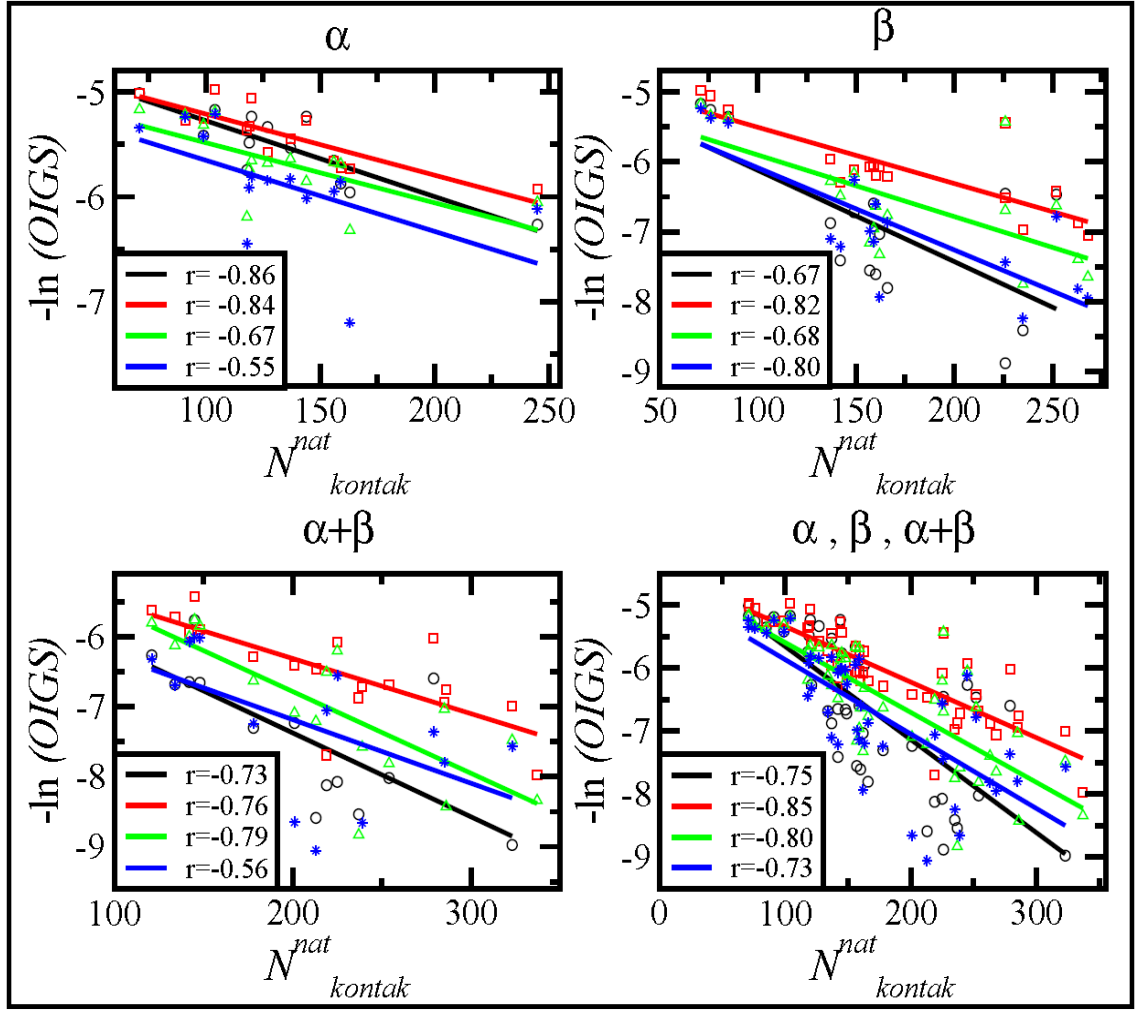
**Çizelge 4.13.**  $\alpha + \beta$  yapısına sahip proteinler için heterojen etkileşimli, itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli kullanılarak hesaplanan parametrelerin gösterilmesi.

<b>ALFA+BETA PROTEİNLER/ HETEROJEN ETKİLEŞİMLİ GO MODELİ - İTİCİ ETKİLEŞİM VAR- KISA ERİŞİM</b>																		
<b>PDB ID</b>	<b>N</b>	<b><math>N_{kath}^{kath}</math></b>	<b><math>\frac{N_{kath}^{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{N_{yo}}{N}</math></b>	<b><math>k_m</math></b>	<b><math>k_f</math></b>	<b>OIGS</b>	<b><math>T_f</math></b>	<b>EDP</b>	<b>REDP</b>	<b>UEEP (12)</b>	<b><math>\Delta G^\ddagger</math></b>	<b><math>E_{min}^D - E_{min}^N</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N}</math></b>	<b><math>\frac{E_{kath}}{N_{kath}^{kath}}</math></b>	<b><math>E_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{kath}</math></b>	<b><math>\sigma_{enerji}</math></b>
1o6x	81	148	1.82	1.37	8.32	7.58E+02	1.06E+06	1.609	27.71	0.34	1.17	2.03	225.00	-4.01	-2.19	-324.76	3.29	8.92
2ci2	64	142	2.12	1.80	5.01E-02	4.78E+01	1.17E+06	1.674	22.28	0.34	1.59	2.19	195.00	-4.88	-2.20	-312.47	3.79	10.35
1pgb	56	121	2.16	1.68	1.12	4.12E+02	2.09E+06	1.595	20.31	0.36	1.34	2.64	175.00	-4.37	-2.02	-244.95	3.67	9.74
2ptl	62	134	2.16	1.76	2.96E-01	6.06E+01	4.99E+06	1.613	21.61	0.34	1.39	4.26	235.00	-4.61	-2.13	-285.96	3.53	9.52
1iris	97	225	2.32	1.93	4.49E-02	3.32E+02	3.65E+06	1.715	38.36	0.39	1.78	2.82	350.00	-5.08	-2.19	-492.45	3.72	10.25
1spr	103	279	2.71	2.13	5.11E-01	6.25E+03	2.32E+07	1.922	24.85	0.24	1.58	3.89	445.00	-5.98	-2.21	-615.72	4.42	12.71
1bf4	63	145	2.30	1.75	3.46	1.04E+03	1.03E+06	1.746	17.29	0.27	1.25	1.83	220.00	-4.83	-2.10	-304.56	3.91	11.18
1ubq	76	178	2.34	1.83	4.49E-01	1.52E+03	1.75E+07	1.825	24.78	0.32	1.51	5.04	300.00	-5.42	-2.31	-412.01	3.85	11.90
1k0s	151	323	2.14	1.79	1.29E-02	1.70E+03	3.73E+07	1.877	38.75	0.25	1.47	3.68	420.00	-5.24	-2.45	-791.54	3.86	11.90
1fkb	107	285	2.66	2.24	9.62E-03	4.30	6.26E+07	1.828	37.46	0.35	2.01	6.46	400.00	-5.72	-2.15	-611.61	3.96	11.17
1div	92	213	2.31	1.74	2.41E-02	2.63E+01	1.14E+09	1.825	28.18	0.31	2.56	8.04	365.00	-5.27	-2.28	-484.62	3.70	11.63
1urn	96	219	2.28	1.77	1.37	3.78E+01	1.15E+07	1.842	33.23	0.34	1.61	4.15	345.00	-5.32	-2.33	-510.25	3.77	11.74
2qjl	99	239	2.41	1.81	9.17E-01	1.32E+01	4.60E+08	1.841	30.55	0.31	1.63	8.52	430.00	-5.70	-2.36	-564.57	3.94	11.96
1poh	85	201	2.36	1.85	9.97E-02	1.49E+01	4.50E+08	1.671	31.89	0.37	1.62	7.78	355.00	-5.11	-2.16	-434.15	3.68	10.71



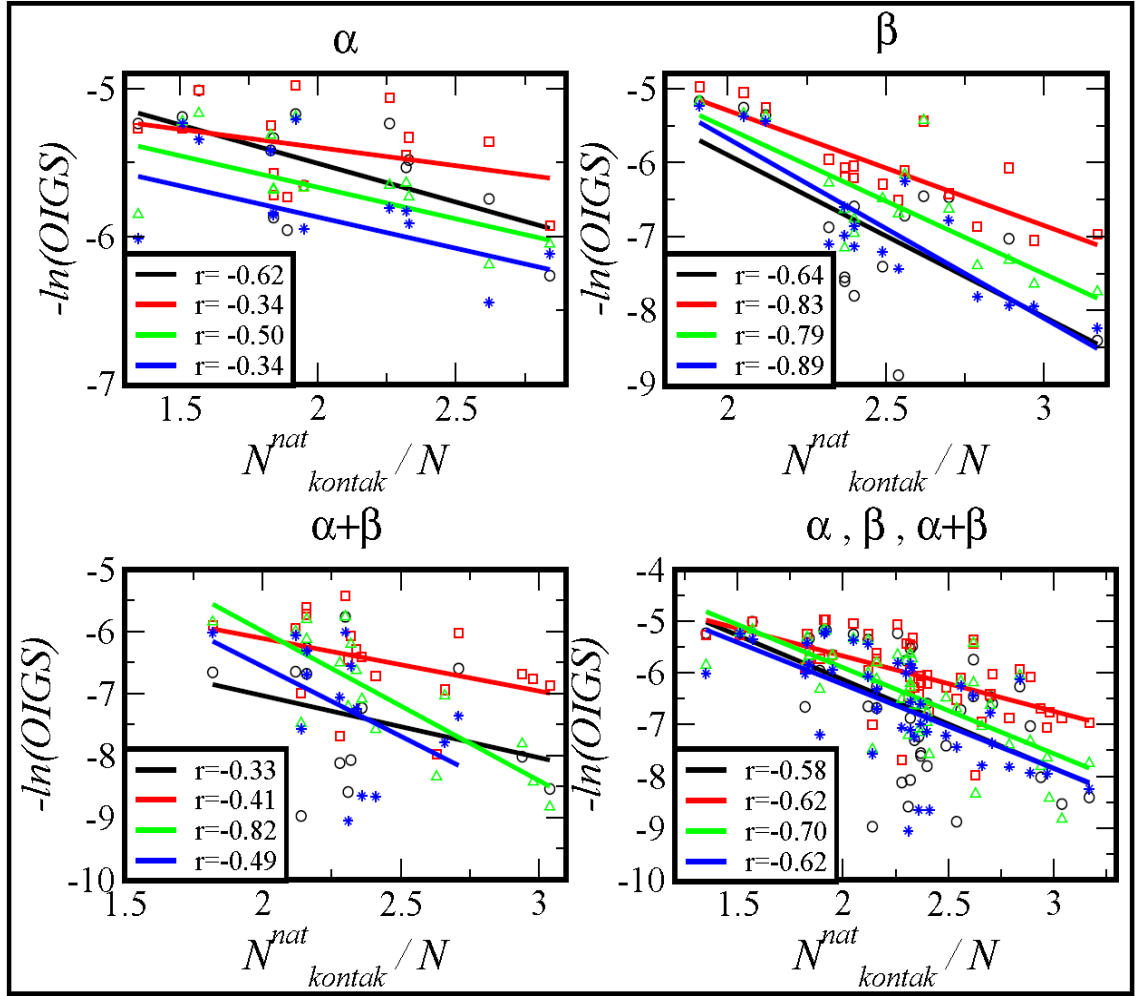
**Şekil 4.5.** Katlanma oranları ile proteinlerin amino asit zincir uzunluklarının korelasyonu.

Şekil 4.5’de proteinlerin amino asit zincir uzunluklarının katlanma oranları ile korelasyonları gösterilmektedir.  $\alpha, \beta, \alpha + \beta$  ve bu farklı üç protein ailesindeki proteinlerin tamamının dikkate alınması durumunda elde edilen korelasyonlar incelendiği zaman, zincir uzunluğu için en yüksek korelasyon homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modelinde gözlemlenmektedir. Her ne kadar heterojen etkileşimli kısa erişimli Gō modelini kullanarak elde ettiğimiz korelasyon değerleri, homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modelini kullanarak elde ettiğimiz korelasyon değerlerine yakın olsa da, biz uzun erişimli heterojen etkileşimli MJ modelini kullanarak korelasyonda bir artış olup olmayacağını araştıracağız.



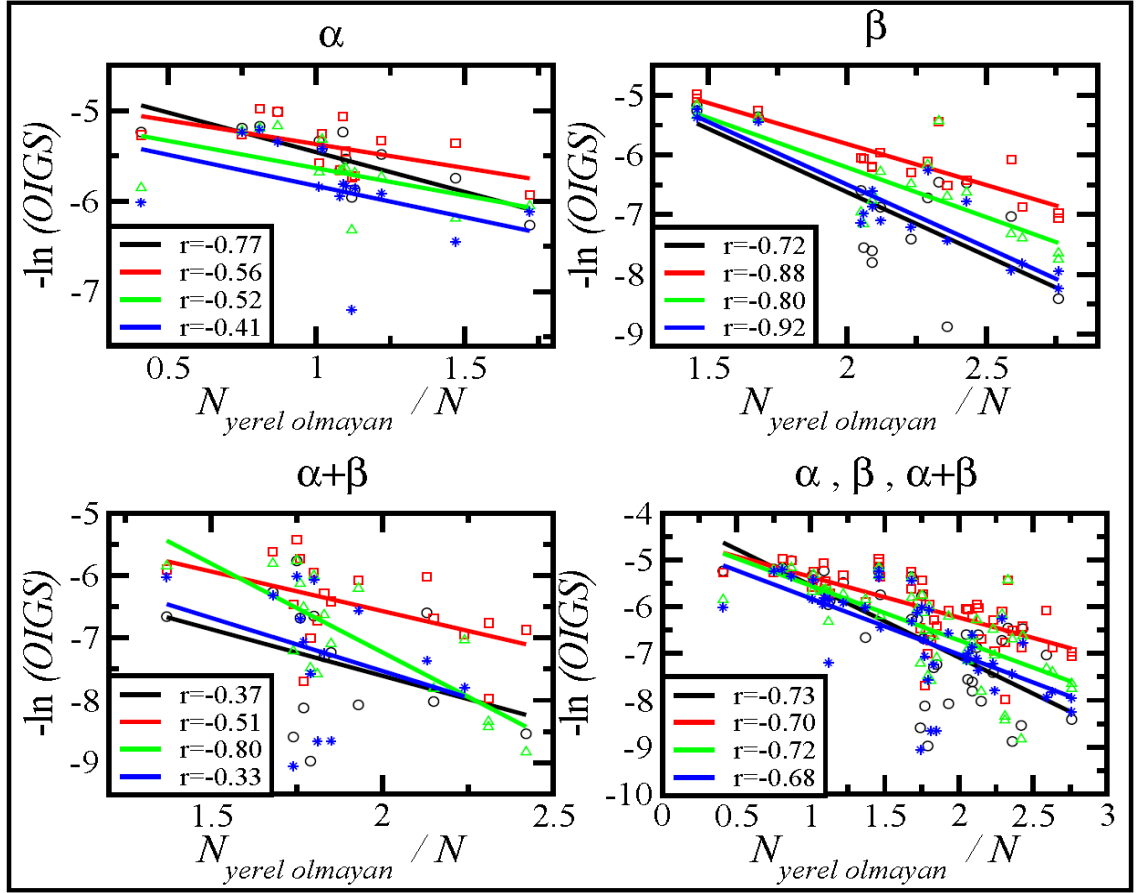
**Şekil 4.6.** Katlanma oranlarının, katlanmış yapıdaki etkileşim sayısı ile korelasyonu.

Şekil 4.6’de proteinlerin katlanmış yapılarındaki kontak (etkileşim) sayılarının, katlanma oranları ile korelasyonları gösterilmektedir.  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\alpha + \beta$  ve bu farklı üç protein ailesindeki proteinlerin tamamının dikkate alınması durumunda elde edilen korelasyonlar incelendiği zaman,  $\alpha$  protein ailesine mensup olan proteinler için homojen etkileşimli kısa ve uzun erişimli Gō modelinde, heterojen etkileşimli Gō modellerine göre daha yüksek korelasyon var iken proteinlerin tümü göz önünde bulundurulduğu zaman homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modelinde daha yüksek korelasyon elde edilmiştir. Bu yüzden katlı durumdaki etkileşim sayısının proteinlerin kinetik davranışlarını belirleyen bir parametre olduğunu düşünüyoruz.



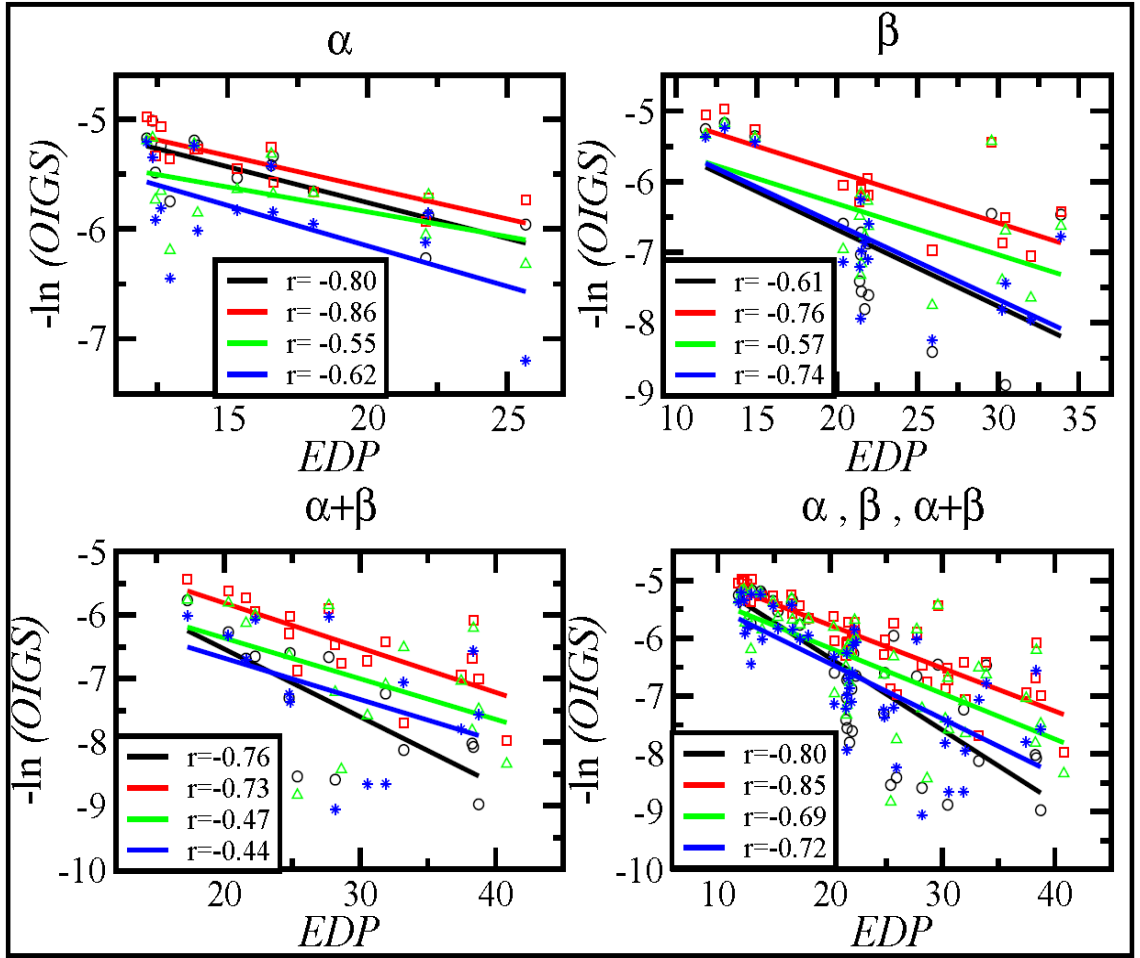
**Şekil 4.7.** Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen katlanmış yapıdaki etkileşim sayısı ile korelasyonu.

Şekil 4.7’de amino asit başına düşen katlanmış yapıdaki etkileşim sayısının, katlanma oranları ile korelasyonları gösterilmektedir.  $\alpha$ - protein ailesi için homojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli ,  $\beta$ - protein ailesi için homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli ve heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olduğu kısa erişimli Gō modelinde,  $\alpha + \beta$  protein ailesi için heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olmadığı kısa erişimli Gō modelinde katlanma oranları ile yüksek korelasyon dikkat çekmektedir. Ayrıca, bu protein ailelerindeki proteinlerin tamamı incelendiği zaman da heterojen etkileşmelerin kullanıldığı modellerde yüksek korelasyonlar gözlemlenmektedir.



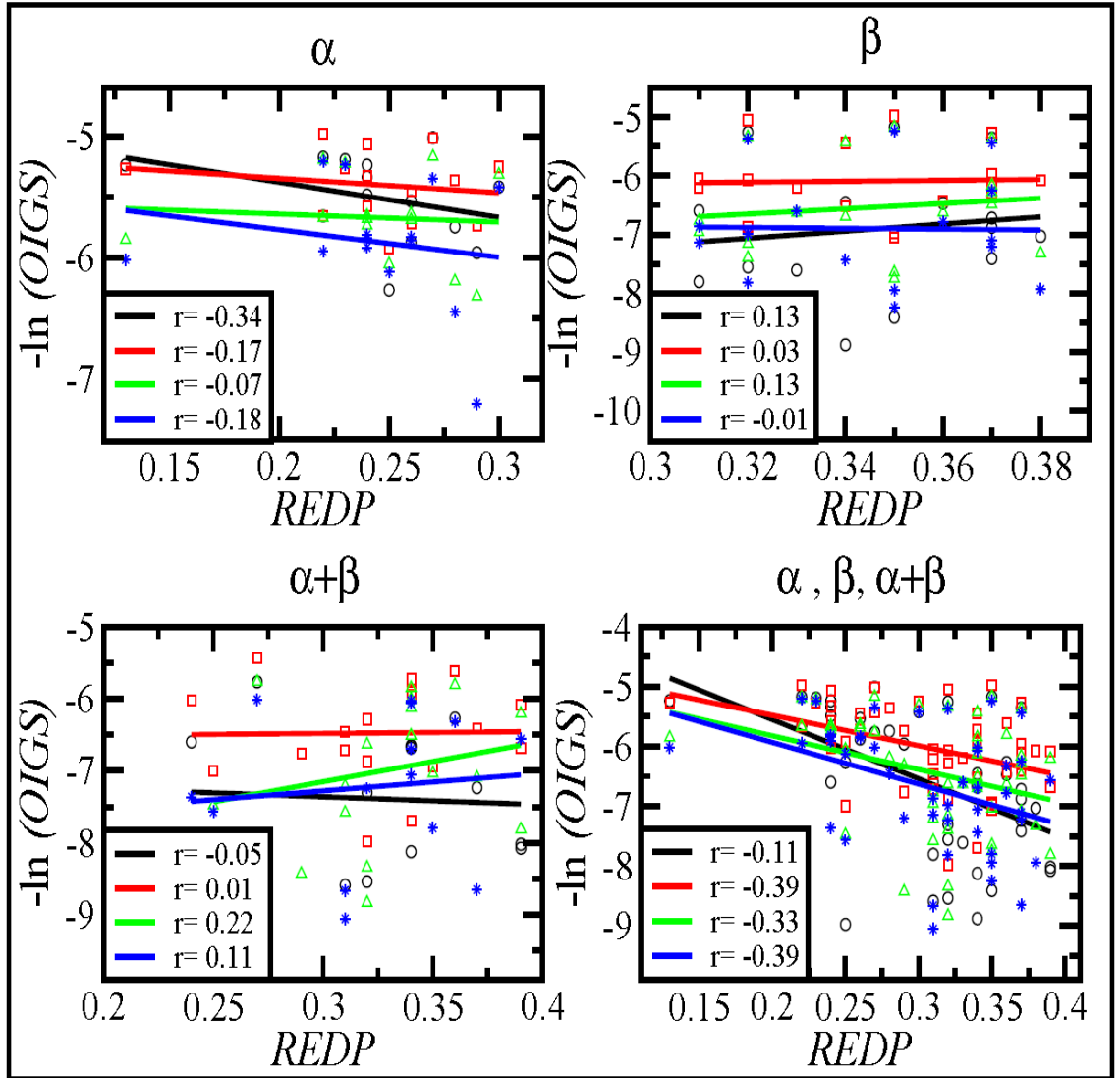
**Şekil 4.8.** Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen yerel olmayan etkileşim sayısı ile korelasyonu.

Şekil 4.8’de amino asit başına düşen yerel olmayan etkileşim sayısı ile katlanma oranlarının korelasyonları gösterilmektedir. Yapılan hesaplamalarda zincir üzerinde aralarında 6 amino asit mesafesinden daha uzakta bulunan amino asitler arasındaki etkileşimler yerel olmayan etkileşimler olarak tanımlanmıştır.  $\alpha$  protein ailesi için yerel etkileşimlerin sayısı daha fazla olduğu için  $\beta$  protein ailelerine nazaran daha düşük korelasyonlar elde edilmiştir. İncelediğimiz farklı protein aileleri için homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modellerinde kısa erişimli modele göre daha yüksek olduğu için ve yine heterojen etkileşimli modellerde de korelasyonun yüksek olması nedeniyle heterojen etkileşimli modeller için uzun erişimli modellerin korelasyonu artırabileceğini düşünmekteyiz. Aynı zamanda yaptığımız bu hesaplama UEEP (6) ya karşılık gelmektedir.



**Şekil 4.9.** Katlanma oranlarının, etkileşim düzen parametresi ile korelasyonu.

Şekil 4.9’de etkileşim düzen parametresi ile katlanma oranlarının korelasyonu gösterilmektedir. Proteinlerin katlanma kinetikleri ve katlı durum topolojisi arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Proteinlerin katlanmış yapı topolojisi de etkileşim düzen parametresi ile (eşitlik 2.18) belirlenmektedir. Farklı protein aileleri için korelasyon değerleri incelendiğinde homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modelleri için yüksek korelasyonlar dikkat çekmektedir. Proteinlerin tamamı incelendiği zaman, yani protein ailelerinde herhangi bir ayırım yapılmadığında yine uzun erişimli model için en büyük korelasyon değeri elde edilmiştir. Etkileşim düzen parametresinin, deneysel katlanma oranlarının logaritması ile yüksek bir korelasyona sahip olduğu bilindiği için biz fiziko kimyasal özellikleri kullanarak daha gerçekçi bir model geliştirmeyi düşünmekteyiz.



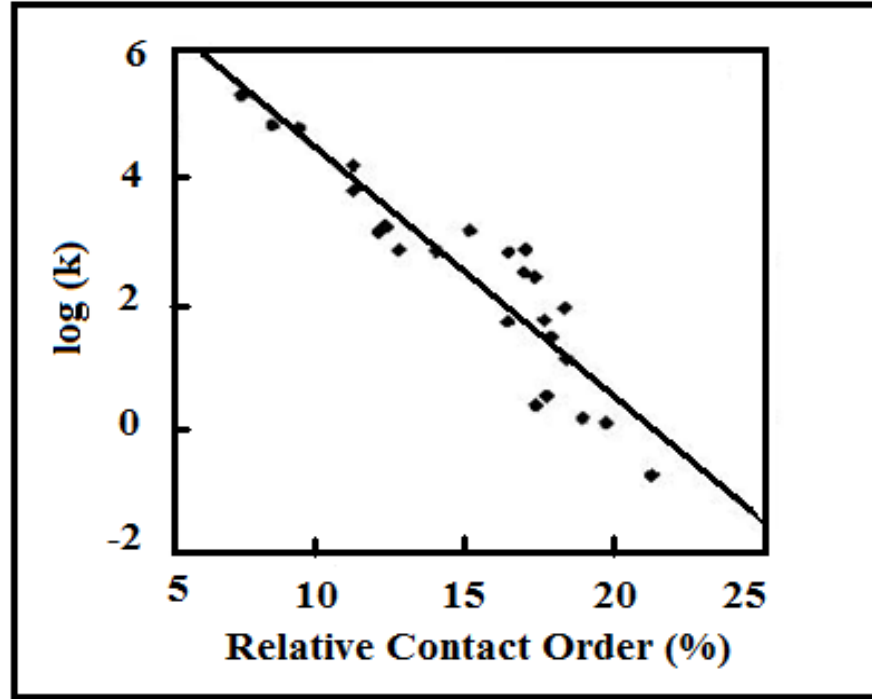
**Şekil 4.10.** Katlanma oranlarının, relatif etkileşim düzen parametresi ile korelasyonu.

Şekil 4.10'de relatif etkileşim düzen parametresi ile katlanma oranlarının korelasyonu gösterilmektedir. Etkileşim düzen parametresinin amino asit sayısı ile normalize edilmesi sonucu (2.19) eşitliği ile elde edilen REDP, protein dizisinde birbirlerine uzak olan atomların etkileşimi arttıkça relatif etkileşim düzen parametresinin değeri artmaktadır. Bu parametre için elde ettiğimiz sonuçlarda korelasyonlar oldukça düşüktür. Böylece etkileşim düzen parametresi için elde edilen korelasyonlar daha yüksek olduğu için proteinlerin topolojisini ya da katlanma oranlarını belirleyen parametrenin etkileşim düzen parametresi olduğunu söyleyebiliriz. Koga and Takada (2001) çalışmalarında 18 küçük protein için elde ettikleri etkileşim düzen parametresi

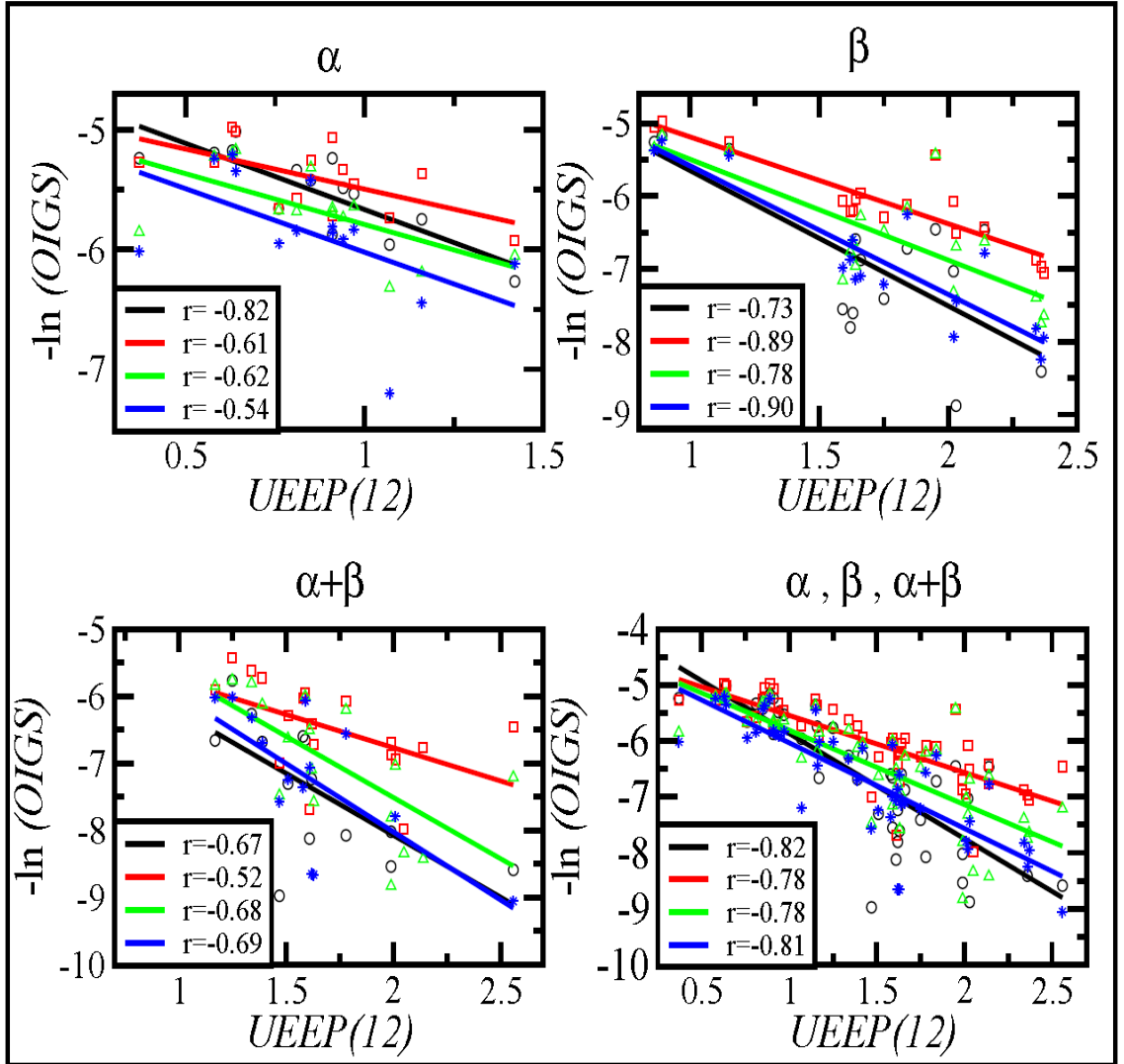


için korelasyon katsayısını  $r=0,80$  ve relatif etkileşim düzen parametresi için ise  $r=0,69$  hesaplayarak, etkileşim düzen parametresinin protein topolojisini daha iyi belirlediğini bulmuşlardır.

Özellikle uzun erişimli etkileşmelerin baskın olduğu protein yapılarında relatif etkileşim düzen parametresi yüksek iken, yerel etkileşimlere sahip ya da kısa erişimli etkileşmelerin baskın olduğu protein yapılarında bu değer düşüktür. Deneysel olarak iki durum davranışı gösteren en yavaş ve en hızlı proteinler arasında  $10^6$  kat fark olduğu Şekil 4.11'de gösterilmektedir. Homolog olmayan tek bölgeli proteinler kullanılarak elde edilen deneysel katlanma oranı ile relatif etkileşim düzen parametresi için korelasyon değeri  $r=0,92$  olarak hesaplanmıştır (Plaxco *et al.* 2000).

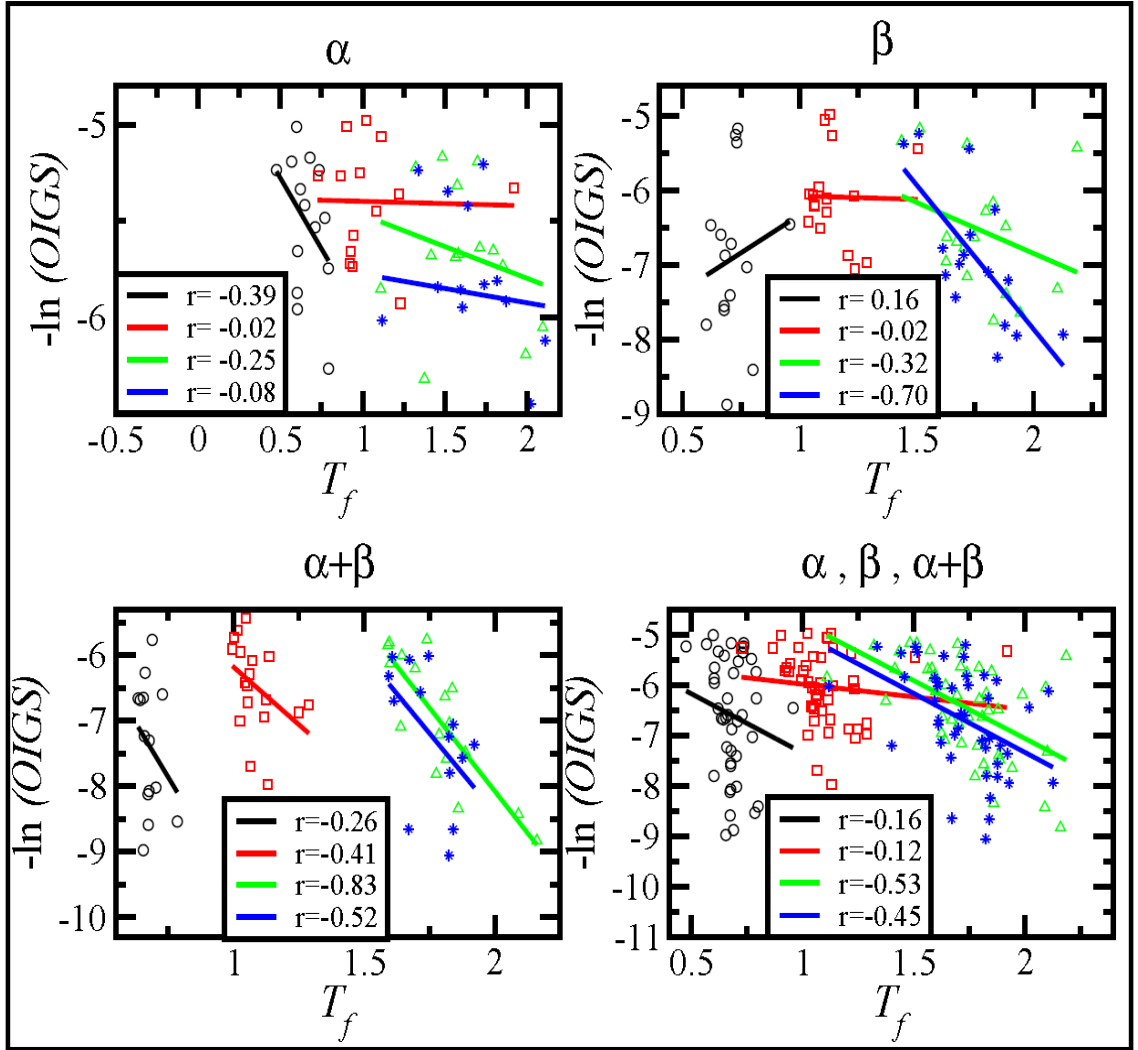


**Şekil 4.11.** Deneysel olarak iki durum davranışı gösteren en yavaş ve en hızlı proteinler arasındaki hız farkı (Plaxco *et al.* 2000).



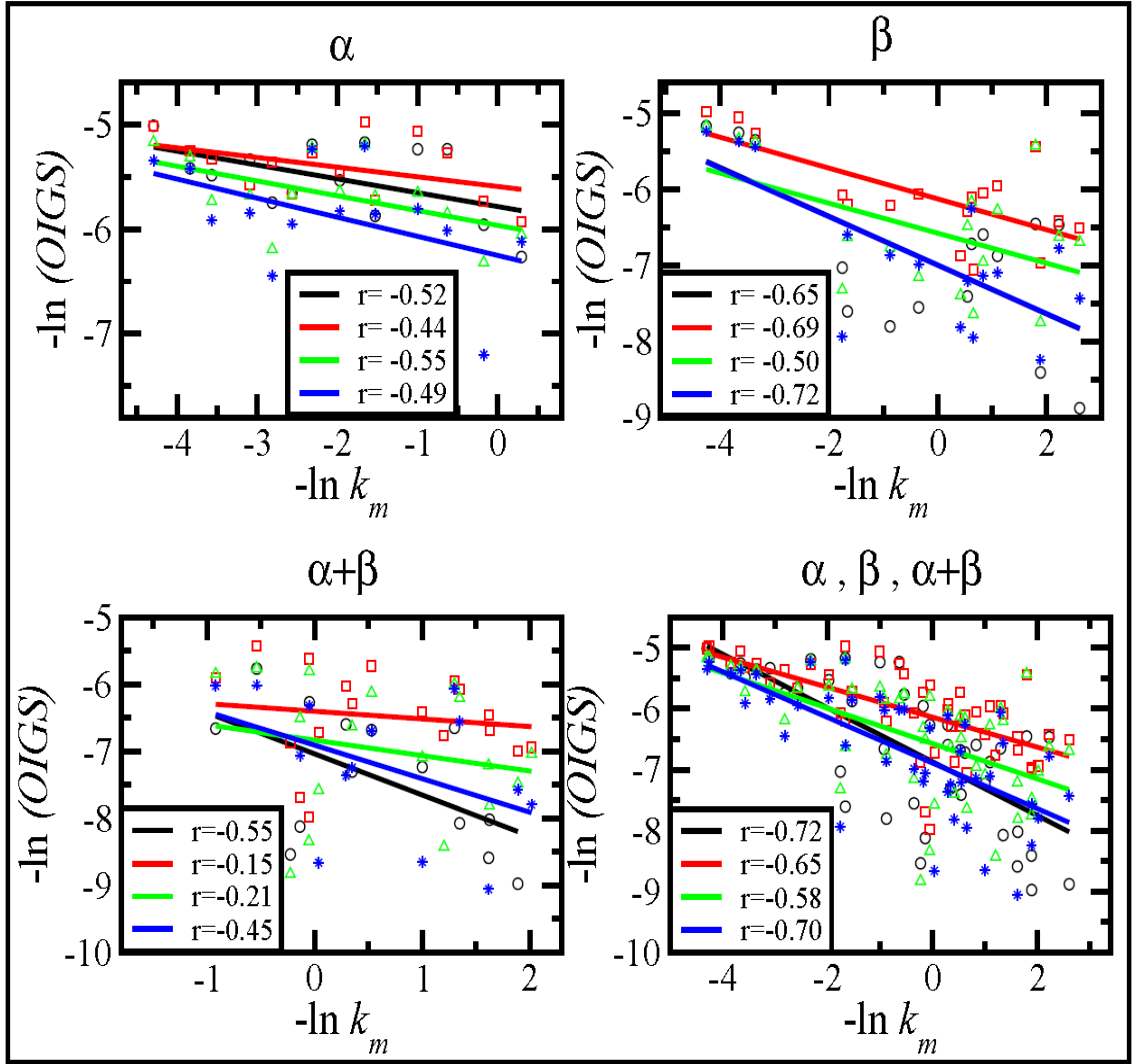
**Şekil 4.12.** Katlanma oranları ile uzun erişimli etkileşimler arasındaki korelasyonu.

Şekil 4.12’de uzun erişimli etkileşim parametresinin katlanma oranları ile korelasyonları gösterilmektedir. Aralarında 12 amino asit mesafesi bulunan amino asitler arasındaki etkileşimler göz önünde bulundurularak hesaplanmıştır (eşitlik 2.20). Uzun erişimli etkileşim parametresi için elde edilen korelasyon değerleri, etkileşim düzen parametresi için hesaplanan korelasyonlardan daha yüksektir. Bu yüzden proteinlerin katlanma kinetiğinde zincir üzerinde uzak mesafelerde bulunan amino asitler arasındaki etkileşimlerin belirleyici bir rol oynadığı görülmektedir.



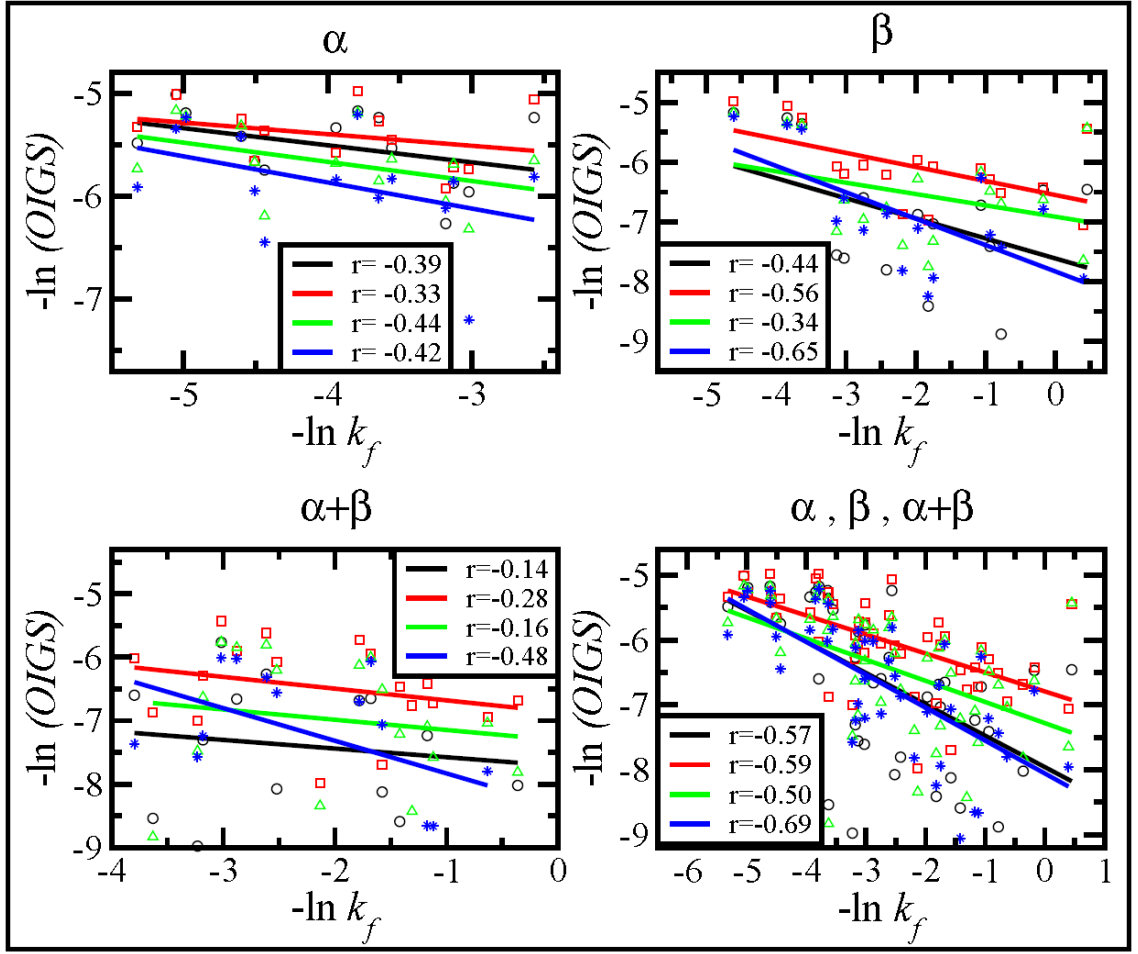
**Şekil 4.13.** Katlanma oranları ile geçiş sıcaklıklarının korelasyonu.

Şekil 4.13’de proteinlerin geçiş sıcaklıklarının katlanma oranları ile korelasyonları verilmektedir. Grafik üzerindeki korelasyon değerlerine bakıldığında  $\beta$  protein ailesi için itici etkileşmelerin olduğu ve  $\alpha + \beta$  protein ailesi için de itici etkileşmelerin olmadığı durumdaki heterojen etkileşimli kısa erişimli Gō modeli için yüksek korelasyon gözlemlenmektedir. Ancak genel olarak farklı protein aileleri ve farklı modeller incelendiğinde, geçiş sıcaklığının proteinlerin termodinamik davranışlarını açıklamak için belirleyici bir parametre olduğu, ancak kinetik davranışlarını açıklamak için belirleyici bir parametre olmadığı görülmektedir.



**Şekil 4.14.** Teorik olarak hesaplanan katlanma oranlarının geçiş sıcaklığında elde edilen deneysel katlanma oranları ile korelasyonu.

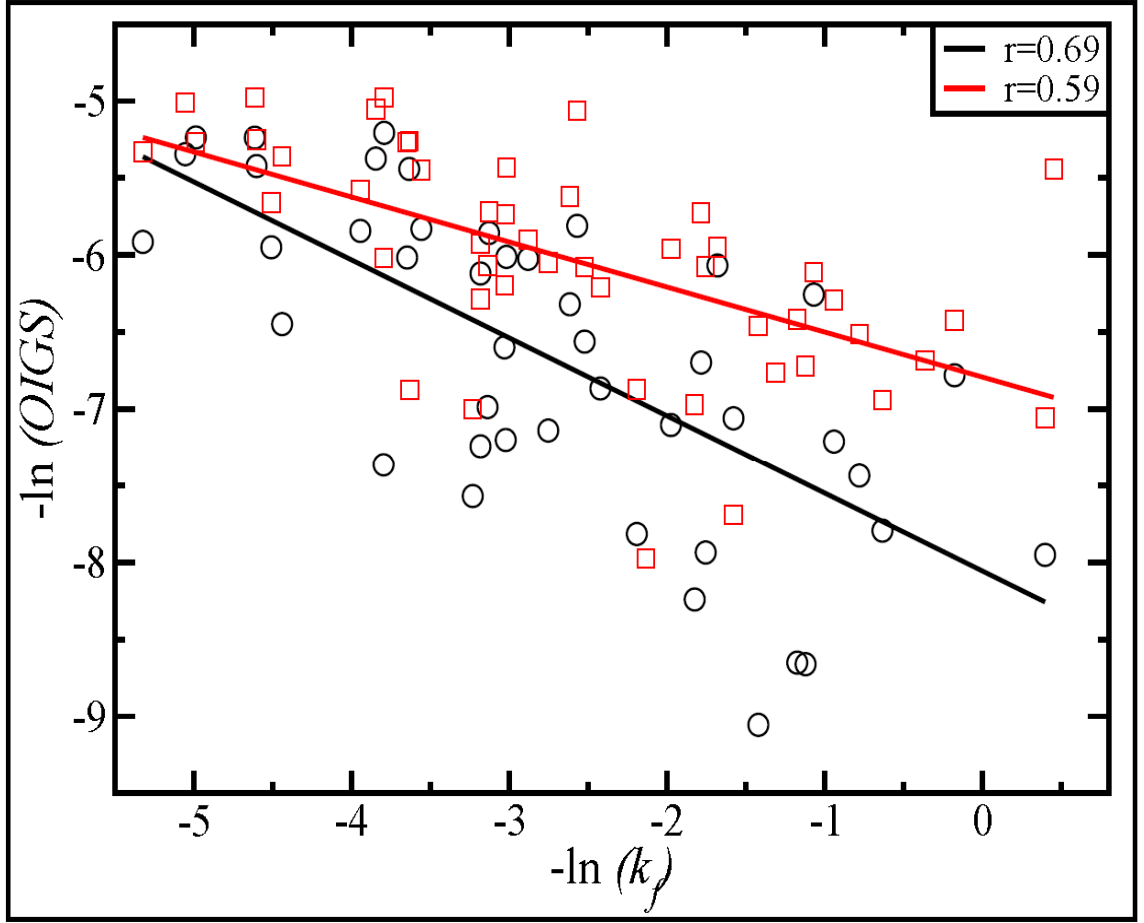
Şekil 4.14'de geçiş sıcaklığında elde edilen deneysel katlanma oranları ile bizim teorik olarak hesapladığımız katlanma oranlarının korelasyonları gösterilmektedir. Proteinlerin tamamı dikkate alındığı zaman sonuçlarımızın deneysel sonuçlara yakın olduğu görülmektedir.  $\beta$  protein ailesi için itici etkileşmelerin olduğu heterojen etkileşimli Gō modeli için yüksek korelasyon gözlemlenirken, proteinlerin tamamı göz önünde bulundurulduğunda uzun erişimli homojen etkileşimli ve heterojen etkileşimli Gō modelinde yüksek korelasyon gözlemlenmektedir.



**Şekil 4.15.** Katlanma oranlarının, çözücü miktarı sıfır olduğunda elde edilen deneysel katlanma oranları ile korelasyonu.

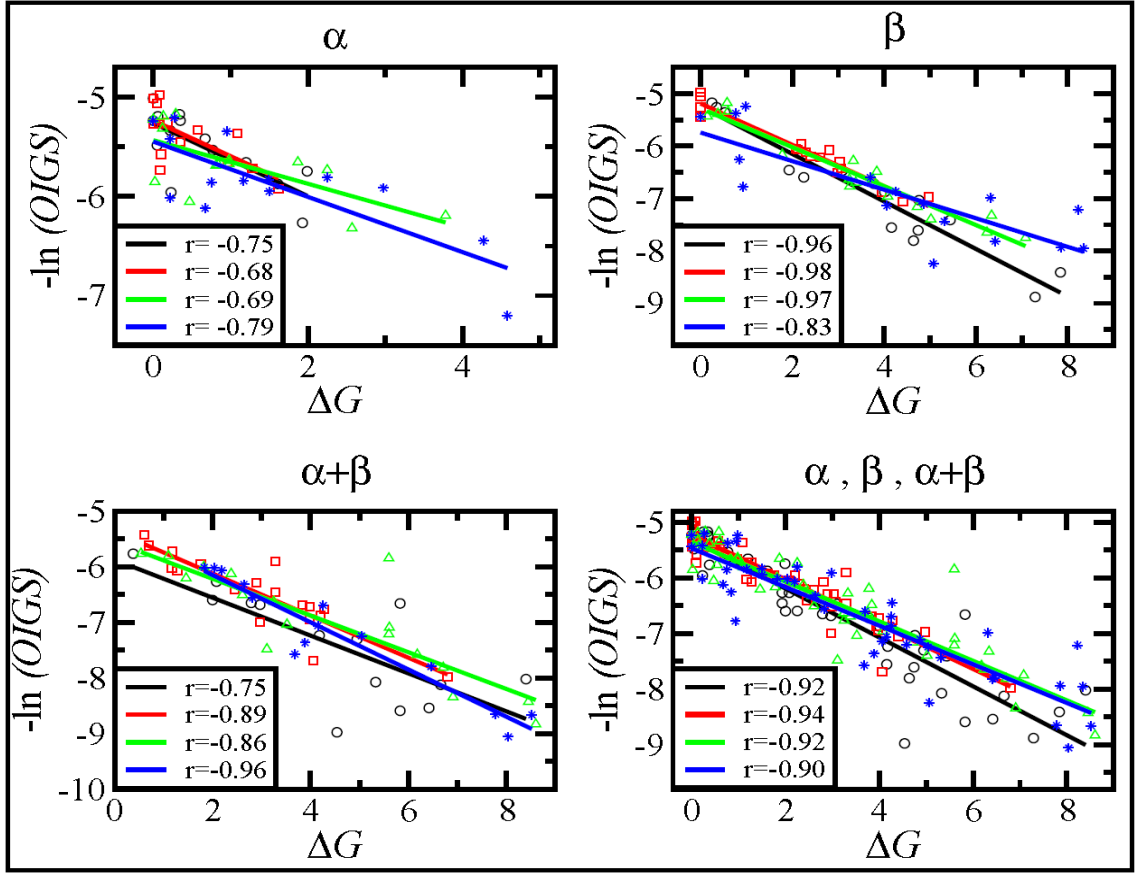
Şekil 4.15’de yine deneysel katlanma oranları ile bizim teorik olarak hesapladığımız katlanma oranları arasındaki korelasyon gösterilmektedir.

Proteinlerin tamamı dikkate alındığında, bu kısma kadar incelenen diğer parametreler için homojen etkileşimli Gō modeli deneylerle uyumlu sonuçlar verirken, burada  $\beta$  ve farklı protein ailelerine ait proteinler için deneyle uyumlu sonuç heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli için elde edilmiştir.



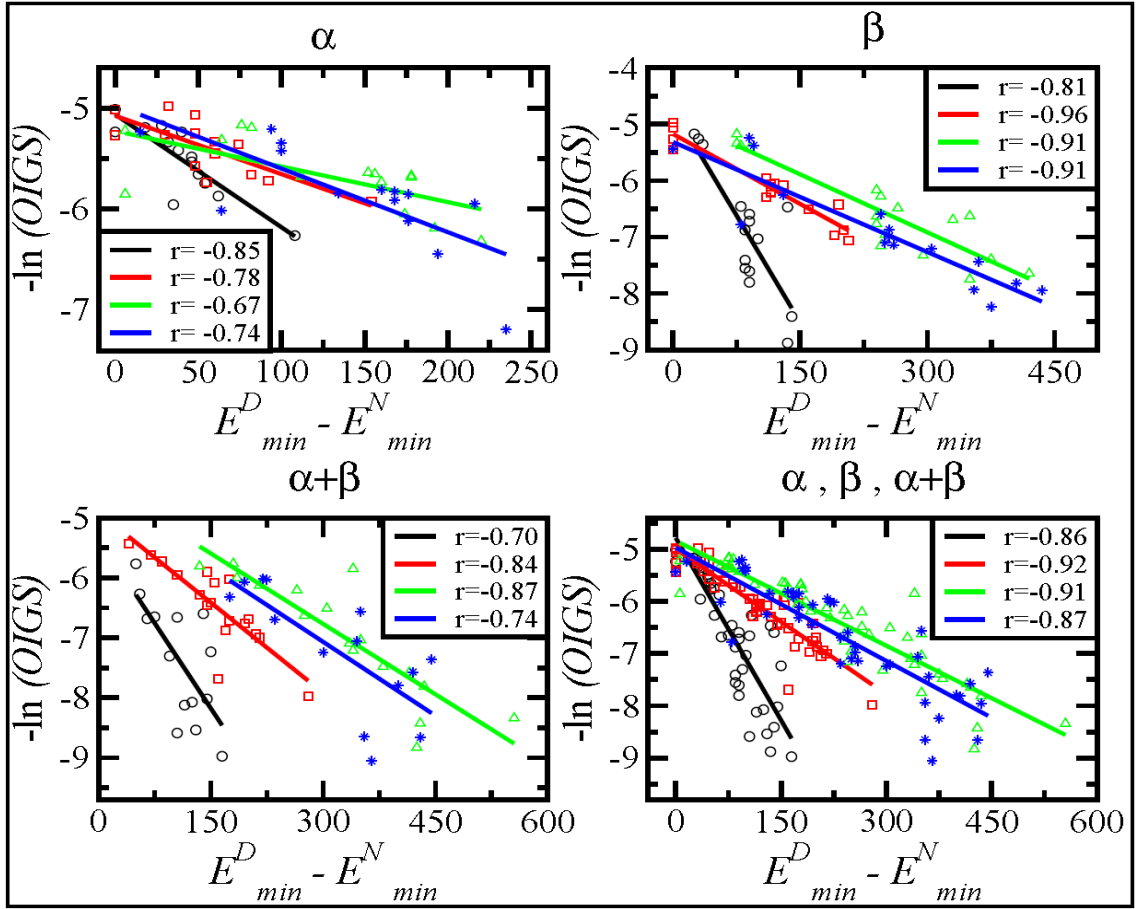
**Şekil 4.16.** Deneysel ve teorik olarak hesaplanan katlanma oranlarının kinetik korelasyonu. Kırmızı ile gösterilen model homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli ve siyah ile gösterilen model heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modelidir.

Şekil 4.16’de gösterildiği gibi deneylerle uyumlu en yüksek korelasyonu veren model heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu uzun erişimli Gō modelidir. Homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için en hızlı ve en yavaş katlanan proteinler arasında yaklaşık olarak 1000 kat fark varken, heterojen etkileşimli katlı durumda olmayan itici etkileşimlerin olduğu Gō modeli için en hızlı ve en yavaş katlanan proteinler arasında yaklaşık olarak 10 000 kat fark vardır. Deneysel olarak bu fark  $10^6$  olduğu için, şu anda literatürde deneysel olarak elde edilen sonuçlarla en uyumlu sonucu kendi geliştirdiğimiz model ile biz gerçekleştirmiş bulunuyoruz.



**Şekil 4.17.** Katlanma oranlarının, serbest enerji bariyer yüksekliği ile korelasyonu.

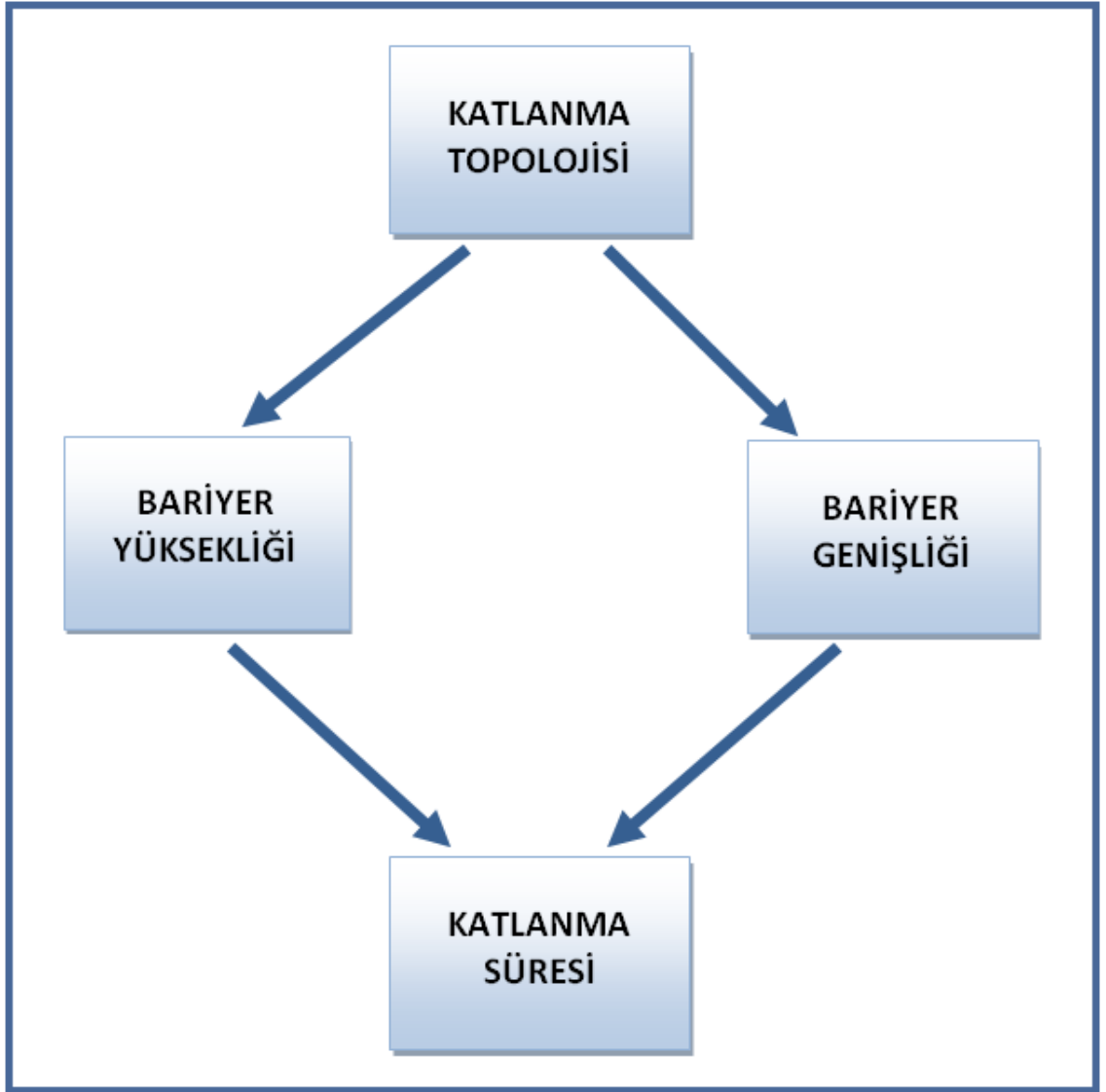
Şekil 4.17’de proteinlerde kararlılığı belirleyen serbest enerji bariyer yüksekliğinin, katlanma oranları ile kinetik korelasyonu gösterilmektedir.  $\beta$  ve  $\alpha + \beta$  protein aileleri için elde edilen korelasyon değerleri incelendiğinde, bariyer yüksekliğinin (Şekil 2.10) proteinlerin kinetiğini yani katlanma sürelerini büyük ölçüde etkileyen bir parametre olduğu görülmektedir. Ancak  $\alpha$  proteinlerindeki yerel etkileşmelerden dolayı gerçekleşen hızlı açılma ve katlanma geçişleri serbest enerji bariyerinin yüksekliğinin azalmasına neden olmakta ve elde edilen korelasyon değerleri de bunu doğrulamaktadır. Farklı protein ailelerinin herbiri ve bu protein ailelerinin tamamı göz önünde bulundurulduğu zaman, katlanma oranları ile serbest enerji bariyerinin doğrudan ilişkili olduğu görülmektedir. Yani, katlanma oranlarını belirleyen en önemli termodinamiksel parametre serbest enerji bariyer yüksekliğidir.



**Şekil 4.18.** Serbest enerji bariyer genişliğinin, katlanma oranları ile korelasyonu.

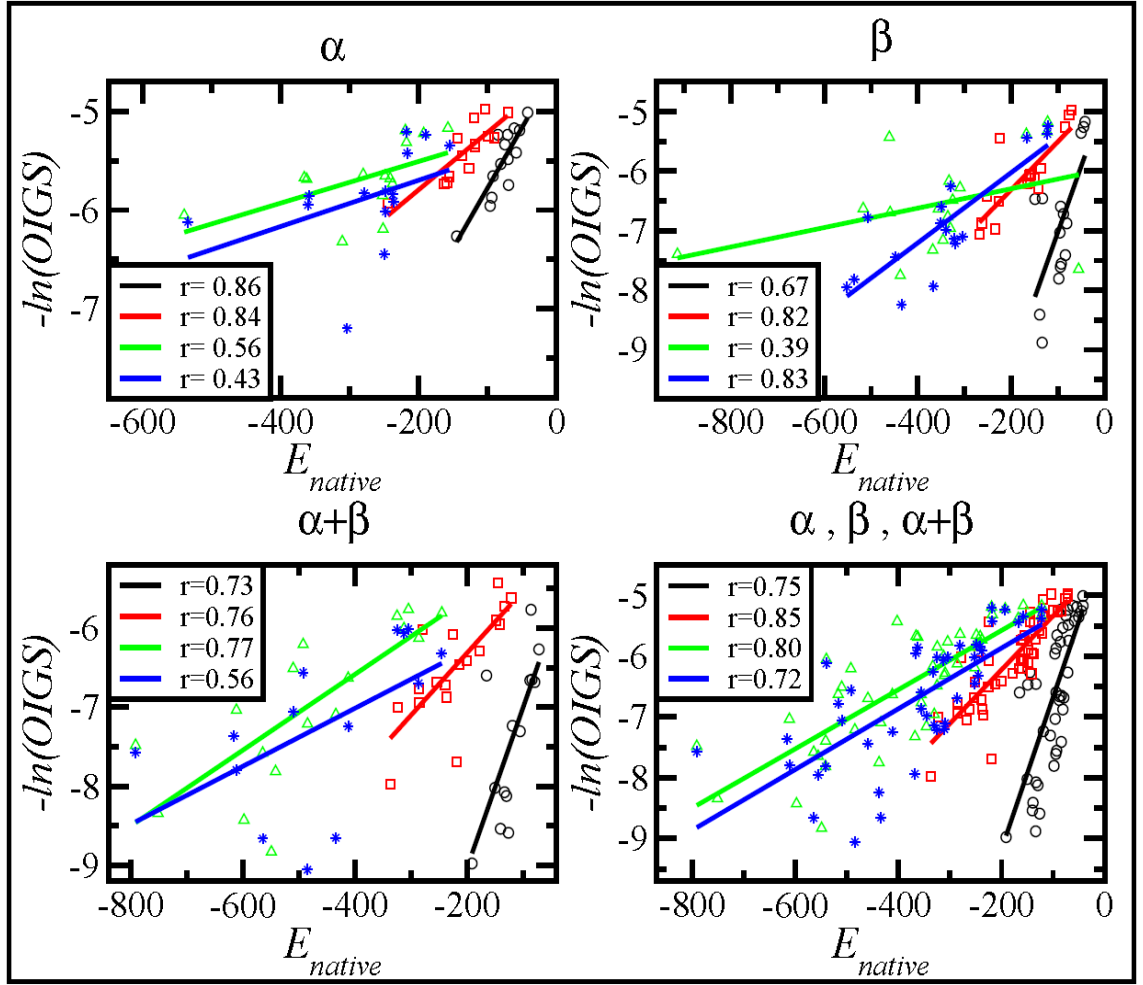
Şekil 4.18’de katlanma oranlarının proteinlerde kararlılığı belirleyen bir başka parametre olan serbest enerji bariyer genişliği ile korelasyonu gösterilmektedir. Farklı protein aileleri ve bu farklı protein ailelerinin tamamı için bariyer genişliğinin (Şekil 2.10) katlanma oranları ile oldukça yüksek korelasyona sahip olduğu görülmektedir.  $\beta$  yapıya sahip protein ailesi için tüm modellerde ve özellikle homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için elde edilen yüksek korelasyonun nedeni; katlı ve açık topluluk minimumları arasındaki farkın eş zamanlı olarak reaksiyon koordinatı boyunca katedilecek mesafenin bir ölçüsü olmasıdır. Yani, serbest enerji bariyeri ile aynı özelliğe sahiptir.





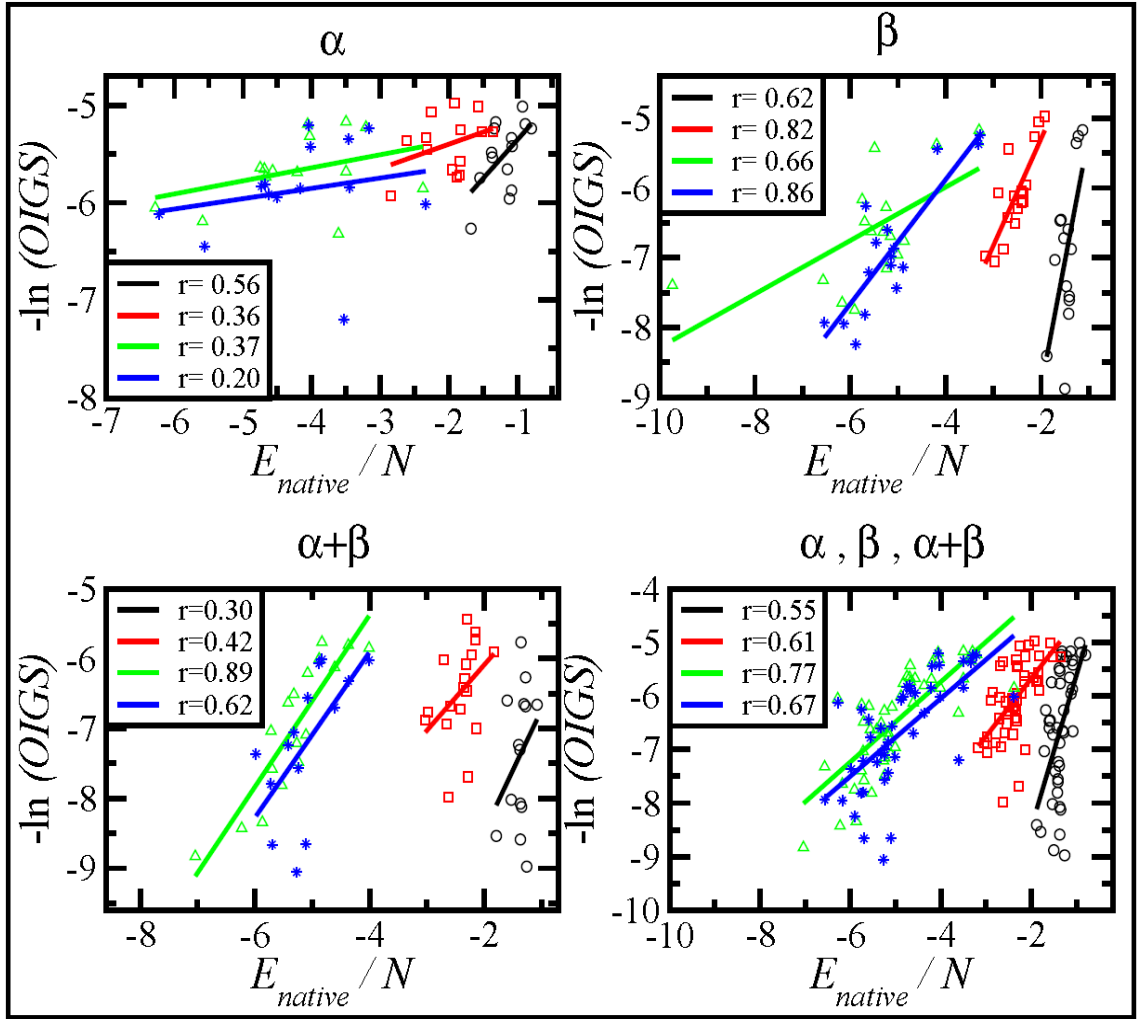
**Şekil 4.19.** Serbest enerji bariyer yüksekliği ve genişliğinin katanma süreleri ile ilişkisi.

Şekil 4.19'de gösterildiği gibi katanma topolojisi, proteinlerde serbest enerji bariyer yüksekliğini ve serbest enerji bariyerinin genişliğini belirlemektedir. Aynı zamanda bu iki parametre de proteinlerin kararlılığını belirlemekle birlikte, proteinlerin ne kadar hızlı ya da yavaş katlandıklarının bir ölçüsü olan katanma süresini de belirlemektedir. Yine bu iki parametre için elde edilen katanma oranlarındaki yüksek korelasyonlar, proteinlerin termodinamik ve kinetik davranışları arasında bir köprü görevi görmektedir.



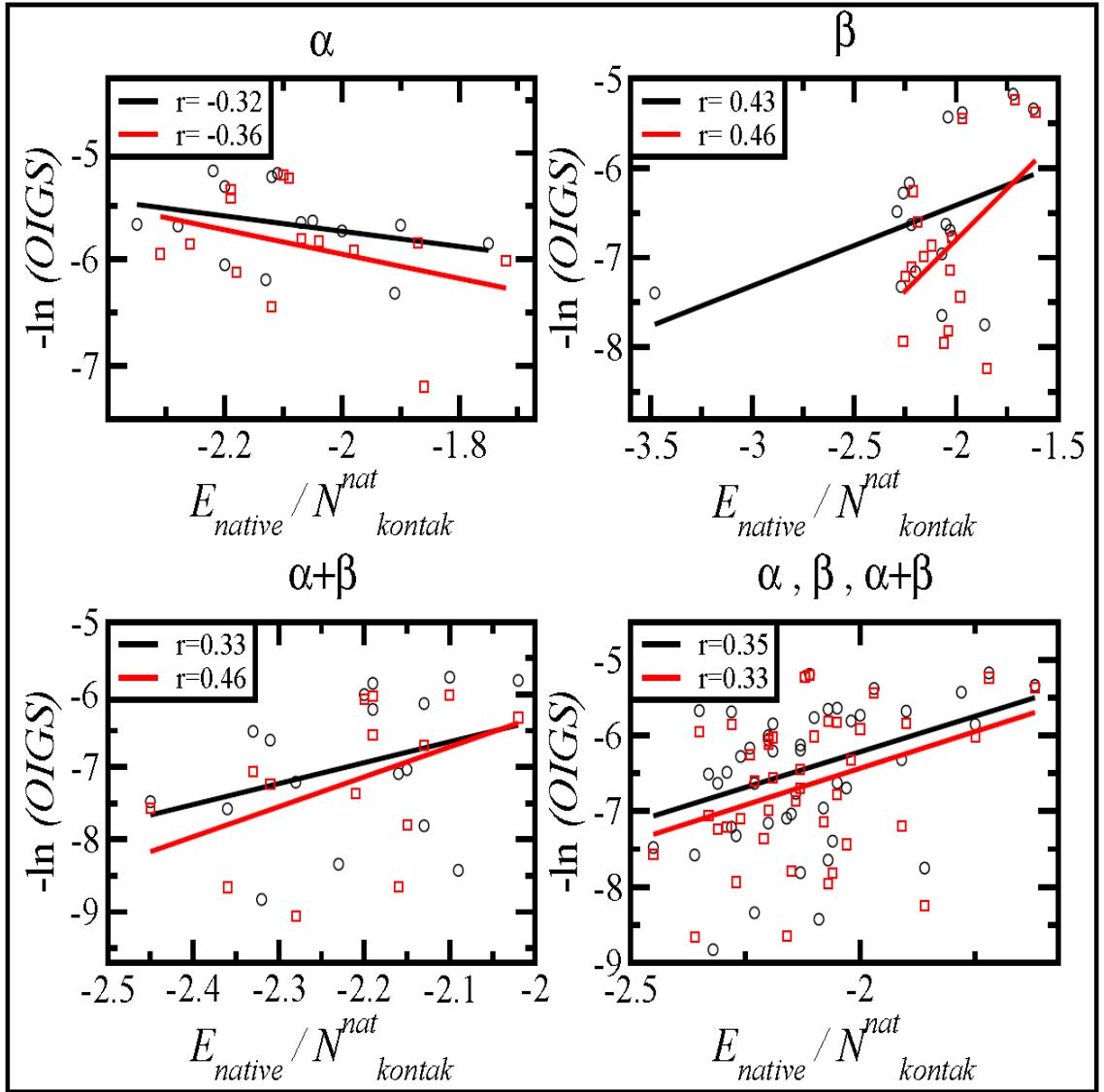
**Şekil 4.20.** Katlanma oranlarının, proteinlerin katlı durum enerjisi ile korelasyonu.

Şekil 4.20’de proteinlerin spesifik 3-boyutlu katlanmış yapı enerjisinin, katlanma oranları ile korelasyonları gösterilmektedir. Homojen etkileşimli modellerdeki korelasyonlara bakıldığında zaman katlanmış yapı enerjisi ile katlanma kinetiği arasında yüksek korelasyon olduğu görülmektedir. Protein ailelerinin tamamı dikkate alındığında farklı modeller için birbirlerine yakın korelasyon değerleri dikkat çekmektedir. Böylece proteinlerin katlı durum enerjisinin proteinlerin katlanma sürelerini belirlediği düşünülebilmektedir. Daha fiziksel bir model olan heterojen etkileşimli Gō modellerinde uzun etkileşimlerin rolünün ne olduğunu tespit etmek amacıyla bu modeli de ilerleyen zamanlarda çalışmalarımıza dahil etmeyi düşünmekteyiz.



**Şekil 4.21.** Katlanma oranlarının, amino asit başına düşen katlı durum (native) enerjisi ile korelasyonu.

Şekil 4.21’de amino asit başına düşen katlı durum (native) enerjisi ile katlanma oranlarının korelasyonu gösterilmektedir.  $\alpha$  yapıya sahip proteinlere bakıldığında çok düşük korelasyon elde edildiği için, proteinlerin katlanma kinetikleri amino asit başına düşen katlı durum enerjisinden etkilenmemektedir.  $\beta$  ve  $\alpha + \beta$  proteinlerinde ise oldukça yüksek korelasyon gözlemlenmektedir. Yerel etkileşimlerden dolayı  $\alpha$  yapıya sahip proteinlerde entropik faktör yüksektir ve yerel olmayan etkileşimlerdeki artış entropinin azalmasını sağlamaktadır. Bu yüzden  $\alpha$  yapıya sahip proteinlerde katlanma hızını belirleyen etki enerjetik değil, entropiktir.



**Şekil 4.22.** Katlanma oranlarının, katlı durumdaki etkileşim başına düşen katlı durum enerjisi ile korelasyonu.

Şekil 4.22’de katlı durumdaki etkileşim başına düşen katlı durum enerjisi ile katlanma oranlarının korelasyonu gösterilmektedir. Farklı protein aileleri için farklı modeller kullanıldığında, hesaplanan bu parametre için oldukça düşük korelasyon gözlemlenmektedir. Dolayısıyla katlanma kinetiğini belirleyen parametreler arasında yer almamaktadır.

## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Araştırmalarımızda proteinlerin açık bir zincirden, spesifik 3- boyutlu yapılarına ne kadar hızlı ya da yavaş katlandıklarının bir ölçüsü olan katlanma oranları ile proteinlerin zincir uzunlukları, kararlılıkları, topolojileri arasında nasıl bir ilişki olduğunu incelemek amacıyla,  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\alpha + \beta$  gibi farklı yapılara sahip protein ailelerinden, termodinamik olarak iki durum davranışı gösteren küçük, tek bölgeli yaklaşık 50 protein kullanılmıştır. Ayrıca, farklı protein aileleri, farklı zincir uzunlukları, farklı enerjetik terimler ve farklı katlanma topolojilerini göz önünde bulundurarak kinetik için belirleyici olan parametrelerin belirlenmesi için; homojen etkileşimli- kısa erişimli Gō modeli, homojen etkileşimli- uzun erişimli Gō modeli, heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olmadığı kısa erişimli Gō modeli ve heterojen etkileşimli itici etkileşimlerin olduğu kısa erişimli Gō modeli olmak üzere dört farklı etkileşim modelini kullandık. Bu modelleme çalışmalarımız için de moleküler dinamik simülasyon metodu kullanılmıştır. Kullandığımız model yaklaşımları arasında en dikkat çekici olan model, amino asitlerin fizikokimyasal özelliklerini katlanma dinamiklerine dahil ederek geliştirdiğimiz heterojen etkileşimli modellerdir. Böylelikle amino asitler arasındaki etkileşimlerin daha gerçekçi olduğu bu yaklaşım kullanıldığında, homojen etkileşimli Gō modelleri ile elde edilen termodinamik ve kinetik sonuçlarla uyum sağlanmaktadır. Protein katlanmasını gerçeğe daha yakın bir şekilde modelleyebilmek için, farklı etkileşim potansiyellerinin geliştirilmesi açısından bu 4 farklı model önem arz etmektedir.

Yapılan teorik çalışmalar amino asit zincir uzunluğu, kararlılık ve topoloji arasında bir ilişki olduğu ortaya koymuştur (Fersht 1999; Faisca and Ball 2002). Biz de yerel ve yerel olmayan etkileşmelerin katlanma kinetiğini nasıl etkilediklerini incelediğimizde, amino asit dizisindeki yerel kontakların katlanmayı hızlandırdığı sonucuna vardık. Bu bağlamda  $\alpha$  yapıya sahip proteinler için yerel etkileşimlerin sayısı fazla olduğundan diğer protein aileleriyle karşılaştırıldıklarında daha hızlı katlandıkları gözlemlenmektedir. Bu durum, proteinlerin katlanma kinetikleri ve katlanmış yapı topolojisi arasında önemli bir ilişkinin varlığını işaret etmektedir. Katlanmış yapı

topolojisi de etkileşim düzen parametresi ile verilmektedir (Plaxco *et al.* 1998). Yaptığımız araştırmada etkileşim düzen parametresi ile temsil edilen proteinlerin katlanmış yapı topolojisi ile katlanma oranları arasında gözlemlediğimiz yüksek korelasyonlar, etkileşim düzen parametresinin proteinlerin katlanma kinetiklerini etkileyen bir parametre olduğunu göstermiştir. Yine protein topolojisinin proteinlerde kararlılığı belirleyen bariyer yüksekliği ve bariyer genişliğini belirlediğini ve bu iki parametrenin de katlanma sürelerini belirlediği sonucuna varmış bulunmaktayız. Farklı protein ailelerindeki proteinlerin 3-boyutlu katlanmış yapı topolojileri göz önünde bulundurulduğunda, daha kısa amino asit zincir uzunluğuna sahip proteinlerin, kısa dönüş bölgelerine sahip proteinlerin ve uç kısımlardaki rastgele kıvrımlara sahip olan proteinlerin katlanma sürelerinin daha kısa olduğu görülmektedir. Böyle proteinlerde açılma ve katlanma geçişleri, fazla sayıdaki ara durum konformasyonlarıyla daha hızlı gerçekleşmekte ve bariyersiz ya da bariyersize yakın bir davranış gözlemlenmektedir.

Deneysel olarak iki durum davranışı gösteren en yavaş ve en hızlı proteinler arasında  $10^6$  kat hız farkı olduğu bilinmektedir (Plaxco *et al.* 2000). Şekil 4.15'te gösterdiğimiz gibi deneysel ve teorik olarak katlanma oranlarının korelasyonu incelendiği zaman, deneylerle uyumlu en yüksek korelasyonu veren modelin geliştirdiğimiz heterojen etkileşimli itici etkileşmelerin olduğu kısa erişimli Gō modeli olduğunu gördük. Bu sonuçlara dayanarak, homojen etkileşimli uzun erişimli Gō modeli için en hızlı ve en yavaş katlanan proteinler arasında yaklaşık olarak 100 kat varken, heterojen etkileşimli katlı durumda olmayan itici etkileşimlerin olduğu Gō modeli için en hızlı ve en yavaş katlanan proteinler arasında yaklaşık olarak 10 000 kat farkın var olduğunu gösterdik. Daha önce de bahsettiğimiz gibi, deneysel olarak bu fark  $10^6$  olduğu için, şu anda literatürde deneysel olarak elde edilen sonuçlarla en uyumlu sonucu kendi geliştirdiğimiz model ile biz gerçekleştirmiş bulunuyoruz.

$\alpha$  yapılarında amino asit sayısı başına düşen katlanma enerjisi, katlanma oranları ile düşük korelasyon gösterirken,  $\beta$  ve  $\alpha+\beta$  yapılarında yüksek korelasyon gözlemlenmiştir. Bu sonuçlar da bize, yerel etkileşimlerden dolayı  $\alpha$  yapılarında katlanma hızını belirleyen etkinin enerjistik değil entropik olduğunu söylemektedir. Tüm farklı

protein aileleri için katlı durum enerjisi ile katlanma oranlarından elde edilen yüksek korelasyonlar, proteinlerin katlanma kinetiğini etkileyen parametreler arasında katlanmış yapı enerjisinin katkısının göz ardı edilemeyeceğini göstermektedir. Çalışmalarımızda katlanma oranlarının geçiş sıcaklığı ile korelasyonları incelendiğinde ise, geçiş sıcaklığının proteinlerin kinetiğini belirleyen parametreler arasında yer almadığı sonucuna varmış bulunmaktayız.

Yaklaşık olarak 50 protein üzerinden gerçekleştirdiğimiz bu çalışmada gerek kullandığımız farklı model yaklaşımları, gerekse proteinlerin yapı- kararlılık ve fonksiyon ilişkilerini ortaya koyan bir çok parametrenin katlanma kinetikleri ile korelasyonlarının incelenmesi, literatürde şimdiye kadar gerçekleştirilmemiş detaylı bir analiz olması bakımından bu çalışmayı özgün kılmaktadır. Elde edilen yüksek korelasyonların genellikle uzun erişimli homojen etkileşimli G $\phi$  modelleri için elde edilmesi, fiziko kimyasal özelliklerin kullanılmasıyla gerçeğe daha yakın sonuçlar elde edilebileceğini düşündüğümüz uzun erişimli heterojen etkileşimli G $\phi$  modelleri dikkate alınarak etkilerinin incelenebileceği düşüncesindeyiz.

**KAYNAKLAR**

- Alder, B. J. and Wainwright, T. E. J., 1957. Studies in Molecular Dynamics. Chem. Phys., 27, 1208-1209.
- Anfinsen, C. B., Haber, E., Sela, M. and White, F. H., 1961. The Kinetics Of Formation Of Native Ribonuclease During Oxidation Of The Reduced Polypeptide Chain. Proc. Nat. Acad Sci. U.S., 47 (9), 1309-1314.
- Anson, M. L. and Mirsky A. E., 1925. On Some General Properties of Proteins. J. Gen. Physiol., 9, 169-179.
- Becker, O. M., 2001. Computational Biochemistry and Biophysics. CRC Press, 512 p, New York, USA.
- Berry, R. S., 1993. Potential Surfaces and Dynamics: What Clusters Tell Us. Chem. Rev., 93 (7), 2379-2394.
- Chan, H. S., Shimizu, S. and Kaya, H. 2004. Cooperativity Principles in Protein Folding. Methods in Enzymology, 380, 350-379.
- Dill, K. A. and Chan, H. S., 1997. From Levinthal to Pathways to Funnels. Nature Structural Biology, 4, 10-19.
- Dillon, K. I., 2006. Soft Condensed Matter. Nova Publishers, 350 p, New York, U. S. A.
- Elber, R. and Karplus, M., 1987. Multiple conformational states of proteins: a molecular dynamics analysis of myoglobin. Science, 235 (4786), 318-321.
- Epstein, C. J., Goldberger, R. F. and Anfinsen, C. B., 1963. The Genetic Control of Tertiary Protein Structure: Studies With Model Systems. Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol, 28, 439-449.,
- Faisca, P. F. N., Ball, R. C., 2002. Topological complexity, contact order, and protein folding rates. Journal of Chemical Physics, 117 (18), 8587-8591.
- Ferguson, A., Liu. Z. and Chan H. S., 2009. Desolvation Barrier Effects are a Likely Contributor to the Remarkable Diversity in the Folding Rates of Small Proteins. Journal of Molecular Biology, 389, 619-636.
- Fersht, A. R., 1999. Transition-state structure as a unifying basis in protein-folding mechanisms: Contact order, chain topology, stability, and the extended nucleus mechanism. Biochemistry, 97 (4), 1525-1529.
- Finkelstein, A. V. and Ptitsyn, O. B., 2002. Protein Physics. Academic Press, 354 p, New York.

[http://www.biology-nation.com/History\\_of\\_Molecular\\_Biology.html](http://www.biology-nation.com/History_of_Molecular_Biology.html) (10.07.2009).

<http://www.chaperone.sote.hu/Introduc.html> (12.06.2009).



- [http://www.ch.embnet.org/MD\\_tutorial/pages/MD.Part1.html](http://www.ch.embnet.org/MD_tutorial/pages/MD.Part1.html) (17.06.2009).
- [www.chem.umd.edu/groups/munoz/proteindenaturationfolding.pdf](http://www.chem.umd.edu/groups/munoz/proteindenaturationfolding.pdf) (17.06.2009)
- <http://www.netsci-journal.com/97v2/67.htm> Luis Serrano, EMBL (11.07.2009).
- <http://www.rcsb.org/pdb> (08.06.2009).
- <http://www.sanger.ac.uk/Users/sgj/theis/html/node3.html> (10.07.2009).
- <http://en.wikipedia.org/wiki/File:Peptidformationball.svg> (10.07.2009).
- [http://en.wikipedia.org/wiki/Protein\\_domains](http://en.wikipedia.org/wiki/Protein_domains) (27.06.2009).
- <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do> (27.06.2009).
- Irbäck, A., Peterson, C., Potthast, F. and Sommelius, O., 1996. Local interactions and protein folding: A three-dimensional off-lattice approach. *The Journal of Chemical Physics*, 107 (1), 273-282.
- İşcan, M., 2007. Protein Kararlılığının Optimizasyonu. Biyolojik Bilimler Bölümü, ODTÜ,  
[http://www.proteinengineering.ege.edu.tr/SUNUMLAAR/Protein%20Kararliginin%20optimizasyonu\\_MIscan.pdf](http://www.proteinengineering.ege.edu.tr/SUNUMLAAR/Protein%20Kararliginin%20optimizasyonu_MIscan.pdf) (02.07.2009).
- Jackson, S. E. and Fersht, A. R., 1991. Folding of Chymotrypsin Inhibitor 2. 1. Evidence for a Two-State Transition. *Biochemistry*, 30 (43), 10428-10435.
- Jackson, S. E., elMasry, N. And Fersht, A. R. 1993. Structure of the hydrophobic core in the transition state for folding of chymotrypsin inhibitor 2: a critical test of the protein engineering method of analysis. *Biochemistry*, 32 (42), 11270–11278.
- Jackson, S. E., Moracci, M., elMasry, N., Johnson, C. M. And Fersht, A. R. 1993. Effect of cavity-creating mutations in the hydrophobic core of chymotrypsin inhibitor 2. *Biochemistry*, 32 (42), 11259–11269.
- Jiang, H., 2006. Molecular Modeling Methods & *Ab Initio* Protein Structure Prediction. Computational Biology, Dalhousie University,  
[www.cs.uwaterloo.ca/~mli/DrJiangTalk.ppt](http://www.cs.uwaterloo.ca/~mli/DrJiangTalk.ppt) (06.07.2009).
- Kaya, H. and Chan, H. S., 2003. Contact Order Dependant Protein Folding Rates: Kinetic Consequences of a Cooperative Interplay Between Favorable Nonlocal Interactions and Local Conformational Preferences. *Proteins: Structure, Function, and Genetics*, 52, 524-533.
- Kaya, H. and Chan, H. S., 2003. Solvation Effects and Driving Forces for Protein Thermodynamics and Kinetic Cooperativity: How Adequate is Native-Centric Topological Modelling? . *Journal of Molecular Biology*, 326, 911-931.
- Kaya, H., 2009. TÜBİTAK Araştırma projesi Geliştirme Raporu. Erzurum.

- Knott, M., Kaya, H. and Chan, H. S., 2004. Energetics of Protein Thermodynamic Cooperativity: Contributions of Local and Nonlocal Interactions. *Polymer*, 54, 623-632.
- Koga, N., Takada, S., 2001. Roles of Native Topology and Chain-length Scaling in Protein Folding: A Simulation Study with a Go-like Model. *Journal of Molecular Biology*, 313 (1), 171-180.
- Langmuir, I. and Wrinch, D., 1939. Structure of Proteins. *Nature*, 143, 49-52.
- Levinthal, C., 1968. Are there pathways for protein folding? *J. Chem. Phys.*, 65, 44-45.
- Li, H., Tang, C. And Wingreen, N. S., 1997. Nature of Driving Force for Protein Folding: A Result From Analyzing the Statistical Potential. *Physical Review Letters*, 79 (4), 765-768.
- Mi, D., Liu, G. R., Wang, J. S., Li, Z. R., 2006. Relationships between the folding rate constant and the topological parameters of small two-state proteins based on general random walk model. *Journal of Theoretical Biology*, 241 (1), 152-157.
- Miyazawa, S. and Jernigan, R. L., 1985. Estimation of Effective Interresidue Contact Energies from Protein Crystal Structures: Quasi-Chemical Approximation. *Macromolecules*, 18, 534-552.
- Miyazawa, S. and Jernigan, R. L., 1996. Residue-Residue Potentials with a Favorable Contact Pair Term and an Unfavorable High Packing Density Term, for Simulation and Threading. *Journal of Molecular Biology*, 256, 623-644.
- Noguti, T. and Go, N., 1989a. Structural basis of hierarchical multiple substates of a protein. I: Introduction. *Proteins*, 5 (2), 97-103.
- Noguti, T. and Go, N., 1989b. Structural basis of hierarchical multiple substates of a protein. III: Side chain and main chain local conformations. *Proteins*, 5 (2), 113-124.
- Noguti, T. and Go, N., 1989c. Structural basis of hierarchical multiple substates of a protein. V: Nonlocal deformations. *Proteins*, 5 (2), 132-138.
- Nölting, B., 2006. *Protein Folding Kinetics*. Springer, 222p, U. S.
- Onuchic, J. N., Luthey-Schulten, Z. and Wolynes, P. G., 1997. Theory of protein folding: the energy landscape perspective. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, 48, 545-600.
- Pauling, L. and Niemann, C., 1939. The Structure of Proteins. *Journal of the American Chemical Society*, 61 (708), 1860-1867.
- Plaxco, K. W., Spitzfaden, C., Campbell, I. D., Dobson, C. M., 1997. A comparison of the folding kinetics and thermodynamics of two homologous fibronectin type III modules. *Journal of Molecular Biology*, 270 (5), 763-770.

- Plaxco, K. W., Simons K, T. and Baker, D., 1998. Contact Order, Transition State Placement and the Refolding Rates of Single Domain Proteins. *JMB*, 277, 985-994.
- Plaxco, K. W., Simons, K. T., Ruczinski, I., Baker, D., 2000. Topology, stability, sequence, and length: defining the determinants of two-state protein folding kinetics. *Biochemistry*, 39 (37), 11177-11183.
- Rahman, A., 1964. Correlations in the Motion of Atoms in Liquid Argon. *Phys. Rev. A*, 136, 405.
- Schwede, T., 2005. Protein Structure Prediction: Protein Structure Homology Modeling. Swiss Institute of Bioinformatics, <http://www.biozentrum.unibas.ch/~schwede/Teaching/BixII-SS05/FR-HM.pdf> (08.07.2009).
- Shi, Y., Zhou, J., Arndt, D., Wishart, D. S. and Lin, G., 2008. Protein contact order prediction from primary sequences. *BMC Bioinformatics*, 255 (9), 1471-2105.
- Shirley, B. A., 1995. Protein Stability and Folding. Humana Press, 377p, New York City.
- Smith. G. D., 1999. Molecular Dynamic Simulations of Polymers: An Introduction. University of Utah, <http://www.eng.utah.edu/~gdsmith/reference.html> (15.07.2009).
- Stillinger, F. H. and Weber, T. A., 1984. Packing Structures and Transitions in Liquids and Solids. *Science*, 225 (4666), 983-989.
- Tsigelny, I. F., 2002. Protein structure prediction. International University Line, 493 p, California, U. S. A.
- Veitshans, T., Klimov, D. and Thirumalai, D., 1996. Protein folding kinetics: timescales, pathways and energy landscapes in terms of sequence-dependent properties. *Research Paper*, 2, 1-22.
- Wu, H., 1929. A New Colorimetric Method for the Determination of Plasma Proteins. *Journal of Biological Chemistry*, 82, 545-550.

## ÖZGEÇMİŞ

1982 yılında Erzurum'da doğan Zeynep UZUNOĞLU ilk, orta, lise eğitimini Erzurum'da tamamladı ve 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Fizik Bölümü'nden mezun oldu. 2006 yılında Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde Fizik Anabilim Dalı'nda Atom ve Molekül Fiziği üzerine Yüksek Lisans yapmaya başladı.