



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EKSTREMOFİL CANLILARA AİT PROTEİNLERİN YAPISAL  
KARAKTERİSTİKLERİ**

İPEK ÇAKMAK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
DOÇ. DR. CEVDET NACAR  
BİYOFİZİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MARMARA ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**EKSTREMOFİL CANLILARA AİT PROTEİNLERİN YAPISAL  
KARAKTERİSTİKLERİ**

İPEK ÇAKMAK  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
DOÇ.DR. CEVDET NACAR  
BİYOFİZİK YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

İSTANBUL- 2024



## **BEYAN**

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması ile elde edilmemiş bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

İpek ÇAKMAK

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca olumlu tavrıyla beni destekleyen, cesaretlendiren, yol gösteren, bilgi birikimiyle ufkumu genişleten beraber çalıőmaktan ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum hocam Doç. Dr. Cevdet Nacar'a teşekkür ederim.

Yoğun çalıőmalarım sırasında desteğini esirgemeyen, sevgiyle ve anlayıőla yanımda olan aileme de ayrıca teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

KISALTMALAR LİSTESİ .....	i
TABLO LİSTESİ .....	ii
ŞEKİL LİSTESİ .....	iii
1. ÖZET .....	1
2. SUMMARY .....	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ .....	3
4. GENEL BİLGİLER .....	6
4.1. Protein .....	6
4.2. Protein Yapısı .....	6
4.2.1. Birincil yapı .....	7
4.2.2. İkincil yapı .....	8
4.2.2.1. Alfa sarmalları .....	9
4.2.2.2. Beta tabakaları .....	11
4.2.2.3. Halka bölgeleri .....	12
4.2.3. Üçüncül yapı .....	14
4.2.4. Dördüncül yapı .....	15
4.3. Ekstremofil Canlılar .....	15
4.3.1. Termofil canlılar .....	17
4.3.2. Hipertermofil canlılar .....	17
5. GEREÇ ve YÖNTEM .....	20
6. BULGULAR .....	22
6.1. Amino Asit Frekanslarının Karşılaştırılması .....	22
6.2. İkincil Yapı Elemanlarının Dağılımı .....	28
7. TARTIŞMA ve SONUÇ .....	30
8. KAYNAKLAR .....	32
9. ÖZGEÇMİŞ .....	38
10. BİLİMSEL FAALİYETLER .....	39

## KISALTMALAR LİSTESİ

Cryo-EM	:	Cryo elektron mikroskopi
D	:	Eksensel kayma
N	:	Dönüş başına kalıntı sayısı
NaCl	:	Sodyum Klorür
NMR	:	Nükleer manyetik rezonans
PCR	:	Polimeraz zincir reaksiyonu
R	:	Sarmal yarıçapı

## TABLO LİSTESİ

### Sayfa Numarası

<b>Tablo 4.1.</b>	Amino asitlerin isimleri ve kısaltmaları .....	8
<b>Tablo 4.2.</b>	Farklı organizma grupları için temel büyüme ortamları .....	16
<b>Tablo 5.1.</b>	Hipertermofil canlılar .....	20
<b>Tablo 6.1.</b>	Globüler proteinlerin ikincil yapı elemanlarının amino asit frekansları .....	22
<b>Tablo 6.2.</b>	Hipertermofil proteinlerin ikincil yapı elemanlarının amino asit frekansları..	23
<b>Tablo 6.3.</b>	Globüler proteinlerde ikincil yapı elemanlarının dağılımı .....	29
<b>Tablo 6.4.</b>	Hipertermofil proteinlerde ikincil yapı elemanlarının dağılımı .....	29

## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa Numarası

Şekil 4.1.	Amino asitlerin yapısı .....	7
Şekil 4.2.	Proteinlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları .....	7
Şekil 4.3.	Yan zincir dihedral açılarının Ser kalıntısı üzerinde gösterimi .....	10
Şekil 4.4.	Heliks parametreleri ve yüzey gösterimi .....	11
Şekil 4.5.	Paralel ve anti-paralel $\beta$ tabakalarının şematik gösterimi .....	12
Şekil 4.6.	Antiparalel (a) ve paralel (b) $\beta$ şeritlerinde oluşan halka bölgeler .....	13
Şekil 4.7.	Miyoglobin protein yapısı .....	14
Şekil 4.8.	Hemoglobin protein yapısı .....	15
Şekil 4.9.	Sıcaklığın farklı organizma türlerinin büyümesi üzerindeki etkileri .....	17
Şekil 4.10.	Methanopyrus Kandleri (Faz Kontrast Mikroskopu, 10 $\mu$ m) .....	18
Şekil 6.1.	Tüm proteinlerin amino asit frekansları .....	24
Şekil 6.2.	Tüm heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	24
Şekil 6.3.	$\alpha$ heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	25
Şekil 6.4.	310 heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	25
Şekil 6.5.	Tüm tabaka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	26
Şekil 6.6.	Birincil şerit yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	26
Şekil 6.7.	Paralel tabaka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	27
Şekil 6.8.	Antiparalel tabaka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	27
Şekil 6.9.	Halka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları .....	28

## 1. ÖZET

**Tezin başlığı :** Ekstremofil Canlılara Ait Proteinlerin Yapısal Karakteristikleri

**Öğrencinin Adı Soyadı :** İpek Çakmak

**Danışmanın Adı Soyadı :** Doç. Dr. Cevdet Nacar

**Programın Adı :** Biyofizik Yüksek Lisans Programı

**Amaç:** Ekstremofil canlıların bir alt grubu olan hipertermofil canlılar 80°C üstü sıcaklıklarda yaşayabilen canlılardır. Hipertermofil olmayan canlıların proteinleri bu sıcaklıklarda işlev göremedikleri gibi yapısal özelliklerini de kaybedip degrade olmaktadır. Bu da hipertermofil proteinlerin diğer proteinlerden farklı yapısal özelliklere sahip olduklarını düşündürmektedir. Bu tez çalışmasında hipertermofil proteinlerin ikincil yapı özelliklerini diğer proteinlerle karşılaştırarak, hem hipertermofil proteinlerin hem de diğer proteinlerin genel yapısal özellikleri hakkında özel bilgiler sağlamak ve protein kararlılığını belirleyen etkenleri araştıran çalışmalara katkıda bulunmak amaçlanmaktadır.

**Gereç ve Yöntem:** Bu çalışmada hipertermofil proteinlerin ikincil yapı özellikleri diğer proteinlerin ikincil yapı özellikleriyle karşılaştırılmıştır. Bunun için Protein Data Bank'ta bulunan tüm proteinler taranarak aralarındaki benzerlik oranı %25'ten az olan 869 hipertermofil protein içeren bir veri seti oluşturulmuştur. Bu proteinlerin amino asit frekansları, ikincil yapı öğelerinin oranları ve ikincil yapı öğelerinin aminoasit frekansları belirlenerek diğer proteinlerle karşılaştırılmıştır.

**Bulgular:** Heliks yapıdaki ve halka yapıdaki proteinlerde Alanin'de azalma ve Glutamin'de artış gözlemlenmiştir. Tabaka yapılarda Valin ve İzolösin'deki artış dikkat çekicidir. Halka yapıda Glisin, antiparalel yapıda tüm tabaka yapılarında Valin, tüm heliks yapılarda ise Glutamik Asit ve Lösin en çok bulunan amino asitlerdir. Globüler proteinlerde tabaka yapısında paralel şerit en çok bulunan alt tip iken, hipertermofil proteinlerde antiparalel şerit daha çok, paralel şerit daha azdır. Ayrıca  $\alpha$ -heliks yapıda az da olsa artış, halka yapıda benzer oranda azalma görülmüştür.

**Sonuç:** Bu veriler bazı amino asitlerin frekanslarının ve ikincil yapı öğelerinin oranlarının kısmen farklı olduğunu göstermiştir. Bu tez çalışması yapısal özellikleri de kapsayacak şekilde genişletilmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Ekstremofil, hipertermofil, protein yapısı, ikincil yapı

## 2. SUMMARY

**Title of Thesis:** Structural Characteristics of Extremophile Proteins

**Student Name, Surname:** İpek Çakmak

**Supervisor Name :** Assoc. Dr. Cevdet Nacar

**Program Name :** Biophysics Master of Science Programme

**Objective:** Hyperthermophile organisms are a subfamily of extremophiles and can live at temperatures above 80 °C. The proteins of non-hyperthermophile organisms cannot function at these temperatures, lose their structural properties and degrade. This suggests that hyperthermophile proteins have different structural properties than other proteins. This thesis study aims to compare the secondary structure properties of hyperthermophile proteins with other proteins, provide important information about the general structural properties of both hyperthermophile proteins and other proteins and improve the studies on protein stability.

**Materials and Methods:** In this study, the secondary structure properties of hyperthermophile proteins were compared with the secondary structure properties of other proteins. For this purpose, a data set containing 869 hyperthermophile proteins with a similarity less than 25% was created using all proteins stored in Protein Data Bank. The amino acid frequencies, ratios of secondary structure elements, and amino acid frequencies of secondary structure elements of these proteins were determined and compared with other proteins.

**Results:** A decrease in Alanine and an increase in Glutamine were observed in proteins with helical and ring structures. The increase in Valine and Isoleucine in layer structures is remarkable. Glycine in the loop structure, Valine in all sheet structures and Glutamic Acid and Leucine in all helix structures are the most abundant amino acids. While parallel strands are the most common subtype in the sheet structure in globular proteins, antiparallel strands are more than parallels in hyperthermophile proteins. Additionally, there was a slight increase in the  $\alpha$ -helix structure and a similar decrease in the loop structure.

**Conclusion:** Comparison of these data showed that the frequencies of some amino acids and the ratios of secondary structure elements are different to some extent. This thesis study is being expanded to include structural features.

**Keywords:** Extremophile, hyperthermophile, protein structure, secondary structure

### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Proteinlerin işlevlerini anlamak için üçüncül yapılarını bilmek gerekir çünkü proteinlerin işlevi doğrudan yapılarının bir fonksiyonudur. Bu ilişki protein yapı ilişkisi olarak adlandırılmaktadır. Proteinin üçüncül yapısının bilinmesi proteini oluşturan her atomun koordinatının büyük bir doğrulukla bilinmesi demektir. Deneysel olarak üç yaygın yöntem bulunmaktadır: X-ışını kristalografisi, Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) ve Cryo Elektron Mikroskopisi (cryo-EM) yöntemi. NMR yöntemi düşük çözünürlüğü ve moleküler kütle kısıtlaması nedeniyle pek iyi sonuç vermemektedir. Benzer şekilde cryo-EM yönteminin de çözünürlüğü pek iyi değildir. X-ışını kristalografisi oldukça iyi sonuç vermektedir ama bu yöntem de proteinin kristalleştirilmesini gerektirmektedir. Kristalleştirme süreci ise çok uzun sürebilmekte, kimi proteinler için yıllar alabilmektedir. Daha önemli bir sorun ise proteinin kristalleşme aşamasına geçebilmesi için suda çözünür olma zorunluluğudur. Oysa proteinlerin büyük çoğunluğu, özellikle membran proteinleri, suda çözünmezler (Jumper & Hassabis, 2022; Kufareva & Abagyan, 2012). Tüm bu teknik zorlukların yanı sıra ciddi bir teknik alt yapı gereksinimi de eklenince deneysel yöntemler proteinlerin üçüncül yapısının belirlenmesinde çok kısıtlı kalmaktadır. Bu nedenle teorik yöntemler gittikçe yaygınlaşmaktadır. Özellikle bilgisayar bilimi ve donanımındaki gelişmeler, algoritmalarındaki ilerlemeler teorik yöntemleri daha yetkin ve deneysel yöntemlerle yarışır hale getirmiştir (Gulati & M Poluri, 2016).

Teorik yöntemler üçe ayrılmaktadır: Threading, benzeşim ve *ab initio* modellemeleri (Dorn ve ark., 2014). Threading yöntemi daha çok proteinin ait olduğu aileyi belirlemede kullanılmaktadır ve yapısal detaylar çok yetersizdir (Lemer ve ark., 1995). Benzeşim modellemesi en yaygın kullanılan ve en iyi sonuç veren yöntemdir ancak bu yöntem de üçüncül yapısı bilinen kalıp bir yapıya ihtiyaç duyduğundan başarısı bir ölçüde deneysel yöntemlerden gelen verilere bağlıdır. *Ab initio* modellemesi ile sadece proteinin amino asit dizisine ihtiyaç duymaktadır. Ama bu yöntemde yalnızca çok kısa diziler için iyi sonuç vermekte, 30 rezidüden daha uzun diziler için çok yetersiz kalmaktadır. *Ab initio* yöntemi proteinin tüm olası konformasyonlarına karşılık gelen enerji manzarası içinde minimum enerjili konformasyonun aranması esasına dayanır. Enerji manzarası çok büyük olduğundan arama makul sürede tamamlanamamaktadır. Ama proteinin ikincil yapısı teorik olarak büyük bir doğrulukla

belirlenebilirse arama başlangıç noktası enerji manzarasında minimum noktaya çok yakın bir yere düşmekte, arama algoritmaları da aramayı kısa süre içinde tamamlamaktadır. Bu nedenle protein ikincil yapısının teorik olarak belirlenmesi büyük önem kazanmaktadır (Hardin ve ark., 2002).

Proteinlerin katlanma mekanizmasını ve biyolojik aktivitesini anlamak için onların uzaysal konformasyonlarının bilinmesi gerekir. Deneysel kanıtlar bir proteinin doğal konformasyonunun amino asit dizisinde kodlandığını gösterdiğinden dizi verilerinden protein yapısını tahmin etmek için çok çaba sarf edilmiştir (Chou & Fasman, 2009). Çok sayıda protein ikincil yapı tahmin (Secondary Structure Prediction) algoritması bulunmaktadır (Rost, 2001). Bunlardan elde edilen tahminlerin doğrulukları beklendiği kadar iyi değildir. Özellikle bazı algoritmalar benzerlikler üzerine kurulduğundan dizisel benzerliği bulunmayan proteinlerde daha da başarısız kalmaktadır. Ayrıca ikincil yapıların başlangıç ve bitiş bölgeleri daha da büyük belirsizlikler içermektedir. İkincil yapı tahmin algoritmalarını iyileştirecek her katkı bu nedenle oldukça önemlidir.

Birçok organizma, derin deniz menfezlerindeki yüksek basınç, hidrotermal bölgelerdeki yüksek sıcaklıklar, Antartika'daki düşük sıcaklıklar, insan yapımı jeotermal enerji santrallerindeki yüksek tuz konsantrasyonu gibi aşırı çevresel koşullar altında gelişimini sürdürebilir. Bu organizmaların protein yapılarını nasıl koruyabildiklerine karşı büyük ilgi vardır. Özellikle hipertermofilik proteinlerde yalnızca protein katlanması ve stabilitesinin ardındaki fizikokimyasal prensiplerin teorik olarak anlaşılması için değil, aynı zamanda yüksek sıcaklıklarda çalışabilen verimli enzimlerin tasarlanması için de kritik öneme sahiptir. Bu tür enzimler deterjan üretimi, gıda ve nişasta işleme, yüksek fruktozlu mısır şurubu üretimi ve Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) gibi çeşitli endüstriyel uygulamalar için faydalı olabilmektedir (Adams ve ark., 1995; de Miguel Bouzas ve ark., 2006).

Hipertermofil proteinler, diğer proteinlerin işlev göremediği çok yüksek sıcaklıklarda yapısını koruyabilmektedir (Stetter, 2002). Yüksek sıcaklık gibi aşırı koşullarda stabilitesini kaybetmeyen bu proteinlerin ikincil yapılarının incelenmesi, ikincil yapı elemanlarında görev alan spesifik amino asit eşleşmeleri veya motiflerinin belirlenmesine, dolayısıyla helix ve kırınım tabakalarının oluşum mekanizmalarının aydınlatılmasına katkı sağlayabilir. Böylece

sadece amino asit dizisinden hareketle proteinlerin ikincil yapısını tespit eden algoritmaların daha da iyileştirilmesine katkıda bulunulabilir.

Bu tez çalışmasında ekstremofil canlıların bir alt grubu olan hipertermofil canlılara ait proteinlerin heliks ve kıvrım tabaka gibi ikincil yapısal özelliklerinin aminoasit içerikleri açısından incelenmesi, diğer canlıların proteinlerinden ne ölçüde farklı olduklarının belirlenmesi amaçlanmaktadır. Belirlenen farklılıkların ya da benzerliklerin proteinlerin ikincil yapısının daha iyi anlaşılmasına, ikincil yapı kestirim algoritmalarının iyileştirilmesine ve yeni protein ve ilaç tasarımları gibi protein mühendisliğine katkıda bulunması amaçlanmaktadır.

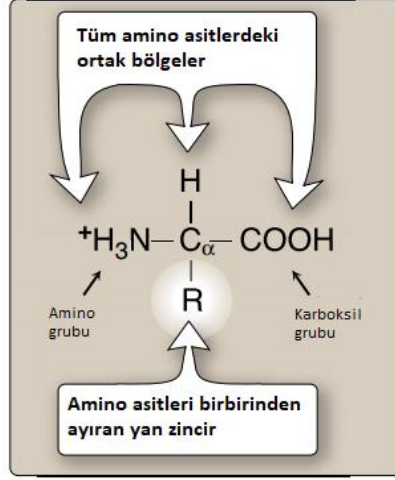
## **4. GENEL BİLGİLER**

### **4.1. Protein**

Proteinler doğadaki en karmaşık (Janke ve ark., 2019) ve temel (Anfinsen, 1973) makromoleküllerden biridir. Macromoleküler proteinlerin karakterize edilmesi oldukça zordur. Monomerik proteinlerin moleküler ağırlıkları 5-20 kDa arasında değişir. Bu yüzden amino asit bileşim analizi ve Edman bozunması yoluyla dizi analizi gibi farklı yaklaşımlar kullanılır. Ayrıca esnek yapısı sayesinde hücre içinde sentezlenirken 3 boyutlu yapılar halinde katlanabilir. Bu katlanmaları incelerken oldukça dikkatli analiz yapılması gerekir. Protein yapılarının çeşitliliği, biyolojik fonksiyonların çeşitliliği olarak kendini gösterir. Proteinler enzimler, hormonlar veya saçın ve cildin yapısal bileşenleri olarak görev yapabilir, gen ekspresyonunu düzenler, iyonları hücre zarı boyunca taşır, katı yüzeylere hücrenel bağlanmayı sağlar, çok çeşitli organik ve inorganik bileşikleri bağlar (Stein, 1990). Canlılarda kimyasal reaksiyonların hızlandırılması, depolama, savunma, hücre iletişimi, hareket gibi birçok fonksiyon proteinlere bağlı olarak gerçekleşir. Proteinler organizmanın yaptığı her şeyde rol oynarlar. Her bir proteinin kendine has yapısı ve işlevi vardır (Janke, Kulke, Buchholz, Geist, Langel, & Delcea, 2019).

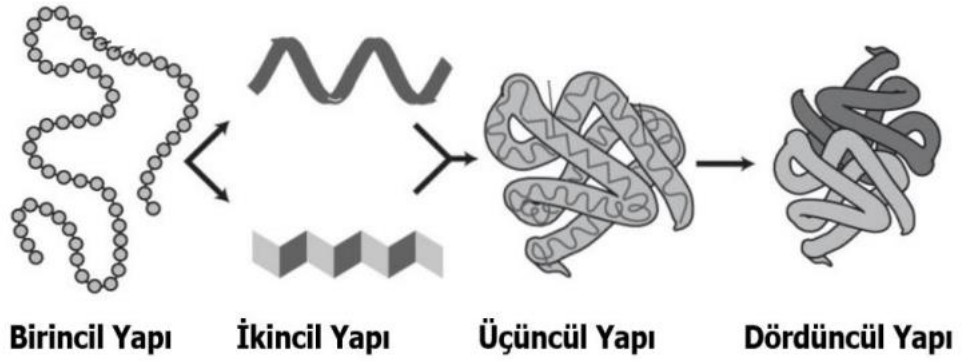
### **4.2. Protein Yapısı**

Amino asitler proteinlerin temel yapı taşlarıdır (Stein, 1990). Tüm amino asitlerin merkezinde karbon atomu vardır. Bu karbon atomu bir hidrojen atomuna, bir amino grubuna ve bir karboksil grubuna bağlıdır (Şekil 4.1). Karbon atomuna bağlanan yan zincir ise amino asitleri birbirinden ayıran kısımdır. Protein sentezi sırasında bir amino asidin karboksil grubu ile diğerinin amin grubu birleşerek peptit bağı oluşturur. Farklı amino asitlerin arka arkaya bağlanması sonucu polipeptit zinciri oluşur. Bu zincir proteinin omurgasıdır (Branden & Tooze, 2012). Peptit zincirlerinin katlanmasıyla amino asit kalıntılarının atomları arasında hidrojen bağları oluşur ve bunun sonucunda çeşitli düzenli (alfa heliksler, beta tabakaları, beta dönüşleri) ya da düzensiz alt yapılar gelişir (Jisna & Jayaraj, 2021).



Şekil 4.1. Amino asitlerin yapısı (Champe, 1997)

Proteinler tanımlanırken Şekil 4.2’de görüldüğü gibi birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapısına göre tanımlanır (Rehman ve ark., 2017).



Şekil 4.2. Proteinlerin birincil, ikincil, üçüncül ve dördüncül yapıları (Bacardit ve ark., 2009)

#### 4.2.1. Birincil yapı

Birincil yapı amino asitlerin dizisel zinciridir (Rehman, Farooq, & Botelho, 2017). Bu zincirin dizilimi amino ucu ile başlayıp, karboksil ucu ile sonlanır. Çünkü protein sentezlenirken amino asitlerin eklenme sırası bu şekildedir (Buxbaum, 2007). Yan zincir grubundaki ya da R grubundaki fark, her amino asidin kendine özgü özelliklerini belirler. Proteinlerin benzersizliği,

içerdiği amino asitlere, bu amino asitlerin bir zincirde nasıl düzenlendiğine ve zincirin yaptığı etkileşimlere göre belirlenir. Doğada yüzlerce amino asit bulunmasına rağmen, insan vücudunda ve diğer birçok yaşam formunda bulunan proteinlerin yapımı için yalnızca 20 amino asit gereklidir (Lopez & Mohiuddin, 2020). Bu amino asitlerin isimleri ve kısaltmaları Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Amino asitlerin isimleri ve kısaltmaları

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

(Champe, 1997)

#### 4.2.2. İkincil yapı

Proteinlerin çeşitli fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için düzensiz yapılara sahip olması gerekir. Ancak protein yapılarında düzenli bazı özellikler bulunur ve bunlardan en önemlisi ikincil yapılardır. Proteinlerin iç yapısındaki amino asitler hidrofobik yan zincirlere sahiptir. Suda çözülebilen globüler proteinlerin katlanmasındaki temel sebep hidrofobik yan zincirlerin proteinlerin iç kısmında paketlenmesi, böylece hidrofobik çekirdek ve hidrofilik dış yüzey oluşturmasıdır. Hidrofobik çekirdek proteinin iç yapısındaki yan zincirlerle yoğun bir şekilde paketlenmiştir. İç kısmında boşluk olduğu durumlarda bu boşluk su molekülleriyle doldurulmuştur.

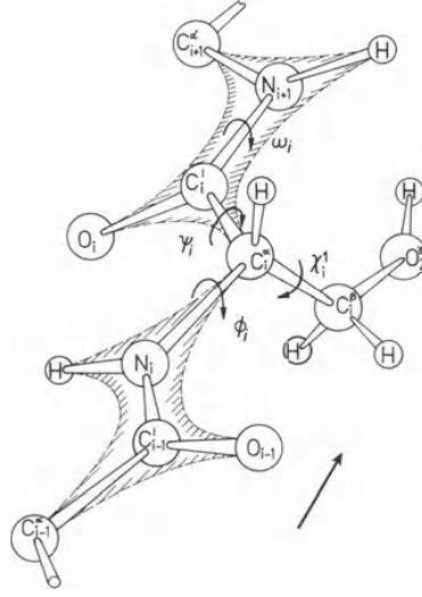
Proteinlerin katlanması sırasında yan zincirlerin merkeze gelmesi için ana zincirin içeri doğru katlanması gerekir. Ana zincir polar ve hidrofiliktir. Buna karşın ortam hidrofobiktir. Ana zincirdeki polar grupların hidrojen bağları ile nötrlenmesi ikincil yapının oluşumuyla sağlanır

(Branden & Tooze, 2012). Polipeptit omurgasındaki atomlar arasındaki hidrojen bağları ile stabilize edilen bölgeler ikincil yapıyı oluşturur. Hidrojen bağları negatif oksijen atomu ile pozitif azot atomu arasında oluşur (Rehman, Farooq, & Botelho, 2017).

Proteinlerin katlanmasıyla oluşan ikincil yapılar alfa ( $\alpha$ ) sarmalları veya beta ( $\beta$ ) tabakaları olmak üzere iki çeşittir. Her ikisi de ana zincirdeki amino (NH) ve karboksil (C=O) grupları arasındaki hidrojen bağı ile karakterize edilir (Branden & Tooze, 2012).

#### **4.2.2.1. Alfa sarmalları**

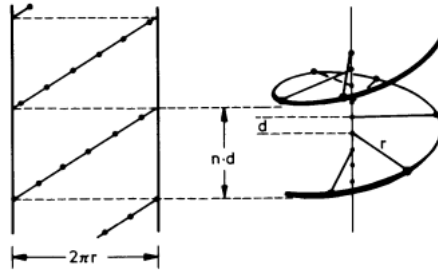
Alfa sarmalları protein yapısının klasik unsuru olan silindirik şekilde düzenlenmiş amino asit parçalarıdır. Sarmalın her dönüşü 3,6 amino asit kalıntısı içerir ve 5,41 angstromluk mesafededir. Bir  $\alpha$  sarmalın uzantısı 3-4 sarmal dönüşüne eşdeğer olan 10-15 amino asit kalıntısı içerir. Herhangi bir amino asit kalıntısı incelendiğinde, lösin veya metiyonin gibi genişletilmiş yan zincirlere sahip olanların  $\alpha$  sarmalları içinde daha çok, glisin veya pirolin gibi kompakt kalıntıların daha az bulunduğu görülmüştür. Alfa sarmalı içerisindeki her hidrojen bağı, sarmalın amid azotunun elektropozitif ve karbonilin elektronegatif olduğu bir dipoldür. Sarmalların uç kısımlarına yakın zıt yüklü kalıntılar ikincil yapıyı dengeleyerek stabilize edilmesine yardımcı olur. Sentetik ribonükleaz S peptid analogunun N terimine yakın asidik kalıntıları ve C terimine yakın bazik kalıntıları benzer şekilde  $\alpha$  sarmalını stabilize eder. Birçok  $\alpha$  sarmalında hidrofilik ve hidrofobik amino asitler sarmal gövdenin karşıt yüzlerinde bulunur. Bu özelliğe amfifilik ya da amfipatiklik denir (Stein, 1990).



**Şekil 4.3.** Yan zincir dihedral açılarının Ser kalıntısı üzerinde gösterimi (Schulz & Schirmer, 2013)

Bir polipeptit zincirinin omurgası, kalıntı başına iki dihedral açı ile tanımlanır. Şekil 4.3'te görüldüğü gibi  $C_{\alpha}$  atomlarındaki dihedral açılar  $\phi$  ve  $\phi'$ 'dir ayrıca burulma açısı  $\omega$  da eklenir. Yan zincirdeki tüm dihedral açılar, üçe kadar indeksle X harfiyle gösterilir. Şekil 4.3'de gösterilen Ser yan zincirinin hiçbir dalı yoktur.

Dihedral açılar tekrarlanırsa yani tüm  $\phi$  ve  $\phi'$  açıları aynıysa polipeptit zincirinin omurgası doğrusal bir grup oluşturur. Her doğrusal grup bir sarmaldır. Sarmallar Şekil 4.4'te görüldüğü gibi kalıntı başına eksensel kayma (d), dönüş başına kalıntı sayısı (n), sarmal adımı (n.d) ve sarmal yarıçapı (r) parametreleri ile tanımlanır. d pozitif olarak alındığından sarmal kiralite n'nin işaretinden okunabilir. Her sarmalın bir polaritesi vardır çünkü peptit ünitesi polardır (Schulz & Schirmer, 2013).



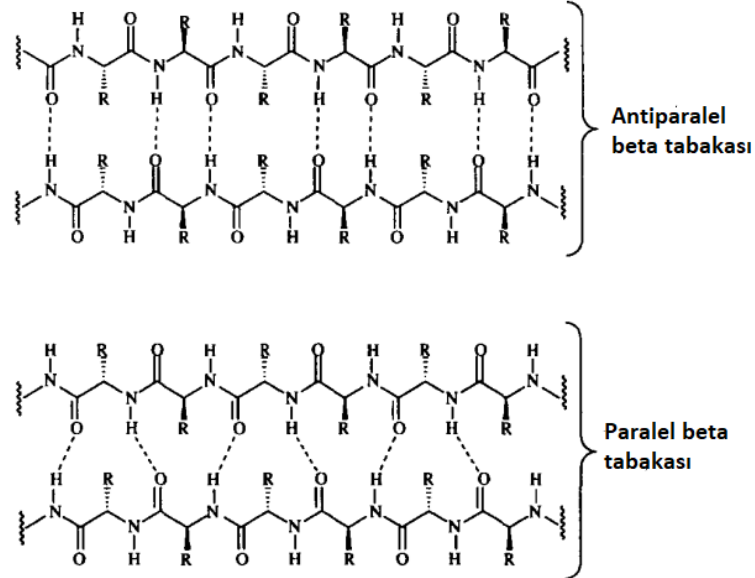
**Şekil 4.4.** Heliks parametreleri ve yüzey gösterimi (Schulz & Schirmer, 2013)

Alfa sarmalının her bir dönüşünde ( $n$ ) kalıntısının C=O grubu ile ( $n+4$ ) kalıntısının NH grubu arasında hidrojen bağları vardır. Zincirin daha gevşek veya sıkı sarıldığı durumlarda ( $n+4$ ) yerine ( $n+5$ ) ya da ( $n+3$ ) şeklinde olabilir. Bu varyasyonlara sırasıyla  $\pi$  sarmal ve  $3_{10}$  sarmal adı verilir.  $3_{10}$  sarmalının her dönüşünde 3 kalıntısı ve hidrojen bağları arasında 10 atomu vardır. Her iki sarmal da enerji açısından uygun değildir çünkü  $3_{10}$  sarmalı çok sıkı paketlenmiştir,  $\pi$  sarmalı ise ortada delik oluşacak kadar gevşek paketlenmiştir. Bu şekilde kararlı yapı oluşturamazlar ve nadiren gözlemlenirler (Branden & Tooze, 2012).

#### 4.2.2.2. Beta tabakaları

Diğer yaygın görülen ikincil yapı da proteinlerdeki tüm aminoasit kalıntılarının yaklaşık %28'ini oluşturan  $\beta$  tabakalarıdır. Bu yapı  $\alpha$  sarmalı gibi sürekli olmayıp, katman benzeri bir yapı gösterecek şekilde hidrojen bağlarından oluşan en az iki şerit içerir. Şeritler birbirine paralel veya anti-paralel olarak yerleşebilse de daha çok antiparalel yapı tercih edilir (Stein, 1990). Bir  $\beta$  şeridindeki C=O grupları ile sonraki beta şeridi üzerindeki NH grupları arasında hidrojen bağları oluşur. Bu şekilde bitişik bir hizalanma gerçekleşir. Beta şeritlerinden oluşan  $\beta$  tabakaları, düzlemin biraz üstünde ya da altında art arda karbon (C) atomları ile kıvrılır. Kıvrımlı tabakanın oluşabilmesi için hizalanmış  $\beta$  şeritlerindeki amino asitlerin tümü aynı biyokimyasal yönde ilerleyebilir ya da amino grubundan karboksi grubuna doğru ilerleyebilir. Bu şekilde oluşan  $\beta$  tabakası paralel olarak isimlendirilir. Ardışık şeritlerdeki amino asitler,

”amino grubundan karboksi grubuna, karboksi grubundan amino grubuna...” şeklinde değişen yönlere sahipse bu durumda  $\beta$  tabakası antiparalel olarak isimlendirilir (Şekil 4.5).



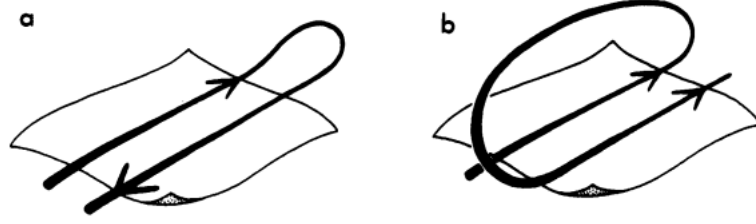
Şekil 4.5. Paralel ve anti-paralel  $\beta$  tabakalarının şematik gösterimi (Nesloney & Kelly, 1996)

Her iki yapıda da belli bir hidrojen bağı modeli vardır. Antiparalel  $\beta$  tabakası dönüşümlü olarak geniş aralıklı ve dar aralıklı hidrojen bağı çiftlerine sahiptir. Paralel  $\beta$  tabakası ise  $\beta$  şeritlerini belli bir açıyla köprüleyen eşit aralıklı hidrojen bağlarına sahiptir (Branden & Tooze, 2012). Burada atomlar arasındaki hidrojen bağlarının zayıf olduğunu ancak tüm hidrojen bağlarının toplamının da yapının şeklini koruduğunu unutmamak gerekir (Rehman, Farooq, & Botelho, 2017).

#### 4.2.2.3. Halka bölgeleri

Çoğu protein yapısı, çeşitli uzunluklarda ve düzensiz şekillerde bağlanan  $\alpha$  heliksleri ve  $\beta$  şeritlerinin kombinasyonundan oluşur. Bu kombinasyon molekülün kararlı hidrofobik çekirdeğini oluşturur. Döngü bölgeleri ise molekülün yüzeyindedir. Genel olarak birbirleri ile hidrojen bağı oluşturmazlar ancak çözücüye maruz kaldıklarında su molekülleri ile hidrojen

bağı oluşturabilirler. Çözücüye maruz kalan halka bölgeleri yüklü, polar ve hidrofilik kalıntılar açısından zengindir. Bu yüzden  $\alpha$  helikslerden ya da  $\beta$  şeritlerdense tahminleri halka bölgelerinden yapmak daha güvenilir sonuçlar vermektedir (Branden & Tooze, 2012). Şekil 4.6'da paralel ve antiparalel  $\beta$  şeritleri için düz ve çapraz şekilde bağlantı oluşturan halka bölgeleri gösterilmiştir (Richardson, 1976).



**Şekil 4.6.** Antiparalel (a) ve paralel (b)  $\beta$  şeritlerinde oluşan halka bölgeler (Richardson, 1976)

Proteinlerin tüm resimleri basitleştirilmiş şekildedir. Çünkü tüm atomların görüntülediği protein yapısı oldukça kafa karıştırıcıdır. Bu haliyle çok miktarda bilgi olduğu için iki boyutlu resmi yorumlamak imkansızdır. Yan zincir atomları çıkarılsa bile böyle karmaşık bir modelin düz resminden anlamlı bir bilgi çıkarılamaz, yapısal unsurlar arası ilişkiler ayırt edilemez. Bu analizi yapabilmek için polipeptit yolunu silindirler, oklar ve şeritler temsil eder (Şekil 4.6). Böyle şematik diyagramlar ile grafik görüntüleme sistemleri de kullanılarak çok daha fazla ayrıntı anlaşılır bir şekilde incelenebilir (Branden & Tooze, 2012).

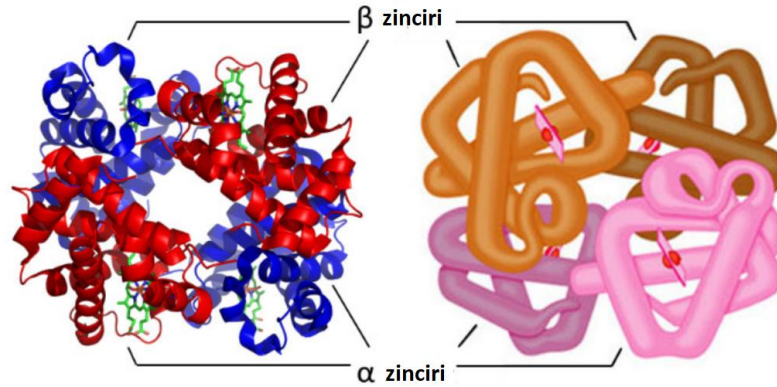
### 4.2.3. Üçüncül yapı



Şekil 4.7. Miyoglobin protein yapısı (<http://brussels-scientific.com/?p=6930> 2016)

Bir proteinin üçüncül yapısı, tüm amino asitlerin birbirine göre ortalama üç boyutlu konumunu tanımlar ve protein zinciri boyunca düzenli ve düzensiz konformasyonların toplamını temsil eder (Şekil 4.7). Üçüncül yapı amino asit kalıntılarının arasındaki hidrojen bağı, van der Waals ve hidrofobik etkileşimler gibi kimyasal kuvvetlerin birleşim etkisinden kaynaklanır. Proteinler uygun şekilde katlandığında, tamamen denature oldukları duruma göre 10-15 kcal/mol daha stabildir. Ancak bu çok büyük bir stabilite değildir. Sıcaklık, pH değişikliği gibi işlemlerle kolaylıkla denaturasyon gerçekleşebilir (Stein, 1990).

#### 4.2.4. Dördüncül yapı



Şekil 4.8. Hemoglobin protein yapısı (<http://brussels-scientific.com/?p=6930> 2016)

Tek zinciri olan protein moleküllerine monomerik proteinler denir. Birden fazla polipeptit zincirinden oluşan multimerik proteinler ise dördüncül yapıyı oluşturur (Şekil 4.8). Dördüncül yapıda polipeptit zincirleri birbirinden bağımsızdır ancak birinin işlevi diğerinin işlevsel durumuna bağlı olabilir. Böylece işbirliği içinde protein yapısında işlev görürler (Branden & Tooze, 2012).

#### 4.3. Ekstremofil Canlılar

1967 yılında Thomas Brock'un Yellowstone Ulusal Parkı'nın kaynayan sularında büyüyen mikroorganizmalarla ilgili açıklamasıyla birlikte çeşitli faktörlere göre yaşamın sınırlarının yeniden tanımlanmasına yönelik çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Bunun sonucunda varsayıldığından çok daha geniş bir sıcaklık aralığında yaşamın mümkün olduğu görülmüştür. Ayrıca aşırı asidik ve alkali ortamlarda büyüeyebilen çeşitli yaşam formları da bulunmuştur. Bazı organizmalar okyanusların derinliklerindeki aşırı basınca dayanabilirken, bazıları yoğun radyoaktif radyasyona, yüksek pH değerlerine veya yüksek tuz konsantrasyonlarına dayanabilmektedir (Tablo 4.2). Tüm bu organizmalar ekstremofil adı altında özetlenmektedir. Ekstremofil canlılar, olağan dışı koşulları tolere edebilen, hatta bu koşulları tercih eden canlılardır. Tabloda aşırı uç koşullara dayanabilen ekstremofilik organizmaların çeşitli gruplarını tanımlamak için örnek olarak ortak sınır değerler gösterilmiştir. Bazı organizmalarda

aynı anda birden fazla aşırı koşula uygunluk görülebilmektedir. Derin denizlerde bulunan piezopsikrofilik organizmalar ya da alkali soda göllerinde yaşayan haloalkalifilik organizmalar örnek olarak gösterilebilir. Birden çok aşırı koşulu tolere edebilen bu tür organizmalar ise poliektremofil olarak adlandırılır (Stolz, 2017). Yaygın örnekler arasında termoasidofiller ve haloalkalifiller bulunur (Gupta ve ark., 2014).

Ekstremofilik mikroorganizmalar, dünyadaki yaşamın kökenleri hakkında teoriler türetmek ve erken evrim süreçlerini anlamak için araştırmaların merkezindedir. Özellikle adaptasyon mekanizmaları oldukça ilgi çekmektedir ve dünya dışı yaşam olasılıkları araştırılmaktadır. Bunların yanı sıra ticari açıdan da oldukça ilgi görmektedir. Örneğin asidofilik organizmalar sirke veya sitrik asit üretiminde kullanılmaktadır (Stolz, 2017). Petrol bazlı plastik üretimi yerine extremofiller kullanılarak biyoplastik üretiminde kullanılabilir. Ekstremofilik organizmalardan elde edilen enzimler tıbbi ve biyoteknolojik araştırmalarda kullanılmaktadır. Extremofillerin DNA polimerazlarının kullanılması, PCR otomatik versiyonunun üretilmesini mümkün kılmıştır. Bazı ilaca dirençli enfeksiyonlarda alternatif tedavi olarak kullanılabilceği öngörülmektedir (Coker, 2016).

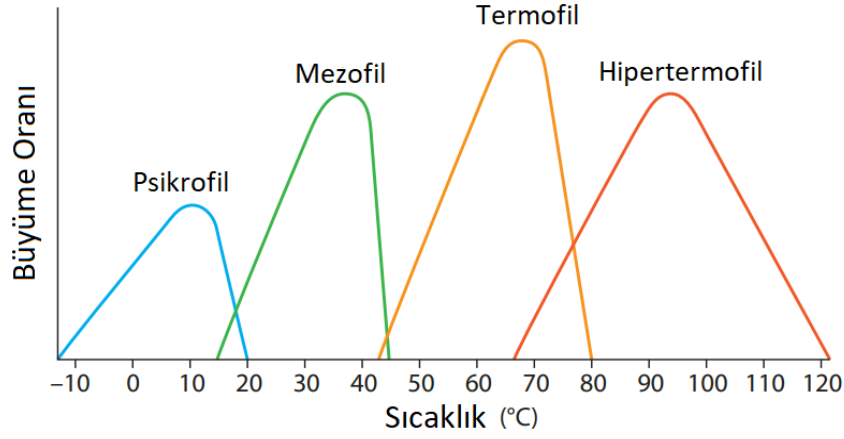
**Tablo 4.2.** Farklı organizma grupları için temel büyüme ortamları

Çevresel Faktör	Büyüme Ortamı	Organizma Çeşidi
Sıcaklık	>60°C	Termofil
	>80°C	Hipertermofil
	<10°C	Psikrofil
pH Değeri	<pH 3	Asidofil
	>pH 9	Alkalifil
Tuz		
Konsantrasyonu	>0,6 M NaCl*	Halofil
Basınç	> 1 Atm	Piezofil (Barofil)
	Yüksek UV ışın, $\gamma$	
İyonize Radyasyon	radyasyonu	Radyotolerant

\*NaCl: Sodyum Klorür

#### 4.3.1. Termofil canlılar

Çoğu mikroorganizma yalnızca 40°C civarındaki sıcaklıklarda büyüebilirken bazı organizmalar farklı sıcaklık aralıklarına uyum sağlamışlardır (Taylor & Vaisman, 2010). Bu nedenle organizmaları şekilde görüldüğü gibi büyüme sıcaklıklarına bağlı olarak psikrofilik, mezofilik, termofilik ve hipertermofilik olarak ayırabiliriz (Stolz, 2017).



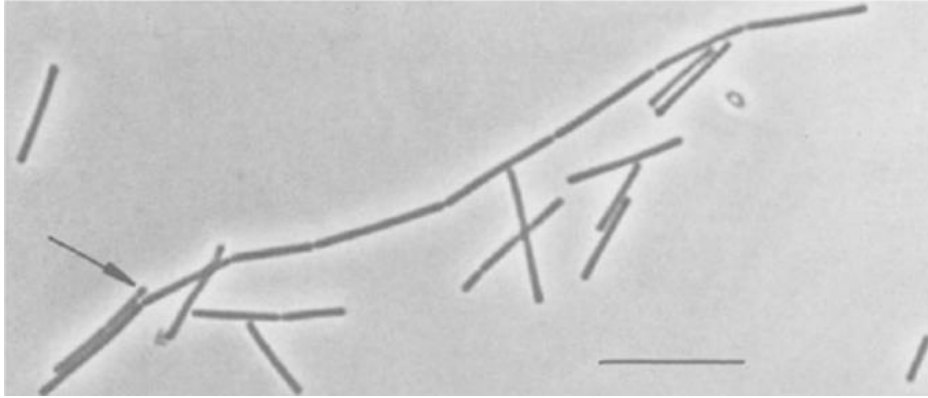
Şekil 4.9. Sıcaklığın farklı organizma türlerinin büyümesi üzerindeki etkileri (Stolz, 2017)

Termofiller 45°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda büyüeyebilen organizmalardır. Bakteri, arke veya ökaryot olarak doğada derin denizlerin hidrotermal bacaları, volkanik ortamlar, fumaroller, gayzerler ve kaplıcalar gibi yüksek sıcaklıktaki ortamlarda bulunabilirler. Ayrıca kömür atık yığınları, ısıtmalı kompost tesisleri, sprey kurutucular ve jeotermal enerji santralleri gibi insanların oluşturduğu ortamlarda da varlığı tespit edilmiştir (Ferrera & Reysenbach, 2007; Urbietta ve ark., 2015; Zierenberg ve ark., 2000). Bu tür sıcak ortamlarda gelişmek için termofiller hücrenin işlevini ve stabilitesini koruyan çok sayıda fiziksel ve biyokimyasal adaptasyona sahiptir (Ferrera & Reysenbach, 2007).

#### 4.3.2. Hipertermofil canlılar

Hipertermofil canlılar genellikle 80°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda en iyi şekilde büyüeyebilen organizmalardır (Rees & Adams, 1995; Schönheit & Schäfer, 1995). Euryarchaeota sınıfına ait metanojen *Methanopyrus Kandleri* (Şekil 4.10) bilinen tüm canlı organizmalar arasında en

yüksek sıcaklığa (122°C) dayanabilen türdür. Çoğu arke olmakla birlikte bakteri ailesinden olan hipertermofiller de (*Aquiificaceae*, *Thermotogaceae* vb.) vardır (Urbieta, Donati, Chan, Shahar, Sin, & Goh, 2015). Hipertermofiller buldukları ortama göre pH, tuzluluk, bazı minerallerin bileşimi gibi farklı çevresel faktörlere uyum sağlayabilirler. Çoğu, kemolitototrofik beslenme tarzına sahiptir. İnorganik redoks reaksiyonlarını enerji kaynağı olarak kullanırken, CO<sub>2</sub>'i organik hücre materyali oluşturmak için karbon kaynağı olarak kullanırlar.



**Şekil 4.10.** Methanopyrus Kandleri (Faz Kontrast Mikroskopu, 10µm) (Kurr ve ark., 1991)

Hipertermofil hücrelerin mikrometre ölçeğindeki küçük boyutları nedeniyle sıcak ortama karşı izolasyonla koruma sağlaması imkansız görünmektedir. Bu sebeple tüm hücre bileşenlerinin (lipidler, nükleik asitler, proteinler vb.) ısıya dayanıklı olması gereklidir (Stetter, 1999). Yapılan teorik ve deneysel çalışmalarda hidrojen bağlarında, iyon çiftlerinde ve tuz köprülerinde artış gözlemlenmiştir (Vogt ve ark., 1997). Termofiller ve mezofillerden gelen ferredoksinin yapısında polar gruplar arasında fazladan tuz köprüleri olduğu bulunmuştur. Örneğin termofil *Pyrococcus furiosus*'tan izole edilen glutamat dehidrojenazda tuz köprüleri oldukça kararlı bir ağ oluştururken, termofil olmayan *Clostridium symbiosum*'dan elde edilen glutamat dehidrojenazda tuz köprülerinin daha az ağ oluşturduğu görülmüştür. Termofil ve hipertermofillere ait protein yapılarında halka bölgelerin kısalması, daha fazla sertlik, sıkı paketlenme,  $\alpha$  sarmalı stabilizasyonu, küçük yüzey alanı/hacim oranı, daha fazla disülfid bağı, artan hücre içi iyonik konsantrasyonlar ve artan katyonik proteinler rapor edilmiştir (Kohli ve ark., 2020; Vieille & Zeikus, 1996).

Amino asitlerle proteinlerin yüksek sıcaklıklardaki stabilitesi arasındaki ilişki incelendiğinde termofiller ve hipertermofiller 100°C ve üzeri sıcaklıkta tutulmuş, Val ve Leu'nun daha termostabil amino asitler olduğu, ardından Ile, Tyr, Lys, His geldiği ve ısıya en az dayanıklı amino asitlerin Asp, Glu, Arg ve Cys'in olduğu gözlemlenmiştir (Jaenicke & Böhm, 1998).

## 5. GEREÇ ve YÖNTEM

Protein Veri Tabanı'nda bulunan tüm yapı dosyaları indirilmiştir (27.02.2023, 198.997 dosya) (www.rscb.org), (Berman ve ark., 2000). Yapı dosyalarındaki SOURCE girdilerindeki veriler ve hiperekstremofil canlıların bir listesi (Tablo 5.1) kullanılarak hiperekstremofil canlılara ilişkin yapı dosyaları belirlenmiştir. Hiperekstremofil canlıların listesi çeşitli kaynaklar taranarak oluşturulmuştur (Boone ve ark., 2001; Das ve ark., 2006; Fiala ve ark., 1986; Frock ve ark., 2010; Hafenbradl ve ark., 1996; Li ve ark., 2010; Mikkelsen ve ark., 2006; Rose ve ark., 2020; Segerer ve ark., 1986; Woese, 2012). Bunların içinden de daha iyi çözünürlüğe sahip olduklarından X-ışını kristallografisi yöntemiyle yapıları elde edilmiş yapılar belirlenmiştir. Bu yapı dosyalarından da global ve lokal hizalama algoritmaları kullanılarak (Needleman & Wunsch, 1970; Smith & Waterman, 1981) dizisel benzerlikleri %25'ten daha yüksek olan yapılar elenmiştir. Benzer yapılardan daha kısa olan diziler ve daha kötü çözünürlüğe sahip yapılar elenmiştir. Tüm aşamalardan sonra kalan 869 yapı dosyası çalışmanın veri seti olarak kullanılmıştır.

**Tablo 5.1.** Hipertermofil canlılar

Hipertermofil Adı	Hipertermofil adı
Acidianus	Pyrodictium
Aquifex	Pyrolobus
Archaeoglobus	Staphylothermus
Desulfurococcus	Stygiolobus
Ferroglobus	Thermococcus
Ignicoccus	Thermocrinis
Metallosphaera	Thermodiscus
Methanopyrus	Thermofilum
Methanothermus	Thermoproteus
Nanoarchaeum	Thermosipho
Pyrobaculum	Thermosphaera
Pyrococcus	Thermotoga

Veri seti içindeki yapı dosyalarında bulunan proteinlerin amino asit dizileri elde edilmiştir. Bu diziler kullanılarak amino asit frekansları belirlenmiştir. Aynı şekilde yapı dosyalarındaki HELIX ve SHEET girdilerindeki veriler esas alınarak heliks ve tabaka bölgeleri ve bu bölgelerdeki amino asitlerin frekansları belirlenmiştir. Bu veriler ekstremofil olmayan canlılara ilişkin proteinlerin verileri ile karşılaştırılmıştır.

Veri setinin elde edilmesinde ve frekansların belirlenmesinde kullanılan yazılımlar tez danışmanı tarafında geliştirilmiştir.

## 6. BULGULAR

### 6.1. Amino Asit Frekanslarının Karşılaştırılması

Amino asit frekansları protein yapısıyla ilgili tahminlerde önemli bilgiler sunmaktadır. Globüler proteinlerle hipertermofil proteinlerin farklarını belirleyebilmek için yapılan çalışmalar ile elde ettiğimiz veriler incelenip grafikler üzerinden bu bilgiler yorumlanmıştır. Globüler proteinlere ait veriler (Tablo 6.1) ile çalışmamızdan elde ettiğimiz hipertermofil proteinlere ait veriler (Tablo 6.2) karşılaştırıldığında bazı amino asitlerin frekanslarının farklı olduğu görülmektedir.

**Tablo 6.1.** Globüler proteinlerin ikincil yapı elemanlarının amino asit frekansları

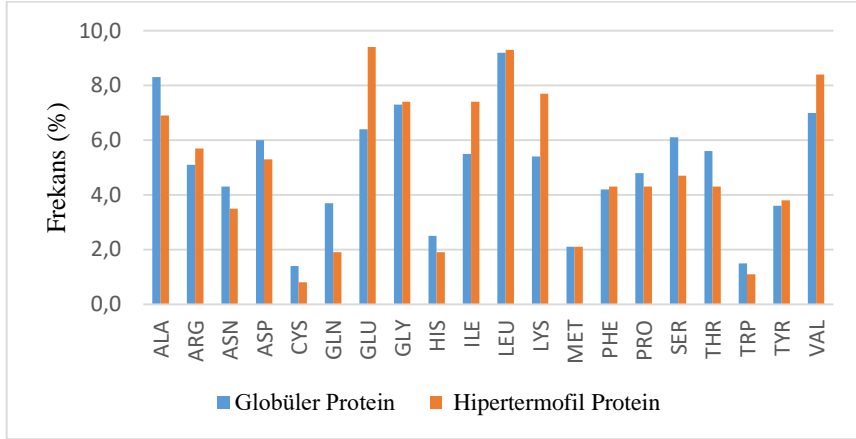
Amino asit	Heliks (%)			Tabaka (%)				Halka (%)
	Genel	$\alpha$	$3_{10}$	Genel	Birincil	Paralel	Anti-Paralel	Genel
ALA	10,6	11,0	7,9	6,5	5,7	7,0	6,5	6,4
ARG	5,7	5,9	4,7	4,7	5,1	3,5	5,1	4,6
ASN	4,0	3,9	5,0	2,5	2,7	2,6	2,5	5,8
ASP	6,0	5,7	8,3	3,3	3,6	3,2	3,2	8,1
CYS	1,2	1,2	1,3	1,7	1,6	1,7	1,8	1,3
GLN	4,5	4,6	3,8	2,9	3,5	1,9	3,1	3,3
GLU	8,0	8,2	7,3	4,5	5,6	3,2	4,6	5,6
GLY	4,9	4,7	6,7	4,9	4,1	5,1	5,0	12,3
HIS	2,4	2,3	2,8	2,5	2,7	2,4	2,5	2,6
ILE	5,1	5,4	3,6	9,4	8,8	12,4	8,4	3,1
LEU	11,0	11,3	8,9	10,4	8,9	11,8	10,2	5,9
LYS	6,0	6,1	5,4	4,2	4,9	3,1	4,4	5,6
MET	2,5	2,6	1,9	2,2	2,0	2,4	2,2	1,6
PHE	4,0	3,9	4,3	6,0	5,9	5,9	6,1	3,0
PRO	2,8	2,2	6,9	2,0	2,6	1,4	2,0	9,6
SER	5,9	5,6	7,5	5,3	5,9	4,5	5,4	7,0
THR	4,7	4,8	4,4	6,7	7,1	6,0	6,8	5,9
TRP	1,5	1,5	1,9	2,0	1,9	1,5	2,2	1,2
TYR	3,4	3,4	3,7	5,1	4,9	4,2	5,5	2,7
VAL	5,6	5,8	3,8	13,2	12,5	16,1	12,3	4,2

(Nacar, 2023)

**Tablo 6.2.** Hipertermofil proteinlerin ikincil yapı elemanlarının amino asit frekansları

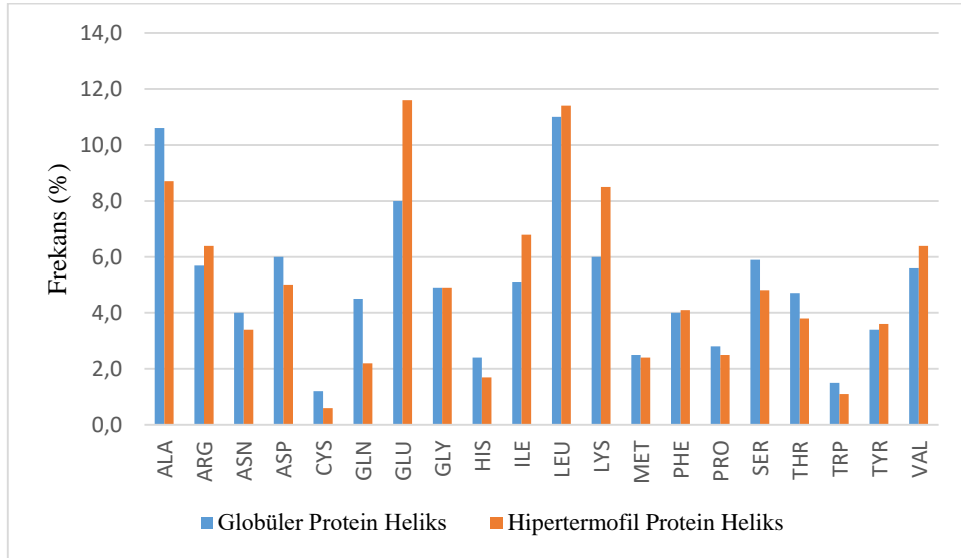
Amino asit	Heliks (%)			Tabaka (%)				Halka (%)
	Genel	$\alpha$	$3_{10}$	Genel	Birincil	Paralel	Anti-Paralel	Genel
ALA	8,7	9,0	5,7	6,0	5,1	6,9	5,8	4,6
ARG	6,4	6,5	5,8	4,8	5,3	3,4	5,5	5,1
ASN	3,4	3,3	4,0	1,9	1,9	2,0	1,9	4,9
ASP	5,0	4,7	7,5	3,0	3,5	2,9	2,9	7,4
CYS	0,6	0,6	0,7	0,9	0,6	1,0	0,9	0,9
GLN	2,2	2,2	2,0	1,3	1,6	1,0	1,4	1,7
GLU	11,6	11,6	10,8	6,3	8,8	3,7	7,0	8,2
GLY	4,9	4,7	6,7	5,1	4,2	5,3	5,2	13,0
HIS	1,7	1,7	2,1	1,7	1,6	1,7	1,7	2,3
ILE	6,8	7,0	4,6	12,7	11,1	15,4	11,7	4,4
LEU	11,4	11,6	9,5	9,2	7,7	10,4	9,1	6,0
LYS	8,5	8,6	7,6	5,8	7,4	3,8	6,4	7,8
MET	2,4	2,5	1,8	1,8	1,7	1,8	1,8	1,9
PHE	4,1	4,1	4,6	5,6	5,3	5,8	5,7	3,5
PRO	2,5	2,1	6,8	2,1	2,5	1,6	2,2	8,8
SER	4,8	4,7	5,6	3,7	4,0	3,3	3,8	5,3
THR	3,8	3,9	3,3	5,0	5,4	5,0	4,9	4,6
TRP	1,1	1,1	1,6	1,3	1,6	0,9	1,5	1,0
TYR	3,6	3,6	4,1	4,8	4,9	4,0	5,3	3,2
VAL	6,4	6,5	5,0	16,9	15,9	20,1	15,4	5,2

Tüm proteinlerin yapısına genel olarak bakıldığında hipertermofil proteinlerde Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, His, Pro, Ser, Thr, Trp frekansları azalırken Arg, Glu, Ile, Lys, Val frekanslarının arttığı görülmektedir (Şekil 6.1). Diğer amino asitler yaklaşık olarak aynı orana sahiptir. Burada en çok değişim gösterenler Cys, Gln, Glu, Ile, Lys, Ser'dir.



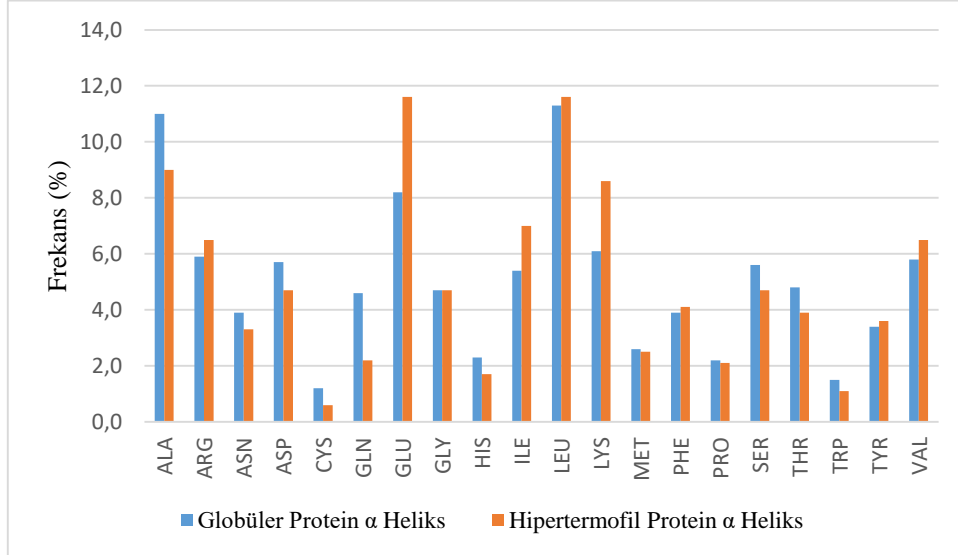
**Şekil 6.1.** Tüm proteinlerin amino asit frekansları

Şekil 6.2’de görüldüğü gibi tüm helikslerde Ala, Gln en çok azalan, Glu, Ile, Lys en çok artan amino asitlerdir. Burada Glu’deki artış dikkat çekmektedir.



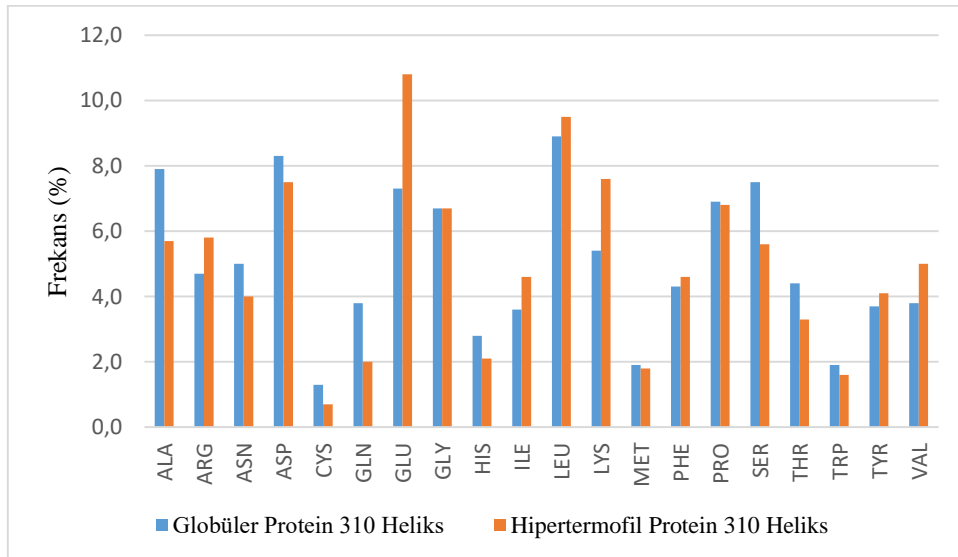
**Şekil 6.2.** Tüm heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Alt türlerden  $\alpha$  helikste en çok artışın gözlemlendiği Glu, Ile, Lys en çok azalmanın gözlemlendiği Ala, Cys ve Gln amino asitleridir (Şekil 6.3).



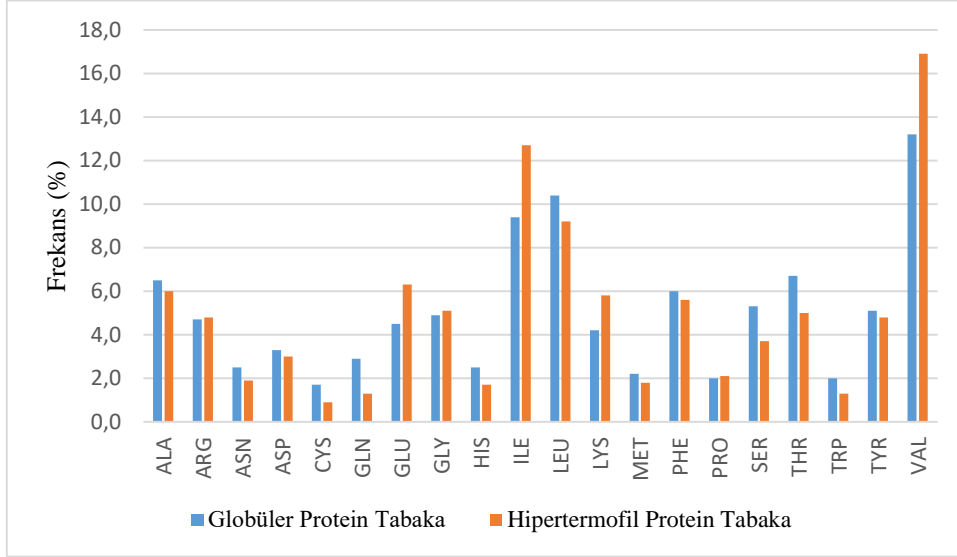
Şekil 6.3.  $\alpha$  heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Şekil 6.4'teki veriler incelendiğinde  $3_{10}$  heliks yapıda en çok artış Glu, Ile ve Lys'de, en çok azalma Ala, Gln ve Ser'de görülmüştür.



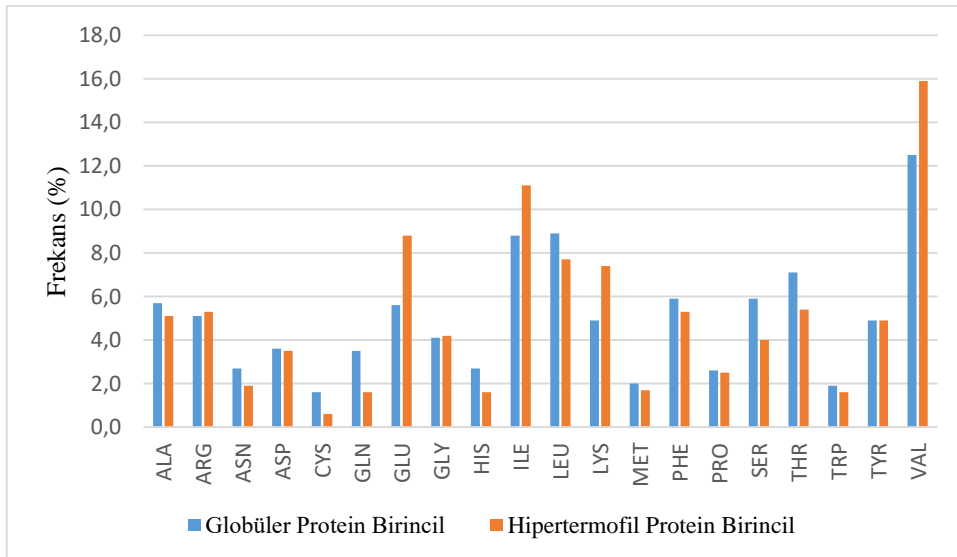
Şekil 6.4.  $3_{10}$  heliks yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Tabaka yapısına genel olarak bakıldığında Şekil 6.5'te görüldüğü gibi en çok artan Glu, Ile, Lys, Val olup, en çok azalan Gln, Ser, Thr'dir.



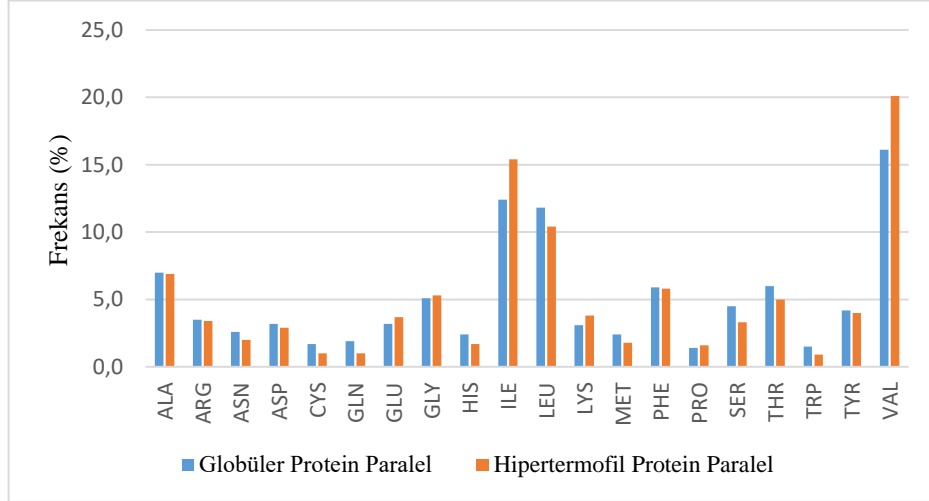
Şekil 6.5. Tüm tabaka yapısındaki proteinlerin amino asit frekansları

Birincil tabaka yapıda en çok artan amino asitler Glu, Ile, Val, en çok azalan amino asitler ise Cys, Gln ve Ser'dir.



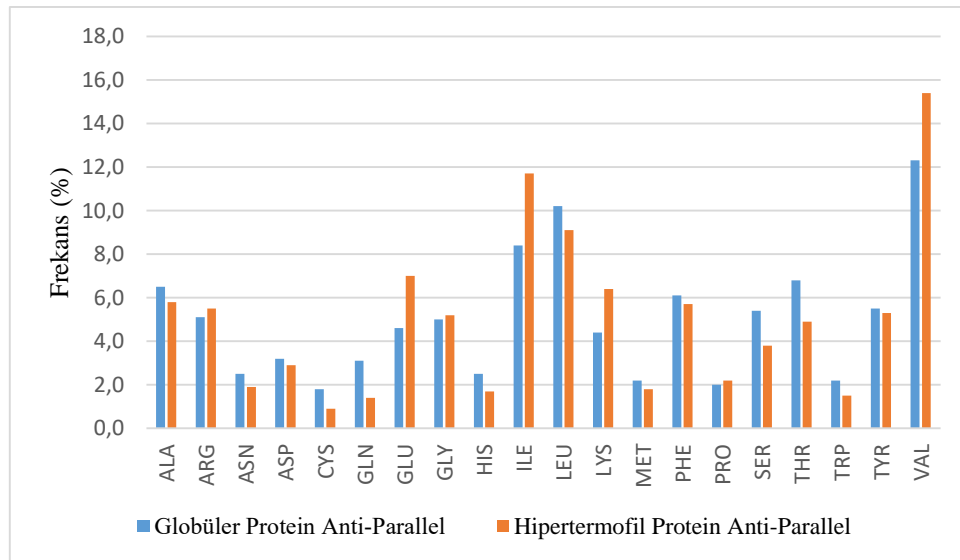
Şekil 6.6. Birincil şerit yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Şekil 6.7’de görüldüğü gibi paralel tabaka protein yapısında en çok artış Ile, Val’de gözlemlenirken, diğer amino asitlerde büyük bir azalma olmamıştır.



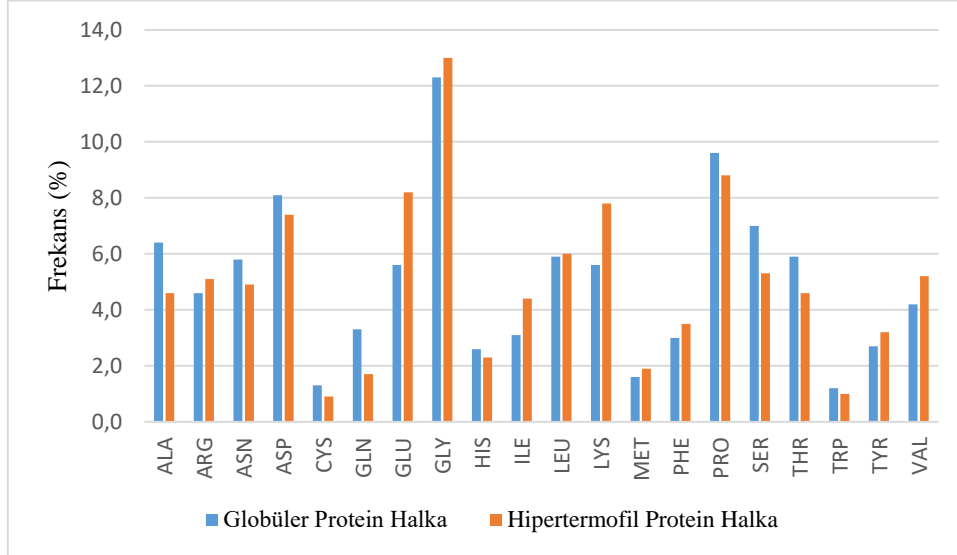
Şekil 6.7. Paralel tabaka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Şekil 6.8’de antiparalel tabaka yapısında artış paralel yapıda olduğu gibi Ile ve Val’de görülmektedir ancak bununla birlikte Glu’deki artış da dikkat çekmektedir. Burada azalan amino asitler ise Gln, Ser ve Thr’dır.



Şekil 6.8. Antiparalel tabaka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Şekil 6.9’da halka yapıdaki veriler Glu, Lys için artış, Ala, Gln, Ser, Thr için azalma olduğunu göstermektedir.



Şekil 6.9. Halka yapıdaki proteinlerin amino asit frekansları

Hiperekstremofil proteinlerin tamamına bakıldığında Glu, Leu, Val en çok bulunan, Cys ve Trp en az bulunan amino asitlerdir. Heliks yapısı incelendiğinde en çok bulunan amino asitler Glu, Leu en az bulunan Cys’dir. Alfa heliks ve  $3_{10}$  helikslerde de benzer oran görülmekle birlikte  $3_{10}$  heliks yapıda Pro frekansında ciddi bir artış göze çarpmaktadır. Tabaka yapısında genel olarak Val ve İle en çok bulunan amino asitler, Cys, Gln ve Trp en az bulunan amino asitlerdir. Tabaka yapının alt türleri olan birinci, paralel ve antiparalel yapılarda da en çok ve en az görülen amino asitler değişmemektedir. Burada Val frekansının yüksekliği dikkat çekmektedir. Halka yapıda ise Gly en çok bulunan, Cys ve Trp tabaka yapıda olduğu gibi en az bulunan amino asitlerdir.

## 6.2. İkincil Yapı Elemanlarının Dağılımı

Tablo 6.3 ve Tablo 6.4 incelendiğinde hem globüler proteinlerde hem de hipertermofillere ait proteinlerde baskın ikincil yapısal elemanın heliks yapı olduğu görülmektedir. Alfa heliks bunlardan baskın olan alt tiptir. İkinci en çok görülen yapısal eleman halka yapı olup, en az

bulunan ise tabaka yapısıdır. Globüler proteinlerde tabaka yapısında paralel şerit en çok bulunan alt tip iken, hipertermofil proteinlerde antiparalel şerit daha çok, paralel şerit daha azdır. Ayrıca  $\alpha$  heliks yapıda az da olsa artış, halka yapıda benzer oranda azalma görülmektedir.

**Tablo 6.3.** Globüler proteinlerde ikincil yapı elemanlarının dağılımı

	İkincil Yapı	Ortalama (%)	StdD (%)
Heliks	Genel	42,9	20,6
	$\alpha$ Heliks	37,8	20,6
	$3_{10}$ Heliks	5,2	3,4
Tabaka	Genel	22,6	13,9
	Birincil	4,0	3,3
	Paralel	13,7	12,8
	Antiparalel	4,8	5,4
	Halka	34,4	10,4

**Tablo 6.4.** Hipertermofil proteinlerde ikincil yapı elemanlarının dağılımı

	İkincil Yapı	Ortalama (%)	StdD (%)
Heliks	Genel	47,7	16,6
	$\alpha$ Heliks	43,1	17,1
	$3_{10}$ Heliks	4,6	3,2
Tabaka	Genel	21,7	11,5
	Birincil	4,0	2,7
	Paralel	6,3	5,4
	Antiparalel	11,0	10,6
	Halka	30,6	8,4

## 7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Amino asitlerle proteinlerin yüksek sıcaklıklardaki stabilitesi arasındaki ilişki incelenen deneysel bir çalışmada (Lüdemann ve ark., 1984) amino asitlerin termal stabilitesi Val>Leu>Ile>Tyr>Lys>His>Met>Thr>Ser>Trp>(Asp, Glu, Arg, Cys) şeklinde sıralanmıştır. Elde ettiğimiz verileri incelediğimizde tüm proteinlerin yapısında Ala, Asn, Asp, Cys, Gln, HİS, Pro, Ser, Thr, Trp frekansları azalmakta, Arg, Glu, Ile, Lys, Val frekanslarının artmaktadır. Dolayısıyla Asp ve Cys aminoasitlerindeki azalma termostabiliteyi az olduğu için, Ile, Lys, Val amino asitlerindeki artışın da termostabiliteyi yüksek olduğu için olduğu söylenebilir. Ayrıca heliks yapılarında Ile kalıntısındaki artış sarmalda oluşan boşluklar açısından değerlendirilebilir. Ile yan zinciri sıklıkla dört farklı rotamer konformasyonunu benimser. Bu konformasyonel esneklik sayesinde protein çekirdeğinin paketlenmesi sırasında oluşabilecek çeşitli boşlukları daha iyi doldurabilir (Britton ve ark., 1995).

Arg kalıntısı sıcaklığa dayanıklılık açısından alt sıralarda yer almasına rağmen (Lüdemann, Bernhardt, Jaenicke, Koenig, & Stetter, 1984) artış göstermiştir. Ancak Arg termofillerde ikincil yapıyı stabilize eden tuz köprüleri açısından önemli bir amino asittir. Bununla birlikte pKa değerinin (yaklaşık 12) yüksek olması dolayısıyla iyon çiftlerini ve yüksek sıcaklıklarda net pozitif yükü daha kolay korur (Ahern & Manning, 1992; Mrabet ve ark., 1992).

Termofil *Pyrococcus furious*'tan izole edilen Glu dehidrojenazda tuz köprüleri oldukça stabil bir ağ oluşturur. Oysa termofil olmayan *Clostridium symbiosum*'dan elde edilen Glu dehidrojenazda tuz köprülerinin daha az ağ oluşturduğu gözlemlenmiştir. Bu durumun proteinin stabilitesini sağladığı sonucuna varılmıştır (Kumar ve ark., 2000). Bizim elde ettiğimiz verilerde de Glu frekansının artışı yapılan deneysel çalışmalarla uyumludur.

Yapılan bazı çalışmalarda termofillerde ve hipertermofillerde aromatik ve yüklü amino asitlerin sıklığında belirgin bir artış olduğu buna karşılık yüksüz kalıntıların sıklığında önemli derecede azalma olduğu tespit edilmiştir (Chakravarty & Varadarajan, 2002; Goldstein, 2007; Haney ve ark., 1999). Literatürle uyumlu olarak yüklü amino asitler olan Arg, Glu, Lys'de artış ve yüksüz amino asitler olan Gln Asn, His'de azalma görülmektedir.

Protein merkezi hidrofobik özelliğe sahiptir. Hidrofobik özelliğin artışına bağlı olarak çekirdeğin sıkı paketlenmesi aynı zamanda termostabiliteyi de artırır. Buna bağlı olarak proteinler daha az boşluklar içerir (Vieille & Zeikus, 1996). Çalışmamızda halka bölgelerinde azalma görülmesi heliks yapıda artış görülmesi sıkı paketlenmenin sonucu olarak görülebilir. Bununla birlikte halka bölgeleri protein yapısının ısıya karşı en dayanıksız bölgeleridir (Vieille & Zeikus, 1996). Halka bölgelerindeki azalma ve heliks yapıdaki artış proteinlerin daha sıkı paketlenmesini sağlar, aynı zamanda ikincil yapıları da stabilize eder (Kumar, Tsai, & Nussinov, 2000; Vogt & Argos, 1997; Watanabe ve ark., 1991). Aynı şekilde termofillerin paralel yerine antiparalel yapı tercih etmesinin sıkı paketlenmeyle ilişkili olduğu söylenebilir. Ayrıca amino asitler açısından bakıldığında heliks seven amino asitler olarak tanımlanmış Arg (Kumar, Tsai, & Nussinov, 2000) artarken, heliks sevmeyen Cys, His, Pro (Kumar, Tsai, & Nussinov, 2000) azalmıştır.

Elde ettiğimiz bulgulardan elde edilen bilgiler proteinin ikincil yapısının biyofiziksel özelliklerinin anlaşılmasını geliştirmek açısından değerlidir. Ayrıca bu bulgular ikincil yapı tahmin algoritmaları için önemli bilgiler sağlayabilir.

## 8. KAYNAKLAR

- Adams, M. W., Perler, F. B., & Kelly, R. M. (1995). Extremozymes: Expanding the limits of biocatalysis. *Bio/technology*, *13*(7), 662-668. <https://doi.org/10.1038/nbt0795-662>
- Ahern, T. J., & Manning, M. C. (1992). Stability of protein pharmaceuticals. Part A. Chemical and physical pathways of protein degradation. *Pharmaceutical Biotechnology Series*, *2*.
- Anfinsen, C. B. (1973). Principles that govern the folding of protein chains. *Science*, *181*(4096), 223-230. <https://doi.org/10.1126/science.181.4096.223>
- Bacardit, J., Burke, E. K., & Krasnogor, N. (2009). Improving the scalability of rule-based evolutionary learning. *Memetic computing*, *1*, 55-67. <https://doi.org/10.3389/fnins.2019.00483>
- Berman, H. M., Westbrook, J., Feng, Z., Gilliland, G., Bhat, T. N., Weissig, H., Shindyalov, I. N., & Bourne, P. E. (2000). The protein data bank. *Nucleic Acids Research*, *28*(1), 235-242. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.235>
- Boone, D. R., Castenholz, R. W., & Garrity, G. M. (2001). *Bergey's manual of systematic bacteriology* (Vol. 2). Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-0-387-21609-6>
- Branden, C. I., & Tooze, J. (2012). *Introduction to protein structure*. Garland Science. <https://doi.org/10.1201/9781136969898>
- Britton, K. L., Baker, P. J., Borges, K. M., Engel, P. C., Pasquo, A., Rice, D. W., Robb, F. T., Scandurra, R., Stillman, T. J., & Yip, K. S. (1995). Insights into thermal stability from a comparison of the glutamate dehydrogenases from *Pyrococcus furiosus* and *Thermococcus litoralis*. *European journal of biochemistry*, *229*(3), 688-695. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1995.0688j.x>
- Buxbaum, E. (2007). *Fundamentals of protein structure and function* (Vol. 31). Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-19920-7>
- Chakravarty, S., & Varadarajan, R. (2002). Elucidation of factors responsible for enhanced thermal stability of proteins: A structural genomics based study. *Biochemistry*, *41*(25), 8152-8161. <https://doi.org/10.1021/bi025523t>
- Champe, P. (1997). *Lippincott's illustrated reviews serisinden: Biyokimya. (Çeviri: Tokullugil, A., Dirican, M., Ulukaya, E.)* (Vol. 3). Nobel Tıp Kitapevleri.
- Chou, P., & Fasman, G. D. (2009). *The secondary structure of proteins from their amino acids sequence* (Vol. 47). John Wiley & Sons.

- Coker, J. A. (2016). Extremophiles and biotechnology: Current uses and prospects. *F1000Research*, 5. <https://doi.org/10.12688/f1000research.7432.1>
- Das, S., Paul, S., Bag, S. K., & Dutta, C. (2006). Analysis of Nanoarchaeum equitans genome and proteome composition: indications for hyperthermophilic and parasitic adaptation. *BMC genomics*, 7, 1-16. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-7-186>
- de Miguel Bouzas, T., Barros-Velázquez, J., & Gonzalez Villa, T. (2006). Industrial applications of hyperthermophilic enzymes: A review. *Protein and peptide letters*, 13(7), 645-651. <https://doi.org/10.2174/092986606777790548>
- Dorn, M., e Silva, M. B., Buriol, L. S., & Lamb, L. C. (2014). Three-dimensional protein structure prediction: Methods and computational strategies. *Computational biology and chemistry*, 53, 251-276. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2014.10.001>
- Ferrera, I., & Reysenbach, A.-L. (2007). Thermophiles. *eLS*. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000406>
- Fiala, G., Stetter, K. O., Jannasch, H. W., Langworthy, T. A., & Madon, J. (1986). Staphylothermus marinus sp. nov. represents a novel genus of extremely thermophilic submarine heterotrophic archaeobacteria growing up to 98 C. *Systematic and Applied Microbiology*, 8(1-2), 106-113. [https://doi.org/10.1016/S0723-2020\(86\)80157-6](https://doi.org/10.1016/S0723-2020(86)80157-6)
- Frock, A. D., Notey, J. S., & Kelly, R. M. (2010). The genus Thermotoga: Recent developments. *Environmental technology*, 31(10), 1169-1181. <https://doi.org/10.1080/09593330.2010.484076>
- Goldstein, R. A. (2007). Amino-acid interactions in psychrophiles, mesophiles, thermophiles, and hyperthermophiles: insights from the quasi-chemical approximation. *Protein science*, 16(9), 1887-1895. <https://doi.org/10.1110/ps.072947007>
- Gulati, K., & M Poluri, K. (2016). An overview of computational and experimental methods for designing novel proteins. *Recent patents on biotechnology*, 10(3), 235-263. <https://doi.org/10.2174/1872208310666161013152249>
- Gupta, G., Srivastava, S., Khare, S., & Prakash, V. (2014). Extremophiles: An overview of microorganism from extreme environment. *International Journal of Agriculture, Environment and Biotechnology*, 7(2), 371-380. <https://doi.org/10.5958/2230-732X.2014.00258.7>
- Hafenbradl, D., Keller, M., Dirmeier, R., Rachel, R., Roßnagel, P., Burggraf, S., Huber, H., & Stetter, K. O. (1996). Ferroglobus placidus gen. nov., sp. nov., a novel hyperthermophilic archaeum that oxidizes Fe<sup>2+</sup> at neutral pH under anoxic conditions. *Archives of Microbiology*, 166, 308-314. <https://doi.org/10.1007/s002030050388>

- Haney, P. J., Badger, J. H., Buldak, G. L., Reich, C. I., Woese, C. R., & Olsen, G. J. (1999). Thermal adaptation analyzed by comparison of protein sequences from mesophilic and extremely thermophilic *Methanococcus* species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *96*(7), 3578-3583. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.7.3578>
- Hardin, C., Pogorelov, T. V., & Luthey-Schulten, Z. (2002). Ab initio protein structure prediction. *Current opinion in structural biology*, *12*(2), 176-181. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(02\)00306-8](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(02)00306-8)
- Jaenicke, R., & Böhm, G. (1998). The stability of proteins in extreme environments. *Current opinion in structural biology*, *8*(6), 738-748. [https://doi.org/10.1016/S0959-440X\(98\)80094-8](https://doi.org/10.1016/S0959-440X(98)80094-8)
- Janke, U., Kulke, M., Buchholz, I., Geist, N., Langel, W., & Delcea, M. (2019). Drug-induced activation of integrin alpha IIb beta 3 leads to minor localized structural changes. *PLoS one*, *14*(4), e0214969. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214969>
- Jisna, V., & Jayaraj, P. (2021). Protein structure prediction: conventional and deep learning perspectives. *The Protein Journal*, *40*(4), 522-544. <https://doi.org/10.1007/s10930-021-10003-y>
- Jumper, J., & Hassabis, D. (2022). Protein structure predictions to atomic accuracy with AlphaFold. *Nature methods*, *19*(1), 11-12. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01362-6>
- Kohli, I., Joshi, N. C., Mohapatra, S., & Varma, A. (2020). Extremophile - An adaptive strategy for extreme conditions and applications. *Current Genomics*, *21*(2), 96-110. <https://doi.org/10.2174/1389202921666200401105908>
- Kufareva, I., & Abagyan, R. (2012). Methods of protein structure comparison. *Homology Modeling: Methods and Protocols*, 231-257. [https://doi.org/10.1007/978-1-61779-588-6\\_10](https://doi.org/10.1007/978-1-61779-588-6_10)
- Kumar, S., Tsai, C.-J., & Nussinov, R. (2000). Factors enhancing protein thermostability. *Protein engineering*, *13*(3), 179-191. <https://doi.org/10.1093/protein/13.3.179>
- Kurr, M., Huber, R., König, H., Jannasch, H. W., Fricke, H., Trincone, A., Kristjansson, J. K., & Stetter, K. O. (1991). *Methanopyrus kandleri*, gen. and sp. nov. represents a novel group of hyperthermophilic methanogens, growing at 110 C. *Archives of Microbiology*, *156*, 239-247. <https://doi.org/10.1007/BF00262992>
- Lemer, C. M. R., Rooman, M. J., & Wodak, S. J. (1995). Protein structure prediction by threading methods: Evaluation of current techniques. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, *23*(3), 337-355. <https://doi.org/10.1002/prot.340230308>

- Li, X., Li, D., Yin, Y., & Park, K.-H. (2010). Characterization of a recombinant amylolytic enzyme of hyperthermophilic archaeon *Thermofilum pendens* with extremely thermostable maltogenic amylase activity. *Applied microbiology and biotechnology*, 85, 1821-1830. <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2190-6>
- Lopez, M. J., & Mohiuddin, S. S. (2020). Biochemistry, essential amino acids. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Lüdemann, H.-D., Bernhardt, G., Jaenicke, R., Koenig, H., & Stetter, K. O. (1984). Biomolecules are unstable under "black smoker" conditions. *Naturwissenschaften*, 71(11), 583-586. <https://doi.org/10.1007/BF01189186>
- Mikkelsen, D., Kappler, U., McEwan, A. G., & Sly, L. I. (2006). Archaeal diversity in two thermophilic chalcopyrite bioleaching reactors. *Environmental Microbiology*, 8(11), 2050-2056. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01115.x>
- Mrabet, N. T., Van den Broeck, A., Van den Brande, I., Stanssens, P., Laroche, Y., Lambeir, A. M., Matthijssens, G., Jenkins, J., & Chiadmi, M. (1992). Arginine residues as stabilizing elements in proteins. *Biochemistry*, 31(8), 2239-2253. <https://doi.org/10.1021/bi00123a005>
- Nacar, C. (2023). The frequencies of amino acids in secondary structural elements of globular proteins. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 13(2), 84-89. <https://doi.org/10.33808/clinexphealthsci.1239176>
- Needleman, S. B., & Wunsch, C. D. (1970). A general method applicable to the search for similarities in the amino acid sequence of two proteins. *Journal of molecular biology*, 48(3), 443-453. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(70\)90057-4](https://doi.org/10.1016/0022-2836(70)90057-4)
- Nesloney, C. L., & Kelly, J. W. (1996). Progress towards understanding  $\beta$ -sheet structure. *Bioorganic & medicinal chemistry*, 4(6), 739-766. [https://doi.org/10.1016/0968-0896\(96\)00051-X](https://doi.org/10.1016/0968-0896(96)00051-X)
- Rees, D. C., & Adams, M. W. (1995). Hyperthermophiles: Taking the heat and loving it. *Structure*, 3(3), 251-254. [https://doi.org/10.1016/s0969-2126\(01\)00155-1](https://doi.org/10.1016/s0969-2126(01)00155-1)
- Rehman, I., Farooq, M., & Botelho, S. (2017). Biochemistry, secondary protein structure. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*.
- Richardson, J. S. (1976). Handedness of crossover connections in beta sheets. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 73(8), 2619-2623. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.8.2619>
- Rose, S., Auxilien, S., Havelund, J. F., Kirpekar, F., Huber, H., Grosjean, H., & Douthwaite, S. (2020). The hyperthermophilic partners Nanoarchaeum and Ignicoccus stabilize their

- tRNA T-loops via different but structurally equivalent modifications. *Nucleic Acids Research*, 48(12), 6906-6918. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa411>
- Rost, B. (2001). Protein secondary structure prediction continues to rise. *Journal of structural biology*, 134(2-3), 204-218. <https://doi.org/10.1006/jsbi.2001.4336>
- Schönheit, P., & Schäfer, T. (1995). Metabolism of hyperthermophiles. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 11, 26-57. <https://doi.org/10.1007/BF00339135>
- Schulz, G. E., & Schirmer, R. H. (2013). *Principles of protein structure*. Springer Science & Business Media. <https://doi.org/10.1007/978-1-4612-6137-7>
- Segerer, A., Neuner, A., Kristjansson, J. K., & Stetter, K. O. (1986). *Acidianus infernus* gen. nov., sp. nov., and *Acidianus brierleyi* comb. nov.: Facultatively aerobic, extremely acidophilic thermophilic sulfur-metabolizing archaeobacteria. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 36(4), 559-564. <https://doi.org/10.1099/00207713-36-4-559>
- Smith, T. F., & Waterman, M. S. (1981). Identification of common molecular subsequences. *Journal of molecular biology*, 147(1), 195-197. [https://doi.org/10.1016/0022-2836\(81\)90087-5](https://doi.org/10.1016/0022-2836(81)90087-5)
- Stein, S. (1990). *Fundamentals of protein biotechnology*. Taylor & Francis.
- Stetter, K. O. (1999). Extremophiles and their adaptation to hot environments. *FEBS letters*, 452(1-2), 22-25. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00663-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00663-8)
- Stetter, K. O. (2002). Hyperthermophilic microorganisms. In *Astrobiology: The quest for the conditions of life* (pp. 169-184). Springer. [https://doi.org/10.1016/S0014-5793\(99\)00663-8](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(99)00663-8)
- Stolz, A. (2017). *Extremophile Mikroorganismen*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-662-55595-8>
- Taylor, T. J., & Vaisman, I. I. (2010). Discrimination of thermophilic and mesophilic proteins. *BMC structural biology*, 10, 1-10. <https://doi.org/10.1186/1472-6807-10-S1-S5>
- Urbietta, M. S., Donati, E. R., Chan, K.-G., Shahar, S., Sin, L. L., & Goh, K. M. (2015). Thermophiles in the genomic era: Biodiversity, science, and applications. *Biotechnology Advances*, 33(6), 633-647. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.04.007>
- Vieille, C., & Zeikus, J. G. (1996). Thermozyms: Identifying molecular determinants of protein structural and functional stability. *Trends in Biotechnology*, 14(6), 183-190. [https://doi.org/10.1016/0167-7799\(96\)10026-3](https://doi.org/10.1016/0167-7799(96)10026-3)

- Vogt, G., & Argos, P. (1997). Protein thermal stability: Hydrogen bonds or internal packing? *Folding and Design*, 2, S40-S46. [https://doi.org/10.1016/s1359-0278\(97\)00062-x](https://doi.org/10.1016/s1359-0278(97)00062-x)
- Vogt, G., Woell, S., & Argos, P. (1997). Protein thermal stability, hydrogen bonds, and ion pairs. *Journal of molecular biology*, 269(4), 631-643. [https://doi.org/10.1016/s1359-0278\(97\)00062-x](https://doi.org/10.1016/s1359-0278(97)00062-x)
- Watanabe, K., Chishiro, K., Kitamura, K., & Suzuki, Y. (1991). Proline residues responsible for thermostability occur with high frequency in the loop regions of an extremely thermostable oligo-1, 6-glucosidase from *Bacillus thermoglucosidasius* KP1006. *Journal of Biological Chemistry*, 266(36), 24287-24294. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)54226-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)54226-5)
- Woese, C. R. (2012). *Archabacteria* (Vol. 8). Elsevier.
- Zierenberg, R. A., Adams, M. W., & Arp, A. J. (2000). Life in extreme environments: Hydrothermal vents. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(24), 12961-12962. <https://doi.org/10.1073/pnas.210395997>

## 9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	İpek	Soyadı	Çakmak
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu		Tel	
E-mail			

### Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Yüksek Lisans		
Lisans		

### İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1		
2		
3		

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce			

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

### Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma Becerisi

## 10. BİLİMSEL FAALİYETLER

### Makale

Ürper, O., Çakmak, İ., & Karatepe, N. (2018). Fabrication of carbon nanotube transparent conductive films by vacuum filtration method. *Materials Letters*, 2018, 223, 210–214. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2018.03.184>

### Bildiri (Sözel)

Çakmak, İ., & Nacar, C., (2023, Ekim 7-9). Hipertermofil canlılara ait proteinlerin ikincil yapı özellikleri. 12. *Ulusal Moleküler Biyoloji ve Biyoteknoloji Kongresi*, 2023.