



T.C.
BATMAN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PROTEİN-ENZİM ÇÖZELTİLERİNİN NMR
PROTON DURULMA ZAMANLARINA DAİR
ÇALIŞMALARIN İNCELENMESİ, ÇIKAN
BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE
GELECEĞE YÖNELİK ANALİZLERİN
YAPILMASI**

Sezgin BİREL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Fizik Anabilim Dalı

Ocak-2017
BATMAN
Her Hakkı Saklıdır

TEZ KABUL VE ONAYI

Sezgin BİREL tarafından hazırlanan “Protein-Enzim Çözeltilerinin NMR Proton Durulma Zamanlarına Dair Çalışmaların İncelenmesi, Çıkan Bulguların Değerlendirilmesi ve Geleceğe Yönelik Analizlerin Yapılması” adlı tez çalışması 26/01/2017 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Başkan

Doç. Dr. M. Zafer KÖYLÜ

Üye

Prof. Dr. Ali YILMAZ

Üye

Doç.Dr. Nevzat DAMLA

İmza

.....

.....

.....

Yukarıdaki sonucu onaylıyorum.

Doç. Dr. Bahattin İŞCAN

FBE Müdürü

TEZ BİLDİRİMİ

Bu tezdeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini ve tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

DECLARATION PAGE

I hereby declare that all information in this document has been obtained and presented in accordance with academic rules and ethical conduct. I also declare that, as required by these rules and conduct, I have fully cited and referenced all material and results that are not original to this work.

Sezgin BİREL

Tarih:

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

PROTON-ENZİM ÇÖZELTİLERİNİN NMR PROTON DURULMA ZAMANLARINA DAİR ÇALIŞMALARIN İNCELENMESİ, ÇIKAN BULGULARIN DEĞERLENDİRİLMESİ VE GELECEĞE YÖNELİK ANALİZLERİN YAPILMASI

Sezgin BİREL

Batman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Fizik Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ali YILMAZ

2017, 72 Sayfa

Jüri

Doç. Dr. M. Zafer KÖYLÜ

Prof. Dr. Ali YILMAZ

Doç. Dr. Nevzat DAMLA

Protein-enzim çözeltileri ve bunların NMR T_1 ve T_2 durulma zamanlarının ölçülmesinde kullanılan yöntemlerin, NMR cihazlarının, kullanılan rezonans frekanslarının, ölçüm yapılan sıcaklık ve konsantrasyonlarının, ölçümlerden elde edilen sonuçların, söz konusu sonuçların yeniden üretildiği teorilerin ve bu sonuçlardan ortaya çıkan uygulamalar ile ayrıca NMR'ın ilaç yapımında ve tedavi yöntemlerinde kullanım alanları incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: frekans, konsantrasyon, iyon, rezonans, T_1 ve T_2 durulma zamanları

ABSTRACT

MS THESIS

**İNVESTIGATION OF THE PROCESS OF THE PROTON-ENZYME
SOLUTIONS ON NMR PROTON RESPONSE TIME, EVALUATION OF
THEIR RESULTS AND ANALYSIS FOR FUTURE TREATMENT**

Sezgin BİREL

**THE GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCE OF
BATMAN UNIVERSITY
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN PHYSICIS**

Advisor: Prof. Dr. Ali YILMAZ

2017, 72 Pages

Jury

**Doç. Dr. M. Zafer KÖYLÜ
Prof. Dr. Ali YILMAZ
Doç. Dr. Nevzat DAMLA**

It is also known that the NMR spectroscopy of the protein-enzyme solutions and the methods used to measure their NMR T_1 and T_2 relaxation times, the NMR apparatuses, the resonance frequencies used, the measured temperatures and concentrations, the results obtained from the measurements, the theories in which such results are reproduced, In medicine and treatment methods.

Keywords: T_1 and T_2 relaxation, NMR, ions, frekans, pure.

ÖNSÖZ

Manyetik rezonansın kelime anlamı manyetik titreşim demektir. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) çalışmaları 1946 yılında başlamıştır.

Lauterbur ve Mansfield tarafından 1973 yılında fiziksel yapıların analiz edilmesinde NMR tekniği kullanılmıştır. Bu çalışmaların ivmeli artışına müteakip, Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRI) tekniği ortaya çıkmış ve birçok biyomedikal, kimya ve mühendislik alanlarında uygulanılır hale gelmiştir (Ünal 2008).

Bu tez de verilen konuların uygun bir tarzda derlenerek ortaya konulması, ileride yapılacak çalışmalar için hazır bir veri tabanı oluşturacağı için oldukça önemlidir.

Tez çalışmamda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. M. Zafer KÖYLÜ' ye ve danışman hocam Prof. Dr. Ali YILMAZ'a teşekkür ederim.

Sezgin BİREL
BATMAN-2017

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
ÖNSÖZ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
ÇİZELGELER LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. KISA NMR TEORİSİ	3
2.1. NMR'ın Klasik Tanımı.....	3
2.2. NMR'ın Kuantum Tanımı.....	5
2.3. Rezonans Olayı ve Rezonans Koşulu.....	6
2.4. Mıknatıslık ya da Sinyal Şiddeti.....	8
2.5. T_1 ve T_2 Durulmalarının Makroskobik Bakış ile Anlatımı.....	9
2.6. Kimyasal Kayma.....	10
2.7. Protein Relaksasyon Oranının Arttırılması.....	12
2.8. Pik Yerlerinin Belirlenmesi ve NMR Spektrumlarında Skala.....	13
3. MATERYAL VE YÖNTEM	15
3.1: T_1 ve T_2 Ölçümlerinde Kullanılan Spektrometre ve Frekanslar.....	15
3.2. Çalışmalarda Kullanılan Frekans Ölçümleri.....	19
3.3. Çalışmalarda Elde Edilen Sıcaklık Ölçümleri.....	23
3.4. Elde Edilen Veri Çizelgeleri.....	25
4. KAYNAK ARAŞTIRMASI	29
4.1. Proton Manyetik Durulma ve Protein Hidrasyonu.....	29
4.2. İnaktif Hale Getirilmiş Kreatin Kinazı Biçimleri Üzerinde Manyetik Rezonans Çalışmaları.....	29
4.3. Protein Çözeltilerinde Nükleer Manyetik Durulma.....	30
4.4. Proton Spin Relaksasyon Zamanı Ölçümleri İle Protein Hidrasyonunun Araştırılması.....	31
4.5. Manganez-Nükleotid Kinaz Üçlü Kompleksleri İçin Proton Manyetik Relaksasyon Oranlarından Denge Verilerinin Analizi.....	32
4.6. Protein Çözeltilerinde Nükleer manyetik Durulma Dispersiyonu: V. Sığır Eritrosit Süperoksit Dismutaz.....	33
4.7. Sulu Sığır Albumin Solüsyonlarında Nükleer Manyetik Rezonans Durulma.....	33

4.8. Protein Hidrasyonu. Yerli Sığır Serum Albümin Solüsyonlarında Suyun Durumunun Nükleer Manyetik Rezonans Durulma Çalışmaları.....	33
4.9. Sığır Serumu Albümin Solüsyonlarındaki Su Hareketliliğinin NMR Durulması İncelenmesi.....	34
4.10. Çözücü ¹ H ve ² H Manyetik Durulma İle Çalışılan Protein Rotasyon Durulması..	35
4.11. Normal ve Orak Eritrositlerin Su Proton Manyetik Rezonans Çalışmaları Sıcaklık ve Hacim Bağımlılığı.....	35
4.12. Hidratlanmış Kollajenin Proton NMR'sinde Çapraz Gevşeme ve Spin Difüzyonu.....	36
4.13. Proteinler Arasında Manyetik Çapraz Relaksasyon	37
4.14. Parametrik Katkıların Hücre İçi Suyun Protonlarının Spin-Kafes Durulması Üzerine Etkisi.....	38
4.15. Methemoglobin Çözeltilerinde Protein ve Su Protonlarının NMR Durulması.....	38
4.16. N-Site Kimyasal Değişimi İle Bloch Denklemlerinin Tam Çözümleri.....	38
4.17. Karbonik Anhidraz Aktif Yerde Su Değiştirme.....	38
4.18. Diyalomik Hemoglobin Çözeltilerinde Protein ve Su Protonlarının NMR Durulması.....	39
4.19. Sığır Serum Albümin Solüsyonlarının ¹ H-ve ² H-NMR Çalışmaları.....	40
4.20. Manyetik Rezonans Görüntüleme Fantomlarında Kullanılmak Üzere Doku Taklit Eden Jelatin-Agar Jelleri.....	41
4.21. Proton ve Döteryum Boyuna Durulma Sürelerine Sahip Protein Çözeltilerinde ve Dokularda Hidrodinamik Etkiler ve Çapraz Durulmanın Niceliksel Çalışmaları.....	41
4.22. İnsan Serum Protein Çözeltilerinde Nükleer Magnetik Relaksasyon Dağılımı...	42
4.23. Sığır Objektif Beta L-Kristalin Çözeltilerinde Molekül İçi Protein Etkileşimleri. 1 / T1 Nükleer Manyetik Durulma Dağılım Profillerinden Elde Edilen Sonuçlar.....	42
4.24. Biyolojik Sistemlerde Paramanyetik İyonların ve Su Proton Spin-Kafes Durulma Zamanının Rolü.....	43
4.25. Su-Protein Etkileşimlerinin Dinamiği.....	43
4.26. Küresel Proteinlere Bağlanan Dimetil Sülfoksit: Nükleer Manyetik Bir Durulma Dispersiyonu Çalışması.....	43
4.27. Serum Demirin Spin-Kafes Durulma Hızına (1/ T1) Parametrik Olarak Katkısı..	44
4.28. Membranlar ve Membrana Bağlanan Proteinler İle İlaç Etkileşiminin NMR Çalışmaları.....	44
4.29. Serum Demirin Spin-Spin Durulma Hızına (1 / T2) Paramagnetic Katkısı MR İle Ölçülmüştür.....	45
4.30. Proton T1 ve T2 Proteinlerin Durulması.....	45
4.31. Su Proton Durulma Hız Arttırmaları ve Birliktelik Sabitleri NMR T1 Ölçümleri ile Saptanan Mn (II) Serum Proteinleri.....	46
4.32. Kombine Kemoterapide İlaçların Serum Albumine Rekabeti: NMR Çalışması..	46
4.33. Biyolojik Sistemlerde Nükleer Manyetik Rezonans ve Spin Durulması.....	47
4.34. Dönel Olarak Hareketsizleştirilmiş Proteinlerde Protonların Parametrik Olarak Durulması.....	47
4.35. Bağlanmış Suyun Protein Solüsyonlarında ¹ H NMR Durulma Süreçlerini Modüle Eden Etkin Korelasyon Zamanının Belirlenmesi.....	48
4.36. Odontojenik Çene Kistlerine Eklenen Bazı İyonların, Albüminin ve Kolesterolün Proton Durulması.....	49
4.37. Mn (II) Katkılı Albümin Solüsyonlarında Proton NMR Durulması.....	49

4.38. NMR Relaksometri: Dönen Çerçeve İçindeki Dönme Kafesi Durulma Sürelerine Karşı Laboratuar Çerçevesindeki Spin Örgü Durulma Süreleri.....	50
4.39. Paramanyetik Protein Çözeltilerinin Su-Proton-Spin-Örgü-Durulma Dağılımı...	50
4.40. Protein Hareketlerinin Modülasyonundan Enzim Mühendisliği Yararlanabilir mi? NMR Durulma Dağılımı Deneylerinden Alınan Dersler.....	51
4.41. Dinamik Nükleer-Polarizasyon-Geliştirilmiş Yüksek Alan NMR Spektroskopisi Kullanılarak İncelenen Biosilika-Tutulan Enzimler.....	51
5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	53
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	55
6.1. Sonuçlar.....	55
6.2. Öneriler.....	55
KAYNAKLAR.....	56
ÖZGEÇMİŞ.....	60

SİMGELER VE KISALTMALAR

H_0 ve B_0	: Dış Manyetik alan
FID	: serbest bozunum sinyali
RF	: Radyo frekans
T	: Sıcaklık
T_1	: Spin-Örgü Durulma Zamanı
T_2	: Spin- Spin Durulma Zamanı
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
MHz	: Megahertz
μ	: Manyetik moment
γ	: Jiromanyetik oran
ℓ	: Yörünge açısal momentum
S	: Spin açısal momentum
τ	: İlgı zamanı
L_0	: Öz indüksiyon katsayısı
IR	: Inversion Recovery
HSA	: Human Serum Albumin (İnsan serum albümin)
ω_0	: Larmor frekansı
h	: Planck sabitidir
I	: Spin kuvantum sayısı
TMS	: Tetrametilsilan

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil:2.1. Dönen bir taneciğin bir magnetik alandaki presasyonu.....	4
Şekil 2.2. Dış magnetik alana göre spin hareketleri.....	5
Şekil 2.3. Herhangi bir atomunda enerjinin salınması veya yutulması.....	7
Şekil 2.4. Bir protonun, farklı şiddetteki iki manyetik alanda meydana getirdiği enerji seviyeleri.....	8
Şekil 2.5. Bir örnek numune içindeki spinlerin enerji seviyelerine yerleşiminin temsili gösterimi.....	9
Şekil 2.6. Spinlerin defaze olma süreci	10
Şekil 2.7. (a) Küresel bir molekül içinde rastgele yönelen yörüngesel akımlar (b) H_0 Dış alanına dik konumlanan yörüngeler.....	11
Şekil 2.8. Ayrı molekül tipi bulunduran bir yapıda kimyasal kayma	11
Şekil 2.9. Tetrametilsilan sinyali ve organik bileşiklerin rezonans bölgesi.....	13
Şekil 3.1. OXFORD NMR 200 MHz Mıknatıs BRUKER ASX 200 Nükleer manyetik rezonans Spektrometresi.....	15
Şekil 3.2. Bruker AVANCE III 400 MHz NMR Spektrometresi (Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi).....	16
Şekil 3.3. Yüksek Çözünürlüklü Dijital 600 MHz NMR Spektrometresi.....	16
Şekil 3.4. Bruker Biospin Mıknatıs (Yüksek performanslı aktif siperli Ultrashield™ 300 MHz süper iletken mıknatıs.....	17
Şekil 3.5. Bruker AVANCE III 500 MHz NMR Spektrometresi (Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi).....	17
Şekil 3.6. Ana Bruker AVANCE 1000MHz NMR Spektrometresi.....	18
Şekil 3.7. Nükleer manyetik rezonans (MRI - manyetik rezonans görüntüleme olarak da bilinir).....	18
Şekil 3.8. Çözücünün nükleer manyetik gevşeme dispersiyonu Damıtılmış birkaç konsantrasyonda apotransferrin için protonlar Su. Sol alt köşedeki ok durulmayı gösterir. Proteinsiz damıtılmış su oranı.....	19
Şekil 3.9. 50 MHz'e genişletilmiş Apotransferrin için nükleer manyetik relaksasyon dağılımı verileri.....	20
Şekil 3.10. Doğal ve Co ²⁺ -süstitüe edilmiş HCAB için NMRD spektrumunu Göstermektedir.....	20
Şekil 3.11. 25 °C de ve PH 9.94 te paramagnetik iyonlar ile frekans ölçümleri.....	21
Şekil 3.12. Enzimin yüksek pH'lı formunun fraksiyonu F'nin bir fonksiyonu olarak türetilmiş frekans ölçümleri.....	21
Şekil 3.13. 8.13 ve 220 arasında dört frekans için ilgi zamanları.....	22
Şekil 3.14. Eklenen protein konsantrasyonlarına karşı 1 / T ₂ gerileme oranı (Formüllerin sırası sembollerinki ile aynıdır.).....	22
Şekil 3.15. Eklenen protein konsantrasyonlarına karşı 1 / T ₁ durulma oranı.....	23
Şekil 3.16. (V = 0) sıcaklık bağımlılığı, veriden 16 kHz'de alınır. Veriler v_p / T 'ye göre çizilir; burada v_p Saf çözeltinin sıcaklığa bağlı viskozitesi...23	23
Şekil 3.17. Kreatin kinazın üçlü ve dördümlü kompleksleri için sıcaklık ile 1 / T _{1p} Değişimi.....	24
Şekil 3.18. Üç farklı kompleks enzimin sıcaklığa bağlı durumları.....	24
Şekil 3.19. Paramagnetik katkı ile dört farklı frekansta protein relaksasyon oranları...25	25
Şekil 3.20. Paramagnetik katkı ile üç farklı frekans için mutlak sıcaklıkta normalleştirilmiş PRR oranları ve Piruvat Kinaz bölgeler.....	25

ÇİZELGELER LİSTESİ

Çizelge 3.1: Apotransferinin örnekleri için deneysel koşullar ve deney sonuçlarının özeti.....	26
Çizelge 3.2: Diferentin üçlü E-Mn-ADP komplekslerinin Kreatin kinaz formlarının protein durulma oranları iyileştirmeleri.....	26
Çizelge 3.3: Kuaterner enzim-Mn-ADP-kreatin kompleksinden kreatin için görünür ayrışma sabitinin sıcaklık bağımlılığı.....	27
Çizelge 3.4: 25 °c için n- dicated olarak, (eq. 1) 'nin en az bir kare büyüklüğünün verileri için sonuçların kontrolü.....	27
Çizelge 3.5: Piruvat kinaz-manganez (II) -P-enolpiruvat kompleksindeki su ligandlarının hesaplanan sayısı.....	28
Çizelge 3.6: Bazı serum proteinlerinin ve damıtılmış su ile seyreltilmiş serumun proton durulması.....	28
Çizelge 3.7: Transferrin demir ve serum proteinlerinin 1 / T ₁ ve 1 / T ₂ 'ye katkısı..	28

1. GİRİŞ

Yüzyılımızın, spektroskopi alanındaki en büyük buluşlardan biri olan manyetik rezonansın bilime ve teknolojiye olan katkısı oldukça çoktur. Manyetik rezonansın uygulama alanı 1946' da, Harvard' da Purcell, Pound, Torrey ve Stanford' dan Bloch, Hansen ve Packard' ın ilk başarılı deneyleri ile birlikte büyük bir hızla gelişti (Slichter 1963). Teorik ve teknik gelişimi günümüzde de devam etmekte olan bu tekniğin temel formülasyonu klasik olarak Abragam tarafından özetlenmiştir. (Abragam 1961). Başlangıçta fizikte kullanılan NMR, sonraları kimyada, biyolojide, biyofizik, biyokimya, tıp ve eczacılık alanlarında da kullanılmaya ve uygulama alanlarını genişletmeye başlamıştır (Bahçeli 1996).

Biyofizikte NMR spektroskopisinin çok sayıda uygulaması vardır. Bir yapıdaki baz durumu ve hidrojen bağlarının konumu, proteinlerde geçici sarmal helis yapılarının gözlenmesi, proteinlerin ligandları ile etkileşim içinde olması ve biyolojik zarların yapılarının ve davranışlarının irdelenmesinde NMR spektroskopisi büyük ölçüde kullanılmıştır (Yıldırım 1985).

Tıpta sağlıklı kanlar ve hasta kanlarının T_1 rölaksasyon zamanlarının karşılaştırılması ile ivme kazanan araştırmalar (Floyd ve ark. 1975, McLachlan 1980), kanserli ve normal dokuların durulma zamanlarının karşılaştırılması ile daha da ileri boyutlara varmış (Frey ve ark. 1972, Koutcher ve ark. 1978), ve manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yönteminin doğmasına yol açmıştır (Koenig ve Brown 1985, Mansfield ve Maudsley 1977). Manyetik rezonans görüntüleme (MRG) yönteminin sürekli olarak hastane hizmetlerinde kullanımı, daha önce NMR ile in vitro yapılan çalışmaların artık in vivo olarak tekrarlanmasını gerektirmiştir. Doku deneyleri bunun en alışıldık örneği olmaktadır (Frey ve ark. 1972, Koutcher ve ark. 1978). MRG, hastalıkların teşhisi için sürekli olarak kullanılmaktadır. MRG, çeşitli düzlemlerde çekilebilen mükemmel yakın görüntüler vermektedir. MRG' deki görüntü netliğinde dört faktör etkilidir, bunlar: Kimyasal Kayma, Hidrojen Yoğunluğu, T_1 ve T_2 rölaksasyon zamanlarıdır. Rölaksasyon zamanlarının sağlıklı ve sağlıklı dokuları birbirinden ayırt etmek için kullanıldığı bilinmektedir (Bottomley ve ark. 1987, Friedman ve ark. 1986).

Çözeltilerdeki moleküllere ilişkin hareketli olan mekanizmaların anlaşılması için NMR rölaksasyon zamanlarının (T_1 spin-örgü ve T_2 spin-spin) uygulanması vazgeçilmez ve

oldukça sıklıkla kullanılan bir yöntem haline gelmiştir (Marshall ve ark. 1972, Hubbard 1963, Popov 1979).

Bu tezin amacı, frekansa, sıcaklığa, konsantrasyona, vizkoziteye, vizkozite/sıcaklık oranına ve PH üzerine yapılan NMR T1 ve T2 verilerini değerlendirerek; ortaya çıkan sonuçları araştırmacıların hizmetine sunmaktır.



2. KISA NMR TEORİSİ

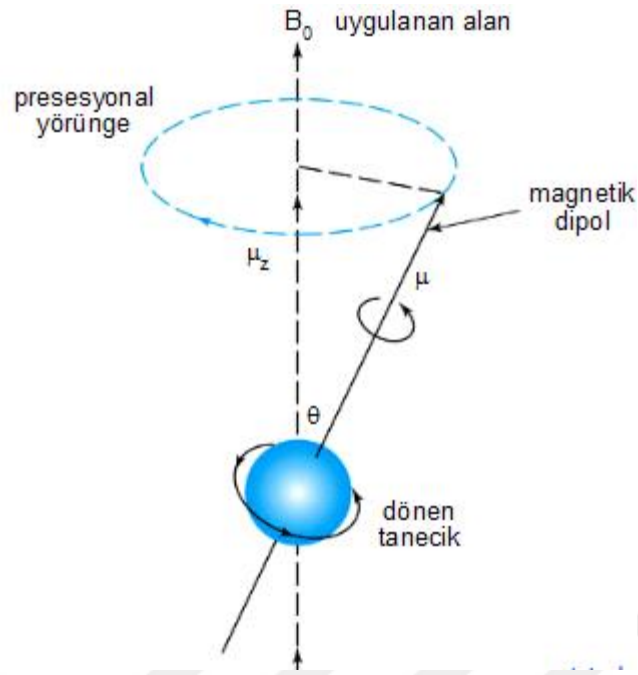
2.1. NMR'ın Klasik Tarifi

Önce bir kompas iğnesi gibi, dönmeyen bir magnetik bedenini, bir dış magnetik alandaki davranışını inceleyelim. Alanın konumundaki ani bir değişiklik, iğnenin iki ucu üzerinde kuvvet oluşmasına ve böylece iğnenin kendi eksen düzleminde sallanmasına neden olur; sürtünme yoksa iğnenin uçları alan ekseninde süresiz olarak ileri-geri salınmaya devam eder.

Magnet eğer kendi güney-kuzey eksenini etrafında hızla dönerse meydana gelen presesyon oldukça farklıdır. Bu durumda griyoskopik (topaç) etki nedeniyle, alanın dönme eksenine uyguladığı kuvvet, presesyonun kuvvet düzleminde değil, buna dik bir düzlemde olmasına yol açar; dönen taneciğinin eksenini böylece magnetik alanın etrafında dairesel bir yol izler. Bu presesyon, bir kuvvet uygulanarak dikey konumundan saptırılan bir topacın hareketine benzer (Şekil 2.1).

Klasik mekaniğe göre presesyonun açısal hızı uygulanan kuvvetle doğru, dönen bedenini (ki buna kuvvet uygulanmıştır) açısal momenti ile ters orantılıdır. Bir magnetik alan içinde dönen tanecik üzerindeki kuvvet, alan kuvveti B_0 ile taneciğinin magnetik momenti $\mu\beta$ nin çarpımına, yani $\mu\beta B_0$ 'a eşittir; açısal moment de $I(h/2\pi)$ dir; presesyon hızı ω_0 , aşağıdaki denklemlerle verilir. Buradaki γ ya "magnetogrik oran" (veya, giromagnetik) denir.

$$\omega_0 = \frac{2\pi\mu\beta}{Ih} B_0 = \gamma B_0 \quad (2.1)$$



Şekil: 2.1. Dönen bir taneciğin bir magnetik alandaki presesyonu

Magnetogrik oran, dönen bir taneciğin magnetik momenti ve açısai momentumu arasındaki ilişkiyi gösterir.

$$\gamma = \frac{\mu \beta}{I (h/2 \pi)} \quad (2.2)$$

Magnetogrik oran her çekirdek için özel bir değerdir. Presesyon frekansına (ν_0) "Larmor frekansı" denir.

$$\begin{aligned} \omega_0 &= \gamma B_0 \\ \nu_0 &= \frac{\omega_0}{2 \pi} = \frac{\gamma B_0}{2 \pi} \\ h \nu_0 &= \frac{\mu \beta}{I} B_0 \end{aligned} \quad (2.3)$$

Bu eşitlik, NMR'ın kuvantum tanımında verilen,

$$\Delta E = h \nu = \mu \beta \frac{B_0}{I} \quad (2.4)$$

eşitliği ile kıyaslandığında, klasik mekanikten çıkarılan tanecik presesyon frekansının, dönen bir taneciğin bir spin halinden bir diğerine geçişi için gerekli radyant enerjiye veya kuvantum mekaniği frekansına eşit olduğu görülür; yani,

$$\nu_0 = \nu \text{ dir.} \quad (2.5)$$

Bu eşitlikten absorblanan ışın ve magnetik alanın kuvveti arasında aşağıdaki bağıntı çıkarılır.

$$\nu = \frac{\gamma B_0}{2 \pi} \quad (2.6)$$

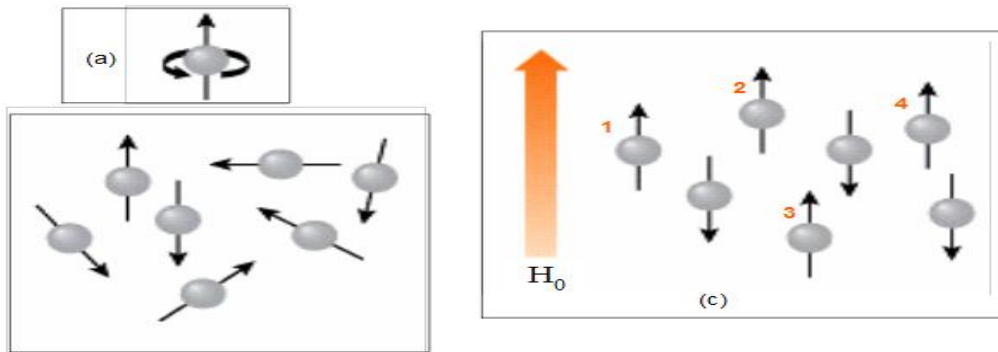
(D.A.Skoog, D.M.West 'Principles of Instrumental Analysis', (second ed), 1981)

2.2. NMR'ın Kuvantum Tanımı

NMR, bir atomik çekirdeğin magnetik momentinin (μ) bir dış magnetik alanla (B_0) etkileşiminden meydana gelen magnetik rezonansın izlenmesinde radyo dalgalarının kullanıldığı bir spektroskopik tekniktir.

Kuvantum mekaniği yönünden tek kütle veya tek atomik numaralı bir çekirdeğin "nükleer spin"i vardır. Çekirdeğin her spini farklıdır; bu durum, NMR deneylerinin, özel bir elementin sadece özel bir izotopu için hassas olması sonucunu gerektirir.

^1H veya ^{13}C gibi dönen bir yük (spinning charge) bir magnetik alan oluşturur. Spini $+1/2$ olan bir çekirdeğin oluşturduğu magnetik alanın yönü, spini $-1/2$ olan çekirdeğin yarattığının ters yönündedir (Şekil-a). Nükleer spinler bir magnetik alana (B_0) konulduğunda enerji hallerine uygun olarak yönlendirilir; yönlendirmelerini sağlayan etkiye Zeeman Etkisi denir.



Şekil 2.2. Dış magnetik alana göre spin hareketleri

Bir dış magnetik alan bulunmadığı zaman nükleer spinlerin dağılımı rastgeledir (Şekil-b). Bir dış alan, uygulanan alana paralel ve antiparalel nükleer magnetik momentler oluşmasını sağlar (Şekil-c). Uygulanan manyetik alana paralel olan yerleşimlerin (Şekilde 1, 2, 3, 4) magnetik momentleri nispeten daha yüksektir.

Taneciğin spinine bağlı açısal momentin $h/2$ ile çarpımının bir bütün veya bütünün yarısı olduğu kabul edilir (h planck sabitidir). Bir çekirdek taneciğinin maksimum spin bileşeni "spin kuvantum sayısı, I "dır; bu durumda bir çekirdeğin $(2I + 1)$ hali vardır. Bu hallere ait açısal momentum bileşeni, seçilen herhangi bir yönde, $I, I - 1, I - 2, \dots, -I$ değerlerinde olacaktır. Bir dış alan bulunmaması durumunda çeşitli hallerin enerjileri birbirine eşittir.

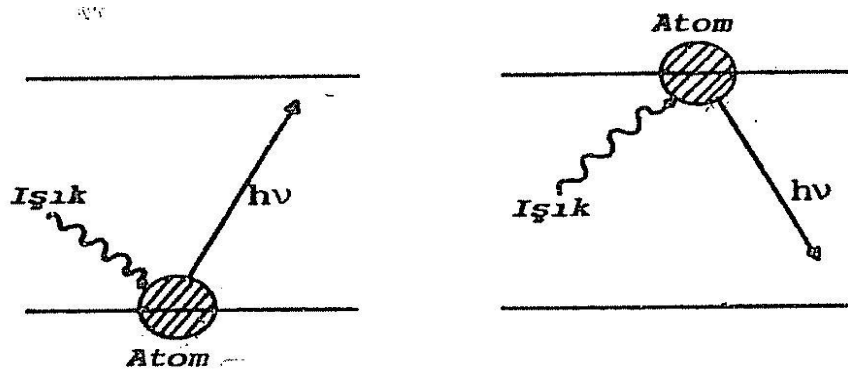
Bir protonun spin sayısı $1/2$ dir; böylece $I = +1/2$ ve $I = -1/2$ olmak üzere iki spin durumu bulunur. Ağır çekirdekler çeşitli elementer taneciklerin biraraya gelmesiyle oluştuğundan spin numaraları sıfırdan, en az $9/2$ ye kadar değişebilir. Bir çekirdeğin spin numarası, içerdiği protonların ve nötronların relatif sayısına bağlıdır.

2.3. Rezonans Olayı ve Rezonans Koşulu

Rezonans kavramının kökeni klasik mekaniğe aittir. Basit olarak şöyle ifade edilebilir: İki basit sarkaç düşey olarak yan yana asıldıklarında birisinin hareketi öteki tarafından tekrar edilir. Yani, sarkaçlardan biri hareketli, diğeri durgun ise, hareketli olandan durgun olana enerji aktarımı olur ve durgun olan da harekete başlar. Sonra enerjisinin bir bölümünü yeniden ilk sarkaca aktarır. Böylece, sönüm etkenlerinin mevcut olmadığı bir ortamda iki sarkaç arasında enerji alış verişi sürekli devam eder .

Sarkaçların doğal frekansları birbirine eşit olduklarında, aralarındaki enerji aktarımı en zirve duruma ulaşır. Böylece sarkaçların doğal frekanslarının birbirine eşit olduğu bu duruma rezonans deriz.

Atomların kendi frekanslarını geçiş frekansları olarak biliriz. Ayrıca gelen ışığın frekansı da ayarlanabilir. Yani elektromanyetik alanın frekansı ve atomun doğal frekansı ayarlandığı durumda, bu kuantum mekaniksel sistem klasik mekanikteki sarkaç sistemi gibi hareket eder. Yani, ya elektromanyetik alandan atoma enerji geçişi olur ve ya başlangıçta uyarılmış durumda bulunan atomdan elektromanyetik alana enerji geçer. Bunlardan birincisine enerji soğurulması ve ikincisine ise enerji salınması deriz (Şekil 2.3).



Şekil 2.3: Herhangi bir atomunda enerjinin salınması veya yutulması

Spin kuantum sayısı $I > 0$ olan çekirdekler, manyetik alan içerisine getirildiklerinde, manyetik kuantum sayısına göre belirli enerji seviyelerine yayılırlar. Protonun iki tane manyetik kuantum sayısı bulunur. Böylece dış manyetik alanda iki farklı enerji seviyesine bölünür ve bu enerji seviyeleri

$$E_{paralel} = \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \left(-\frac{1}{2} \right) \quad E_{antiparalel} = \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \left(+\frac{1}{2} \right) \quad (2.7)$$

gibi olur. Rezonans olayı, uygulanan manyetik alan ile paralel yönlenmiş manyetik momentin, dışarıdan verilen enerji ile, anti paralel konuma geçmesi olduğu için, bu iki enerji seviyesi arasındaki fark, rezonans açısından önem kazanır. Enerji seviyeleri arasındaki enerji farkı:

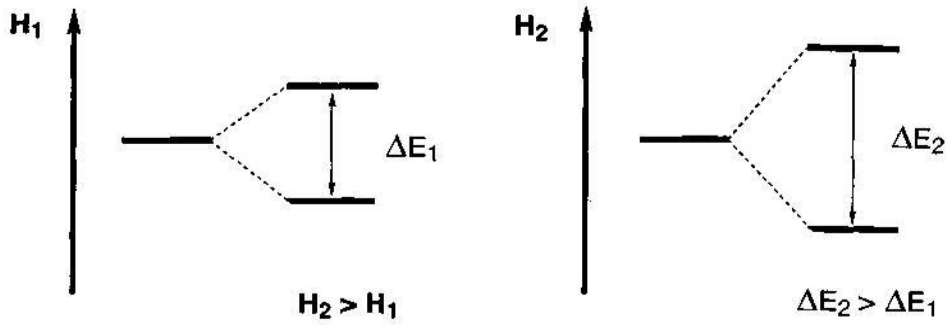
$$\Delta E = E_{antiparalel} - E_{paralel} = \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \left(\frac{1}{2} \right) - \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \left(-\frac{1}{2} \right) \quad (2.8)$$

gibi olur. Buradan,

$$\Delta E = \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \quad (2.9)$$

formülü elde edilir. Bu bağıntı, protonun manyetik alanda bulunduğu enerji seviyeleri arasındaki farkı gösterir. Plank sabiti h ve jromanyetik sabiti γ değişmeyeceğinden, değişken parametre olarak yalnızca manyetik alan şiddeti H_0 karşımıza çıkar. Böylece, protonun enerji seviyeleri arasındaki fark, doğrudan manyetik alan şiddetine bağlıdır. Kullanılan manyetik alan şiddeti (H_0) ne kadar fazla ise, bu enerji seviye farkı ΔE de o oranda çok olacaktır. Bu

fark, kullanılan cihazların hassasiyeti için bir ölçü olmaktadır ve bu seviyeler arasındaki dağılıma direkt etki eden faktördür (Şekil 2.4).



Şekil 2.4: Bir protonun, farklı şiddetteki iki manyetik alanda meydana getirdiği enerji seviyeleri

Elektromanyetik dalga için enerji,

$$E = h \nu \quad (2.10)$$

formülü ile gösterilir. Rezonans koşulu için (2.9) ve (2.10) nolu enerji denklemlerini kullanırsak,

$$E = h \nu = \gamma \frac{h H_0}{2 \pi} \quad (2.11)$$

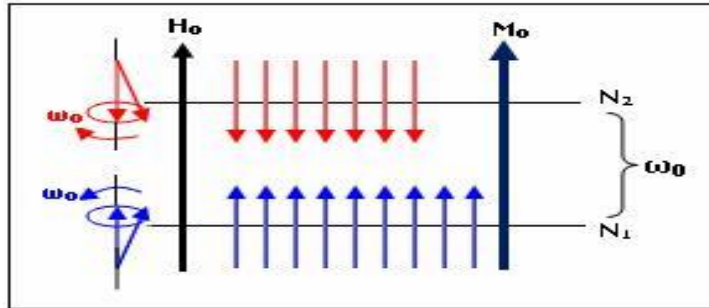
$$\nu = \gamma \frac{H_0}{2 \pi} \quad (2.12)$$

rezonans formülünü bulmuş oluruz. (2.12) denklemi, rezonans için NMR deneylerinde gerekli koşulu bizlere gösterir.

2.4. Miknatıslık ya da Sinyal Şiddeti

Şekil 2.5 te E₁ seviyesinde yukarıya doğru şekilde gösterilen oklar, spinlerin H₀ alanına paralel bileşenini; E₂ seviyesinde aşağı yönlü şekilde gösterilen oklar ise spinlerin H₀ alanına zıt paralel olan bileşenini göstermektedir. İstatistik Fizik'e göre: huni dönüşü spinlerin sayısı, ters huni dönüşü yapan spinlerin sayısından daha fazladır. Bu nedenle alt enerji seviyesine daha fazla spin dizilir. Diğer bir ifadeyle alt enerji seviyesinde daha fazla ve üst enerji seviyesinde daha az spin vardır. Bu nüfus farkının bileşkesi bir M₀ miknatıslanmasına

yol açar. Sinyaller bu mıknatıslanmadan elde edilir. Sinyali veren mıknatıslanma da şekil 2.5’ de verilmiştir. İstatistik değerleri ifade edebilmek için spinlerin enerji seviyelerine dağılımını ve bu dağılımdan elde edilen bileşke manyetizasyonu (M_0) tekrardan verelim.



Şekil 2.5. Bir örnek numune içindeki spinlerin enerji seviyelerine yerleşiminin temsili gösterimi (Yılmaz ve Korunur, 2011)

Şekil 2.5 deki her bir enerji seviyesine spinlerin yerleşmesi Boltzmann kuralına göre olur. Buna göre:

$$N_1 = C e^{-E_1/KT} \quad \text{ve} \quad N_2 = C e^{-E_2/KT} \quad (2.13)$$

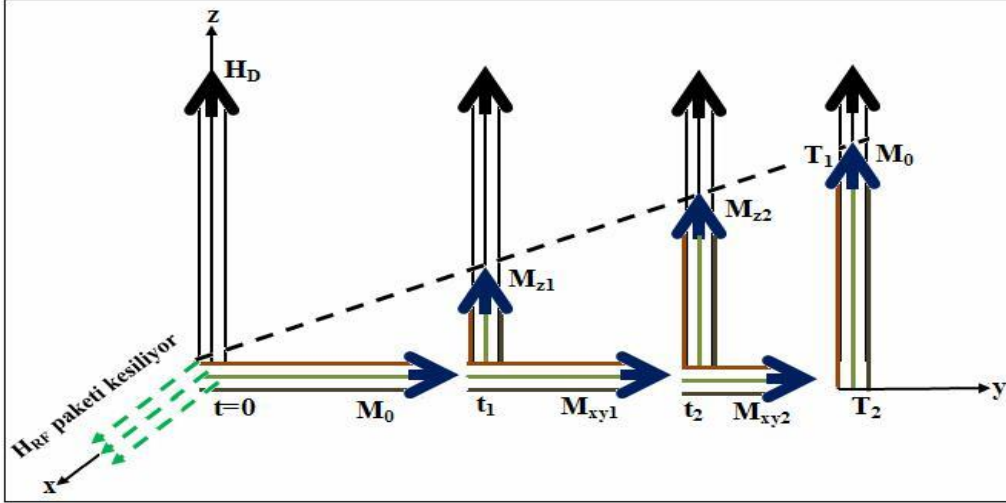
olarak yazılır. Denkleme göre alt enerji seviyesine daha fazla ve üst enerji seviyesine daha az spin yerleşeceğini görebiliriz.

$$M_0 = \text{sabit. } (N_1 - N_2).I \quad (2.14)$$

olarak yazılabilir. H_0 alanına paralel M_0 mıknatıslanmasını veren ifadeye, Boltzmann dengesi de denir (Yılmaz ve Korunur, 2011).

2.5. T_1 ve T_2 Durulmalarının Makroskobik Bakış ile Anlatımı

Örneğe x -ekseni boyunca 90 derecelik bir RF (radyo frekans) puls paketi uygulanırsa, $M_1, M_2, \dots, M_{16000}$ bileşenlerini içeren M_0 mıknatıslanması dönerek y -ekseni boyunca uzanır (Şekil 2.12). RF puls kesildikten sonra, spinlerin enerjilerini çevrelerine aktarmaları sonucu, mıknatıslanma z -ekseni boyunca artarak yeniden oluşur. (xy) düzlemindeki M_{xy} ise, $M^{(1)}_1, M^{(1)}_2, \dots, M^{(1)}_{16000}$ bileşenlerinin defaze olmaları sonucu, zamanla azalarak sıfıra gider (Şekil 2.6).

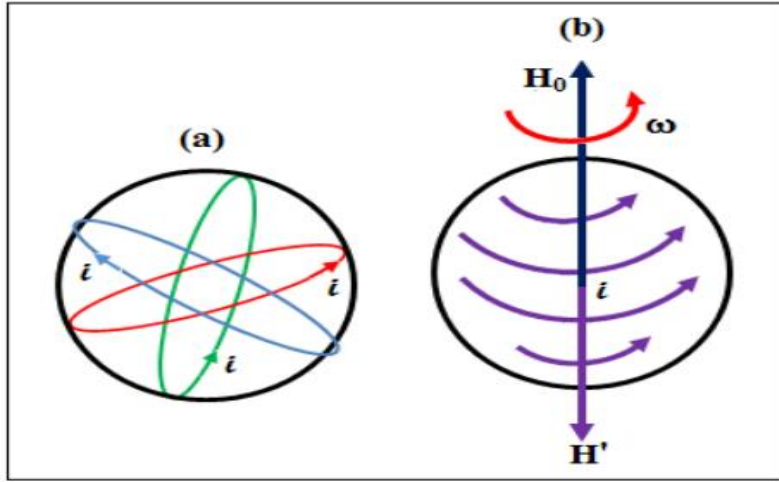


Şekil 2.6: Spinlerin defaze olma süreci(Yılmaz ve Korunur, 2011)

Spin-örgü durulma zamanı (T_1), mıknatıslanmanın z - eksenı boyunca artarak denge (M_0) değerine ulaşma süreçlerini karakterize eder. Spin-spin durulma zamanı T_2 ise, M_{xy} mıknatıslanmasının sıfıra gitme zamanını karakterize eden bir sürecin ölçümüdür. $1/T_1$ spin-örgü, $1/T_2$ ise spin-spin durulma oranlarını gösterir(Yılmaz ve Korunur, 2011).

2.6. Kimyasal Kayma

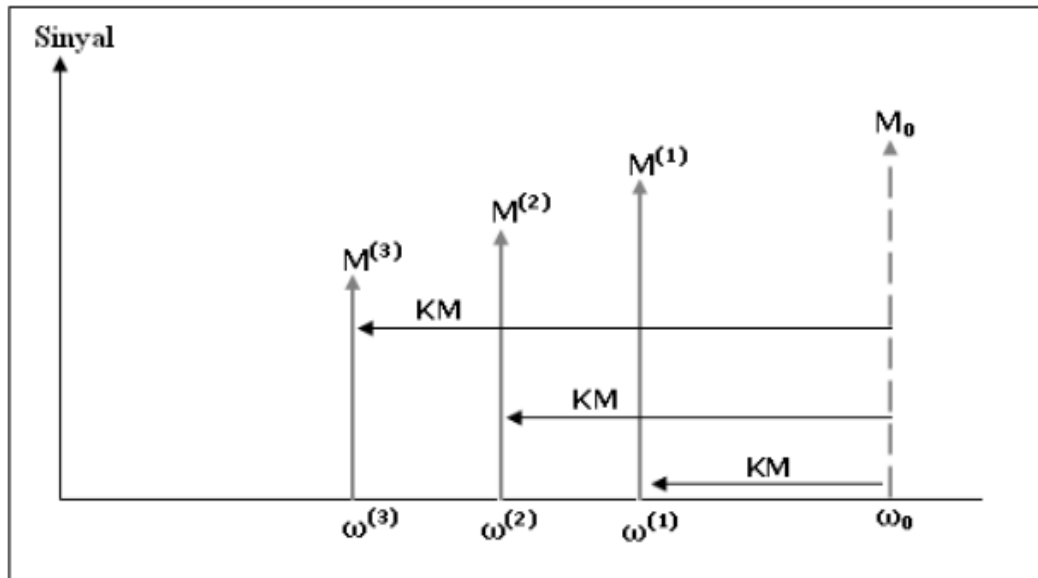
I spini çekirdek içinde, çekirdek bir atomun içerisinde ve atomda bir molekülün içerisinde. Dolayısıyla NMR'da incelenen spinin bir kimyasal çevresi vardır. Bu kimyasal çevreden kasıt, atomun ya da molekülün içindeki elektronik akımlar olmaktadır. Şekil 2.7a'da görüldüğü gibi, molekül bir dış alan içinde değilken söz konusu akımların yörüngeleri rastgeledir ve bu akımların kurduğu yerel alanların bileşkesi sıfırdır. Ancak Şekil 2.7b'de görüldüğü gibi, molekül dış H_0 alanı içerisine konulduğunda, akım yörüngeleri dış alana dik konuma gelir. Bu yöneliş H_0 a zıt yönde bir H' alanının oluşmasına yol açar.



Şekil 2.7: (a) Küresel bir molekül içinde rastgele yönelen yörüngesel akımlar (b) H_0 Dış alanına dik konumlanan yörüngeler

H' alanı, H_0 in varlığı sayesinde kurulmuştur. H_0 ortadan kalktığında H' alanı yok olur. Yani bu alan, indüksiyon yoluyla meydana gelen bir alandır. Bu yeni alan ile birlikte moleküllerin gördüğü bileşke alan, $H_{\text{etkin}}=H_0-H'$ yazılır.

Eğer kimyasal kayma olmasaydı, bir karmaşık molekülün yapısında kaç farklı grup olursa olsun, tek bir sinyal görecektik ve bu sinyal $w=0$ da çıkacaktı. Kimyasal kaymanın varlığı, içinde 4 farklı molekül grubu bulunan bir yapı için 4 ayrı pik verir. Bu piklerin frekanslarına ya da d değerlerine bakarak, hangi moleküler gruba ait olduğunu belirleriz. Bu da molekülün yapısının ortaya çıkmasına yardımcı olur.



Şekil 2.8. Ayrı molekül tipi bulunduran bir yapıda kimyasal kayma

2.7. Protein Relaksasyon Oranının Arttırılması(PRRE)

Her konsantrasyondan kaynaklanan güçlendirme (ε^*) Manganez, aşağıdaki Daha önceki çalışmalarda verilen denklem (Mildvan Ve Cohn, 1963; Sherry ve diğerleri, 1973):

$$\varepsilon^* = \frac{1/T_1^* - 1/T_{10}^*}{1/T_1 - 1/T_{10}}, \quad (2.15)$$

Burada $1 / T_1$, gözlemlenen gevşeme oranıdır. Proteinsiz manganez varlığı ve $1 / T_{10}$ manganez yokluğunda gözlemlenen durulma oranıdır. Yıldız ile birlikte verilen terimler, Proteinlerin varlığındaki aynı parametrelerdir. Her bir proteinin ε_b değeri, ekstrapolasyon $1 / \varepsilon^*$ 'nın en küçük kare uyumu için miknatıs üzerindeki manganez için toplam $1 / \varepsilon^*$ olur. (Mildvan ve Cohn, 1963).

Gözlenen güçlendirme (ε^*), Serbest ($[Mn_f]$) nedeniyle ortalama ve sınır Manganez ($[Mn_b]$) aşağıdaki gibi ifade edilebilir (Mildvan ve Cohn, 1963):

$$\varepsilon^* = \frac{[Mn_f]}{[Mn_t]} \varepsilon_f + \frac{[Mn_b]}{[Mn_t]} \varepsilon_b, \quad (2.16)$$

Burada $[Mn_t]$ toplamın Mm cinsinden manganez konsantrasyonunu gösterir. ε_f , Manganez serbesliğinin arttırılması, tanıma göre 1'e eşittir ve ε_b Manganezin proteine bağlı hale getirilmesidir. Mn_f ve Mn_b 'nin molar fraksiyonları belirlendi (1.15) ve (1.16) 'ten (1.17) toplam manganez açısından ve zenginleştirme Parametreleridir (Mildvan ve Cohn, 1963):

$$[Mn_f] = \left(\frac{\varepsilon_b - \varepsilon^*}{\varepsilon_b - 1} \right) [Mn_t], \quad (2.17)$$

$$[Mn_b] = \left(\frac{\varepsilon^* - 1}{\varepsilon_b - 1} \right) [Mn_t]. \quad (2.18)$$

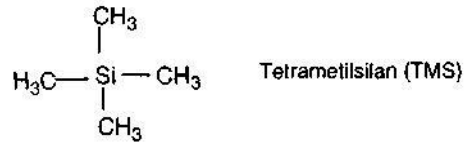
Manganezin HSA'ya bağlanma sabitleri ve γ -globulin (K_a) denklem, bire bir bağlanma yeri varsayılarak her protein için (Mildvan ve Cohn, 1963):

$$K_a = \frac{[Mn_b]}{[Mn_f] [P - Mn_b]}, \quad (2.19)$$

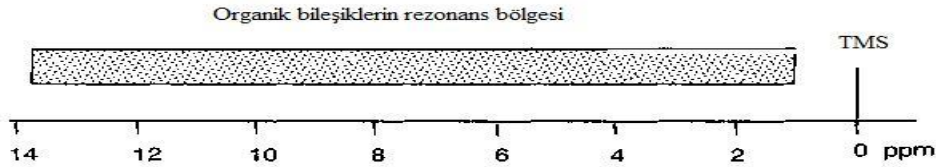
Burada [P] proteinin molar konsantrasyonunu, Albümin için $7,3 \pm 10^{-4} \text{ M}$ ve 1,7. γ -globulin için $0-4 \text{ M}$ dir (Budak, 2005).

2.8. Pik Yerlerinin Belirlenmesi ve NMR Spektrumlarında Skala

Rezonans yerlerinin bulunması için standart bir sinyal alınır ve diğer rezonansların standart sinyaline olan mesafesi Hz olarak verilir, böylelikle sinyallerin yerleri tespit edilmiş olur. NMR deneylerinde standart olarak tetrametilsilan (TMS) kullanılır.



TMS' nin standart olarak deneylerde kullanılması, onun pek çok kimyasal farklılığından kaynaklanır. En önemli neden; bu organik bileşiğin %99' dan daha fazla bir kısmının, standart sinyalinin solunda rezonans olmasıdır. Silisyum atomu karbon atomuna nispeten daha elektropozitif olduğu için, silisyuma bağlı metil grupları daha fazla perdelenir. Böylece, TMS sinyali oldukça yukarı bir bölgede gözlenir.



Şekil 2.9: Tetrametilsilan sinyali ve organik bileşiklerin rezonans bölgesi

Aromatik bileşiklerin güçlü perdeleme bölgesinde bulunan protonlara ait sinyaller, TMS sinyallerinin sağ tarafında rezonans olurlar. Tetrametilsilanın standart olarak deneylerde kullanılmasını sağlayan diğer karakteristikleri şunlardır:

1. Maddi olarak temini kolaydır.
2. Deneylerde kullanılan bileşiklerle reaksiyona girmez.
3. Kaynama noktası $K_n = 27 \text{ }^\circ\text{C}$ olduğu için, spektrum kaydından sonra, numunenin biraz ısıtılması ile TMS kolaylıkla ortamdan uzaklaştırılabilir. Bundan dolayı TMS safsızlık oluşturmaz.

4. 12 adet eşdeğer protonu olduğu için, konsantrasyonu düşük olsa bile şiddetli bir sinyal verir .

Spektrumu kaydedilmek istenen çözeltiliye TMS eklenir ve NMR spektrumu kaydedilir. Ölçülmek istenen bir protonun rezonans frekansı ile standardın (TMS) rezonans frekansına olan mesafeye kimyasal kayma denir. Kimyasal kaymayı bir protonun rezonans frekansı ile standardın rezonans frekansı arasındaki fark olarak da ifade edebiliriz.

$$\Delta \nu = \nu_{\text{örnek}} - \nu_{\text{standart}} \quad (2.20)$$

(2.20) ile bulunan sonuç, NMR cihazının manyetik alan şiddetine göre değişim gösterir. Değişim alan şiddeti ile doğru orantılıdır. Yani, manyetik alanın kuvveti ne kadar fazla olursa, bu farkta o oranda artacaktır. Bu fark, cihazın ölçüm yaptığı sabit frekansa bölünür ve bu değer 10^6 ile çarpılırsa tüm cihazlar için geçerli olan, değişmeyen sabit kimyasal kayma formülünü elde ederiz.

$$\delta = \frac{\nu_{\text{örnek}} - \nu_{\text{s standart}}}{\nu_{\text{cihaz}}} \cdot 10^6 \quad (2.21)$$

δ : Kimyasal kayma

$\nu_{\text{örnek}}$: Örnek maddenin rezonans frekansı

ν_{standart} : Standart maddenin rezonans frekansı

ν_{cihaz} : Cihazın ölçüm yaptığı frekans

standart maddenin rezonans frekansı $\nu_{\text{standart}} = 0$ olarak kabul edilirse,

$$\delta = \frac{\nu_{\text{örnek}}}{\nu_{\text{cihaz}}} \cdot 10^6 \quad (2.22)$$

denklemini elde edilir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu tezde kullanılan çalışmaların materyali protein ve enzimler olmaktadır. Yöntemi ise bu protein enzim çözeltilerinin hangi frekanslarda, hangi sıcaklıklarda ve hangi konsantrasyonlarda ölçüldüğü olmaktadır. Elde edilen çarpıcı sonuçlar da (şekil ve tablolar) materyal olarak kullanılıp üzerinde analizler yapılacaktır. Bu nedenle kullanılan bazı frekansları, elde edilen sıcaklık, konsantrasyon grafiklerini bu bölümde takdim etmekte yarar vardır.

3.1: T1 ve T2 Ölçümlerinde Kullanılan Spektrometre ve Frekanslar

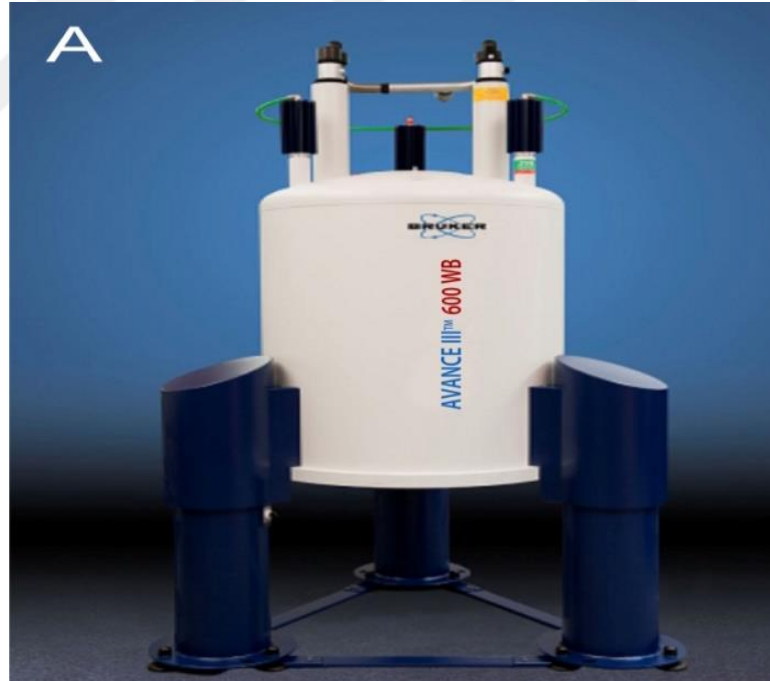
Bazı nmr spektrometreleri zaman içinde çeşitli şekillerde değişime uğrayarak karşımıza çıkmışlardır. Şimdi bunlardan bazılarını tanıyalım:



Şekil 3.1: OXFORD NMR 200 MHz Miknatis BRUKER ASX 200 Nükleer manyetik rezonans Spektrometresi



Şekil 3.2: Bruker AVANCE III 400 MHz NMR Spektrometresi
(Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi)



Şekil 3.3: Yüksek Çözünürlüklü Dijital 600 MHz NMR Spektrometresi

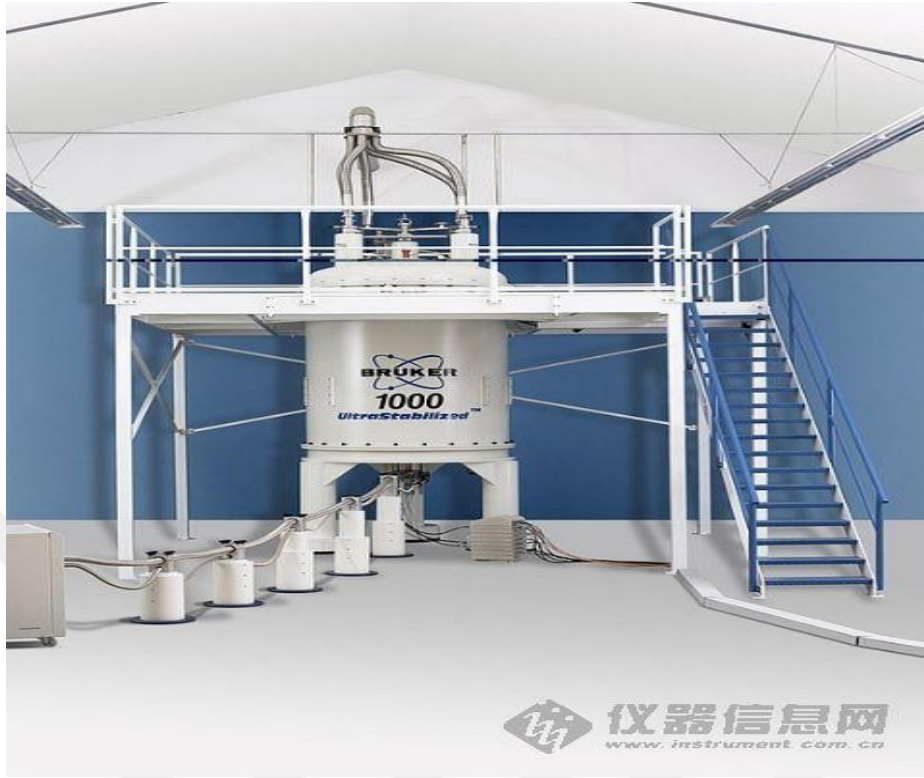


Şekil 3.4: Bruker Biospin Miknatis (Yüksek performanslı aktif siperli Ultrashield™ 300 MHz süper iletken miknatis)



Şekil 3.5: Bruker AVANCE III 500 MHz NMR Spektrometresi (Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi)

Bu spektrometre 1D, 2D ve 3D NMR spektrumlarının ölçümleri için uygundur ...

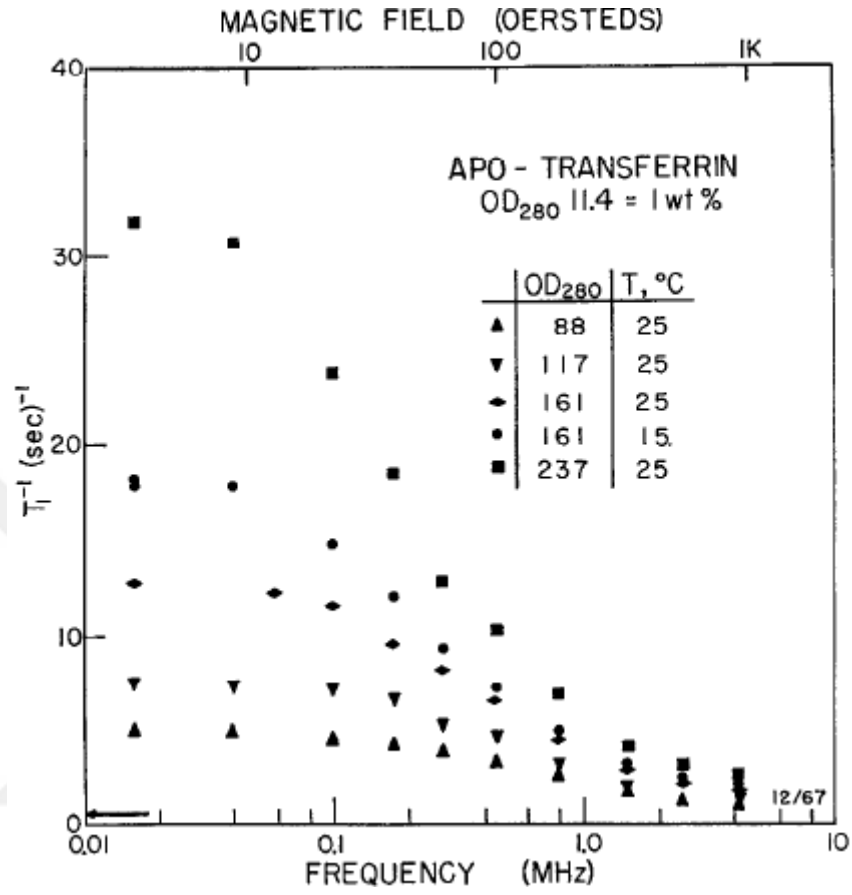


Şekil 3.6: Ana Bruker AVANCE 1000MHz NMR Spektrometresi.

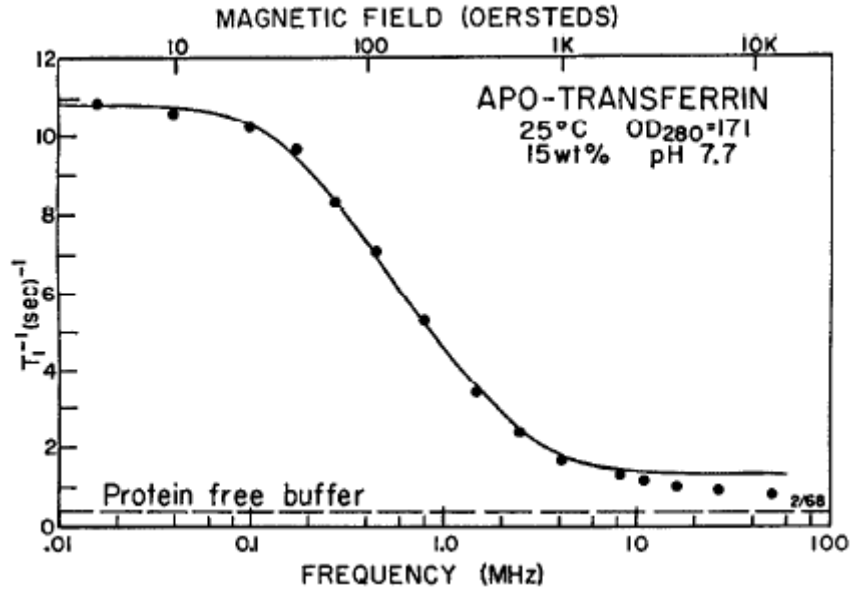


Şekil 3.7: Nükleer manyetik rezonans (MRI - manyetik rezonans görüntüleme olarak da bilinir).

3.2. Çalışmalardan Elde Edilen Frekans Ölçümleri

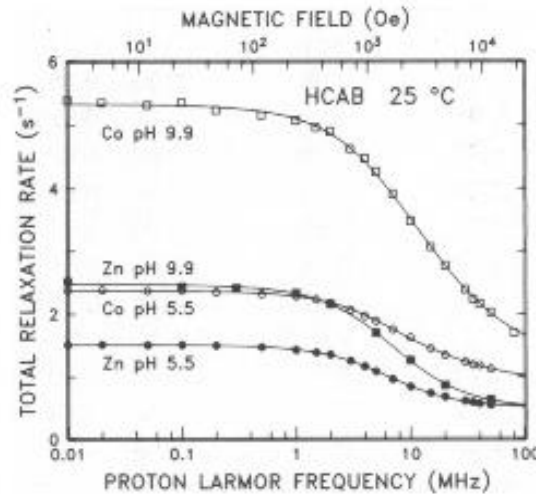


Şekil 3.8: Çözücünün nükleer manyetik gevşeme dispersiyonu Damıtılmış birkaç konsantrasyonda apotransferrin için protonlar Su. Sol alt köşedeki ok durulmayı gösterir. Proteinsiz damıtılmış su oranı (Koenig ve Schillinger 1969)



Şekil 3.9: 50 MHz'e genişletilmiş Apotransferrin için nükleer manyetik relaksasyon dağılımı verileri (Koenig ve Schillinger 1969).

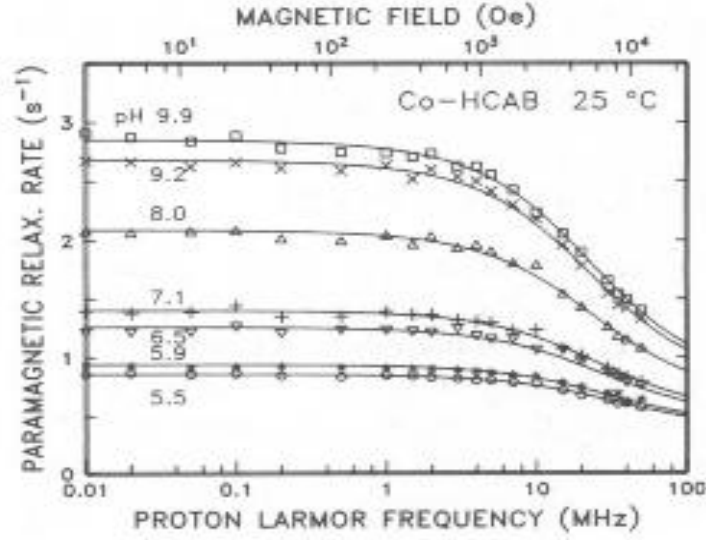
Kesintisiz eğri Eşitlik 1, En yüksek frekans dağılım teriminin paydası ile birlik tarafından değiştirildi. Verilerden, bir frekansın T_{1l} 'in 10 MHz'den yüksek bağımlılığı (Koenig ve Schillinger 1969).



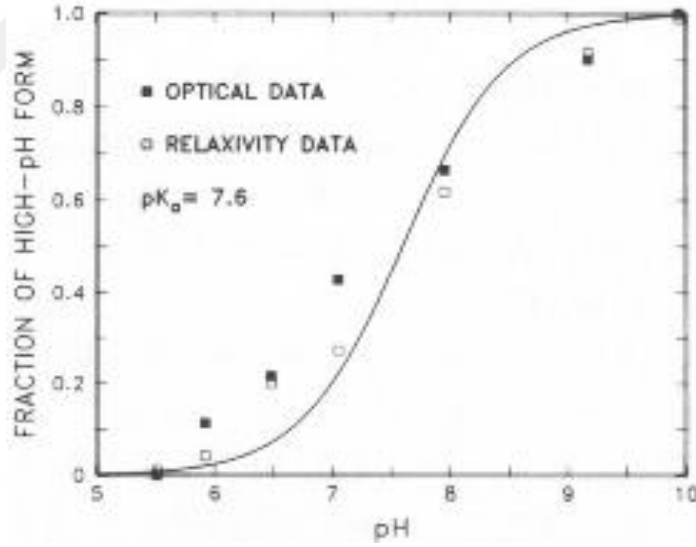
Şekil 3.10: Doğal ve Co₂-süstitüe edilmiş HCAB için NMRD spektrumunu göstermektedir (Koenig ve Brown 1983).

Şekilde Toplam durulma hızının manyetik alan bağımlılığı (Zn²⁺ + içeren) örnekleri ve Co₂ + - aşırı insan vücudundaki karbonhidrat anhidraz B'yi değiştirir. 25°C'de kaplanan pH aralığının Örnekler başlangıçta Düşük pH'da, eklenmiş tampon olmadan ve yüksek pH'ye getirilen NaOH eklenerek hazırlandı. Yerli numuneler 2.98 mM protein; Co₂ ile süstitüe edilmiş numuneler 2.87 mM Co₂ +, 3.06 mM toplam protein idi. Veri noktalarındaki eğriler,

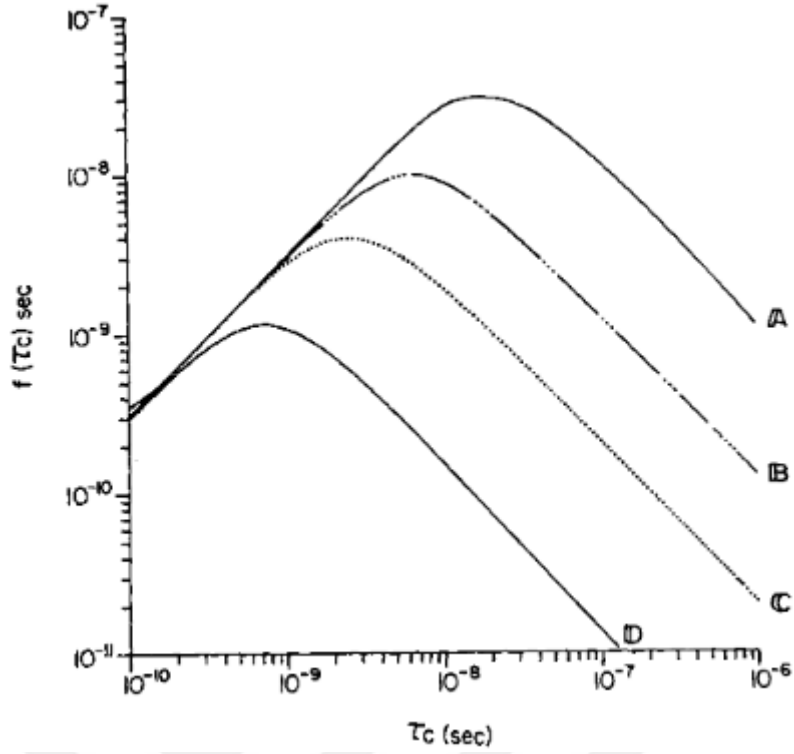
Denklemin en küçük kareler uyması ve bireysel diamanyetik verilere paramagnetic katkılar sağlar (Koenig ve Brown. 1983).



Şekil 3.11: 25 °C de ve PH 9.94 te paramagnetik iyonlar ile frekans ölçümleri (Koenig ve Brown. 1983).

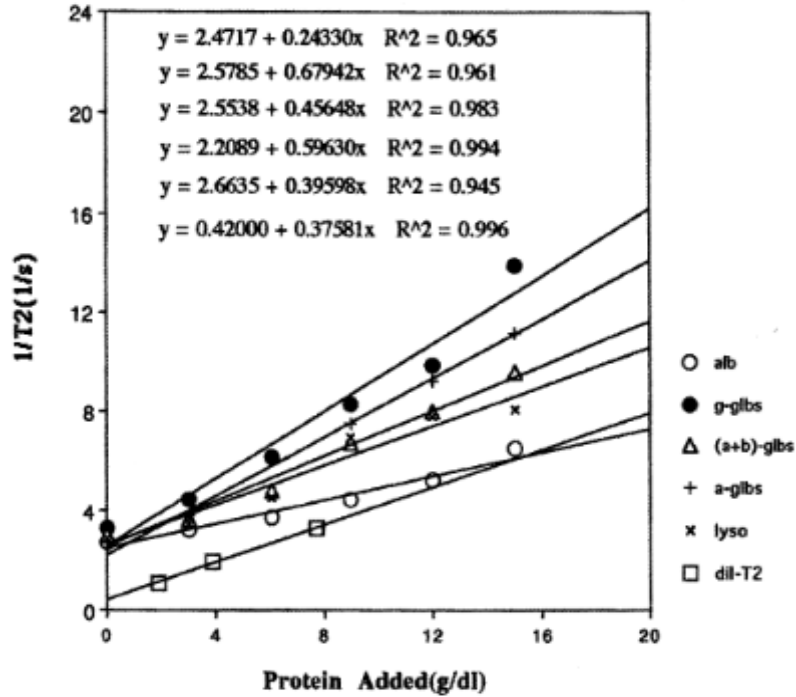


Şekil 3.12: Enzimin yüksek pH'lı formunun fraksiyonu F'nin bir fonksiyonu olarak türetilmiş frekans ölçümleri (Koenig ve Brown. 1983).

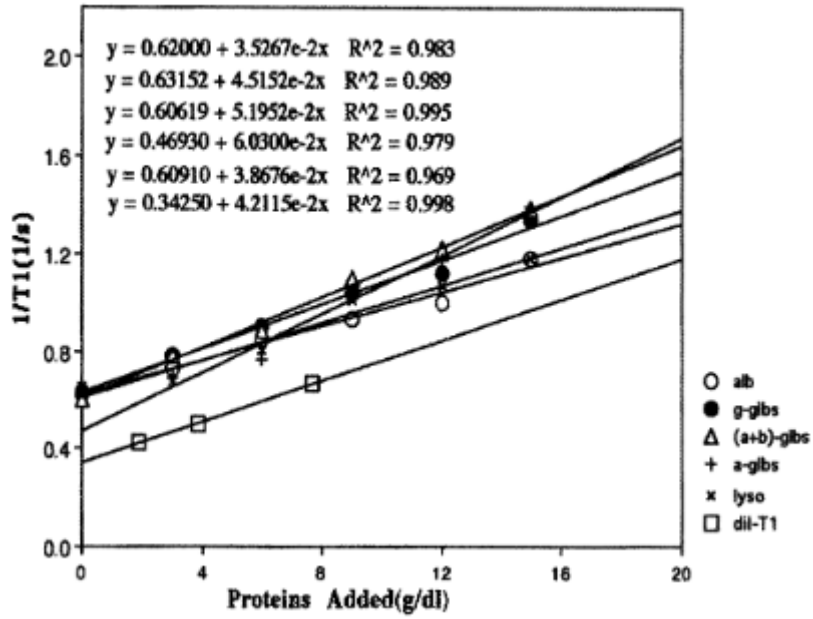


Şekil 3.13: 8.13 ve 220 arasında dört frekans için ilgi zamanları (James ve ark. 1973).

Her bir eğri için maksimum, $T_c = 1 / \omega_l$ olduğunda oluşur, burada $\omega_l = 2'$ dir ve ν ölçümlerin yapıldığı frekanstır (James ve ark. 1973).

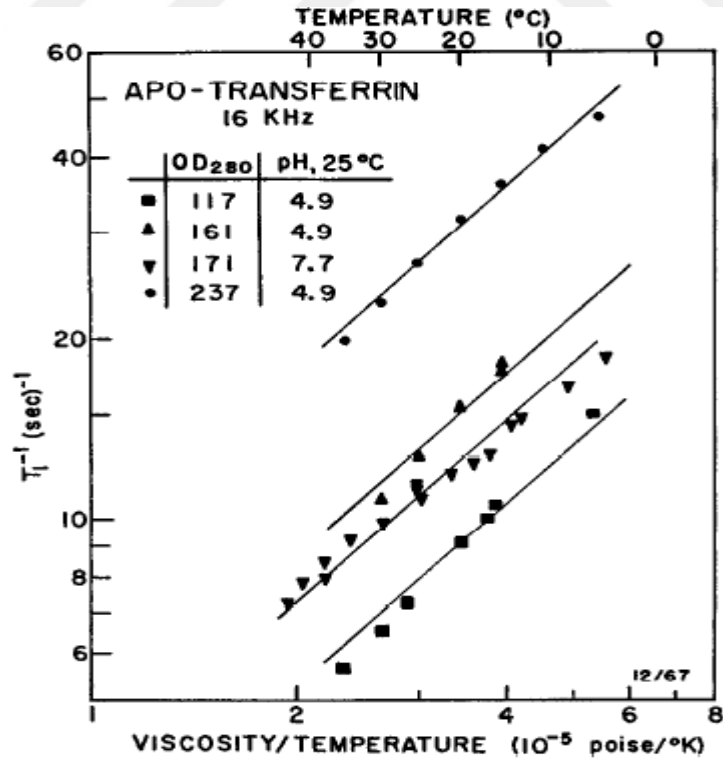


Şekil 3.14: Eklenen protein konsantrasyonlarına karşı $1 / T_2$ gerileme oranı (Formüllerin sırası sembollerinki ile aynıdır.) (Yılmaz ve ark. 2004).



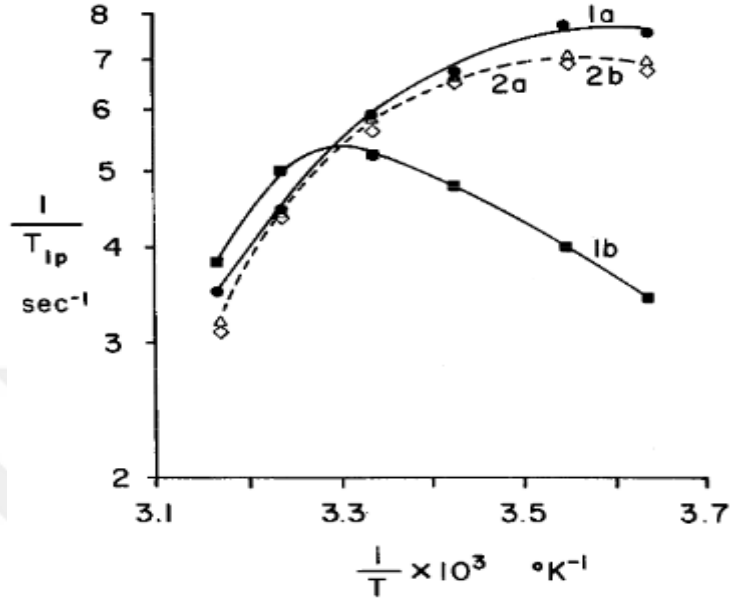
Şekil 3.15: Eklenen protein konsantrasyonlarına karşı $1/T1$ gevşeme oranı. Formüllerin sırası sembollerinki ile aynıdır (Yılmaz ve ark. 2004).

3.3. Çalışmalarda Elde Edilen Sıcaklık Ölçümleri



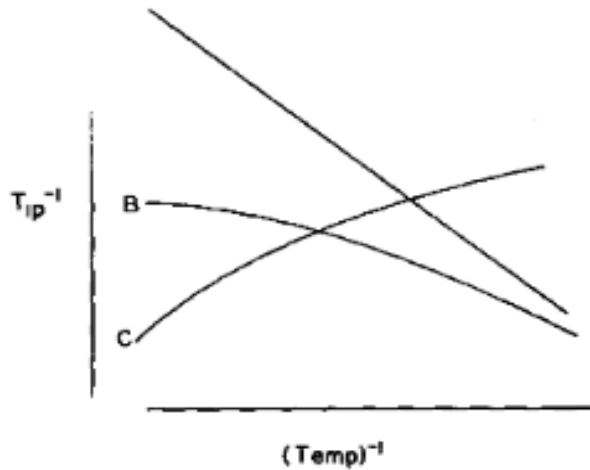
Şekil 3.16: ($V = 0$) sıcaklık bağımlılığı, veriden 16 kHz'de alınır. Veriler η_p / T_1 'ye göre çizilir; burada η_p Saf çözeltinin sıcaklığa bağlı viskozitesi. Çizgiler bir birlik eğilimi ile çizilir (Koenig ve Schillinger 1969).

Veriler 16 kHz'de alınır. Veriler v_p / T 'ye göre çizilir; burada v_p Saf çözeltinin sıcaklığa bağlı viskozitesi. Çizgiler bir birlik eğilimi ile çizilir (Koenig ve Schillinger 1969).

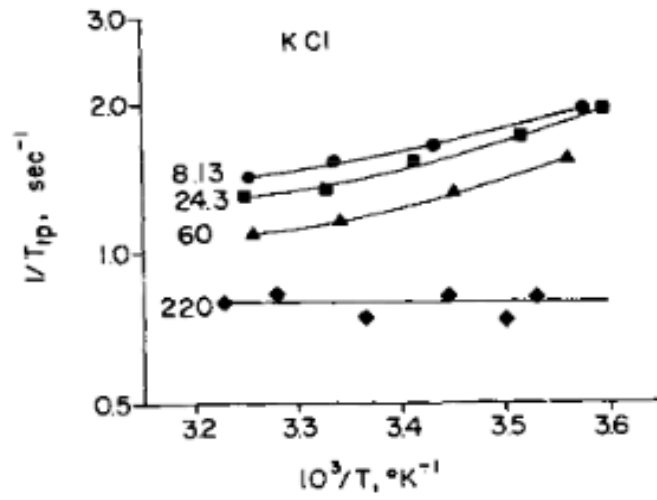


Şekil 3.17: Kreatin kinazın üçlü ve dördlü kompleksleri için sıcaklık ile $1 / T_{IP}$ değişimi (O'Sullivan ve Mildred, 1968).

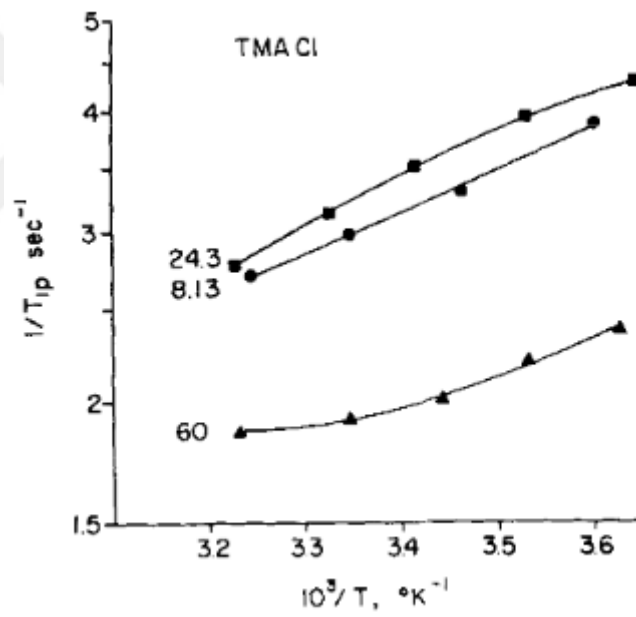
Tüm denemeler Kreatin kinaz ile, ml başına 4 mg (0.05 mM enzim, 0.1 mM aktif alanlara eşdeğer); MnCL, 0.1 mM; Ve ADP, 0.1 mM; 0.05 M N-etilmorfolin-HCl, pH 8.0 içinde. La (o), modifiye edilmemiş enzim; Lb (M), kreatin varlığında değiştirilmemiş enzim (30 mnn); Aa (A), inaktif, karboksimetilleştirilmiş enzim; Bb (0) Kreatin varlığında aktif olmayan, karboksimetilleştirilmiş enzim (30 nM). (O'Sullivan ve Mildred, 1968)



Şekil 3.18: Üç farklı kompleks enzimin sıcaklığa bağlı durumları (James ve ark. 1973).



Şekil 3.19: Paramagnetik katkı ile dört farklı frekansta protein relaksasyon oranları(PRR) (James ve ark. 1973).



Şekil 3.20: Paramagnetik katkı ile Üç farklı frekans için mutlak sıcaklıkta normalleştirilmiş PRR oranları ve Piruvat Kinaz bölgeler (James ve ark. 1973).

3.4. Elde Edilen Veri Çizelgeleri

Çizelge 3.1: Apotransferinin örnekleri için deneysel koşullar ve deney sonuçlarının özeti (Koenig ve Schillinger 1969).

Concentration		pH	Temperature	T_1^{-1} ($\nu = 0$)	ν_0	$10^{-3} \times R^a$ liters/ mole-sec	$10^{-3} \times B^b$ liters/ mole- (sec) ²
Weight	OD ₂₈₀						
%				(sec) ⁻¹	MHz		
Distilled water							
7.7	88	4.9	25°	4.5	0.68	4.5	3.1
10.3 ^c	117	4.9	25	7.0	0.58	5.2	3.0
14.1	161	4.9	25	12.4	0.43	6.4	2.7
14.1	161	4.9	15	17.5	0.30	9.1	2.7
20.8	237	4.9	25	31.5	0.23	10.6	2.5
0.05 M Tris HCl							
15.0	171	7.7	25	10.5	0.68	5.1	3.5
15.0	171	7.7	5.5	17.5	0.46	8.5	3.9
0.1 M KCl							
4.8	55	10	25	3.9	1.02	6.4	6.5
8.3	95	10	25	6.7	1.22	6.2	7.6
12.2	139	10	25	10.8	1.28	6.6	8.4
13.0	148 ^d	4.0	25	8.6	0.44	4.9	2.2
13.0	148 ^d	5.2	25	11.8	0.38	6.7	2.6
13.0	148 ^d	6.5	25	9.0	0.59	5.1	3.0
13.0	148 ^d	7.4	25	7.4	0.94	4.2	4.0
13.0	148 ^d	8.4	25	8.2	0.91	4.7	4.2
13.0	148 ^d	9.4	25	10.1	1.15	5.8	6.6
50% H ₂ O 50% D ₂ O							
10.2 ^c	116		25	6.1	0.46	4.6	2.1

Çizelge 3.2: Diferentin üçlü E-Mn-ADP komplekslerinin Kreatin kinaz formlarının protein durulma oranları iyileştirmeleri (O'Sullivan ve Mildred, 1968)

[ADP]	ϵ^* (native enzyme)	ϵ^* (modified enzyme I)	ϵ^* (modified enzyme II)	ϵ^* (modified enzyme III)
$\times 10^4$ ar				
None	1.26	1.36	1.20	1.12
0.2	2.81	3.13	3.05	2.61
0.4	3.98	4.40		3.75
0.5	4.89	5.11	4.73	4.41
0.7	6.00	5.88		5.39
1.0	7.1			6.52
1.4	6.00			5.83
ϵ_c^*	10.5	10	10	9

Çizelge 3.3: Kuaterner enzim-Mn-ADP-kreatin kompleksinden kreatin için Görünür ayrışma sabitinin sıcaklık bağımlılığı (O'Sullivan ve Mildred, 1968).

Temperature	ϵ	ϵ'_{∞}	$\Delta\epsilon_{\infty}$	$K'_d(\text{creatine})$
				<i>mM</i>
2°	4.70	2.1	-2.6	0.8
9	5.22	2.6	-2.6	1.3
19	6.03	4.1	-1.9	4
27	6.27	5.3	-1	8
36	5.34	6.3	+1	10
43	4.61	6.0	+1.4	~25

EMS kompleksine kreatin ilavesi azalır Su protonlarının kimyasal değişim hızı, Düşük sıcaklık bölgesinde hesaplanabilmektedir (O'Sullivan ve Mildred, 1968).

Çizelge 3.4: , 25 °c için n- dicated olarak, (eq. 1) 'nin en az bir kare büyüklüğünün verileri için sonuçların kontrolü (Koenig ve Brown, 1983).

RESULTS OF A LEAST-SQUARES FIT OF THE COLE-COLE EXPRESSION (EQ. 1) TO THE DATA, AS INDICATED, FOR 25°C

Sample	pH	Concentration*	A	$D\ddagger$	β	ν_c
		<i>mM</i>	s^{-1}	s^{-1}		<i>MHz</i>
Zn—HCAB	5.51	2.98	0.95	0.084	1.70	6.3
	5.92	2.98	0.96	0.088	1.70	6.3
	6.48	2.98	1.00	0.091	1.70	6.2
	7.05	2.98	1.04	0.094	1.69	6.2
	7.95	2.98	1.20	0.094	1.68	6.4
	9.17	2.98	1.53	0.085	1.68	6.8
	9.94	2.98	1.86	0.065	1.68	7.1
	~6	2.98§	0.90	0.056	1.68	6.4
Apo—HCAB	7.28	2.98	1.10	~0	1.48	5.3
Co—HCAB¶	5.51	2.87	0.46	0.40	1.53	32.2
	9.94	2.87	2.08	0.78	1.54	22.8

Çizelge 3.5: Piruvat kinaz-manganez (II) -P-enolpiruvat kompleksindeki su ligandlarının hesaplanan sayısı (James ve ark. 1973).

Calculated number of water ligands in pyruvate kinase-manganese(II)-P-enolpyruvate complex

The concentrations of the components are: 100 mM KCl, 2.0 mM P-enolpyruvate, 0.10 mM MnCl₂, 0.136 to 0.195 mM pyruvate kinase sites. Temperature ≈ 26°.

$\tau_c \times 10^9$	Frequency	$1/T_{1p}$	$1/T_{1M}^a \times 10^{-4}$	n
s	MHz	s^{-1}	s^{-1}	
2.65	8.13	1.52	57.4	0.15
	24.3	1.35	50.2	0.15
	60.0	1.17	29.3	0.22
	220.0	0.79	20.1	0.22
Average				0.19
0.724	8.13	1.52	16.0	0.53
	24.3	1.35	15.8	0.47
	60.0	1.17	14.9	0.44
	220.0	0.79	8.0	0.55
Average				0.50
1.00	8.13	1.52	22.0	0.38
	24.3	1.35	21.6	0.35
	60.0	1.17	19.3	0.34
	220.0	0.79	7.6	0.58
Average				0.41

^a Manganese(II)-water proton distance of 2.86 Å used (21).

Çizelge 3.6: Bazı serum proteinlerinin ve damıtılmış su ile seyreltilmiş serumun proton durulması (Yılmaz ve ark. 2004).

Proton relaxivities of some serum proteins and serum diluted by distilled water, expressed as (g/dl)⁻¹ s⁻¹

Relaxivity	Alb.	γ -glbs	($\alpha+\beta$)-glbs	α -glbs	Lyso	($\gamma+\beta$)-glbs	Fib	Trf	Dil-ser
R _{T2}	0.240	0.680	0.46	0.6	0.400	0.30	0.50	2.60	0.38
R _{T1}	0.035	0.045	0.052	0.06	0.039	0.08	0.03	2.40	0.042
R _{T2} /R _{T1}	6.9	15	8.9	10	10	3.8	16.7	1.1	9

Çizelge 3.7: Transferrin demir ve serum proteinlerinin 1 / T₁ ve 1 / T₂ye katkısı (Yılmaz ve ark. 2004).

Contribution of transferrin iron and serum proteins to 1/T₁ and 1/T₂ in serum, expressed as s⁻¹ and TP determined by MRI and autoanalyzer

Serum	CTI to T ₁ and T ₂	CSP to T ₁	TP by T ₁	CSP to T ₂	TP by T ₂	TP-auto
Diluted	0.04	0.20	5	1.65	4.6	4.8
Normal	0.06	0.28	7	2.251	6.3	6.8
Doped	0.06	0.40	10	3.47	9.6	10

4. KAYNAK ARAŞTIRMASI

4.1. Proton Manyetik Durulma ve Protein Hidrasyonu

20 °C' de ve 3,2884 Gauss' luk manyetik alanda suda çözülebilen ovalbuminin, proton spin-örgü durulma zamanı T_1 ve proton spin-spin durulma zamanı T_2 ' yi azalttığını böylece bu etkinin nedeninin bazı su moleküllerinin ilgi zamanlarının artışından kaynaklandığını bulmuşlardır. Elde edilen sonuçlar, rölaksasyon zamanlarının tersinin (3.1) ve (3.2) denklemlerinde olduğu gibi konsantrasyonla arttığını göstermektedir.

$$1/T_1 = 1/T_{1w} + k_1C \quad (4.1)$$

$$1/T_2 = 1/T_{2w} + k_2C \quad (4.2)$$

Burada C konsantrasyon, k_1 ve k_2 sabitler, T_{1w} ve T_{2w} de diyalizatin rölaksasyon zamanlarıdır. Çok yüksek frekanslarda ovalbumin çözeltisinin dielektrik sabitinden buldukları proteine dönmesiz bir şekilde bağlı olan su miktarının Buchanan ve arkadaşlarının daha önce buldukları sonuçlarla uyduğunu gözlemlemişlerdir (Daszkiewicz ve ark. 1963).

4.2. İnaktif Hale Getirilmiş Kreatin Kinazı Biçimleri Üzerinde Manyetik Rezonans Çalışmaları

Manyetik rezonans ve paramanyetik manganez iyonu kullanılarak görelî enzimatik hız çalışmaları, spesifik -SH reaktifleri iyodoasetik asit ve dinitroflorobenzen ile inaktif hale getirilen kreatin kinaz ve spesifik olmayan üre ve desil sülfat reaktifleri ile gerçekleştirildi. İyodoasetik asit veya dinitroflorobenzen ile iki önemli -SH grubundaki kreatin kinazın modifikasyonu, enzimatik hızı etkiledi ancak Mn-ADP, ADP3, Mn'nin bağlanma yerlerinde bağlanma sabitleri veya çevre üzerinde çok az etkiye sahipti -2'-dADP-, veya Mn-ATP2- 'nin enzim, manganez ve nükleotid üçlü komplekslerinin oluşumundan kaynaklanan su protonlarının durulma oranının arttırılmasından belirlenmesiyle belirlenir.

Doğal enzim ile üçlü Mn-ADP-enzim kompleksine kreatin ilavesi sıcaklık aralığı 2 ° - 43 ° arasında ölçülen proton durulma hızında bir değişikliğe neden olmuştur; Sıcaklık düştükçe Mn-ADP'nin bağlanma sabiti biraz değişti ancak kreatin bağlanma sabiti yaklaşık 30 faktör arttı. Suyun proton durulma oranı üzerine kreatinin etkisi azalmış bir değişim oranına

bağlanabilir Manganez su ligandlarını üçlü komplekse göre kuaterner kompleksdeki çözücü su ile ve Mn-ADP'nin bağlanma yerinde artan immobilizasyon nedeniyle koordinasyon alanında manganez ve su arasındaki dipol-dipol etkileşimi için daha uzun bir korelasyon zamanı oluşturmaktadır. Karboksimetilasyona uğrayan iki temel sistein kalıntısı bulunan enzim için böylesine kreatin etkisi gözlemlenmemiştir; bu da kreatinin artık bu enzim formuna bağlanmadığını veya önemli -SH gruplarının karboksimetilasyonunun kreatin ile manganez-nükleotid- bağlandığı yerlerdir.

Üçlü kompleksin proton durulma oranının arttırılmasında üre konsantrasyonunun artışı ile azalma, aktivite kaybıyla ilişkilendirildi. Yüksek konsantrasyonda üre ile kreatin kinazın inaktivasyonu tersine çevrilebilirdi. Kreatin kinazın desil sülfat tarafından inaktivasyonu geri döndürülemezdi. 0.01 m desil sülfat varlığında, manganez enzim kompleksinin proton durulma hızının arttırılması için nispeten yüksek değerler elde edildi ve doğal enzimin davranışının tersi olan ADP ilavesiyle bu gelişme azaldı (Cohn ve O'Sullivan, 1967).

4.3. Protein Çözeltilerinde Nükleer Manyetik Durulma

Koenig ve Schillinger tarafından yapılan bu çalışma en ana hatlarıyla şöyle açıklanabilir: proteine dönmesiz bağlı olmayan suyun da kimyasal değiş tokuşa katkıda bulunduğu ortaya konulmuştur. Genel hatlarıyla çalışmayı şöyle anlatmak mümkündür: Sıcaklık, konsantrasyon ve pH'nın bir fonksiyonu olarak diamagnetic protein apotransferrin solüsyonlarındaki solvent protonlarının nükleer manyetik spin-kafes gevşeme hızının T_1 -1 manyetik alan bağımlılığının ölçümlerini bildiriyoruz. Verilerin büyük bir kısmı, geleneksel olarak nükleer manyetik rezonans deneylerinde kullanılanlardan daha düşük bir manyetik alan (4 Oe ila 1000 Oe) aralığında alındı. T_1 -1'in en büyük sonucu manyetik alan bağımlılığı yüksektir; 10 Oe'nin altında çok büyüktür ve manyetik alan arttıkça monoton olarak azalır. Veriler, çözücü protonlarının protein molekülleri ile etkileşimi için çeşitli modellerin tahminleri ile karşılaştırılmıştır; bunların arasında model (Daszkiewicz, OK, Hennel, TW, Lubas, B. ve Szczepkowski, TW, Nature, 200, 1006 (1963)) burada su molekülleri döngüsel olarak protein yüzeyine bağlanır. Tüm modeller için teori çok benzerdir.

Sonuç, toplu su ile protein yüzeyi arasındaki proton değişiminin, 5 ila 8 pH aralığında su molekülleri alış verişi yoluyla gerçekleştiği şeklindedir. Daha yüksek pH değerlerinde, bazik amino asit kalıntılarıyla doğrudan proton değişimi önemli olabilir. Teori su

moleküllerinin değiştirilmesinin döngüsel olarak proteine bağlı olmasına gerek olmadığını göstermektedir; Su moleküllerinin, protein molekülüne göre sabit bir geometriyi koruyan bir eksen etrafında dönmesi sınırlandırılmış olması yeterlidir. İçindeki sumoleküllerinin sayısı, genellikle birinci hidrasyon kabuğunda olduğu düşünülen sayının küçük bir bölümündendir. Verilerin sıcaklık bağımlılığından, T_1 -1'in manyetik alana olan değişiminin, tüm modeller için, protein moleküllerinin rotasyonel difüzyon gevşetme zamanı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, değişim moleküllerinin protein molekülleri üzerindeki ömrü, tüm su molekülleri ya da bireysel protonlar, 0.1 ila 10 μ s aralığındadır (Koenig ve Schillinger 1969).

4.4. Proton Spin Relaksasyon Zamanı Ölçümleri İle Protein Hidrasyonunun Araştırılması.

B. Blicharska ve arkadaşlarının sulu protein çözeltileri üzerine yaptıkları çalışmada, sulu protein çözeltilerde ilgi zamanlarının dağılımı ile alakalı olarak daha çok bilgi edinmeyi amaçlamışlardır. Rölaksasyona molekül içi dipolar etkileşmenin yol açması halinde rölaksasyon zamanları oranını:

$$1/T_j = \beta / T_{jw} + \beta k_j C + q \quad j=1,2 \quad (4.3)$$

denklemini ile ve durulmaya moleküller arası etkileşmenin yol açması halinde ise

$$1/T_j = \beta / T_{jw} + k_j C + q \quad j=1,2 \quad (4.4)$$

denklemini ile verilebileceğini ifade etmişlerdir. Buldukları verilerini bu bağıntılarla karşılaştırarak, hidrasyon tabakasındaki protonların durulmasının sebebi olarak moleküller arası etkileşmenin sonucu olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca proteine tutunan su moleküllerinin protein molekülüne kıyasla biraz daha serbest olduğunu, serbest su ile bağlı su arasında hızlı kimyasal değiş-tokuş olduğunu ve böylece birden fazla ilgi zamanının bulunduğunu kabul etmişlerdir.

Diyaliz edilmiş yumurta beyazının sulu solüsyonlarındaki spin-kafes gevşeme süreleri T_1 , ağırlıkça% 4.5 ila 9.3 arasındaki konsantrasyonlar için ölçülmüştür. 0,01 ila 160 MHz arası proton Larmor frekanslarına karşılık gelen manyetik alan aralığında% T_1 'in manyetik

alana güçlü bir bağımlılığı yaklaşık olarak başlar. 0.5 MHz. Solvasyon tabakasındaki rotasyonel korelasyon sürelerinin bir log-Gauss dağılımı ile tanımlanabilir, bunun maksimum değeri 1.52 ile 10⁻⁹ saniyedir. Dağılımın büyük kısmı, ovalbümün molekülünün kendisinin yeniden yönlendirilmesi için ilişkilendirme süresinin altındadır. Bu, adsorbe su moleküllerinin protein molekülüne göre biraz hareket özgürlüğü taşıdığı anlamına gelir. Dağılımın genişliği konsantrasyona biraz bağlıdır.

Bu makale aynı zamanda, protein solüsyonlarının numunelerinde bulunan paramanyetik iyonların miktarının, saf suya göre T₁'in düşmesinden sorumlu olamayacağını gösteren nötron aktivasyonu, spektrokimyasal analiz ve EPR ölçümlerinin sonuçlarını da içermektedir (Blicharska ve ark. 1970).

4.5. Manganez-Nükleotid Kinaz Üçlü Kompleksleri İçin Proton Manyetik Relaksasyon Oranlarından Denge Verilerinin Analizi

Üçlü metal-substrat-enzim kompleksleri için denge sabitlerinin ve güçlendirme faktörlerinin güvenilirliği Proton durulma oranı titrasyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Böylece grafiksel prosedürlere özgü yaklaşımlar deneysel verilerin analizinde kompleks denge sistemi için tam sayısal ölçümler elde edilmesi ve titrasyon verisinin bilgisayar teknikleri ile doğrusal olmayan en küçük kareler hata analizine tabi tutulması önlenmiştir.

Adenilat kinaz-Mn (II) -ATP sistemi için titrasyon verisinin bilgisayar analizleri ET sinyali için önemli farklılıklar verdi. Aynı verilerin grafik analizi ile elde edilen değerler; 42 "de ET sinyali için bilgisayar değeri 22, grafiksel değer olan 170 ile karşılaştırılmıştır. Grafiksel ve bilgisayar sabitleri ile çizilen teorik eğrilerin uyumu, bilgisayar analizinden ve ayrıca ET sinyal değeri grafiksel olarak teorik sınırı aşar.

Mn (II) -ADP kreatin kinaz sistemi için, sadece üçlü komplekse göre doygunluk eğrisinin sınırlı bir bölgesi elde edilebilir deneysel koşullar altında ölçüm için formasyon mevcuttur. Dolayısıyla, daha önce keşif deneylerinde belirlenen, optimum koşullar altında 24 'de elde edilen deneysel veriler, üçlü kompleks için (40 pM - 100 pM) nispeten daha büyük denge sabitlerine (KP) uydurulabilir. Bununla birlikte, K₂'deki oldukça büyük belirsizliğe rağmen, ET deki değişkenlik yalnızca% 10'dur (21 ± 2) tüm K₂ değerleri aralığındadır. Bu etiyojideki bu derecenin moleküler parametrelerini değerlendirmek için oldukça tatmin edici Olmalıdır (Cohn ve ark. 1970).

4.6. Protein Çözeltilerinde Nükleer Manyetik Durulma Dispersiyonu: V. Sığır Eritrosit Süperoksit Dismutaz

Sığır eritrosit süperoksit dismutazının sulu çözeltilerindeki çözücü protonlarının spin-kafes gevşeme hızına parametrik katkısı R_p , 5 Oe ile 12 kOe aralığında ve 0 ° C ile 25 ° C aralığındaki sıcaklıklarda ölçülmüştür. Birkaç araştırmacı tarafından Mn^{2+} -macromoleküler kompleksler tarafından yakın zamanda görülen manyetik alanın bir fonksiyonu olarak R_p 'de bir zirve buluyoruz, Cu^{2+} + elektron spin momentlerinin spin-kafes gevşeme süresi τ_s 'si manyetik alana bağlı olduğunu göstermektedir. T_s yaklaşık olarak $5 \cdot 10^{-10}$ sn'lik düşük alana doğru yükselir ve yakl. 750 Oe. Önceki EPR ve inhibisyon çalışmaları ile birlikte, R_p 'nin büyüklüğü ve manyetik alan ve sıcaklık ile nitel davranışından, hızla değişen en az bir su molekülünün bulunduğu ($4 \cdot 10^{-6}$ ila 10^{-8} s) iki Cu^{2+} + protein molekülünün herbiri üzerinde. Cu^{2+} + üzerindeki su bağlayıcı alanların Cu-O bağlanma mesafesi yakl. 2.0 Å, süperoksit anyona benzer şekilde erişilebilir ve enzimin katalitik aktivitesi için lokuslardır (Koenig ve ark. 1972).

4.7. Sulu Sığır Albumin Solüsyonlarında Nükleer Manyetik Rezonans Durulması

D.D. Eley ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; su proton rölaksasyon zamanlarını albuminin çeşitli formlarında ölmüşlerdir. Proteinlerin sulu çözeltilerindeki su proton rölaksasyon zamanlarının, temelde protein hidrasyonu ile ilgili bilgiyi sağlayabildiğini ifade etmişlerdir. Ölçtükları proton rölaksasyon oranlarının, konsantrasyonun lineer bir fonksiyonu olarak değiştiğini bulmuş ve gözledikleri rölaksasyon oranlarını da;

$$1/T_1 = 1/T_1^0 + R_1 C \quad (4.5)$$

ifadesi ile verilebileceğini belirtmişlerdir (Eley ve ark. 1975).

4.8. Protein Hidrasyonu. Yerli Sığır Serum Albümin Solüsyonlarında Suyun Durumunun Nükleer Manyetik Rezonans Durulma çalışmaları

Yapılan bu çalışmada anlaşılmıştır ki; NMR Protein konsantrasyonu ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak, yerli sığır serum albüminin (BSA) sulu çözeltisinde protein ve su

protonları için gevşeme süreleri ölçülmüştür. Protein hidrasyonunun tahminleri NMR Dondurulmuş protein çözeltileri üzerine çalışmalar yapılmıştır. Doğal BSA solüsyonlarındaki suyun çoğunun, aynı sıcaklıktaki saf suya eşit bir hareketliliğe sahip olduğu net kanıt elde edilmektedir. Bu, protein amino asit yan zincirlerinin kutup gruplarına büyük ölçüde bağlı olan ve saf sudakinden yaklaşık yüz kat daha düşük bir ortalama hareket kabiliyetine sahip olan suyun küçük bir fraksiyonu ile hızlı bir şekilde değiş tokuş yapar. Yüksek sudaki (>10) BSA konsantrasyonlarında gözlemlenen suda proton gevşeme hızlarında ve protein zincirlerinde sertlikte belirgin artış, protein moleküllerinin birleşmesiyle ilişkilendirilir. Gevşeme oranındaki artışın, (i) yeni siteleri ortaya çıkaran protein molekülünün geri çevrilebilir bir açılımı ve (ii) komşu protein molekülleri arasında su moleküllerinin köprülmesine bağlı olarak, protein hidrasyonunda bir artışa neden olduğu gösterilmiştir (Oakes 1976).

4.9. Sığır Serum Albümin Solüsyonlarındaki Su Hareketliliğinin NMR Durulması İncelenmesi.

Bu çalışmada Albümin üzerine yapılan bu çalışma şöyle özetlenebilir: Protein konsantrasyonu ve sıcaklığın bir fonksiyonu olarak sığır serum albümininin sulu çözeltileri üzerindeki proton spin gevşemesinin T_1 ve T_2 dağılım ölçümleri, 3 kHz ila 75 MHz arasındaki Larmor frekanslarını kapsar, üç fazlı bir hızlı için en kesin test olarak sunulacaktır -Gevşetme modeli değiştirin. Bu modelin deneysel verilere bilgisayar eğrisi ile uydurulmasıyla, 3 ayrı su ortamını ve sığır serum albümin moleküllerinin dönme karmaşası ayırt edilmiştir. Su sırasıyla $\tau_F \approx 10^{-11}$ S, $\tau_{HT} \approx 10^{-9}$ s ve $\tau_{HR} \approx 10^{-8}$ S korelasyon süreleri ile serbest, translasyonel olarak engellenmiş ve rotasyonel olarak bağlanmış H_2O moleküllerinden oluşur. Bu gözlem, güçlü, ancak yönlü olmayan bir protein su etkileşimi olduğunu gösterir ve "buz benzeri" su varlığına dair hiçbir kanıt bulunmamaktadır. Çözeltinin pH değişiminden ve proteinin denatürasyonundan elde edilen sonuçlar, biraz değiştirilmiş parametrelerle üç aşamalı modele uyabilir ancak ilke değişiklikleri olmadan. Serum albümin moleküllerinin, protein konsantrasyonundan, çözeltinin sıcaklığından ve proteinin denatürasyonundan ($\tau_{PR} \approx 10^{-6}$... 10^{-7} s) büyük ölçüde etkilenen bir korelasyon süresi ile yavaş dönme yönelimlerine rastlandı.

Bu tabakalar arasında değiş-tokuş olduğu kabul ederek durulma oranını (a: protein protonu, b: hidrasyonlu su protonu ve c: serbest su protonu)

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

(4.6)

şeklinde ifade edilebileceğini belirtmişlerdir.(Grösch ve Noack 1976) .

4.10. Çözücü ^1H ve ^2H Manyetik Durulma İle Çalışılan Protein Rotasyon Durulması

K. Hallenga ve S.H. Koenig yaptıkları çalışmada; Diamanyetik proteinlerin solüsyonlarındaki protonların çekirdek spinli manyetik durulma hızının manyetik alan bağımlılığının artırmaları, bu bağımlılığın (durulma dispersiyonu olarak adlandırılır) çözülme proteinlerinin rotasyonel Brown hareketine bağlı olduğunu ortaya koymuşlardır. Özüde, dağılım, manyetik alan çok düşük bir değerden (yaklaşık 10 Oe) arttıkça, $1 / T_1$ (proton spin-kafes gevşeme oranı) monoton olarak azalacak şekildedir; Dağılım, protein boyutuna, şekline, konsantrasyona, sıcaklığa ve solvent bileşimine bağlı manyetik alan değerinde bir dönüşüme sahiptir. Eğilme alanındaki proton Larmor presesyon frekansı nu (c) değeri, protein moleküllerinin rotasyonel gevşeme süresi olan tau (R) ile ilişkili görünmektedir. Moleküler ağırlıkların üç onlu bir aralığını kapsayan çeşitli proteinlerin solüsyonları için proton gevşetme dağılımlarını ve transfer ribonükleik asitin bir örneği için ölçüm yaptık. Ayrıca, üç proteinin çözeltisi için deuteron gevşetme dispersiyonlarını ölçtük: molekül ağırlığı 900 000 olan lizozim, karbon monoksihemoglobin ve Helix pomatia hemosiyanin. Proton ve döteron dispersiyon verileri ile protein rotasyon gevşemesi arasındaki niceliksel bir ilişki teyit edildi ve nokta şu oldu: Manyetik dispersiyon ölçümleri, çözeltideki makromoleküllerin rotasyonel gevşeme oranının ölçülmesi için genel uygulanabilirliğe sahiptir. Proton hareketinin çözücünün gevşeme davranışı üzerindeki etkisinin, hacimsel çözücü ile proteinin bir hidrasyon bölgesi arasında çözücü moleküllerinin değiştirilmesinden kaynaklanmadığı daha önce gösterilmiştir. Bu yazıda, etkileşimin esas itibarıyla bir sürekli sıvıdaki büyük Brown parçacıklarının durumuna bağlı olarak uzun menzilli hidrodinamik etkiden kaynaklandığını önermekteyiz. Önerilen mekanizmanın genel özellikleri gösterilmiş ancak teorik hesaplamalar yapılmamıştır (Hallenga ve Koenig 1976).

4.11. Normal ve Orak Eritrositlerin Su Proton Manyetik Rezonans Çalışmaları. Sıcaklık ve Hacim Bağımlılığı.

Normal ve orak eritrositler yanı sıra hemoglobin A ve hemoglobin S çözeltileri için NMR su proton çizgisi genişliği, spin-kafes ve spin-spin gevşeme sürelerinin sıcaklık ve hücre hacim bağımlılığı incelenmiştir. Oksijenasyon sonrasında, spin-spin gevşeme süresi (T_2), orak hücreler ve hemoglobin S çözeltileri için 2 kat azalır, ancak normal hücreler ve

hemoglobin A çözeltileri için nispeten sabit kalır. Spin-kafes gevşeme süresi (T_1), normal veya orak dolu kırmızı hücreler için oksijensizleştirme üzerinde önemli bir değişiklik göstermemektedir. Hücre hidrasyonu değiştikçe NMR çizgi genişliği, T_1 ve T_2 'deki değişikliklerin araştırılması, bu parametrelerin% 10-20'lik bir hücre dehidrasyonu ile çok az etkilendiğini göstermektedir. Bu sonuç, orak öldürme ile gözlemlenen bildirilen% 10 hücre dehidrasyonunun, değişen NMR özelliklerinde önemli olmadığını göstermektedir. Oksi ve deoksi hemoglobin A ve hemoglobin S çözeltileri için çizgi genişliği ve T_1 'in düşük sıcaklık çalışmaları, "bağlı" suyun dört türün de benzer özelliklere sahip olduğunu düşündürmektedir. Düşük sıcaklık çizgi genişliği, -15°C 'de yaklaşık 250 Hz ile -36°C 'de 500 Hz aralığındadır ve NMR eğrilerinin analizi, dört türün tamamı için 0.4 g su / g hemoglobin yakınındaki hidrasyon değerlerini verir. Düşük sıcaklık T_1 verileri, 17.1 MHz'de ölçümler için 44.4 MHz ve -50°C 'de ölçümler için -35°C 'de asgari geçer ve oksi ve deoksi hemoglobin A ve hemoglobin S için benzerdir. Düşük sıcaklık NMR verilerindeki bu benzerlikler Oksi ve deoksi hemoglobin A ve hemoglobin S, hidrofobik olarak tahrik edilen bir oraklaşma mekanizmasını önerir. Normal ve orak hücrelerin oda sıcaklığı ve düşük sıcaklık relaksasyon zamanı verileri, hücre içi su için üç durum modeliyle yorumlanır. Bu model bağlamında gevşeme zaman verileri, III tipi veya döngüsel olarak bağlı olan suyun, oraklama işlemi sırasında değiştirildiğini ima eder (Zipp ve ark. 1976).

4.12. Hidratlanmış Kollajenin Proton NMR'sinde Çapraz Gevşeme ve Spin Difüzyonu

H.T. Edzes ve E.T. Samulski; çalışmalarında çapraz (cross) rölaksasyon incelemesi için genel bir yöntem sunmuşlardır. Burada, çapraz rölaksasyonun gözlenen su proton spin-örgü rölaksasyon oranını büyük ölçüde değiştirebileceğini farketmişlerdir. Ölçtükları çapraz rölaksasyon oranı, bütün su protonları arasında etkileşerek makromoleküler protonlar arasında Zeeman spin enerjisinin değiş-tokuşunu ifade eder. Sürecin gerektirdiği adımları şu şekilde sıralamışlardır: a) Bulk sudan yüzeydeki bağlı suya spin enerjisinin transferine, bağlı su ile bulk su arasındaki kimyasal değiş-tokuşa yol açar. b) Bağlı su protonlarından makromolekülün bulunduğu çevredeki protonlara spin enerjisinin transferi, makromolekül yüzeyindeki bir proton ile bir bağlı su protonu arasındaki karşılıklı spin yer değiştirmelerinden ileri gelir. c) Yüzey protonlarından bütün makromoleküler protonlara manyetizasyon transferi, spin difüzyonu yani geçişleri ve çapraz rölaksasyon yolu ile meydana gelir (Edzes ve Samulski 1978). Spin difüzyonu, kolajene geçici olarak bağlı olan su

moleküllerinin üzerindeki protonlar ile kolajen protonları arasındaki süratli değiş-tokuş vasıtasıyla meydana gelir (Edzes ve Samulski 1977).

4.13. Proteinler Arasında Manyetik Çapraz Relaksasyon

S.H. Koenig ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; Çözücü su çekirdeğinin manyetik spin-kafes gevşeme hızlarının diamagnetic solute protein eklenmesiyle arttığı bilinmektedir. Gevşeme hızındaki bu artış, manyetik alanın bir fonksiyonudur ve protein moleküllerinin yönelimli gevşeme süresi, alana bağlı gevşeme oranlarının analizinden çıkarılabilir. Protein hareketinin solvent moleküllerine dinamikleri hakkında bilgi veren etkileşimlerin doğası belirlenmemesine rağmen, çözücü protonlarının gevşeme hızlarına bir katkıda bulunması, solvent döutonlarının ve ¹⁷O'nun gevşemesinde rol oynamadığı bilinmektedir. Ek etkileşimin, çözücü ve çözünen protonlar arasındaki çapraz rahatlama işleminden kaynaklandığını burada göstermişlerdir. Protein protonlarının ve çözücü protonlarının, protein-çözücü arayüzünde etkileşime giren iki ayrı termodinamik sistem olarak kabul edildiği buluşsal üç parametrelili bir modeli sunuyoruz. Üç parametre, her sistemin içsel gevşeme oranları ve çapraz gevşeme terimidir. Mıknatıslama enerjisinin sıcağıdan soğutucu sisteme akması için, son terimin işareti her zaman manyetik alan değerleri için pozitif olmalıdır. Çapraz gevşetme katkısının manyetik alan bağımlılığının kalan çözücü proton gevşemesine çok benzer olduğunu, diğer bir deyişle deuterium gevşetme alanı bağımlılığın ile aynı olduğunu bulmuştuk. Bu bulgu, diğer yazarlar tarafından kullanılan çapraz gevşeme ifadelerinin öngörülerıyla uyumlu değildir, ancak geniş bir manyetik alan şiddeti yelpazesinde verilere uygulanmaz. Model, hem protein protonlarının hem de çözücü protonlarının gevşeme davranışının iki üstelin toplamı olduğunu öngörür; bu iki üstel, göreceli katkısı protein konsantrasyonu ve solvent izotopik kompozisyonu ile değişkenlik gösterebilir; bu da protein protonlarının iki sınıfının varlığına işaret eder, Gerçekte sadece bir tane olduğunda. Bu bulgu, dokular gibi kompleks sistemlerde yayınlanmış proton gevşeme oranlarının yorumlanması için derhal bir sonuç doğurmaktadır; Bu veriler çapraz rahatlama dikkate alınarak tekrar gözden geçirilmelidir (Koenig ve ark. 1978).

4.14. Parametrik Katkıların Hücre İçi Suyun Protonlarının Spin-Kafes Durulması Üzerine Etkisi

Bitki hücrelerindeki su protonlarının spin-kafes gevşemesine Mn^{2+} ve Fe^{3+} paramanyetik iyonların etkileri üzerine yapılan araştırmalar normal koşullardaki (doğal niceliklerde) hücrelerdeki paramanyetik katkıların spin-kafes hızı üzerinde anlamlı bir etki yaratmadığını göstermiştir Su protonlarının ilişkisi. Bitki hücrelerinde artmış Mn^{2+} paramanyetik iyon içeriğindeki proton spin-kafes gevşemesi incelemeleri temelinde, hücrelerdeki farklı su fraksiyonları ile karşılık gelen gevşeme sürelerinin T_{1l} ve T_{1s} 'lerinin muhtemel ayrımı, olası su uyarımı olarak gösterilir (Samuilov ve ark. 1979).

4.15. Methemoglobin Çözeltilerinde Protein ve Su Protonlarının NMR Durulması

Hemoglobin (Hb) proton spinleri, başlangıç uyarımından sonra hızla kendi aralarında dengelenir ve bir birim olarak termal denge yönünde rahatlarlar. Di-diamik formda, yakınlardaki metil gevşetme lavabolarına spin difüzyonu bunun bir sonucudur. MetHb için, dört güçlü heme gevşeme merkezi hakimdir ve spin difüzyonu uzun mesafelerde oluşmalıdır. Protein T_1 'de büyük bir fark, H_2O ve D_2O çözeltileri arasında bulunur; bu, diamona özgü Hb'den çok daha fazladır ve heme spin taşıyıcı olarak işlev gören dahili H_2O ile tutarlıdır. (Biophys 1981)

4.16. N-Site Kimyasal Değişimi İle Bloch Denklemlerinin Tam Çözümleri

Modifiye Bloch denklemlerinin tam çözümleri, n-site kimyasal değişimi durumunda elde edilmiştir. Çözümler, mıknatıslanmanın z bileşeninin keyfi uç açılara karşılık gelen başlangıç verileri ile verilir. Bu sonuçlar doygunluk giderme ve iki bölge kimyasal değişimdeki inversiyon kurtarma deneyleri için uzmanlaşmıştır (Schotland ve Leigh 1983).

4.17. Karbonik Anhidraz Aktif Yerinde Su Değiştirme

5.5-10 aralığındaki pH değerinin bir fonksiyonu olarak, Co^{2+} 'i değiştirilmiş insan karbonik anhidraz B (HCAB)' nin yüksek saflıkta, tamponlu ve tuzsuz solüsyonlarındaki solvent protonlarının manyetik durulma oranına paramanyetik katkı ölçülmüştür. Manyetik alanın bir işlevi. Enzimi karakterize etmek için 640 nm'de optik absorpsiyonu ölçüldü.

Durulma oranları, CO₂ hidrasyon aktivitesinde olduğu gibi pH ile de değişir, artan pH ile artmaktadır. pH'nın ara değerlerindeki durulma hızlarının, kullanılan aşırı pH değerlerinde elde edilen oranlardaki doğrusal kombinasyonlar olarak tanımlanabildiğini ve bu enzimin düşük ve yüksek pH'lı formlarının pH bağımlı konsantrasyonlarla var olduğunu gösterdiğini bulmuşlardır. Optik veriler de benzer şekilde temsil edilebilir. Durulma veya optik verilerden saptanan, yüksek pH'lı formun fraksiyonu, tek bir iyonizasyon ile yaklaşık olarak hesaplandığında ~ 7.6'lık bir pKa'ya sahiptir. Bu veriler, pKa'nın büyük ölçüde sülfat varlığından etkilendiği sığır enziminin aksine, tampon varlığında HCAB için olana çok benzerdir. Yüksek pH'da yüksek gevşeme hızlarının önceki analizi, yalnızca bu değiştirme protonları su molekülleri tarafından iletildiğinde mümkün olan hızlı Co²⁺ hazırlanmış proton değişimini belirtti. Öte yandan, son derece artırılmış çözeltilerde iki tür HCAB varlığının diğer verilere bağlı olarak gösterilmesi, aktif bölgedeki metal iyonunun bir su molekülü ligandının iyonizasyonu için kuvvetli bir şekilde savunulmaktadır ve çözücü OH⁻'dir. Yüksek miktarda pH'lı doymuş ligand ile Yüksek pH değerinde ligand değişimi mekanizmasını, hem görünüşte çakışan bu gereklilikleri hem ligand olarak hem OH⁻ hem de H₂O'ya sahip olan bir pentakordinat ara maddesiyle uzlaştıran bir mekanizma önermişlerdir. Proton değişimi bu ligandlar arasında hızlı olabilir, çünkü net iyonizasyon olmaksızın yük transferi oluşabilir, böylece bırakan su ilk OH⁻ 'yi alabilir. Düşük pH'lı form, tetra ve pentakordinat türlerinin termal bir karışımıdır ve sonrasındaki enzim inhibitör türevleri ve model sistemleri ile benzerlik gösteren düşük durulma oranları vardır. Önerilen birleştirici ligand değişimi mekanizması, ilk modelin hidrasyon aktivitesinin, optik absorpsiyonun ve çözücü manyetik durulma gözlemlenen pH bağımlılığı ile tutarlı olması koşuluyla, karbonik anhidrazın OH⁻ ve H₂O-modelleri arasındaki ayrımları birleştirecek şekilde bir araya getirir (Koenig ve ark. 1983).

4.18. Diyalomik Hemoglobin Çözeltilerinde Protein ve Su protonlarının NMR

Durulması

Hemoglobin solüsyonlarındaki protein ve su protonlarının T₁ ve T₂ değerlerini geniş çizgili pul teknikleri kullanarak ölçtük; Seçici uyarılma ve saptama yöntemleri, intrinsik protein ve su gevşeme hızlarının yanı sıra bunların 5, 10 ve 20 MHz'de elde edilecek spin transfer hızı sağlamıştır. Su ve protein T₁ verileri ayrıca, ticari Fourier dönüştürme aletleri kullanılarak H₂O / D₂O karışımlarında hemoglobin için 100 ve 200 MHz'de elde edilmiştir. T₁ verileri, tek intrinsik gevşeme sürelerine ve ortalama bir spin-transfer oranına sahip iki iyi

karişik spin sisteminin basit bir modeline uygundur; her faz, bi-eksponansiyel zaman bağımlılığı ile bir radyo-frekans uyarımından geri gelir. Düşük frekanslarda, T_1 ve T_2 proteinleri, çözeltiliye yuvarlanan bir dizi sabit protonun dipolar relaksasyon modeli ile makul bir şekilde hemfikir, metil ve metilen gevşemesini açıkça hesaplar ve diğerleri için bir süreklilik yaklaşımı kullanılır. H_2O ve D_2O 'daki farklı değerler esas olarak çözücü viskozitesine bağlıdır. Su-proton gevşemesi için, H_2O ve HDO için T_1 , T_2 ve spin transferi ölçülmüş ve bu da gevşemeye inter-ve intramoleküler katkıların ayrılmasını sağlamıştır. Bu ayrıntıya rağmen, hidrasyon suyu hakkında birkaç kesin sonuca varıldı. Ancak, T_1 ve T_2 'yi açıklamak için uzun süren az miktarda hidrasyon alanına ihtiyaç duyulduğu ve spin transfer değerinin, ömrü 10 (-8) saniyeden uzun olan beşten az siteyi görevlendirdiği açıktır (Eisenstadt 1985).

4.19. Sığır Serum Albümin Solüsyonlarının 1H-ve 2H-NMR Çalışmaları

Gallier ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, dondurulmuş, yerli ve denature edilmiş sığır serum albümin solüsyonları, geniş bantlı NMR darbeleri spektrometre ile incelenmiştir. t_{2m} , t_{1m} , t_{2w} , t_{1w} makromoleküler ve su proton spin-spin ve spin-kafes gevşeme süreleri, 170 ila 360 Kelvin arasında ölçülmüştür. Yerli numunede, t_{2m} işlemi, sığır serumunun devinim hızıdır Albümin molekülleri. Spin-kafes gevşemeye, 6-90 MHz'de çalışılan frekans aralığında oda sıcaklığında omega 0 (-2) frekans bağımlılığını verir. Ek bir süreç t_{1m} -1'e katkıda bulunur; Omurga veya segmental hareketlerden kaynaklanır ve daha düşük frekanslı bir davranış sağlar. Denatürasyon üzerine, sığır serum albümin molekülleri dönme hareketini kaybeder ve katı bir ağ oluştururken, iç omurga hareketleri etkilenmez görünmektedir. Kalorimetrik C_p ölçümü, denatürasyon üzerine bir faz geçişinin oluşumunu teyit eder. Su protonlarının 1H ve 2H spin-kafes durulma süreleri esas olarak bağlı su hareketliliğine bağlıdır. 1H ve 2H t_{2w} , sığır serum albüminin üçüncül yapısına ve su ile bazı protein protonları (veya deutonlar) arasındaki hızlı değişim prosesi nedeniyle hareketliliğine bağlıdır; protein ve su protonları arasında çapraz durulma işlemi, 1H'ye katkıda bulunur T_{1w} . Denatürasyonun, bağlı su hareket özelliklerine ve bağlı su popülasyonuna etkisi yoktur.

T_{1su} , denaturasyonla etkilenmez. Denature örnekte su proton spin-örgü relaksasyon oranı $1/T_{1su}$ 'yun daha uzun olması bayağı bir sürpriz sonuç olarak görülmüştür. Bulk su ile bağlı suyun alışıldıktan farklı davranış sergilediklerini ifade etmişlerdir (Gallier ve ark. 1987).

4.20. Manyetik Rezonans Görüntüleme Fantomlarında Kullanılmak Üzere Doku Taklit Eden Jelatin-Agar Jelleri

¹H nükleer manyetik rezonans (NMR) fantomlarında kullanılmak üzere doku taklit eden yeni malzemeler çeşitliliği, esasen 10 MHz'de ve oda sıcaklığında geliştirilmiş ve kapsamlı olarak test edilmiştir. Malzemeler yumuşak dokuları temsil eden T₁ ve T₂'nin geniş bir yelpazesiyile oluşturulabilir. Bunlar, çeşitli yüzdelerdeki agar, hayvan derisi jelatin, su ve gliserolden oluşan karışımlardır. Küçük konsantrasyonlarda formaldehit ve n-propanol, erime noktasını 100 derece C derece önlere ve bakteri istilasını önler. Malzemeler kolayca üretilir. Kompozisyonların ve üretim prosedürlerinin ayrıntılı bir tarifi verilmiştir. T₁, sıcaklıkta % 5 / derece C yükselme sergiliyor. T₂, % 1'lik artış / derece C'den daha düşük bir sergilemektedir. Hem NMR hem de akışkan ekstrüzyon için uzun vadeli (12 ay) stabilite sergilenmektedir. İlk sonuçlar T₁'in yumuşak dokularda gözlemlenene benzer şekilde Larmor frekansına bağımlı olduğunu göstermektedir (Blechinger ve ark. 1988).

4.21. Proton ve Döteryum Boyuna Durulma Sürelerine Sahip Protein Çözeltilerinde ve Dokularda Hidrodinamik Etkiler ve Çapraz Durulma Niceliksel Çalışmaları

J. Zhong ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada; su protonlarının T₁ rölaksasyon zamanlarını, 1.4 ve 480 kDa aralığında değişen proteinler ve döteryum miktarı değişen çözücülerle farklı statik manyetik alanlarda (0.47, 2 ve 7T) %5' lik protein çözeltilerinde ölçümler yapmışlardır. Döteryumlu numunelerin T₁ rölaksasyon zamanı ölçümlerini 2 ile 7T için gerçekleştirmişlerdir. Döteryumlu numunelerin ölçümlerini, rotasyonel ilgi zamanlarını bulabilmek için kullanmışlardır. T₁ rölaksasyon zamanı hesaplamalarından, çözücü ve çözünen protonların arasındaki çapraz rölaksasyon oranı ve örneklerdeki paramanyetik safsızlıkların katkısını bulmuşlardır. Protein çözeltileri üzerinde yapılan ölçümlerden elde edilen verileri incelemeleri sonucunda; protein protonları, bulk su protonları ve hidrasyonlu su protonları olmak üzere su protonlarının üç farklı fazının olduğunu kabul etmişlerdir. Hidrasyonlu su ve protein protonları arasındaki çapraz rölaksasyon etkisinin önemli rol oynadığını fakat magnetik alan şiddetinin artışıyla öneminin azaldığını göstermişlerdir. Çapraz rölaksasyon oranlarının, proteinin moleküler ağırlığı artışıyla birlikte arttığını bulmuşlardır (Zhong ve ark. 1990).

4.22. İnsan Serum Protein Çözeltilerinde Nükleer Magnetik Relaksasyon Dağılımı

Larmor Frekansında nükleer manyetik gevşeme dağılım profilleri 0.02-50 MHz ve 277 K aralığı insan serum proteinleri için incelenmiştir: Albümin, gama-globülinler ve sulu solüsyonlarda alfa, beta-globülinler % 3-4' e kadar protein ağırlığı ve lineer konsantrasyon bağımlılıkları bulundu. Hem su protonları için uzunlamasına durulma oranları dağılmış hemde durulma profillerinin dağılmayan kısımları. Frekansa bağlı yeniden Laksiviteler hesaplandığında, albümin için hidrodinamik etki Makromolekül Brown dönüş korelasyon zamanı gözlemlendi ve analiz edildi. Proteinin durulma için molekül ağırlığının önemi ve manyetik rezonans görüntüleme kontrastı üzerindeki etkisi incelenmiştir (Olszewski. 1992).

4.23. Sığır Objektif Beta L-Kristalin Çözeltilerinde Molekül İçi Protein Etkileşimleri. 1 / T1 Nükleer Manyetik Durulma Dağılım Profillerinden Elde Edilen Sonuçlar

Yönlendirilebilir lens beta L-kristalin çözeltileri için çözücü su protonlarının ve çift tortuların manyetik alan bağımlılığını (nükleer manyetik gevşeme dağılımı veya NMRD, profiller) tespit edilmiştir. Bu veriler, çözünen makromoleküllerin rotasyonel durulma süresinin bir ölçüsü sağlayarak, geniş bir konsantrasyon aralığında, burada% 1-34 hacim / hacim arasında molekül içi protein etkileşimlerinin incelenmesine izin verir. Yaklaşık% 5'ten az protein için, çözünen parçacıkların kompakt 60 kD'lik bir kürenin yaklaşık üç misli rotasyonel olarak ortalama bir hacim ile sıkışmadığı sonucuna varılmıştır. (Optik ve ozmotik ölçümlerden (Vérétout ve Tardieu, 1989. J. Mol. Biol. 205: 713-728) yaklaşık olarak 1.000 kD olan alfa-kristalin için daha erken sonuçlar yaklaşık iki katlı benzer bir etki göstermektedir). Ara konsantrasyonlarda, yaklaşık% 20 proteine, yapısal olarak ilgili gam II-kristalin (Koenig ve arkadaşları, 1990. Biophys J. J. 57: 461-469) için olduğu gibi sınırlı bir birleşme veya oligomerizasyon kanıtı vardır; Alfa-kristalininkinin üçte ikisi kadar büyüklüğündedir. Üç sınıf kristalin sınıfının NMRD davranışındaki fark, farklı ozmotik özellikleriyle uyumludur (Vérétout ve Tardieu J. Mol Biol 1989, 205: 713-728, Kenworthy, McIntosh ve Magid, Biophys J. 1992. 61: A477; Tardieu ve arkadaşları, 1992, Eur. Biophys. J. 21: 1-12). Şeffaflığı optimize etmek ve göz merceğindeki kolloid ozmotik zorlukları en aza indirmek için bu üç proteinin sınıfının alışılmadık yapılarının ve etkileşimlerinin nasıl bir araya getirilebileceği bulunmuştur (Koenig ve ark. 1993).

4.24. Biyolojik Sistemlerde Paramanyetik İyonların ve Su Proton Spin-Kafes Durulma Zamanının Rolü

Bu makale, manyetik rezonans görüntülemeye spin-kafes durulma zamanları üzerine paramanyetik iyonların etkisi ile ilgili farklı çalışmaların gözlemlerini özetlemektedir. Kansere dokularındaki manganez iyon içeriğinin normal dokulara kıyasla azaldığı bulgularına dayanarak doku manganez konsantrasyonunun spin-kafes durulma sürelerine etkisini analiz eden farklı bulguların sonuçları toplanmış ve karşılaştırılmıştır. Ne farklı organlar, farklı hayvanlar ya da farklı dokular arasındaki karşılaştırma (normal ve malign) arasındaki manganez konsantrasyonları ve spin-kafes durulma süreleri arasındaki pratik sonuçların korelasyonunu gösterdi. Bu sonuçlar, canlı sistemlerde bakır ve demir iyonlarıyla yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile tutarlıdır (Akber 1993)

4.25. Su-Protein Etkileşimlerinin Dinamiği

R.G. Bryant yaptığı çalışmada; su ile proteinler arasındaki etkileşimleri incelemiştir. Su proton nükleer spin-kafes durulma hızının manyetik alan ve sıcaklık bağımlılığı, proteinlerle temas halindeki su molekülleri için hareket zaman ölçeğinin oda sıcaklığında saf suya yakın olması gerektiğini ifade etmiştir. Yine de, yüksek çözünürlüklü, çapraz gevşetici spektroskopi ile tespit edilebilen ve göreceli olarak uzun protein ömrüne sahip olması ve protein ile su arasındaki gevşeme bağının büyük kısmını taşıyan birkaç su molekülü bulunmaktadır. Su-protein manyetik kuplajı(bağlanım), dokular gibi heterojen protein sistemlerinde su gevşetme oranlarının yorumlanmasını etkiler ve su NMR spektrumundaki etkiler yoluyla hareketsizleştirilmiş bileşenler hakkında yararlı bilgiler elde etmek için yeni yollar sağlar. Tartışma, arayüzdeki hızlı su molekül hareketleri ile ilgili sonuçların protein kristal yapılarındaki birçok su oksijen atomu konumlarının gözlemleriyle çatışmadığını gösteriyor (Bryant 1996).

4.26. Küresel Proteinlere Bağlanan Dimetil Sülfoksit: Nükleer Manyetik Bir Durulma Dispersiyonu Çalışması

Dimetil sülfoksidin (DMSO) globüler proteinlerle olan etkileşimlerini karakterize etmek için ^2H manyetik durulma dispersiyonu (NMRD) tekniği kullanılmıştır. N-asetilglukozamin trisakarit önleyicisini içeren farklı bir NMRD deneyi, lizozim çözeltisindeki

DMSO ^2H NMRD profilinin, aktif kırıkta bağlanmış tek bir DMSO molekülüne bağlı olduğunu ve 0.47 ± 0.05 ve 10ns ile 5ms aralığında bir kalış süresi mevcuttur. Enine ^2H durulma verilerinin yardımıyla, kalma süresinin üst sınırı 100 ps'a kadar dahada düşürülmüştür. Bir ^1H hareketi titrasyon deneyi de gerçekleştirildi ve $2.3 \pm 0.3 \text{ M}^{-1} 27^\circ\text{C}$ de lizozom'un aksine sığır pankreatik tripsin önleyicisi (BPTI) için DMSO dağılımı gözlenmemiştir. Bu da stabil bir DMSO – protein kompleksinin Hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimlere ek olarak uygun geometriye sahip bir yarık gerektirir (Johannesson ve ark. 1997).

4.27. Serum Demirin Spin-Kafes Durulma Hızına ($1 / T_1$) Parametrik Olarak Katkısı

PH = 2'de saf serum veya Mn (II) dopingli serum numunelerini içeren fantomların T_1 haritaları 1.5 T ve 1 T MR Görüntüleyiciler tarafından görüntülendi. Parametrik artışın saptanması için yapılan T_1 ölçümleri, askorbik asit ilave edilmeden önce ve sonra gerçekleştirildi. Askorbik asit ihtiva eden ve bulunmayan örneklerde $1 / T_1$ 'in farkı serum demirinin paramanyetik katkısı (PMC) olarak değerlendirildi. Demirin demir içeriği aşırı demir yükünden yoksun olan demirden farklılık gösterdiğinden, PMC değerleri 1.5 T'de 0.93 iken 0.565 s $^{-1}$ 'e ve 1 T'de 0.103 iken 0.609 s $^{-1}$ 'e yükselmiştir. Teyit amaçlı olarak, her numunenin serum demirleri belirlenmiştir Paramanyetik katkı ve ayrıca bir otoanalizörden. PMC'den saptanan serum demir içeriği, otoanalizör ile ve literatürle olanlarla iyi uyum içindedir. Veriler, serum demirinin paramanyetik katkısının MR ile ölçülebileceğini göstermektedir (Yılmaz ve ark. 1998).

4.28. Membranlar ve Membrana Bağlanan Proteinler İle İlaç Etkileşiminin NMR Çalışmaları

Bu çalışmada, nükleer manyetik rezonans (NMR) spektroskopisi ve diğer spektroskopik teknikler kullanılarak biyolojik zarlar ve membrana bağlı proteinler ile ilaç etkileşimlerinin incelenmesindeki son gelişmeler üzerinde durulmuştur. Vurgu, uçucu genel anestezipler ve yapısal olarak ilişkili bileşikler tarafından örneklendiği gibi düşük afiniteli nörolojik ajanların bir sınıfına yerleştirilir. Teknik yönler, mevcut durumda kullanılan ya da yeni umutları açığa çıkaran membran-mimetik sistemleri ve NMR yaklaşımlarının nasıl hazırlanacağı konusunda gözden geçirilmiştir. Kısa bir literatür araştırması, basitleştirilmiş lipid matriksteki ilaç dağılımından komplike sentetik membran sistemlerinde yeniden

yapılandırılan nöronal reseptörlere spesifik ilaç etkileşimine kadar değişen çalışmaları kapsamaktadır (Xu ve ark.2002).

4.29. Serum Demirin Spin-Spin Durulma Hızına ($1 / T_2$) Paramagnetic Katkısı MR İle Ölçülmüştür

Spin-spin gevşeme zamanı Serumda Fe (III) 'ün proton gevşemesinin bulunması için demirli ve demirsiz serumun T_2 değerleri manyetik rezonans görüntüleme (MRI) ile ölçüldü. Belirli miktarlarda ilave demir ihtiva eden serumda T_2 değerleri daha önce ve sonra ölçüldü Askorbik asit ilavesi. Askorbik asit ihtiva eden ve bulunmayan serumun $1 / T_2$ 'deki farkı, ilave edilen demir değerlerinin yeniden hesaplanması için kullanıldı. Yeniden hesaplanan demir değerleri, sağlıklı serumdaki farklılığın sadece demir kaynaklı olduğunu doğrulamaktadır. Ayrıca, serum demirin paramanyetik katkısını bulmak için, demir eksikliği olan, sağlıklı ve aşırı demir yüklü serumun T_2 değerlerinin askorbik asit ilavesinden önce ve sonra ölçüldü. Daha sonra $1 / T_2$ değerlerindeki fark serum demir değerlerinin hesaplanmasına uygulanmıştır. Farktan saptanan demir değerlerinin otoanalizörlere göre tutarlılığı hastalıklı serumdaki farklılıkların aynı zamanda serum demirinin paramanyetik katkısını temsil ettiğini düşündürmektedir. Veriler sağlıklı, demir eksikliği olan ve aşırı demir yüklü serumdaki serum demir içeriğinin MR ile değerlendirilebileceğini ima etmektedir(Yılmaz ve ark. 2002).

4.30. Proton T_1 ve T_2 Proteinlerin Durulması

Bu çalışmada, değişen miktarlarda protein, belirli miktarda protein içeren serum örnekleri, damıtılmış su ile seyreltilmiş serum ve demir ile muamele edilmiş serum içeren setler içeren fantomların T_1 ve T_2 değerleri ölçülmüştür. Ek olarak, normal serum, seyreltilmiş serum ve albumin katkılı serum içeren hayallerdeki T_1 ve T_2 de ölçüldü. Durulma oranları protein konsantrasyonlarına göre çizilmiştir. İlişki eğimi rahatlama olarak alınmıştır. Proteinlerin T_1 gevşekliği 0.035 ila 0.080 s-1 (g / dl) -1 arasında değişirken, T_2 gevşeklik 0.24 ila 0.68 s-1 (g / dl) -1 arasındaydı. Transferrin demirinin T_1 ve T_2 gevşekliği sırasıyla 2.40 ve 2.60 mM-1s-1 idi. Seyreltilmiş serum, normal ve albumin katkılı serumların her birinde diamagnetic proteinlerin ve transferrin demirin serum gevşeme hızına olan katkıları da hesaplandı. TP hesaplamaları için katkılar ve ortalama TP durulma oranı (bireysel rahatlama oranları ve protein fraksiyonlarının TP'deki oranları kullanılarak hesaplandı) kullanıldı. Hesaplanan TP ile TP arasında otoanalizör ile yapılan anlaşma ve ayrıca ortalama TP

relaksivitesinin ve seyreltme deneylerinden tayin edilen TP relaxivities arasındaki anlaşma relaxivities'in güvenilir olduğunu göstermektedir. Sonuçlar, tek tek protein gevşeklik özelliklerinin serum TP bileşiminin T_1 ve T_2 durulma sürelerine etkisini açıkladığını göstermektedir (Yılmaz ve ark. 2004)

4.31. Su Proton Durulma Hız Arttırmaları ve Birliktelik Sabitleri NMR T_1 Ölçümleri ile Saptanan Mn (II) Serum Proteinleri

Mn (II) 'nin su proton durulma hızının arttırılması sığır serumu albuminine bağlı (BSA) ve manganezin BSA'ya olan bağlanma sabiti zaten tespit edilmiştir, Ancak insan serum albumini (HSA) ve diğerleri için bu tür belirlemeler yapılmamıştır İnsan serumu proteinleri ve aynı zamanda insan serumu için de kullanılabilir. Bu çalışmada, sulu ortamda NMR T_1 değerleri Serum proteinleri ve serum çözeltileri, Mn (II). Farklı manganez konsantrasyonlarının neden olduğu proton durulma hızı artışları (ϵ^*) Her bir çözelti için belirlendi ve Mn (II) konsantrasyonlarına karşı $1 / \epsilon^*$ yerleştirildi. Albümine, γ -globuline ($\alpha + \epsilon$) - bağlı olan Mn (II) 'nin proton durulma hızı artışları (ϵb) Globulinler ve serumun sırasıyla 13.69, 3.09, 8.62 ve 10.87 olduğu bulundu. Serbest ve Mn (II) 'nin numuneye her ilavesinden sonra ortaya çıkan bağlanmış manganez fraksiyonları belirlendi. Karşılık gelen (ϵ^*) ve ϵb değerlerini kullanarak Mn (II) ile HSA ve γ -globulin, sırasıyla $1.84 \mu\text{g} / 104 \mu\text{l}$ ve $2.35 \mu\text{g} / 104 \mu\text{l}$ olarak hesaplandı. Mevcut veriler, serumdaki Mn (II) 'nin proton durulma hızının arttırılmasının Mn (II) 'nin çeşitli serum bileşenlerine bağlı olmasından kaynaklanmaktadır. Veriler ayrıca birliktelik Mn (II) ile γ -globulin sabitleri HSA ile aynıdır (Budak, 2005).

4.32. Kombine Kemoterapide İlaçların Serum Albumine Rekabeti: NMR Çalışması

Göğüs karsinomalı hastaların tedavisinde siklofosfamid (CM), metotreksat ve 5-fluorourasil (FU) kombinasyonlu kemoterapi kullanılır. FU ile kombine edilen CM'nin klinik toksisitesi CM'ninkinden daha büyük olmakla birlikte, düzeyler klinik olarak kabul edilebilir düzeydedir. Büyükbaş hayvan serum albumini (BSA) cm ve FU rekabet mekanizması ^1H ve ^{13}C NMR spektroskopisi kullanılarak incelenmiştir.

Protein-ilaç etkileşimini ve ilacın moleküler hareketini analiz etmek için, kimyasal iletimler ve diğer ilaçların münferit karbon ile proton rezonanslarının çizgi genişliği ilaç / serum albuminin molar oranının bir fonksiyonu olarak ölçüldü. Kombine kemoterapide kullanılan ikinci ilacın analize tabi tutulmuş NMR parametrelerine etkisi incelenmiştir.

FU ve CM'nin ilaç / BSA 160 ve 330 molar oranında BSA'ya bağlandığı bulunmuştur. Lev-BSA kompleksinin oluşumu teyit edilmedi. Hem lev hem de CM'nin varlığında, BSA'ya bağlı FU moleküllerinin sayısı arttığının kanıtlandı. Ayrıca, FU'nun lev ve BSA arasındaki afiniteyi arttırdığı da gözlemlendi (Sulkowska ve ark.2005).

4.33. Biyolojik Sistemlerde Nükleer Manyetik Rezonans ve Spin Durulması

Biyolojik sistemlerde proton nükleer spin-kafes gevşemesi, genellikle, kayalar gibi inorganik sistemlerdeki lokal olarak bozuk makromoleküler ortamların varlığından ayırt edilir. Farklı yönlendirilmiş makromoleküler alanlar arasında kolaylıkla gözlemlenen labil küçük moleküllerin hızlı değişimi genellikle küçük molekül rezonanslarındaki spektral anizotropileri yaklaşık olarak ortalamaaktadır. Biyolojik doku, genellikle, dipolar spin bağlantıları ile iyi bağlanmış katı bileşenlerde önemli miktarda proton varlığı vasıtasıyla inorganik matristen ayırt edilir. Katı ve sıvı bileşenler arasındaki manyetik bağ, genel olarak Larmor frekansındaki bir güç yasasıyla tanımlanan küçük molekül bileşenleri içinde gözlenen spin-kafes gevşeme hızlarının manyetik alan bağımlılığının hakimiyeti altındadır. Dinlenme mekanizmasının spin-fonon sınıfının modifikasyonunu içeren yeni teori, katı spin sistemlerinde, genellikle katlanmış proteinlerde bulunan zincir moleküllerinin dinamikleri açısından bu verilerin niceliksel olarak anlaşılmasını sağlar (Bryan ve Korb 2005).

4.34. Dönel Olarak Hareketsizleştirilmiş Proteinlerde Protonların Parametrik Olarak Durulması

Proton manyetik durulma dispersiyon(dağılım) profilleri, çapraz bağlanmış jeller için ve Gd (III) veya Mn (II) dietilentriaminpentaasetik asit şelatları ile lizin ile kovalent olarak etiketlenmiş kuru liyofilize sığır serum albümini için, 0.01 ila 30 MHz arasında proton Larmor frekans aralığında rapor edilmiştir) İyonları. Çapraz bağlanmış paramanyetik protein jelinin proton spin-kafes durulma dağılımı, iki büyük rahatlama katkısının bir toplamı olarak doğru bir şekilde temsil edilir. Diabanyetik terim, protein protonlarının manyetik alan bağımlılığından gelen bir güç yasasıdır. Paramanyetik terim, yaklaşık olarak Solomon-Bloembergen-Morgan sınıf modelleri tarafından tanımlanmaktadır. Bununla birlikte, kuru liyofilize proteindeki paramanyetik durulma mekanizması temel olarak farklıdır ve dispersiyon profilinin yeni bir nicel tanımını geliştiririz. Kuru durumda, elektron spin gevşeme sürelerinin alan bağımlılığından proton durulma dağılım profilindeki herhangi bir zirve tespit edilmemiştir. Yüksek alana sahip olan paramanyetik durulma dağılımı, Larmor

frekansında $-0,8$ 'lik bir üssü olan ve esasen proteinin temel yapısında yayılım gösteren proteinin molekül içi dinamikleri ile elektron-nükleer bağlantının modülasyonundan kaynaklanan bir güç yasasıdır. Alçak alan platosu, elektron-nükleer spin-korelasyonunun elektron spin durulma ile kesilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu yeni nicel tanım, oda sıcaklığında paramanyetik protein sistemlerinde, proton spin-kafes durulma hızı sabitinin manyetik alan bağımlılığına dayanan elektron spin-kafes durulma sürelerinin ölçülmesine basit bir yaklaşım sağlar (Korb ve ark. 2006).

4.35. Bağlanmış Suyun Protein Solüsyonlarında $1H$ NMR Durulma Süreçlerini Modüle Eden Etkin Korelasyon Zamanının Belirlenmesi

Protein çözeltilerindeki durulmaya esas olarak nükleer manyetik durulma dispersiyonu (NMRD) teknikleriyle incelenmiştir. NMRD verileri çoğunlukla, serbest su ve proteinlere bağlı su arasındaki hızlı kimyasal su değişimi açısından analiz edilmiştir. Bağlanan suyun durulma mekanizmasını modüle eden korelasyon zamanının kestirimi için çeşitli yaklaşımlar kullanılmıştır. Öte yandan nükleer manyetik rezonans deneyinde, protein solüsyonlarının ($1 / T_1$ ve $1 / T_2$) ve serbest suyun ($1 / T_{1f}$ ve $1 / T_{2f}$) durulma oranları ölçülebilir. Bununla birlikte, bağlı suyun durulma oranları ($1 / T_{1b}$ ve $1 / T_{2b}$) değildir. Buna rağmen, $(1 / T_{1-1} / T_{1f}) / 2 (1 / T_{2-1} / T_{2f}) (1 / T_{1b}) / 2 (1 / T_{2b})$ ile eşitlik sadece Proteinlerin dönme korelasyon zamanı (τ). Dolayısıyla oranları eşitlemek, bu yöntem tek bir rezonans frekansı ile sınırlı olsa bile τ 'nin saptanması için basit bir alternatif yöntem verebilir. Bu çalışmada, etkin τ 'nın çözümü için bir formül çıkarıldı. Ardından iki globüler protein (lizozim ve albumin) ve bir nonglobüler protein (γ -globulin) solüsyonundaki $1 / T_1$ ve $1 / T_2$, her proteinin farklı miktarları için ölçüldü. Daha sonra, $1 / T_1$ ve $1 / T_2$ değerleri protein konsantrasyonlarına göre çizildi ve daha sonra, etkili τ değerlerini belirlemek için türetilmiş denklemde fitlerin eğimleri kullanıldı. Son olarak, ilgili yarıçapı üretmek için Stokes-Einstein ilişkisinde, τ 'dan hesaplanan dönme korelasyon zamanı τ kullanılmıştır. Lizozim, albumin ve γ -globulinin etkin τ değerleri sırasıyla 5.89 ns, 7.03 ns ve 8.8 ns olarak bulundu. Albümin ve lizozim'in τ değerleri Stokes yarıçaplarını üretir. Mevcut veriler, türetilmiş formülde ölçülebilir oranın kullanılmasının, lizozim ve albüminin korelasyon sürelerinin belirlenmesinde basit bir yol olabileceğini düşündürmektedir (Yılmaz ve ark. 2008).

4.36. Odontojenik Çene Kistlerine Eklenen Bazı İyonların, Albüminin ve Kolesterolün Proton Durulması

Kistlerde durulma oranları ($1 / T (1)$ ve $1 / T (2)$) albümin, kolesterol, manganez, demir ve bakır gibi maddeler açısından zaten analiz edilmiştir. Bununla birlikte, bu malzemelerin rahatlama özellikleri henüz belirlenmemiştir. Bu çalışmada, iyonları, albumin ve kolesterolü içeren beş set, her kümeye artan bir konsantrasyona sahip bir madde ilave edilerek hazırlandı. Bu setlerdeki durulma süreleri MRI ile ölçüldü ve durulma oranları konsantrasyonlara göre ayarlandı. Uyumun eğimleri rahatlama olguları olarak kullanıldı. MM (-1) s (-1) 'de manganez, demir ve bakırın ($r (1)$, $r (2)$) değerleri ve albümin ve kolesterolün (g / dl) (- 1) s -1) sırasıyla (32.64, 89.77), (0.31, 1.19), (0.5, 1.479), (0.01, 0.066) ve (0.03, 0.458) olarak bulundu. $R (2) / r (1)$ oranı 2.75 ile 15.27 arasında değişiyordu. Manganez etkili bir rahatlatıcıdır, ancak demir ve bakır zayıf olanlardır. Albumin ve kolesterol, sadece T (2) için etkili rahatlatıcılardır. Tabii manganez, albumin, kolesterol ve T (2) 'ye demir ile ilişkili suyun kristal sıvının doğal manganez ile T (1)' e ilişkin suyun katkısı 0,268 s (-1) iken, 0,736, 0,185, 0.092 ve 0.076 s (-1) 'dir. Diğer katkılar 0.076 s (-1) 'ten çok daha küçüktü. Manganez muhtemelen farklı çene kistleri arasındaki T_1 ağırlıklı görüntüleri değiştiren bileşiktir, manganez ve albümin büyük olasılıkla T_2 ağırlıklı görüntüleri değiştiren bileşiklerdir. Mevcut veriler, bu tür değişikliklerin çene kistlerini diğer çene kütlelerinden ayırmak için kullanılabileceğini göstermektedir. Yüksek $r (2) / r (1)$, T_2 'nin T_1 'den tanı kullanmada daha uygun bir parametre olduğunu önermektedir (Yılmaz ve Guner 2008).

4.37. Mn (II) Katkılı Albümin Solüsyonlarında Proton NMR Durulması

Bu çalışmanın amacı Mn (II) - insan serum albümin kompleksinde proton durulma kaynağı hakkında daha fazla bilgi edinmektir. Bu amaçla artan miktarlarda manganez [Mnt] karşı albümin solüsyonlarında $1 / T_1$ ve $1 / T_2$ proton durulma oranları ölçülmüştür. Ardından, manganez fraksiyonları albumin [Mnb] ve serbest manganez [Mnf] 'ye bağlandı ve proton durulma hızı artırma verilerinden tespit edildi. Bağlanan manganezin gözlemlenen durulma hızlarına ($1 / T_{1p} *$) b ve ($1 / T_{2p} *$) b parametrik katkısı da tespit edildi. Son olarak, ($1 / T_{2p} *$) b / ($1 / T_{1p} *$) b oranı, etkin bir korelasyon zamanı τ tahmin etmek için türetilmiş bir denklemde kullanılmıştır. Bağlanan manganezin q hidrasyon sayısı yaklaşık olarak 4 iken, kompleksin ortalama τ değeri 3 ns olarak bulundu. $1 / \tau$ rotasyonel korelasyon zamanının ters değerlerinin toplamı olarak bulundu $1 / \tau$, kompleksin hidrasyon kürelerindeki ortalama su

kalma süresi $1 / \tau_m$ ve kompleks içindeki manganezin $1 / \tau_s$ 'lik uzunlamasına elektronik durulma süresi. Sonuç olarak, Mn (II) içeren albümin solüsyonlarındaki durulma mekanizması, τ_r , τ_m ve τ_s ile modüle edilen dipolar ve skalar etkileşimler yoluyla yorumlanabilir. Bu analiz, albümin solüsyonunda Mn (II) 'nin τ_r ve q için makul rakamlar elde etmeyi mümkün kılar (Yılmaz ve ark. 2009).

4.38. NMR Relaksometri: Dönen Çerçeve İçindeki Dönme Kafesi Durulma Sürelerine Karşı Laboratuvar Çerçevesindeki Spin Örgü Durulma Süreleri

Relaksometri dağılım eğrileri, spin sıklığının gevşeme oranını ölçüm frekansının bir fonksiyonu olarak gösterir. Bununla birlikte, proton NMR hesaba katıldığı sürece, dağılım eğrileri genellikle 5 kHz civarında başlar ve bu nedenle çok düşük frekans bölgesinde gözlenir. Bu boşluk, dönen çerçeve içindeki spin-kafes durulma oranının ölçülmesi ile doldurulabilir. Her iki gevşeme oranının birleştirilmesi konusu, iki gevşetme mekanizması için düşünülmüştür: (i) rasgele değişen manyetik alanlar, (ii) iki eşdeğer eğirme sisteminde dipolar etkileşim. Uygun veri işleme sunulur ve rastgele saha mekanizması yeterli olur (Steiner ve ark. 2010).

4.39. Paramanyetik Protein Çözeltilerinin Su-Proton-Spin-Örgü-Durulma Dağılımı

Nitroksit radikalleri ile spin-etiketli protein sistemlerinde su-proton-spin-kafes durulma hızı sabitlerine verilen paramagnetic katkılar yeniden incelendi. Başkaları tarafından belirtildiği üzere, su protonları ile protein bağlı nitroksid radikali arasındaki dipolar bağlantının gücü, durulmanın, spin etiketi çevresinde 3 boyutlu difüzyon işlemler tarafından kontrol edildiği varsayıldığında, fiziksel olarak makul olandan daha büyük görünmektedir. Yüzeyin radikal bölgenin dağınık olarak keşfedilmesine etkisini inceledik ve ara yüzey tabakasında 2 boyutlu dinamikleri içeren bir gevşeme modeli elde ediyoruz. Bununla birlikte, yerel 2 boyutlu dinamiklerin durulma dağılımı profilinin şeklini değiştirdiğini fakat deney tarafından bulunan düşük alan relaksasyon verimini mutlaka üretmediğini buluyoruz. Parametrik merkez ve protein bağlı su molekülleri arasındaki uzun menzilli dipolar kaplinlerin katkılarını inceledik ve bu birkaç uzun menzilli kuplajdan gelen katkıların translasyonel katkılarla rekabet edebileceğini keşfettik, çünkü proteinin global dönüşümü için ilişki zamanı yaklaşık olarak Yüzey alanındaki suyun difüzyon hareketi için 1000 kat daha uzun. Sonuç olarak, nadir protein bağlı su molekülü protonlarına elektron-proton çift kutuplu

bağlanma, uzun ömürlü su moleküllerini barındıran protein sistemleri için önemli olabilir. Larmor frekans bağımlılığından kaynaklandığı için yerel difüzyon katsayılarının tahmini ciddi şekilde tehlikeye atılmasa da, bu çeşitli katkılar, durulma verilerini kantitatif olarak benzersiz modellerle uyuşturma çabalarını karıştırmaktadır (Diakova ve ark. 2011).

4.40. Protein Hareketlerinin Modülasyonundan Enzim Mühendisliği Yararlanabilir mi? NMR Durulma Dağılımı Deneylerinden Alınan Dersler

Protein mühendisliği ve tasarımında kaydedilen etkileyici gelişmelere rağmen yeni ve verimli enzim aktiviteleri üretme kabiliyeti zahmetli ve zaman alan bir çabadır. Son birkaç yılda rasyonel mutajenez, yöneltmiş evrim ve hesaplama yöntemlerinin karmaşık kombinasyonları, heyecan verici mühendislik örneklerinin yolunu açtı ve artık enzim aktivitesinin yapısal gereksinimleri üzerine yeni bir perspektif önermektedir. Bununla birlikte, bu yapı-işlevi analizleri genelde uzayda ve zamanda protein tarafından benimsenen işlevsel olarak alakalı "görünmez yapıları" tanımlamakta başarısız olan enzim kristal yapıları tarafından sunulan zamana bağlı statik modellerle yönlendirilir. Bu kısıtlamaları hafifletmek için yakın zamanda, 'esneklik fonksiyonu' araştırmaları ile 'yapı-fonksiyon analizi' ni etkili bir şekilde tamamlayan enzim katalizi çalışmasına mutajenez çalışmalarıyla bağlantılı NMR durulma dağılım deneyleri uygulanmıştır. Artıkların hareketi karakterize etmeye yardımcı olmak için niceliksel, sahaya özgü bilgiler sunmanın yanı sıra, bu NMR yöntemleri enzim mühendisliği amaçlarına uygulanır ve enzim işlevini etkileyen esnek kalıntıların uzun menzilli ağlarının kontrolünün etkilerini karakterize etmeye yardımcı olan güçlü bir araç sağlar. Bu gelişmekte olan alandaki son gelişmeler, enzim mühendisliğinde NMR durulma dağılım araçlarının önemini vurgulayan mutajenez raporlarına özel bir dikkat gösterilerek sunulmaktadır (Doucet 2011).

4.41. Dinamik Nükleer-Polarizasyon-Geliştirilmiş Yüksek Alan NMR Spektroskopisi Kullanılarak İncelenen Biosilika-Tutulan Enzimler

Enzimler birçok endüstriyel uygulamada çevre dostu katalizörler olarak kullanılırlar ve sıklıkla uzun süreli depolama ve tekrar kullanılabilirlik için kimyasal kararlılığını artırmak için bir matriste hareketsizdirler. Son zamanlarda, bir biosilika matrisinde hareketsiz kılınmış proteinlerin atomik düzeyde tanımlanmasının, sihirli açıcı eğirme (MAS) NMR spektrumlarını inceleyerek elde edilebileceği gösterildi. Bununla birlikte, MAS NMR, yapıyı

belirlemek için mükemmel bir araç olmasına rağmen, hassasiyetle ciddi şekilde engellenmiştir. Bu çalışmada, biyosilika ile tutulan enzimlerin NMR karakterizasyonunun yüksek alan dinamik nükleer polarizasyon (DNP) ile desteklenebileceğini ilke edinilmiştir (Ravera ve ark. 2015).



5. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Bu çalışmadaki materyalimiz başlangıcından bu yana Protein ve enzim çözeltileri kullanılarak yapılan NMR çalışmalarıdır. Çalışmaların yöntemi ise bu makaleleri ayrıntılı incelemek, yapılan deneyleri ortaya koymak, bulunan sonuçları sergilemek ve bu sonuçlardan analizler üretmektir.

Daszkiewicz ve arkadaşları tarafından 1963 yılında yapılan çalışmalarda Proton Rölaksasyonunun protona bağlı su ile serbest su arasındaki hızlı değiş tokuştan ileri geldiği ortaya konulmuştur (Daszkiewicz ve ark. 1963).

Koenig ve Schillinger tarafından 1969 yılında yapılan çalışmada proteine dönmesiz bağlı olmayan suyun da kimyasal değiş tokuşa katkıda bulunduğunu ortaya konulmuştur(Koenig ve Schillinger 1969).

Blicharska ve arkadaşları tarafından yapılan çalışma kimyasal değiş tokuşu doğrulamıştır(Blicharska ve ark. 1970).

Koenig ve arkadaşları, sulu protein çözeltilerinde iyonlarla sıcaklığa bağlı çalışmalar yapmışlardır (Koenig ve ark. 1972)

Eley ve arkadaşları kimyasal değiş tokuşu doğrulayan deneyler yapmışlardır (Eley ve ark. 1975).

Oakes tarafından yapılan çalışmada çeşitli hidrasyon tabakalarının rölaksasyona katkıda buldukları sonucu ortaya konulmuştur(Oakes 1976).

Grösch ve Noack tarafından yapılan incelemede hidrasyon tabakaları modeline göre rölaksasyon analizi yapılmıştır (Grösch, L., Noack, F., 1976).

Hallenga ve Koenig, korelasyon zamanını tespit eden çalışmalar yapmışlardır (Hallenga ve Koenig 1976).

Zipp ve arkadaşları, Eritrositlerin Hücre içi hidrasyonunu sıcaklık ve hacime bağlı olarak NMR ile incelemiştir(Zipp ve ark. 1976)

Edzes ve Samulski, kross (çapraz) rölaksasyon ve spin difüzyonu çalışmalarını yapmışlardır (Edzes ve Samulski 1977).

Koenig ve arkadaşları kross rölaksasyonunu ayrıntılı olarak incelemişlerdir (Koenig ve ark. 1978).

Bitki hücrelerinde artmış olan paramanyetik iyonların NMR'ı ile spin-kafes durulma zamanları üzerine etkisi araştırılmıştır (Samuilov ve ark. 1979).

Hemoglobin çözeltileri NMR da ayrıntılı olarak incelenmiş, düşük frekanslarda T_1 ve T_2 uygulanmış, spin transferleri ölçülmüştür (Eisenstadt 1985)

Gallier ve arkadaşları, tabaka modeline bağlı olarak rölaksasyon deneyleri yapmışlardır(Gallier ve ark. 1987).

Blechinger ve arkadaşları da eski sonuçları NMR da kullanmaya yönelik deneyler yapmışlardır (Blechinger ve ark. 1988).

Protein çözeltilerinde kross rölaksasyon etkisi incelenmiş, Çapraz rölaksasyon oranlarının, proteinin moleküler ağırlığı artışıyla birlikte arttığını bulmuşlardır (Zhong ve ark. 1990).

İnsan serum protein çözeltilerinde korelasyon zamanı gözlemlendi ve analiz edildi(Olszewski. 1992).

Molekül içi protein etkileşimleri NMR da incelenmiştir(Koening ve ark. 1993).

Kanser dokularındaki manganez iyon içeriğinin normal dokulara kıyasla azaldığı bulgularına dayanarak doku manganez konsantrasyonunun spin-kafes gevşeme sürelerine etkisini analiz eden farklı bulguların sonuçları toplanmış ve karşılaştırılmıştır(Akber 1993).

Bryant, su-protein etkileşim dinamiğini tabaka modeline göre incelemiştir (Bryant 1996).

Xu ve arkadaşları, NMR spektroskopisi tekniği kullanılarak ilaç-protein etkileşimi incelenmiştir (Xu ve ark.2002).

Yılmaz ve arkadaşları, tek tek protein gevşeklik özelliklerinin serum TP bileşiminin T1 ve T2 gevşeme sürelerine etkisini açıkladığını göstermişlerdir (Yılmaz ve ark. 2004).

İlaç-protein etkileşimini ve ilacın molekül seviyesinde hareketini irdelemek etmek amacıyla NMR tekniği kullanılmış; ayrıca enzimlerin fonksiyonu incelenmiştir. (Sulkowska ve ark.2005).

Korb ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, elektron spin-kafes gevşeme sürelerinin ölçülmesine basit bir yaklaşım getirmişlerdir(Korb ve ark. 2006).

Yılmaz ve arkadaşları 2008 de lizozim ve albüminin korelasyon sürelerinin belirlenmesine yönelik çalışmalar yapmışlardır(Yılmaz ve ark. 2008).

Dönme ve spin kafesi gevşeme sürelerinin karşılaştırılmasına yönelik çalışmalar yapılmıştır (Steiner ve ark. 2010).

Spin-etiketli ile nitroksit radikalleri protein sistemlerinde su-proton-spin-kafes gevşeme hızı sabitlerine verilen paramagnetic katkılar yeniden incelendi(Diakova ve ark. 2011).

Enzim mühendisliğinde NMR çalışmaları incelenmiştir(Doucet 2011).

Yüksek Alan NMR Spektroskopisi Kullanılarak enzimler incelenmiştir (Ravera ve ark. 2015).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

1. Rölaksasyon zamanlarının 0-100 MHz arasındaki frekans bağıllığı çeşitli proteinler için ortaya çıkarılmıştır.
 2. Rölaksasyon zamanlarının sıcaklığa, protein konsantrasyonlarına, vizkoziteye ve vizkozite/sıcaklık oranlarına bağıllıkları da ortaya çıkarılmıştır.
 3. Proteinlerin rölaksiviteleri yani rölaksasyon oranını değiştirme etkinlikleri saptanmıştır.
 4. Çalışmalardan her bir proteinin kaç tane bağlanma bölgesine sahip olduğu ortaya konulmuştur.
 5. Proteinlerin bağlanma (association) ve proteinden ayrılma (disassociation) sabitleri ve aktivasyon enerjileri bulunmuştur.
 6. PH değerlerinin protein rölaksasyonu ve bağlanma-ayrılma üzerine olan etkileri de ortaya konulmuştur.
 7. Çalışmalar teknolojinin gelişmesine paralel olarak yüksek frekanslarda tekrarlanmıştır. Ayrıca rölaksasyon mekanizmalarının farklı nedenlerden ortaya çıktığı da açığa çıkmıştır.
 8. Kontrast madde yapımı bu tip çalışmaların bir sonucudur.
- İlaç dizaynı ve ilaçların etkili kullanımında bu çalışmaların ciddi katkısı vardır.

6.2. Öneriler

Proteinlerin NMR ile incelenmesi eski bir konu olmakla beraber ucu açık keşif alanları de içermektedir. Hem frekans bakımından giderek yüksek frekanslı NMR spektrometrelerinin üretilmesi ve hem de daha yüksek manyetik alanlı NMR ların üretilmesi ve ayrıca kontrast madde ve ilaç dizaynı bu konuyu halihazırda canlı tutmaktadır.

Proteinler vücudun temel yapı onarıcı ve enerji verici maddeleridir. Enzimler de metabolik faaliyetlerde rol alan maddelerdir. Bunların yapısında C, H, O, N ve P gibi elementler vardır. Hidrojen, Karbon, fosfat ve oksijenin NMR ile ölçülebildiği malümdür. Bu tip elementlerin NMR'ı yapılarak da bu alana katkıda bulunulabilir.

Birim konsantrasyon başına rölaksasyon oranı artışına rölaksivite denmektedir. Protein iyon etkileşimini veya protein ligand etkileşimini esas alan çalışmalarla yüksek rölaksivitesi olan maddeler bulunabilir. Bunlar da MR alanına katkıda bulunur.

KAYNAKLAR

- Akber, SF., 1993, Role of paramagnetic ions and water proton spin-lattice relaxation time in biological systems, *Nuklearmedizin*, 32(1):52-6.
- Arslan, S., Sünkür, M., Korunur, S., 2016, Kimyasal Kaymanın Basit Teorisi ve Uygulamalar *Yaşam Bilimleri Dergisi*, Cilt 6 Sayı 2/2, 14,15,20
- Blechinger, J.C., Madsen, E.L., Frank., 1988, GRTissue-mimicking gelatin-agar gels for use in magnetic resonance imaging phantoms. *Department of Medical Physics*, University of Wisconsin, Madison 53706. 15(4):629-636]
- Blicharska, B., Florkowski, Z., Hennel, J.W., Held, G., Noack, F. 1970, Investigation of protein hydration by proton spin relaxation time measurements. *Biochim. Biophys. Acta*. 207(3): 381-389.
- Biophys, J., 1981, NMR relaxation of protein and water protons in methemoglobin solutions. Department of Medicine, Albert Einstein College of Medicine. Bronx, New York 10461. 33(3): 469-474
- Bryant, R.G. 1996, The dynamics of water-protein interactions. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 25: 29-53.
- Budak, H., 2005, Water Proton Relaxation Rate Enhancements and Association Constants for Mn(II) to Serum Proteins Determined by NMR T1 Measurements, *Z. Naturforsch.* 60c, 807D812 (2005).
- Cohn, M., Reed George H., 1970 Analysis of Equilibrium Data from Proton Magnetic Relaxation Rates of Water for Manganese-Nucleotide Kinase Ternary Complexes, *The Journal of Biological Chemistry*, USA., Vol.245, No.246547-6552
- Daszkiewicz, O.K., Hennel, J.W., Lubas, B., Szczepkowski, T.W. 1963, Proton Magnetic Relaxation and Protein Hydration. *Nature*, 200: 1006-1007.
- Diakova, G., Goddard Y., Korb, J.P., Bryant, R.G., 2011, Water-proton-spin-lattice-relaxation dispersion of paramagnetic protein solutions, 208(2):195-203
- Doucet, N., 2011, Can enzyme engineering benefit from the modulation of protein motions? Lessons learned from NMR relaxation dispersion experiments. 18(4):336-43.
- Edzes, H.T., Samulski, E.T. 1977, Cross relaxation and spin diffusion in the proton NMR of hydrated collagen. *Nature* 265: 521-523.
- Eley, D.D., Hey, M.J., Ward, A.J.I. 1975, Nuclear magnetic resonance relaxation in aqueous bovine albumin solutions. *J. Chem. Soc. Faraday Trans. I* 71: 1106-1113.
- Eisenstadt, M., 1985, NMR relaxation of protein and water protons in diamagnetic hemoglobin solutions. *Biochemistry*. 2;24(14):3407-21.

Grösch, L., Noack, F., 1976, NMR relaxation investigation of water mobility in aqueous bovine serum albumin solutions. *Biochim Biophys Acta*. 453(1): 218-232.

Gallier, J., Rivet, P., de Certaines, J., 1987, ¹H- and ²H-NMR study of bovine serum albumin solutions. *Biochim. Biophys. Acta*. 915(1): 1-18.

Hallenga, K., Koenig, S.H. 1976, Protein rotational relaxation as studied by solvent ¹H and ²H magnetic relaxation. *Biochemistry* 15(19): 4255-4264.

Johannesson, H., Denisov, P.V., Halle, B., 1997, Dimethyl sulfoxide binding to globular proteins: A nuclear magnetic relaxation dispersion study, Cambridge University Press. Printed in the USA. 6:17561763.

Koenig, S.H., Brown, R.D., Kenworthy, A.K., Magid, A.D., Ugolini, R., 1993, Intermolecular protein interactions in solutions of bovine lens beta L-crystallin. Results from 1/T₁ nuclear magnetic relaxation dispersion profiles, *Biophysical Journal*, volume 64, issue 4, Pages 1178-1186

Koenig, S.H., Bryant, R.G., Hallenga, K., Jacob, G.S. 1978, Magnetic cross-relaxation among protons in protein solutions. *Biochemistry* 17(20): 4348-4358.

Koenig, S.H., Schillinger, W.E. 1969, Nuclear magnetic relaxation dispersion in protein solutions. I. Apotransferrin. *J. Biol. Chem.* 244(12): 3283-3289.

Koenig, S.H., Bruce P. G., Rodney. B . , Fee. A.J., 1972, Nuclear magnetic relaxation dispersion in protein solutions: V. Bovine erythrocyte superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure*, Pages 1-5

Koenig, S.H., Brown. R.D., Water Exchange at the Active Site of Carbonic Anhydrase, 1983, IBM Thomas J. Watson Research Center, Yorktown Heights, New York 10598

Korb, JP., Diakova, G., Bryant, RG., 2006, Paramagnetic relaxation of protons in rotationally immobilized proteins, *J. Chem Phys*, 124(13):134910.

Korunur, S., 2012, Kanser ilaçlarının proteinler ve membranlarla etkileşmelerinin nmr yoluyla incelenmesi, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* Diyarbakır, 6-8,13-14

Olszewski K.J., 1992, Nuclear magnetic relaxation dispersion Study of Human Serum Proteins Solutions, Department of Physics, Agricultural University in Poznań, Poland, 38/42, 60-637.

Oakes, J., 1976, Protein hydration. Nuclear magnetic resonance relaxation studies of the state of water in native bovine serum albumin solutions. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I* 72: 216-227.

O'Sullivan, W.J., Mildred, C., 1968, Magnetic Resonance Studies on Inactivated Forms of Creatine Kinase, *Biol Chem*. 1968 May 25;243(10):2737-44.

Ravera, E., Michaelis, VK., Ong, TC., Keeler, EG., Martelli T, Fragai, M., Griffin, RG., Luchinat, C., 2015, Biosilica-Entrapped Enzymes Studied by Using Dynamic Nuclear-Polarization-Enhanced High-Field NMR Spectroscopy. *Chemphyschem*. *cpch*.201500549.

Robert G. Bryan Jean-Pierre Korb 2005, Nuclear magnetic resonance and spin relaxation in biological systems, *Magnetic Resonance Imaging*, volume 23, issue 2, Pages 167–173.

Sulkowska, A., Bojko, B., Rownicka, J., Rezner, P., Sulkowski, W., 2005, The competition of drugs to serum albumin in combination chemotherapy: *NMR study*. *Journal of Molecular Structure*, 744–747: 781–787.

Samuilov, FD., Nikiforova, VI., Nikiforov, EA., 1979, Effect of paramagnetic additives on the spin lattice relaxation of the protons of intracellular water, *Biofizika*, Article in Russian, 24(2):270-3.

Schotland, J., Leigh, J.S., 1983, Exact solutions of the bloch equations with n -site chemical Exchange, *Fournal of Magnetik Resonance* 51, 48-55.

Skoog, D.A., West, D.M., 1981, Principles of Instrumental Analysis

Steiner, E., Yemloul, M., Guendouz, L., Leclerc, S., Robert, A., 2010, NMR relaxometry: Spin lattice relaxation times in the laboratory frame versus spin lattice relaxation times in the rotating frame, *Chemical Physics Letters*, Pages 287–290.

Yılmaz, A., Yurdakoç, M., Bernarding, J., Vieth, H.M., Braun, J., Yurt, A., Paramagnetic Contribution of Serum Iron to the Spin-Spin Relaxation Rate ($1/T_2$) Measured by MRI, 2002, *Applied Magnetic Resonance*, 10.1007/BF03170519.

Yılmaz, A., Budak, H., Longo, R., 1998, Paramagnetic contribution of serum iron to the spin-lattice relaxation rate ($1/T_1$) determined by MRI, *Applied Magnetic Resonance*, Volume 14, Issue 1, pp 51–58.

Yılmaz, A., Budak, H., Ulak, FS., 2008, Determination of the effective correlation time modulating ^1H NMR relaxation processes of bound water in protein solutions, *Magnetic Resonance Imaging*, Pages 254–260.

Yılmaz, A., Ulak, FŞ., Batun, MS.; 2004, Proton T_1 and T_2 relaxivities of serum proteins, *Magnetic Resonance Imaging*, Volume 22, Issue 5, Pages 683–688.

Yılmaz, A., Guner, R., 2008, MR proton relaxivities of some ions, albumin, and cholesterol added to odontogenic jaw cysts, *Biol Trace Elem Res.*, 125(3):193-202.

Yılmaz, A., Koylu, M.Z., Uysal, E., Proton NMR relaxation in albumin solutions doped with Mn(II), 2009, *Applied Magnetic Resonance*, Issue 4, pp 601–612.

Yılmaz, A., Korunur, S. 2011. ‘NMR Ders Notları,’ Dicle Üniversitesi, Fen Fakültesi Fizik Bölümü.

Zengin, B., 2012, Bazı protein ve enzim çözeltilerinde nmr rölaksasyon zamanlarını modüle eden ilgi zamanlarının t_1/t_2 oranı kullanımı yoluyla belirlenmesi, Doktora Tezi, *Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Diyarbakır*, 1-3.

Zipp, A. James, TL., Kuntz, ID., Shohet, SB., 1976, Water proton magnetic resonance studies of normal and sickle erythrocytes. Temperature and volume dependence. *Biochim Biophys Acta.* ;428(2):291-303.

Zhong, J.H., Gore, J.C., Armitage, I.M. 1990, Quantitative studies of hydrodynamic effects and cross-relaxation in protein solutions and tissues with proton and deuteron longitudinal relaxation times. *Magn. Reson. Med.* 13(2): 192-203.

Xu, Y., Yushmanov, V. E., Tang, P. 2002, NMR Studies of drug interaction with membranes and membrane-associated proteins. *Bioscience Reports*, 22: 175-190.



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Sezgin BİREL
Uyruğu : TC.
Doğum Yeri ve Tarihi : 01/04/1977
Telefon : 05057858254
Faks :
e-mail : sezginbirel21@hotmail.com

EĞİTİM

Derece	Adı, İlçe, İl	Bitirme Yılı
Lise	: Melik Ahmet Lisesi, Merkez, Diyarbakır	1996
Üniversite	: Dicle Üniversitesi, Merkez, Diyarbakır	2001
Yüksek Lisans	: Batman Üniversitesi	2017
Doktora	:	

İŞ DENEYİMLERİ

Yıl	Kurum	Görevi
2003-Devam ediyor	MEB	Öğretmen

YABANCI DİLLER

İngilizce