

**MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYONLARINDA
DİSSİPATİF KUVVETİN YAPTIĞI İŞİN HESAPLANMASI**

**COMPUTATION OF THE WORK DONE BY THE
DISSIPATIVE FORCE IN MOLECULAR DYNAMICS**

Berkay ARSLAN

PROF. DR Turgut BAŞTUĞ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2022

ÖZET

MOLEKÜLER DİNAMİK SİMÜLASYONLARINDA DİSSIPATİF KUVVETİN YAPTIĞI İŞİN HESAPLANMASI

Berkay ARSLAN

Yüksek Lisans, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Turgut BAŞTUĞ

Haziran 2022, 56 sayfa

Sürtünmenin atomik skalada modellemeleri oldukça zor olmasına rağmen, son zamanlar ortaya çıkan teorik ve deneysel teknikler sayesinde, geleneksel modellemelerle şimdiye kadar incelenemeyen atomik ölçeklerde sürtünmenin incelenmesine olanak sağlamıştır. Bu tez çalışmasında biyomoleküler sistemler için denge durumu gerektirmeyen nümerik serbest enerji hesabı metotları geliştirilirken, denge durumu gerektirmeyen hesaplarda sürekli karşılaşılan dissipatif kuvvetlerin yaptığı iş de bu metotlar yardımıyla hesaplanacaktır. Literatürde denge dışı bir metot olan Jarzynski eşitliğinin basit sistemlerde çalıştığı halde biyomoleküller gibi karmaşık sistemlerde çalışmadığı gösterilmiştir ve bunun sebebinin örnekleme problemi ve çekme hızı nedeniyle ortaya çıkan dissipatif kuvvetin yaptığı iş olduğu sonucu çıkarılmıştır. İlerleyen yıllarda ortaya çıkan faz uzayı yöntemi ile dissipatif kuvvetin yaptığı işi hesaplamak mümkün olmuştur.

Bu tez kapsamında öncelikle Jarzynski eşitliği ve faz uzayı yöntemleri moleküler dinamik simülasyonlarının çıktılarını kullanabilecek şekilde kodlandı. Bu süreçte faz uzayı yönteminin kullanımı için gerekli olan olasılık yoğunluk dağılımlarını yönlendirilmiş moleküler dinamik simülasyonlarından elde edebilmek için ağırlıklı histogram analizi metodu yaklaşımı kullanıldı. Sonraki adımda bu denge dışı yöntemleri test etmek için fiziksel olmayan ve su içinde tek bir iyonun çekildiği sistem kuruldu. Bu basit sistemde Jarzynski eşitliği ve faz uzayı metodu test edilerek çalıştığı gösterildi. Fakat bu sistem için karşılaştırılabilecek bir deneysel veri eksikliğinden dolayı bu sisteme çekme koordinatı boyunca gaussien bir potansiyel uygulandı. 10 Å/ns çekme hızına kadar sistemde dissipatif iş hesaplanabilmiştir. Sisteme uygulanan potansiyel de elde edildikten sonra bu yöntemler daha karmaşık bir biyomoleküler sistem olan Gramicidin A iyon kanalı hesaplamaları yapılmıştır. Bu sistemde ise sadece 1 Å/ns çekme hızı için Gramicidin A kanalının serbest enerji profili elde edilirken daha yüksek hızlarda dissipatif kuvvetin olması gerekenden daha düşük çıkması ortak bir davranış olarak gözlenmiştir. Bu sapmanın nedenlerinin ise yetersiz örnekleme ve olasılık yoğunluk fonksiyonlarını bulmak için yapılan yaklaşımdaki hata payı olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak faz uzayı metodunu uygulamak için bir yöntem geliştirilip basit ve kompleks sistemlerde uygulanmış ve literatürde Jarzynski eşitliğinin çok düşük hızlarda dahi çalışmadığı durumlarda faz uzayı yöntemiyle dissipatif kuvvetin yaptığı iş hesaplanıp yola bağlı serbest enerji eğrileri elde edilmiştir. Dissipatif kuvvetin yaptığı işi moleküler dinamik simülasyonlarında hesaplayan dolayısıyla nano boyutta sürtünme kuvvetinin hesaplanabilmesini sağlayan ilk çalışma ortaya çıkmıştır.

Anahtar Kelimeler: Dissipatif kuvvet, Nano-sürtünme, Serbest enerji hesabı, İyon kanalları, Jarzynski eşitliği, Faz uzayı hesabı, Denge dışı termodinamik, Moleküler dinamik simülasyonu

ABSTRACT

COMPUTATION OF THE WORK DONE BY THE DISSIPATIVE FORCE IN MOLECULAR DYNAMICS

Berkay ARSLAN

Master of Science, Nanotechnology and Nanomedicine Division

Supervisor: Prof. Dr. Turgut BAŞTUĞ

June 2022, 56 Pages

Although it is quite difficult to model friction on the atomic scale, recent theoretical and experimental techniques have enabled the study of friction at atomic scales, which could not be studied with conventional models until recently. In this thesis, numerical free energy calculation methods that do not require equilibrium state for biomolecular systems will be developed, while the work done by dissipative forces, which are constantly encountered in calculations that do not require equilibrium state, will be calculated with the help of these methods. In literature, it has been shown that the Jarzynski equation, which is a non-equilibrium method, works in simple systems but does not work in complex systems such as biomolecules, and it is concluded that the reason is the work done by the dissipative force during the pulling motion. With the phase space method that emerged in the following years, it was possible to calculate the work done by the dissipative force.

Within the scope of this thesis, first of all, the Jarzynski equation and phase space methods were coded to use the outputs of molecular dynamics simulations. In this process, the weighted histogram analysis method approach was used to obtain the probability density distributions required for the use of the phase space method from steered molecular dynamics simulations. In the next step, to test these non-equilibrium methods, a non-physical system in which a single ion is pulled in water was created. In this simple system, the Jarzynski equation and the phase space method have been tested and shown to work. However, due to the lack of comparable experimental data for this system, a Gaussian potential was applied along the pulling coordinate to the system. It was shown that Dissipative work can be calculated in the system up to 10 Å/ns pulling speed. After obtaining the potential applied to the system, these methods were used for the calculations for Gramicidin A ion channel, which is a more complex biomolecular system. Free energy profile of Gramicidin A channel was only obtained consistent with the literature for 1 Å/ns and it was observed as a common behavior that the dissipative force was lower than it should be at higher pulling speeds. It is thought that the reasons for this deviation are insufficient sampling and the margin of error in the approach made to find the probability density functions.

In conclusion, a program has been developed and applied in simple and complex systems to apply the phase space method, and in the literature, in cases where the Jarzynski equation does not work even at very low speeds, the work done by the dissipative force is calculated with the phase space method and free energy surfaces depending on the path are obtained. Hence, the first study, which calculates the work done by the dissipative force in molecular dynamics simulations, and thus enables the calculation of the friction force at nanoscale, has emerged.

Keywords: Dissipative force, Nano-friction, Free energy calculations, Ion channels, Jarzynski equality, Phase space method, Non-equilibrium thermodynamics, Molecular Dynamics simulations

TEŞEKKÜR

Çalışmalarım boyunca yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren değerli hocam Prof. Dr. Turgut Baştuğ'a, tecrübelerinden faydalandığım Prof. Dr. Gökhan Barış Bağcı, Dr. Murat Çavuş, Ali Osman Acar, Oğuz Salih Okçu ve Emre Gürsoy'a, Hacettepe Nanoteknoloji ve Nanotıp anabilim dalı ve Hacettepe Biyofizik anabilim dalı öğretim üyelerine, Yardımları, yapıcı yorumları ve önerileriyle tezimi tamamlamamda bana yardımcı olan Dr. Öğr. Üyesi Telem Şimşek'e ve destekleriyle her zaman yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Bu tez çalışması 119F016 kodlu TÜBİTAK projesi tarafından desteklenmiştir. Desteklerinden dolayı TÜBİTAK ve Hacettepe Üniversitesine teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
1. GİRİŞ	1
1.1. Literatür Özeti	1
2. Moleküler dinamik	4
2.1. Giriş 4	
2.1.1 Uygulamalar	4
2.1.2 Termodinamik ve İstatistiksel Mekanik İlişkisi	5
2.1.3 Faz uzayının örnekleme.....	7
2.1.4 Klasik Hareket Denklemleri.....	7
2.1.6 Moleküler Dinamik Simülasyonlarında Hareket denklemlerinin nümerik integrasyon algoritmaları	9
2.1.6 Kuvvet Alanı	12
2.1.7 Periyodik Sınır Koşulları.....	15
2.1.8 Ewald toplamı	15
2.1.9 Sıcaklık Kontrolü	17
2.1.10 Basınç Kontrolü.....	18
2.2 Şemsiye Örnekleme.....	19
2.3 Jarzynski Eşitliği (JE) ve Faz Uzayı Metodu	24
2.4 Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD).....	26
3. Metod ve Bulgular.....	30
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	48
6. KAYNAKLAR.....	51
ÖZGEÇMİŞ	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1: Bağ yapan etkileşimlerin şematik gösterimi. Aşağıdan yukarıya bağ gerilmesi, bağ bükülmesi ve burulma ya da dihedral enerjisini temsil eder. (Phillips ve ark., 2005).....12
- Şekil 2.2: Şemsiye örnekleme metodu (Lemkul.,2022).....18
- Şekil 2.3: Tek boyutta sabit hızla çekme. Sahte atom kırmızı, SMD atomu mavi renktedir. Sahte atom sabit hızla hareket ederken, SMD atomu, her iki atom arasındaki mesafeye doğrusal olarak bağlı olan bir kuvvete maruz kalır. (Phillips ve ark., 2005).....26
- Şekil 3.1. Su kutusunda bir sodyum iyonunun -5 Å pozisyonundan $+5 \text{ Å}$ pozisyonuna çekilmesi. Çekme işleminde 20 örnekleme ve $v = 2.5, 5, 10, 20, 40 \text{ Å/ns}$ hızları kullanılmıştır. Şekilde, $v = 2.5 \text{ Å/ns}$ için yörüngeler verilmiştir....31
- Şekil 3.2. Su kutusunda bir sodyum iyonunun hareketi esnasında hesaplanan iş fonksiyonları. Hız arttıkça dissipatif kuvvet artmaktadır. Çekme işleminde 20 örnek alınmış ve dissipatif kuvvet 20 örnek üzerinden Jarzynski eşitliği ile hesaplanmıştır.....32
- Şekil 3.3. SMD'den elde edilen verilerin şemsiye örnekleme yöntemine dönüştürülmesi. Dönüştürme işleminde pencere genişliği 0.25 Å alınmış ve çekme işlemi $v = 2.5, 5, 10, 20, 40 \text{ Å/ns}$ hızlarında 20 örneklemede yapılmıştır.....33
- Şekil 3.4. SMD verisinde elde edilen 1. (W1) ve 30. (W30) pencerelere ait koordinatlar ve dağılımları.....34
- Şekil 3.5. $v = 5 \text{ Å/ns}$ hızla çekilen iyonun dissipatif kuvvetin yaptığı işin Jarzynski ve SMD2US yöntemleri ile hesaplanması. Jarzynski hesabında 20 örnekleme üzerinden ortalama alınmış, aynı örnekleme SMD2US için kullanılmıştır.....35

Şekil 3.6. Değişik hızlarda hesaplanan görelî entropi eğrileri. Eğriler reaksiyon yolu boyunca integrand değerlerini vermektedir.....	36
Şekil 3.7. Su kutusu içerisine uygulanan Gauss potansiyeli ve iyonun farklı kuvvet sabitleri ile çekildiğinde elde edilen koordinat dağılımı.....	38
Şekil 3.8. Gauss potansiyeli uygulanan iyonun su içinde değişik hızlarda çekilmesiyle elde edilen iş ve serbest enerji eğrileri.....	40
Şekil 3.9. GA sistemi verilmiştir. Şekilde, simetrik helis çifti proteini, su moleküllerini, K^+ ve Cl^- iyonlarını göstermektedir. Şekilde alt ve orta bağlanma cebinde bulunan K^+ iyonu bulunmaktadır. GA sistemi $65 \times 65 \times 85 \text{ Å}^3$ boyutundadır.....	42
Şekil 3.10 GA kanal eksenî boyunca hesaplanan ortalama kuvvet potansiyeli. Toplam potansiyel 5 ns süresince toplanan yörüngesinden elde edilmiştir.....	43
Şekil 3.11. GA kanalında reaksiyon koordinatı boyunca PMF eğrileri. GA kanalında iyon alt bağlanma cebinden üst bağlanma cebine yönlendirilmiş MD simülasyonları ile çekilmiştir. Çekme sürecinde yine $v = 1.0 \text{ Å/ns}, 2.5 \text{ Å/ns}, 5.0 \text{ Å/ns}, 10 \text{ Å/ns}, 20 \text{ Å/ns}$ ve 40 Å/ns hızları kullanılmıştır.....	45

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1. En sık kullanılan kümeler. N parçacık sayısı, V hacim, T sıcaklık, P basınç, E enerji, μ ise kimyasal potansiyeli temsil eder. Denge fonksiyonu ise denge durumunda minimize olan fonksiyonu ifade etmektedir.....5



SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

$P(i)$	i durumunun olasılığı
$V(i)$	i durumunun potansiyel enerjisi
k_b	Boltzmann sabiti
Q	Bölüşüm fonksiyonu (Partition Function)
N	Parçacık sayısı
V	Hacim
T	Sıcaklık
P	Basınç
E	Enerji
μ	Kimyasal potansiyel
S	Entropi
F	Helmholtz serbest enerjisi
G	Gibbs serbest enerjisi
Ω	Grand Potansiyel (Grand Potential)
F_i	i numaralı atoma uygulanan kuvvet
m_i	i numaralı atomun kütlesi
a_i	i numaralı atomun ivmesi
v_i	i numaralı atomun hızı
p_i	i numaralı atomun momentumu
q_i	i numaralı atomun konumu
t	Zaman

V	Potansiyel enerji fonksiyonu
T	Kinetik enerji
k	Yay sabiti
τ	Yükselme Zamanı (Rising Time)
γ	Sönümlleme katsayısı, viskozite
f	Rastgele kuvvet fonksiyonu
σ^2	Varyans
r	Atomlar arası mesafe
r_0	Denge uzaklığı
θ	Atomlar arası açı
θ_0	Denge açısı
θ	Atomlar arası açı
q_i ve q_j	Atomik yükler
R	İdeal gaz sabiti
ξ	Reaksiyon koordinatı
δ_{ij}	Kronecker deltası
$\omega(\xi(q))$	Bias potansiyeli
$\langle \quad \rangle$	Ortalama değer
ρ_i	i durumu için ileri yönlü dağılım fonksiyonu
$\tilde{\rho}_j$	i durumu için geri yönlü dağılım fonksiyonu
$D(\rho_j \tilde{\rho}_j)$	Kullback-leibler uzaklığı, göreceli entropi
$\vec{n}$	Normal doğrultu vektörü
ΔF	Serbest enerji farkı
$\text{\AA}$	Angstrom

Kısaltmalar

MD	Moleküler Dinamik
MM	Moleküler Mekanik
PMF	Ortalama Kuvvet Potansiyeli (Potential of Mean Force)
RMSD	Karelerin Ortalamasının Karekökündeki Sapma (Root Mean Square Deviation)
SMD	Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (Steered Molecular Dynamics)
US	Şemsiye Örnekleme (Umbrella Sampling)
WHAM	Ağırlıklı Histogram Analiz Yöntemi (Weighted Histogram Analysis Method)
AFM	Atomik Güç Mikroskobu (Atomic Force Microscope)
KPB	Kawai, Paarondo, Broeck Denklemi
JE	Jarzynski Eşitliği

1. GİRİŞ

Bir obje viskoz bir sıvı ya da gaz ortamda veya bir yüzey üzerinde hareket ederken hareketine direnç gösteren kuvvete sürtünme kuvveti denir. Sürtünme kuvveti kayma hareketi yapan malzemelerin kinetik enerjilerini iç enerjiye dönüştürür yani korunumsuzdur. Dolayısıyla sürtünme kuvveti sürdürülebilirlik ve yaşam kalitesi açısından büyük sorunlar yaratır ve ekonomik etkisi de oldukça büyüktür. Bir tahmine göre, triboloji (sürtünme, aşınma ve yağlama konularını inceleyen bilim dalı) konusunda artan çalışmalar sayesinde gelişmiş ülkelerin gayri safi milli hasıllarının %1.6'sına kadar tasarruf sağlanabilir ve sadece ABD'de yıllık 225 milyar dolara yakın bir tasarruf sağlanabilir (Hsu, Ying ve Zhao, 2014).

Yapılan uygulamanın makro-skala (türbin motoru vb.) ya da nano-skala içermesine bakılmaksızın, sürtünme kuvvetinin doğasının tamamıyla anlaşılması ancak dissipatif (enerji tüketen) olayların nano-skalada incelenmesiyle ulaşılabilir. Malzemelerin ara yüzlerindeki etkileşimler yüzünden kinetik enerjinin bir kısmının termal enerjiye dönüştüğü ve dissipatif mekanizmalara ilişkin ilk ilkelerin anlaşılmasının başladığı yer burasıdır (Manini ve ark., 2017; Sankar ve ark., 2019). Bu modellerin tutarlı sonuçlar verebilmesi için ara yüzün sadece atomik uzunluk skalasında değil, aynı zamanda atomik zaman skalasında da karakterizasyonunu gereklidir. Sürtünmenin atomik skalada modellemeleri oldukça zor olmasına rağmen, son zamanlar ortaya çıkan (Kawai, Parrondo ve Broeck, 2007) teorik ve deneysel teknikler sayesinde, geleneksel modellemelerle şimdiye kadar incelenemeyen atomik ölçeklerde sürtünmenin incelenmesine olanak sağlamıştır. Bu çalışmada da Jarzinsky ve Crook'un birbirinden bağımsız olarak geliştirdiği, geçerliliği literatürde "optik cımbız" olarak geçen deneylerle doğrulanmış (Hummer ve Szabo, 2005), teorik modeller kullanılarak moleküler dinamik simülasyonlarında dissipatif kuvvetin hesaplanması amaçlanmıştır.

1.1. Literatür Özeti

Son yıllarda denge dışı dinamiklerde bazı yeni serbest enerji hesaplama metotları teorik olarak geliştirilmiştir (Jarzynski, 1997; Crooks, 1999; Kawai, Parrondo ve Broeck, 2007;

Parrondo, Broeck ve Kawai, 2009). Bu metotlar basit sistemlerde çalıştığı halde biyomoleküller gibi karmaşık sistemlerde test edilmemişlerdir (Liphardt ve ark., 2002; Hummer ve Szabo, 2004). İlerleyen yıllarda Jarzynski eşitliğinin (JE) biyomoleküler sistemler için geçerliliği test edilmiş, çalışmadığı gösterilmiştir (Baştuğ ve Kuyucak, 2007b; Baştuğ ve ark., 2008; Cuendet ve Michielin, 2008). Baştuğ ve Kuyucak yaptığı çalışmalarda ise Jarzynski eşitliğinin dengeden uzak, yüksek çekme hızlarında çalışmadığını gösterip bunun sebebini örnekleme problemi ve çekme hızı nedeniyle ortaya çıkan sürtünme kuvvetinin yaptığı iş olduğu sonucu çıkarmıştır.

Ancak daha sonra yapılan çalışmalar dissipatif kuvvetin yaptığı işe odaklanmadan, serbest enerji hesaplamalarına yöneliktir. (Cuendet ve Michielin, 2008; Vashisth ve Abrams, 2008). Cuendet ve Michielin yaptığı çalışmada deneysel değerlerden daha düşük değerler bulmuş ve Jarzynski eşitliğini iki protein kompleksinin serbest enerjilerini birbirinden ayırt etmek üzere kullanmıştır.

Teknolojideki son gelişmeler sayesinde, nano ölçekte tek bir molekülü yüksek çözünürlükte görüntüleyecek, manipüle edecek ve etki eden kuvvetleri ölçecek aletler, bu aletlere dayalı deneysel yöntemler geliştirilmiştir. Atomik kuvvet mikroskobu, optik ve manyetik cımbızlar, nano ölçekte kuvvet ve dolayısıyla potansiyel ölçmek için kullanılan deneysel yöntemlerin başında gelirler. Deneysel yöntemlere paralel olarak yönlendirilmiş moleküler dinamik simülasyon yöntemleri kullanılarak nano boyutta potansiyel ve dolayısıyla da kuvvet hesaplamak mümkündür. Hem deneysel hem de hesaplamalı bu yöntemler nano yüzeylerde ve biyolojik moleküllerde uygulama bulmaktadır (Ritort, 2006; Sankar ve ark., 2019; Rodriguez ve ark., 2021).

Örneğin çift sarmallı bir RNA molekülünü katlamak ya da katlanmış molekülü açmak için optik cımbız yöntemi kullanılmıştır (Ritort, 2006; Collin vd, 2005). Benzer şekilde AFM deneyleri kullanarak membran içerisindeki mekano-duyarlı iyon kanallarının denge durumuna gelmeleri için gerekli ölçümler yapılmış ve serbest enerji yüzeyleri çıkartılmıştır (Çetiner ve ark., 2020). Gerek kuvvet ölçümü gerekse yüzey potansiyeli için dissipatif kuvvetler ve bu kuvvetlerin yaptığı iş olarak karşımıza çıkmaktadır. Dissipatif kuvvetler, hareket gerçekleştiğinde bir sistemden enerji kaybına neden olan kuvvetlerdir.

Bu enerji kaybını modelleyen güncel teoriler bulunsa da (Manini ve ark., 2017) bu kayıp basitçe enerjinin atomların çarpışması ile ısıya ya da parçacıkların hareketi nedeniyle radyasyona dönüşmesidir. Enerji kaybına neden olan dissipatif kuvvetlerin kaynağı nano düzeydeki her türlü sürtünmedir. Dissipatif kuvvet hesaplamayı nano düzeyde sürtünme kuvveti hesaplamak olarak tanımlamak mümkündür.

Nano sistemlerde kuvvet-potansiyel ölçümü deneysel olarak yapılacağı gibi hesaplama teknikleri ile de yapmak mümkündür. Moleküler dinamik simülasyonları ya da Monte Carlo simülasyonları bu yöntemlerin başında gelmektedir. Moleküler dinamik simülasyonları ile serbest enerji hesabı yaparak karmaşık bir nano sistemde tek bir moleküle ait potansiyel ve kuvveti hesaplamak mümkündür.

Bu tez çalışmasında 119F016 numaralı Tübitak projesi kapsamında biyomoleküler sistemler için denge durumu gerektirmeyen nümerik serbest enerji hesabı metotları geliştirilirken, bu metotlar yardımıyla bir molekül için dissipatif kuvvet de hesaplanacaktır.

2. MOLEKÜLER DİNAMİK

2.1. Giriş

Moleküler dinamik simülasyonları günümüzde moleküler sistemlerin özelliklerini anlamak, belirli güven aralıkları içinde tahmin etmek ve tahmin edilen özellikleri kullanarak yeni moleküller tasarlamak ve geleneksel deneyleri bir tamamlayıcısı olarak önemli bir rol oynamaktadır. MD simülasyonlarının çalışma prensibi basitçe moleküler sistemi oluşturmak ve sistemin hareketini zaman içinde takip etmektir. İlk MD makalesi molekülleri sert küreler olarak ele alan Alder ve Wainright tarafından 1957’da yayınlandı (Alder ve Wainright, 1957).

Günümüzde ise atomları moleküler modelin temel parçacıkları olarak seçilip Newton’un hareket denklemlerine göre zamanda ilerletilir. Atomların arasındaki etkileşimler de daha önceden hazırlanmış bir potansiyel fonksiyonu ile ifade edilir. Ancak etkileşimlerin çoğu harmonik potansiyeller kullanılarak tanımlandığı için klasik MD bağ kopması, oluşumu, ışık-madde etkileşimi gibi kimyasal olayları modelleyemez ve dolayısıyla sistemin topolojisi zaman içinde değişmeyecektir.

2.1.1 Uygulamalar

MD simülasyonları sistemleri tanımlamak için birçok farklı yöntem kullanan geniş bir metodoloji dalıdır ve malzeme bilimi, yapısal biyokimya, biyofizik, enzimoloji, biyomedikal, moleküler biyoloji, farmasötik kimya ve biyoteknoloji alanlarında kullanılmaktadır (Karplus ve Mccammon, 2002).

MD simülasyonları termodinamik ya da reaksiyon kinetiklerini inceleyebilir. Bu da deneysel olarak erişilemeyen bazı süreçlerin anlaşılmasını sağlar. Ancak MD yörüngeleri sadece atomik konum, hız ve tek-parçacık enerjileri sağlar. Bu atomistik verilerden makroskobik özelliklerin hesaplanması istatistiksel mekaniğin kullanılmasını gerektirir (Adcock ve Mccammon., 2006).

2.1.2 Termodinamik ve İstatistiksel Mekanik İlişkisi

MD simülasyonlarından bilgi elde etmek için hem termodinamik hem istatistiksel mekanik birlikte kullanılmalıdır. Termodinamik serbest enerji, entalpi, basınç gibi mikroskobik değerlere anlam verirken istatistiksel mekanik bunların mikroskobik nedenlerini inceler. İstatistiksel mekanikte en önemli konseptlerden olan, belli bir durumu ziyaret etme olasılığını sistemin enerjisi ile ilişkilendiren Boltzmann faktörüdür.

$$P(i) = \frac{\left(e^{\frac{-V(i)}{k_B T}} \right)}{Q} \quad (1)$$

$V(i)$ sistemin potansiyel enerjisi, k_b Boltzmann sabiti ve T sistemin sıcaklığıdır. Paydada yer alan Q terimi ise partition ya da bölüşüm fonksiyonu olarak adlandırılan ve sistemin termal olarak erişebileceği durumların tümünü içeren bir fonksiyondur ve sistemin termodinamik özellikleri bölüşüm fonksiyonuna bağlıdır.

Mikroskobik olarak bir durumdan başka bir duruma geçiş rastgele ya da stokastik gerçekleşir ama ortalama davranış açısından öngörülebilirlerdir. Durum geçişleri basit sistemler için hesaplanabilir ancak N sayıda parçacık içeren bir sistemin $6N$ tane serbestlik derecesi olacağından ortaya karmaşık enerji yüzeyleri çıkar ve bu durum geçişlerini tahmin etmek zorlaşır. Sistemin tüm durumlarının birleşimi faz uzayı olarak adlandırılır.

Durumlar arası geçişleri incelemek için küme ya da ensemble kavramı kullanılır. Küme sabit hacim, enerji, sıcaklık, basınç, bileşime sahip belirli sayıda tekrarlanan termodinamik bir sistemlerdir. Kümenin farklı sayıda kopyası farklı enerjilere sahip olacaktır ve bu yüzden küme özgün bir konfigürasyonda olacaktır. Denklem 1'i kullanarak en yüksek olasılıklı durumun en düşük enerjili durum olacağı tahmin edilebilir. Sistem sayısının sonsuza gittiği durumda yani termodinamik sınırdaki en olası konfigürasyon sistemin makroskobik özelliklerini belirleyecektir. Bölüşüm fonksiyonu ve küme kavramları ile istatistiksel termodinamik mikroskobik özelliklerden istatistiki

ortalamlar yoluyla makroskobik termodinamik özellikleri türetir. Farklı kümeler sabit kalan özelliklerine göre adlandırılır.

Tablo 1. En sık kullanılan kümeler. N parçacık sayısı, V hacim, T sıcaklık, P basınç, E enerji, μ ise kimyasal potansiyeli temsil eder. Denge fonksiyonu ise denge durumunda minimize olan fonksiyonu ifade etmektedir.

Bağımsız Değişkenler	İsim	Denge fonksiyonu
NVE	Mikro kanonik	S, Entropi
NVT	Kanonik	F, Helmholtz Serbest Enerjisi
NPT	İzotermal-İzobarik	G, Gibbs Serbest Enerjisi
μVT	Grand Kanonik	Ω , Büyük Potansiyel

Kümenin bir özelliği deneysel olarak ölçüldüğünde sistemin parçacıkları farklı durumlarda olacaktır ve ölçülen özellik her durumun ağırlık ortalaması olacaktır. Bir MD yörüngesinde tek bir sistem kopyasının simülasyon sırasında farklı durumları ziyaret eder ve bunun sonucunda sistemin özellikleri için zaman ortalaması elde edilir. Eğer örnekleme süresi sonsuz olsaydı zaman ortalaması ve küme ortalaması aynı olurdu ancak bir sistemin sonsuz uzunlukta simüle edilmesi mümkün değildir. Ergodik varsayım sayesinde simülasyonlardan elde edilen zaman ortalamaları küme ortalaması olarak kullanılabilir. Ergodik ilke sayesinde MD yörüngelerinden küme ortalamaları hesaplanıp termodinamik özelliklere geçilebilir. Yani ergodiklik basitçe birçok parçacıktan oluşan bir sistemin sonsuz sayıda kopyasını kullanmak yerine sistemi yeterince uzun bir zaman boyunca simüle ederek aynı ortalama değerleri bulmamızı sağlar.

Bilinmesi gereken önemli konseptlerden biri de olasılık dağılımını kullanarak serbest enerjinin hesaplanmasıdır. Serbest enerjinin bilinen tek bir serbestlik derecesinde incelenmesine Potential of mean force (PMF) ya da ortalama kuvvet potansiyeli denir.

$$\Delta G(i) = k_B T \ln W(i) \quad (2)$$

2.1.3 Faz uzayının örnekleme

MD simülasyonlarında durum geçişleri arasında büyük bir enerji bariyeri olması durumunda sistemin olası tüm durumları ziyaret edilebilir mi? Ne kadar çok durum ziyaret edilebilirse örnekleme o kadar iyi olur ancak yüksek olasılıklı durumları için bile yüksek enerji bariyerleri başka durumlara geçiş olasılığını azaltacaktır. Özellikle enerji bariyerleri birkaç $k_B T$ 'den büyükse. Dolayısıyla eğer sistem başlangıcında yüksek enerji bariyerleri ile çevrili bir potansiyel kuyuda yer alıyorsa simülasyon süresi çok uzun tutulmadıkça başka durumlar ziyaret edilmeyecektir. Bu probleme nonergodiklik adı verilir ve birbirinden büyük enerji bariyerleri ile ayrılan yüksek olasılıklı durumlardan biri örneklemez. Bu durumun üstesinden gelmek için Replica Exchange MD, Metadinamik, Şemsiye Örnekleme gibi gelişmiş örnekleme teknikleri kullanılır. Gelişmiş örnekleme teknikleri denge durumu gerektiren, gerektirmeyen ve reaksiyon koordinatı bilinen ya da bilinmeyen gibi farklı gruplara ayrılır.

2.1.4 Klasik Hareket Denklemleri

Yukarıda bahsedildiği gibi MD sistemin zaman içindeki evrimini hesaplamak için Newton'un hareket denklemlerini kullanır. Bu yüzden MD simülasyonlarını anlamak için hareket denklemlerinin anlaşılması kritik önem taşır. N atomdan oluşan bir sistemde i numaralı atom üzerinde F_i kuvvetini hisseder.

$$F_i = m_i * a_i = m_i \frac{dv_i}{dt} = \frac{dp_i}{dt} \quad (3)$$

Korunumlu ya da izole bir sistemde potansiyel enerji sadece atomların pozisyonuna bağlıdır yani bir zaman bağımlılığı yoktur. Böyle bir sistemde atom i üzerine uygulanan kuvvet potansiyel enerjinin negatif gradyenti ile verilir.

$$F_i = - \frac{dV}{dq_i} \quad (4)$$

Denklem 3 ve Denklem 4 birleştirilirse Hamilton'un ilk denklemi elde edilir. Bu denklem momentumun zamana göre değişimini potansiyel enerjinin negatif gradyentine bağlar.

$$\frac{dp_i}{dt} = - \frac{dV}{dq_i} \quad (5)$$

i numaralı atomun T_i kinetik enerjisi ise atomun ağırlığı ve hızı cinsinden aşağıdaki gibi ifade edilir.

$$T_i = \frac{1}{2} m_i v_i^2 = \frac{1}{2} \frac{m_i^2}{m_i} v_i^2 = \frac{p_i^2}{2m_i} \quad (6)$$

Atom pozisyonlarının zamana göre değişimini hesaplamak için kinetik enerjinin momentuma göre türevi alınır:

$$\frac{dT_i}{dp_i} = \frac{2p_i}{2m_i} = \frac{p_i}{m_i} = \frac{m_i \cdot v_i}{m_i} = v_i = \frac{dq_i}{dt} \quad (7)$$

Denklem 7 elde edilir ve bu denklemin organize edilmesiyle Hamilton'un ikinci denklemi elde edilir.

$$\frac{dq_i}{dt} = \frac{dT_i}{dp_i} \quad (8)$$

Hamilton denklemleri, denklem 5 ve 8 ile sistemdeki her atomun konum ve momentumlarının zaman içindeki değişimleri hesaplanır.

Teoride karşılaşılmayan ancak pratikte karşılaşılan bir sorun ise Hamilton denklemlerinin analitik çözümünün üçten fazla birbiri ile etkileşen cisim için olmamasıdır. Bu nedenle MD simülasyonlarında zaman evrimi için nümerik integrasyon algoritmaları kullanılır.

2.1.6 Moleküler Dinamik Simülasyonlarında Hareket denklemlerinin nümerik integrasyon algoritmaları

Birçok farklı algoritma olmasına rağmen en basit ve ilk geliştirilen Velocity Verlet algoritmasını incelenmesi pedagojik açıdan doğru olacaktır.

Başlangıç değerleri $q(t)$ ve $v(t)$ belli olan bir sistem için bir sonraki zaman adımı $q(t + \Delta t)$

Taylor serisi ile açılırsa:

$$q(t + \Delta t) = q(t) + \Delta t \frac{dq(t)}{dt} + \frac{\Delta t^2}{2!} \frac{d^2q(t)}{dt^2} + \frac{\Delta t^3}{3!} \frac{d^3q(t)}{dt^3} + \dots \quad (9)$$

elde edilir. Algoritmanın hızlı çalışması için sadece 2. kuvveti olan terimler hesaplanır. Eşitliğin sağ tarafındaki 2. terimin zamana göre türevi hıza eşit olur. 3.terimin zamana göre ikinci türevi ise ivmeye eşit olur.

$$a(t) = \frac{F(t)}{m} = - \frac{1}{m} \frac{dV(t)}{dq} \quad (10)$$

İvmeyi denklem 9'daki gibi potansiyelin gradyenti olarak yazarsak bir sonraki zaman adımında konum:

$$q(t + \Delta t) = q(t) + \Delta t v(t) - \frac{\Delta t^2}{2m} \frac{dV(t)}{dq} \quad (11)$$

Denklem 11'e eşit olur. Yine taylor serisini kullanarak hızın bir sonraki zaman adımında değerini bulmak istersek:

$$v(t + \Delta t) = v(t) + \Delta t \frac{dv(t)}{dt} + \frac{\Delta t^2}{2!} \frac{d^2v(t)}{dt^2} + \frac{\Delta t^3}{3!} \frac{d^3v(t)}{dt^3} + \dots \quad (12)$$

Hız bileşeni için de sadece 2. dereceden olan terimler hesaplanır. Denklem 12’de 2. dereceden olan terimi daha basit şekilde yazmak gerekir. Bunun için $\frac{dv(t)}{dt}$ etrafında bir taylor seri açılımı yapılır.

$$\frac{dv(t + \Delta t)}{dt} = \frac{dv(t)}{dt} + \Delta t \frac{d^2v(t)}{dt^2} + \frac{\Delta t^2}{2!} \frac{d^3v(t)}{dt^3} + \dots \quad (13)$$

Yine 3. ve daha büyük dereceli terimler ihmal edilir ve denklem 13 $\frac{\Delta t}{2}$ ile çarpılırsa:

$$\frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t + \Delta t)}{dt} = \frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t)}{dt} + \frac{\Delta t^2}{2} \frac{d^2v(t)}{dt^2} \quad (14)$$

Denklem 14 sayesinde 2. derecen olan terimi daha düşük dereceden olan terimlerle ifade etmiş oluruz.

$$\frac{\Delta t^2}{2} \frac{d^2v(t)}{dt^2} = \frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t + \Delta t)}{dt} - \frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t)}{dt} \quad (15)$$

Denklem 15’i denklem 12’de yerine koyarsak:

$$v(t + \Delta t) = v(t) + \Delta t \frac{dv(t)}{dt} + \frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t + \Delta t)}{dt} - \frac{\Delta t}{2} \frac{dv(t)}{dt} \quad (16)$$

Denklem 16 aritmetik olarak düzenlenirse:

$$v(t + \Delta t) = v(t) - \frac{\Delta t}{2m} \left(\frac{dV(t + \Delta t)}{dq} + \frac{dV(t)}{dq} \right) \quad (17)$$

elde edilir.

Denklem 17 ve denklem 11 velocity verlet algoritmasını oluşturur.

$$q(t + \Delta t) = q(t) + \Delta t v(t) - \frac{\Delta t^2}{2m} \frac{dV(t)}{dq} \quad (11)$$

$$v(t + \Delta t) = v(t) - \frac{\Delta t}{2m} \left(\frac{dV(t + \Delta t)}{dq} + \frac{dV(t)}{dq} \right) \quad (17)$$

Kısaca velocity verlet algoritması gösterilirse:

1. $\frac{dV(t)}{dq}$ hesaplanır.
2. Denklem 11'den $q(t + \Delta t)$ hesaplanır.
3. $\frac{dV(t + \Delta t)}{dq}$ hesaplanır.
4. Denklem 17'den $v(t + \Delta t)$ hesaplanır.
5. Adım 1 ve 4 istenilen t değerine ulaşılan kadar tekrar edilir.

Özetlenecek olursa hareket denklemlerinin integrasyonu için gereken bir sistemdeki tüm atomların konumları ve hızlarının yanında sistemin potansiyel enerjisini hesaplamamızı sağlayacak bir yöntemdir.

Yani MD simülasyonlarında bir sonraki zaman adımını hesaplamak için bir önceki adımın bilinmesi gerekir. Bir sistemin başlangıç konumları ya kuantum mekanik hesaplamalardan ya da deneysel verilerden gelirken başlangıç hızları ise Maxwell-Boltzmann dağılımından belli bir T sıcaklığı için atomlara rastgele atanır. Bunun için sistemin termal dengede olması gereklidir.

$$P(v) = \left(\frac{m}{2\pi k_b T} \right)^{3/2} 4\pi v^2 e^{-\frac{mv^2}{2k_b T}} \quad (18)$$

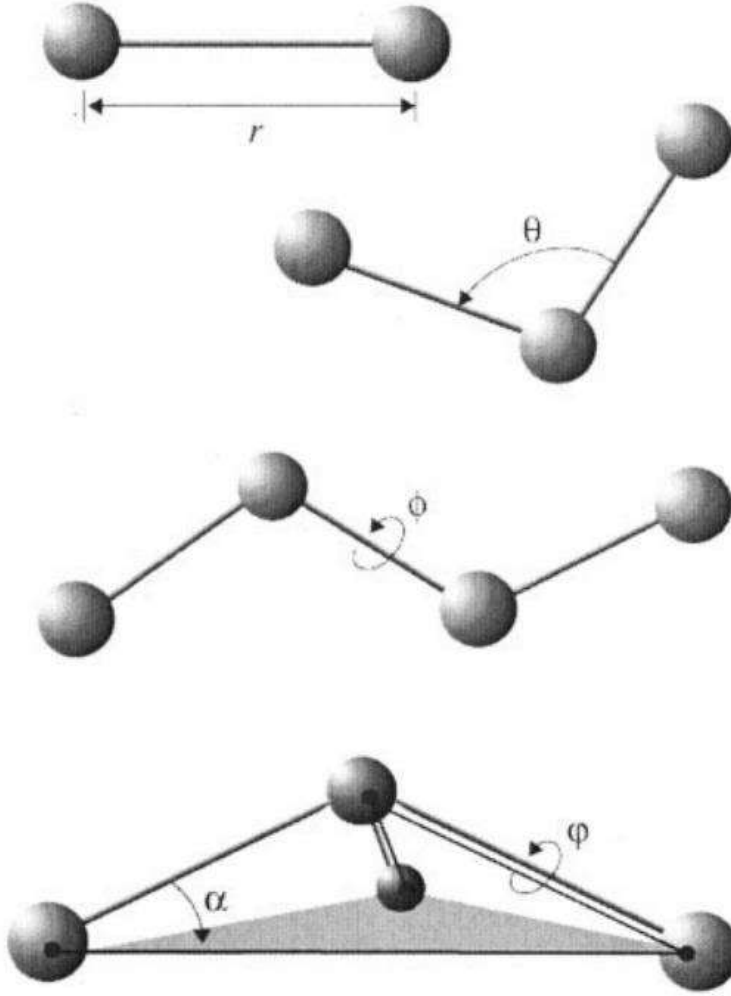
Maxwell-Boltzmann dağılımı denklem 18’de verilmiştir. Yukarıda da görüldüğü gibi bu denklemleri iteratif olarak çözebilmek için her bir atom için potansiyel enerji fonksiyonuna ihtiyaç duyulur.

2.1.6 Kuvvet Alanı

Sistemin Potansiyel enerjisi üç farklı şekilde hesaplanabilir:

- Kuvvet alanı kullanılarak → Klasik Moleküler Dinamik
- Schrödinger Denklemi çözülerek $\hat{H}\psi = E\psi \rightarrow$ Ab Initio Moleküler Dinamik
- İkisinin birleşimiyle → Kuantum Mekaniği/Moleküler Mekanik (KM/MM)

Potansiyel enerji, sistemin davranışını belirleyen ve sistemin bütün parçaları (elektron ve çekirdek) arasındaki etkileşim enerjisidir. Kuvvet alanı, potansiyel enerjiyle sistemin iç koordinatlarını (bağ mesafeleri, bağ açıları, dihedral açıları) birbirine iliştiren basit bir denklemdir. Çoğu kuvvet alanı bağ potansiyellerini hesaplamak için harmonik potansiyel kullanır; bu yüzden etkileşimler denge uzaklıklarına yakın değerlerde gerçeğe yakın sonuçlar verir. Harmonik potansiyeller sadece denge geometrisine yakınken doğrudur ve bağ kopmasını veya oluşmasını açıklayamazlar.



Şekil 2.1: Bağ yapan etkileşimlerin şematik gösterimi. Aşağıdan yukarıya bağ gerilmesi, bağ bükülmesi ve burulma ya da dihedral enerjisini temsil eder. (Phillips ve ark., 2005)

$$\begin{aligned}
 V_{toplam} = & \sum_{i=1}^{N_{bağ}} V_{bağ} + \sum_{i=1}^{N_{açı}} V_{açı} + \sum_{i=1}^{N_{dihed}} V_{dihed} \\
 & + \sum_{i=1}^{N_{bağlı\ olmayan}} V_{bağlı\ olmayan}
 \end{aligned} \tag{19}$$

$$\begin{aligned}
V_{toplamlam} = & \sum_{i=1}^{N_{bağ}} \frac{1}{2} k_b (r - r_0)^2 + \sum_{i=1}^{N_{açıl}} \frac{1}{2} k_a (\theta - \theta_0)^2 \\
& + \sum_{i=1}^{N_{dihed}} k_t (1 + \cos(n\omega - \gamma)) \\
& + \sum_{i>j} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon r_{ij}} + 4\epsilon \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right]
\end{aligned} \tag{20}$$

Denklem 19 bir sistemdeki bütün etkileşimleri tanımlamak için gereken farklı potansiyelleri tanımlarken denklem 20’de bu potansiyellerin nasıl modellendiği gösterilmiştir.

Bağ yapmayan etkileşimler uzun mesafeli Coulomb kuvvetlerine ve kısa mesafeli van-der-Waals ve itici etkileşimler olarak sınıflandırılır. Denklem 20’de de görüldüğü üzere Coulomb kuvvetlerinin mesafe ile değişimi konunun 1. kuvveti ile değişirken, van-der-Waals ve itici etkileşimler r^{-6} ve r^{-12} kuvvetle değişirler. Dolayısıyla birbirinden uzak atomlar kısa mesafeli etkileşimler hızlıca 0’a yakınsar. Günümüzde işlem gücü yakın geleceğe göre çok daha güçlü olsa da 10^5 - 10^6 atomun birbirleri ile etkileşimleri hesaplamak neredeyse imkansızdır. Bu zorluğun üstesinden gelmek için birbirine kesme yarıçapı denilen bir mesafeden daha uzak bulunan atomların birbirine uyguladığı kuvvet 0 varsayılır. Tabii bu işlem yapılırken potansiyel enerji fonksiyonunun süreksiz hale gelmesini engellemek için dönüşüm fonksiyonları kullanılır. Çünkü potansiyel fonksiyonu süreksiz olursa gradyentini hesaplamak imkânsız hale gelir ve simülasyon durur. Bu çözümün dezavantajı ise uzun mesafeli coulomb etkileşimlerini kesme yarıçapından daha uzakta bulunan atomlar için hesaplamayarak tutarsızlıklara yol açmasıdır. Bu nedenle Elektrostatik etkileşimlerin daha verimli hesaplanmasına yönelik Ewald toplam metodu ilerleyen bölümlerde açıklanacaktır.

2.1.7 Periyodik Sınır Koşulları

MD simülasyonlarında simüle edilebilecek atom sayısının üst sınırı yaklaşık olarak 10^6 civarındadır. Kübik bir simülasyon kutusunda yüzey atomları N_s toplam atom sayısı N arasındaki ilişki kutu uzunluğu L ile yakından ilgilidir.

$$N \propto L^3 \quad N_s \propto 6L^2 \quad \Rightarrow \quad N_s \propto 6L^{\frac{2}{3}} \quad (21)$$

Yani 10^6 atomdan oluşan bir sistemde yüzey atomu sayısı 6% civarındayken, gerçek fiziksel sistemlere yakın atom sayısı içeren sistemlerde, yaklaşık 1 mol atom, bu oran $7 \times 10^{-6} \%$ 'dır. Yani MD simülasyonlarında sistemin yığın özelliklerine yüzey atomlarının katkısı ihmal edilemez. Sistemin yığın davranışını daha iyi modellemek için orijinal simülasyon kutusu her yönde yinelenerek periyodik sınır koşulları oluşturulur.

Bu periyodik sınır şartlarında sonsuz toplamaları önlemek adına yukarıda da anlatıldığı gibi kısa mesafeli etkileşimler belli bir kesme yarıçapının altındaki atomlar arası mesafe için hesaplanır. Ancak uzun mesafeli etkileşimlere aynı şekilde davranılamaz. Dolayısıyla hesaplanmalarında başka yöntemler kullanılmalıdır.

İlave olarak bir simülasyon hücresindeki bir atom başka bir simülasyon hücresindeki kendi görüntüsü ile etkileşimde olmamalıdır. Uzun mesafeli etkileşimlerin aksine Lennard-Jones gibi kısa mesafe etkileşimleri $12 \text{ \AA}$ bir mesafeden sonra neredeyse etkisiz hale gelir. Dolayısıyla literatürde ve simülasyonlarda kısa mesafeli kuvvet hesaplamaları için $12 \text{ \AA}$ 'dan daha yakın olan atom çiftleri kullanılır ve bu uzaklığa cut-off ya da kesme yarıçapı denir. Farklı potansiyellerin incelendiği simülasyonlarda potansiyelin sıfır enerji uzaklığına ve atomların kendi görüntüleri ile etkileşimini engellemek adına simülasyon hücre uzunluğunun yarısından küçük olmasına dikkat edilmelidir.

2.1.8 Ewald toplamı

Uzun mesafeli coulomb etkileşimlerinin cut off mesafesinden sonra hesaplanmaması potansiyel fonksiyonunda bir süreksizliğe neden olur ve numerik integrasyon

methodunda gerekli olan potansiyelin gradyentini sonsuz değerini alır. Dolayısıyla cut-off yarıçapı kısa etkileşimli potansiyelleri modellerken iyi bir yaklaşım olmasına karşın uzun etkileşimleri potansiyellerde sorunlara yol açar ve bu yüzden uzun mesafeli etkileşimlerin başka bir yolla hesaplanması gerekir.

Bu prosedürde atomların zıt yüküne sahip bir gausyen yük dağılımı atomların etrafına yerleştirilir. Bu yolla uzun mesafeli davranışları kısa mesafeli davranışa benzetilmiş olur. Eklenen gausyen yük dağılımını nötrlemek için ilk eklenen gausyenin zıt işaretinde bir yük dağılımı konum uzayının fourier dönüşümüne eklenir. Bu şekilde $U_{coulomb}$ potansiyeli 3 parçaya ayrılabilir.

$$U_{Coulomb} = U_{direct} + U_{reciprocal} + U_{correction} \quad (22)$$

$$U_{direct} = \sum_n \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N \frac{q_i q_j}{R_{ij} + |\mathbf{n}|} \text{erfc}(\alpha R_{ij} + |\mathbf{n}|) \quad (23)$$

$$\text{erfc}(x) = 1 - \text{erf}(x) = 1 - \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-t^2} dt \quad (24)$$

$$U_{reciprocal} = \frac{1}{2\pi U} \sum_{i=1}^N \sum_{j=1}^N q_i q_j \sum_{\mathbf{m} \neq 0} \frac{e^{-(\pi \mathbf{m} / \alpha)^2 + 2\pi \mathbf{m} R_{ij}}}{\mathbf{m}^2} \quad (25)$$

$$U_{correction} = -\frac{\alpha}{\sqrt{\pi}} \sum_{i=1}^N q_i^2 \quad (26)$$

Denklem 24 denklem 23'ün n sonsuza giderken hızlıca azalmasını sağlar. Denklem 23 eğer simülasyon sistemi nötr değilse artı ya da eksi sonsuza yakınsar. Denklem 25'de $\mathbf{m}$ vektörü ise gerçek uzay vektörü $\mathbf{n}$ 'in fourier dönüşümüdür. Sezgisel olarak açıklamak

gerekirse bu yöntem ile gerçek uzayda kısa mesafeli etkileşimler toplanırken fourier uzayında uzun mesafeli etkileşimler toplanır.

2.1.9 Sıcaklık Kontrolü

Sıcaklığı T olan bir sistemin kinetik enerji aşağıdaki gibi tanımlanır.

$$\langle K \rangle = \left\langle \sum_{i=1}^N \frac{1}{2} m_i v_i^2 \right\rangle = \frac{3}{2} N k_b T \quad (27)$$

Denklem 27 N atomlu bir sistemin dengede her bir serbestlik derecesinin kinetik enerjiye katkısının $1/2 k_b T$ olduğunu söyler ve bu ifadeye eş-bölüşüm prensibi denir. Kinetik enerji ve sıcaklık arasındaki ilişkiden yararlanarak parçacıkların hızının manipülasyonu ile sıcaklık kontrolü sağlanır.

Bu yöntemlerin en basiti hız ölçeklemedir. Bu yöntemde sistemin eski hızı bir ölçekleme parametresi ile çarpılıp yeni bir değer atanır.

$$v_i^{yeni} = v_i^{eski} \lambda \quad (28)$$

$$\lambda = \left(\frac{T_{istenen}}{T_{MD}(t)} \right)^{1/2} \quad (29)$$

Hızlar her zaman adımında ya da her N adımda bir yeniden atanır.

Ölçekleme parametresi biraz daha farklı ifade edilen Berendsen termostatının denklemi ise:

$$\lambda = \left(1 + \frac{\Delta t}{\tau} \left(\frac{T_d}{T_{MD}(t)} \right) \right) \quad (30)$$

Şeklindedir. τ 'ya yükselme zamanı denir ve ısı banyosu ile eşleşmenin gücünü belirler.

Langevin termostatında ise momentum sürtünme kuvvetleri ve diğer parçacıkların rastgele çarpışmalarından gelen kuvvetle modifiye edilir. Dolayısıyla hareket denklemleri Hamilton denklemlerinden farklı olarak bir sürtünme kuvveti ve rastgele kuvvet bileşeni içerir.

$$\frac{dp_i}{dt} = -\frac{dV}{dq_i} - \gamma_i p_i + f_i \quad (31)$$

Rastgele kuvvetin değerleri ortalama değeri 0 varyansı ise aşağıda verilen gausyen dağılımından alınır.

$$\sigma_i^2 = \frac{2m_i\gamma_i k_B T}{\Delta t} \quad (32)$$

Rastgele kuvvetler her N adımda çarpışma frekansı denenen bir değişken ile uygulanır.

2.1.10 Basınç Kontrolü

Bir sistemin basıncı ve hacmi viral denklem ile birbirine bağlıdır.

$$\frac{PV_m}{RT} = 1 + \frac{B}{V_m} + \frac{C}{V_m^2} + \dots \quad (33)$$

Denklem 33'den de görülebileceği gibi basınç simülasyon kutusunun hacmi değiştirilerek kontrol edilebilir.

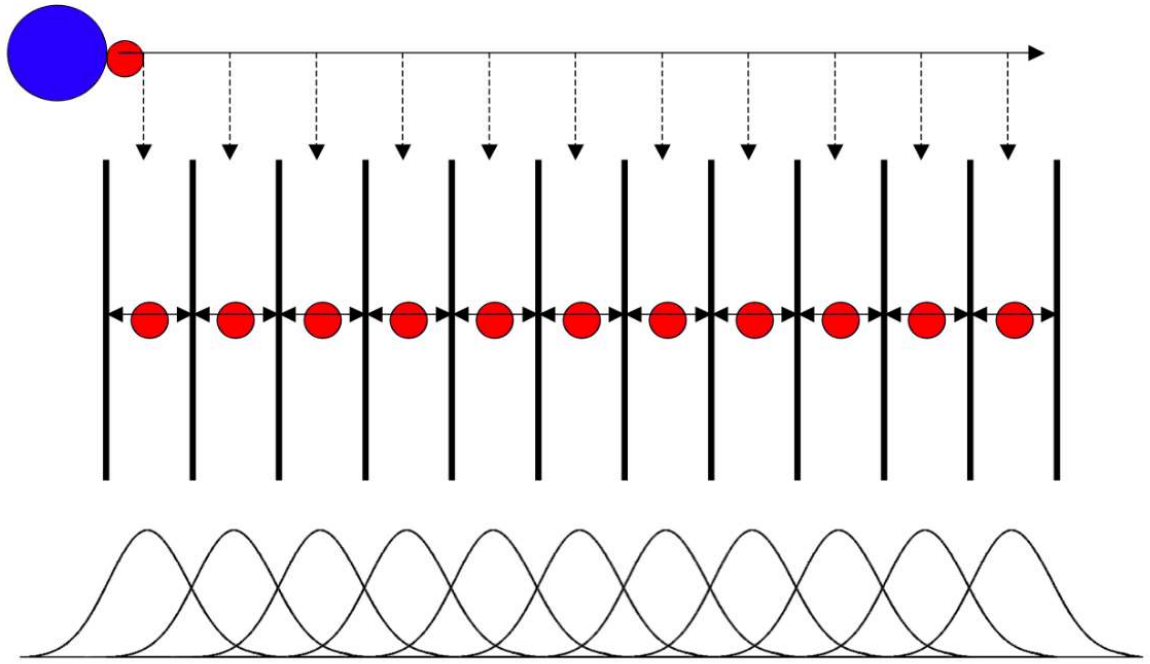
Berendsen barostatı da bir önceki bölümde görülmüş olan hız ölçeklemeye benzer çalışır. Simülasyon kutusunun L uzunluğunu ölçekler.

$$L_i^{yeni} = L_i^{eski} \mu \quad (34)$$

$$\mu = \left(1 - \frac{\Delta t}{\tau} \gamma(P_d - P_{MD}(t))\right)^{1/3} \quad (35) \quad 2.2$$

Şemsiye Örnekleme

Faz uzayının örneklenmesi kısmında anlatıldığı gibi reaksiyon koordinatının bilindiği ve yüksek enerji bariyerine sahip sistemleri simüle etmek için şemsiye örnekleme kullanılır.



Şekil 2.2: Şemsiye örnekleme metodu (Lemkul.,2022).

Bilinen reaksiyon koordinatı pencerelere ayrılarak her pencereye eğer enerji profili biliniyorsa bu profilin negatifi bilinmiyorsa en yaygın potansiyel olarak harmonik potansiyel uygulanır. Bu potansiyele bayas (bias) potansiyeli denir. Her pencerede bayas uygulanmış reaksiyon koordinatının olasılık yoğunluğu hesaplanır. Daha sonra WHAM (Weighted Histogram Analysis Method) yardımı ile bayas uygulanmamış olasılık yoğunluklarından sistemin PMF'i hesaplanır.

$$V^b = V^u + k_i(\xi_i - \xi_{0,i})^2 \quad (36)$$

Kanonik kümede (NVT) Helmholtz serbest enerjisi olasılık dağılımından aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanır.

$$A^u(\xi) = -k_b \ln P^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P^u(\xi) \quad (37)$$

İzotermal-izobarik kümede (NPT) Gibbs serbest enerjisi ise aşağıdaki denklem yardımıyla hesaplanır.

$$G^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P^u(\xi) \quad (38)$$

ξ reaksiyon koordinatına bağlı olasılık dağılımı Boltzmann dağılımındaki ξ dışındaki bütün serbestlik derecelerinin integre edilmesiyle hesaplanabilir.

$$P^u(\xi) = \frac{\int \delta[\xi(q) - \xi] e^{-\beta V^u(q)} dq}{\int e^{-\beta V^u(q)} dq} \quad (39)$$

Ancak şemsiye örnekleme sonucunda elimizi $P^u(\xi)$ yerine $P^b(\xi)$ var. Bu yüzden bu iki dağılım arasında bir bağlantı kurulmalıdır.

$P^b(\xi)$ denklem 39'daki gibi fakat hamiltonyenine bayas potansiyelini ekleyerek hesaplanabilir.

$$P^b(\xi) = \frac{\int \delta[\xi(q) - \xi] e^{-\beta[V^u(q) + \omega(\xi(q))]} dq}{\int e^{-\beta[V^u(q) + \omega(\xi(q))]} dq} \quad (40)$$

Eklenen bayas potansiyeli reaksiyon koordinatı ξ 'ye bağlıdır ancak denklem 39'da integral ξ dışındaki tüm konum değerlerinden alındığı için potansiyeli integral dışına çıkarabiliriz.

$$P^b(\xi) = e^{-\beta\omega(\xi)} \frac{\int \delta[\xi(q) - \xi] e^{-\beta V^u(q)} dq}{\int e^{-\beta[V^u(q) + \omega\xi(q)]} dq} \quad (41)$$

Daha sonra $P^u(\xi)/P^b(\xi)$ değerini hesaplırsak:

$$\frac{P^u(\xi)}{P^b(\xi)} = \frac{\int \delta[\xi(q) - \xi] e^{-\beta V^u(q)} dq}{\int e^{-\beta V^u(q)} dq} \frac{\int e^{-\beta[V^u(q) + \omega\xi(q)]} dq}{e^{-\beta\omega(\xi)} \int \delta[\xi(q) - \xi] e^{-\beta V^u(q)} dq} \quad (42)$$

$$\frac{P^u(\xi)}{P^b(\xi)} = e^{\beta\omega(\xi)} \frac{\int e^{-\beta[V^u(q) + \omega\xi(q)]} dq}{\int e^{-\beta V^u(q)} dq} \quad (43)$$

$$P^u(\xi) = P^b(\xi) e^{\beta\omega(\xi)} \frac{\int e^{-\beta[V^u(q) + \omega\xi(q)]} dq}{\int e^{-\beta V^u(q)} dq} \quad (44)$$

Denklem 44 ile birlikte $P^u(\xi)$ ile $P^b(\xi)$ kurulur ve integral içindeki değer $e^{-\beta\omega(\xi)}$ beklenen değeri olarak yazılabilir. Bir büyüklüğün beklenen değeri aşağıdaki denklemle hesaplanır.

$$\langle A \rangle = \frac{\int A(q) e^{-\beta V^u(q)} dq}{\int e^{-\beta V^u(q)} dq} \quad (45)$$

Bunun sayesinde denklem 44 aşağıdaki şekle gelir.

$$P^u(\xi) = P^b(\xi) e^{\beta\omega(\xi)} \langle e^{-\beta\omega(\xi)} \rangle \quad (46)$$

Denklem 45'i denklem 38'deki serbest enerjiyi bulmak için yerine koyarsak:

$$G^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln [P^b(\xi) e^{\beta\omega(\xi)} \langle e^{-\beta\omega(\xi)} \rangle] \quad (47)$$

Ve bu ifadeyi logaritmanın özelliğini kullanıp açarsak:

$$G^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P^b(\xi) - \frac{1}{\beta} \ln e^{\beta\omega(\xi)} - \frac{1}{\beta} \ln \langle e^{-\beta\omega(\xi)} \rangle \quad (48)$$

Denklem 48’de eşitliğin sağındaki ortalama değer içeren terime F denirse:

$$G^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P^b(\xi) - \omega(\xi) + F \quad (49)$$

Bulunur ve denklem 48 sayesinde şemsiye örneklemeinden elde edilen $P^b(\xi)$ bayas içeren olasılık dağılımı ile serbest enerji hesaplanabilir hale gelir ve her i numaralı pencereye denklem 48 uygulanıp bütün pencerelerin serbest enerjisi $G_i^u(\xi)$ bulunduktan sonra global $G^u(\xi)$ bulunabilir.

$$G_i^u(\xi) = -\frac{1}{\beta} \ln P_i^b(\xi) - \omega_i(\xi) + F_i \quad (50)$$

Ancak denklem 48’deki F_i teriminin değeri hala bilinmemektedir. Bu değeri hesaplamak için kullanılan en yaygın yöntem WHAM yöntemidir. Denklem 48’deki F tanımı:

$$-\beta F_i = \ln \langle e^{-\beta\omega(\xi)} \rangle \quad (51)$$

Denklem 50’de her iki tarafın da exponansiyeli alınırsa:

$$e^{-\beta F_i} = \langle e^{-\beta\omega(\xi)} \rangle = \int P^u(\xi) e^{-\beta\omega(\xi)} d\xi \quad (52)$$

Şeklini alır. Denklem 50’deki integral simülasyonlarda yerini ayrık değişkenlerden dolayı toplam sembolüne bırakır.

$$P^u(\xi) = \sum_i^{N_w} p_i(\xi) P_i^u(\xi) \quad (53)$$

$p_i(\xi)$ katsayıları ise $P_i^u(\xi)$ 'nun istatistiksel hatasını minimize ederek bulunur. Minimizasyon koşulları ise: (Lemkul.,2022)

$$\frac{\partial \sigma^2(P^u(\xi))}{\partial p_i(\xi)} = 0 \quad (54)$$

$$\sum_i^{N_w} p_i(\xi) = 1 \quad (55)$$

Bu koşullar aşağıdaki denklemleri verir:

$$p_i(\xi) = \frac{a_i(\xi)}{\sum_j^{N_w} a_j} \quad (56)$$

Ve bu $a_i(\xi)$ katsayısı da:

$$a_i(\xi) = N_i e^{-\beta \omega_i(\xi) + \beta F_i} \quad (57)$$

İle hesaplanır. Yani denklemleri bağımsız çözmek imkânsız olduğundan bu denklemler iteratif olarak yakınsayana kadar çözülmelidir. Bu çözümlerde önce bir F değeri verilip serbest enerji değeri yakınsayana kadar işlem devam eder. Yani olursa denklem 48'da görüldüğü üzere serbest enerji bayaslı olasılık yoğunluğu ve F ile hesaplanabiliyor. Olasılık yoğunluğu şemsiye örneklemesinden elde edilirken F ise ağırlıklı histogram analiz yöntemi (WHAM) yöntemi ile elde edilir.

Özetlenecek olursa: reaksiyon koordinatı tanımlandıktan sonra pencerelere bölünür. Her pencerede bir MD simülasyonu sürer ve bir bayas potansiyeli sistemi pencere içinde tutmak için pencerenin merkezine uygulanır. Bu MD simülasyonları sonucunda her pencere için bayaslı olasılık dağılımları elde edilir sonrasında PMF yani ortalama kuvvet potansiyeli WHAM yöntemi kullanılarak elde edilir (Kästner ve Thiel., 2006).

2.3 Jarzynski Eşitliği (JE) ve Faz Uzayı Metodu

Stokastik termodinamik, iş, ısı ve entropi üretimi gibi klasik termodinamik kavramları, nano ya da mezo skaladaki denge durumunda olmayan yörüngelere uygulamaya çalışır. Dengede olmayan sistemler hala bir ya da birkaç ısı banyosu ile temas halindeyse stokastik termodinamik teorileri bu sistemlere uygulanır. Bu sistemlere örnek olarak moleküler motorlar, optik cımbız, mikropipet ve AFM uçları tarafından manipüle edilen RNA, DNA ya da küçük moleküller, tek elektron taşınımı içeren termoelektrik cihazlar gösterilebilir. Böyle sistemlerin 3 ortak özelliği vardır: denge dışı durumun sebebi dışardan uygulanan mekanik kuvvetler ya da dengesiz kimyasal potansiyellerdir, bu sistemler küçük ve kaçınılmaz olarak su ısı banyosu olarak rol alır ve dalgalanma teorileri büyük rol oynar.

1997 yılında Jarzynski iş ve serbest enerji arasında kendi adıyla bilinen bir eşitlik türetmiştir. Jarzynski eşitliği iki termodinamik denge durumu arasındaki serbest enerji farkını ifade eder. Diğer teoremlerden farkı ise bu serbest enerji farkını tersinmez süreçler üzerindeki yapılan işlerle ifade etmesidir.

$$\langle e^{-\beta W} \rangle = e^{-\beta \Delta F} \quad (58)$$

Makroskobik sistemleri için iş olasılık dağılımları genellikle sivri ve dardır, buna ek olarak iş değerlerinde dalgalanmalar sık sık göz ardı edilir. Çoğu başlangıç düzeyi kitapta olduğu gibi yapılan iş için dağılım dikkate alınmaz ve bunun yerine tersinmez süreç boyunca tek bir iş değerinden bahsedilir. Bu yaklaşım sabit sıcaklık ve hacimdeki bir gazın enerjisinden söz tek bir enerji değerinden bahsetmek gibidir. Aslında hala bir enerji dağılımı vardır ancak ortalamadan büyük ölçüde sapan bir enerji değerinin görülmesi çok küçüktür.

Jarzynski buna ek olarak süreç tersinir olmasa da işi ölçerek serbest enerjileri deneysel olarak belirlemenin başka bir yolunu önerdi. Özellikle küçük bir polimerin bir atomik kuvvet mikroskobu veya optik cımbız kullanılarak gerilmesi deneyleri son yıllarda yaygın hale gelmiştir. Bu deneylerdeki genel amaç, örneğin RNA molekülünün katlanma ya da büzülmesi için gereken serbest enerji farkını ya da bir reaksiyon koordinatına bağlı olarak PMF'ini bulmaktır. (Hummer ve Szabo, 2001)

T sıcaklığında, ısı banyosuna bağlı bir sistemi A denge durumundan B denge durumuna getirmek için gerekli ortalama iş değeri termodinamiğin 2. yasasına göre $\langle W \rangle \geq \Delta F = F_B - F_A$ en az bu iki sistem arasındaki serbest enerji farkına eşit olmak zorundadır. Ekstra iş $\langle W \rangle - \Delta F$ genellikle dissipatif iş olarak adlandırılır. Tersinir işin aksine dissipatif iş durumlar arası geçişin nasıl yapıldığına bağlıdır. Tipik olarak bir ya da daha fazla harici kontrol parametresi spesifik bir protokolü izleyerek zaman içinde başlangıç ve final değerleri arasında değişir. Dolayısıyla dissipatif iş teorisinde sistemi denge dışına da çıkarabilen bu protokole bağlıdır. Şaşırtıcı olarak bu dissipatif iş için tam, kesin ve basit bir ifade vardır ve bu ifadede anahtar nokta protokolün zamanın tersine çevrilmiş versiyonunu da dikkate almaktır. Üzerinde tilde olan bütün nicelikler zamanın tersine çevrildiği protokolde ölçülmüştür. Bu durumda dissipatif iş aranan ifade şu olur: $W_{diss} = \langle W \rangle - \Delta F = k_B T D(\rho_j | \tilde{\rho}_j) = k_B T \langle \ln(\rho_j / \tilde{\rho}_j) \rangle$. Bu ifadede ρ ve $\tilde{\rho}$ aynı anda alınan ancak bunun dışında keyfi faz uzayı olasılık yoğunluklarıdır. $D(\rho_j | \tilde{\rho}_j)$ ise Kullback-leibler uzaklığıdır, aynı zamanda göreceli entropi olarak da adlandırılır.

Hamiltoniyeni $(p, q; \lambda)$ olan, (p, q) 'nin konum ve momentum değişkenlerini temsil ettiği ve λ protokolüne göre A başlangıç değerinden B bitiş değerine dönüşen bir sistem ele alınsın. Sistem başlangıçta T sıcaklığında ve kontrol parametresi λ_A değerinde, kanonik olarak dengededir ve tamamen izole edilmiştir; yani sistem üzerinde harici parametre tarafından gerçekleştirilen W dışında hiçbir iş yapılmaz. Backward yani zamanın tersine ilerlediği senaryoda ise yine T sıcaklığında kanonik dengedir ancak bu sefer kontrol parametresinin λ_B değerinde dengededir.

Yani özetlemek gerekirse sistem λ protokolüne göre önce A durumundan B durumuna, sonra B durumundan A durumuna değiştirilir ve bu durumlar ileri yönlü ve geri yönlü olarak isimlendirilir. Sistem hareketi sırasında ısı banyosu ile teması kesilir ve dinamikler deterministik kabul edilirse ortalama dissipatif kuvvet:

$$\langle W \rangle - \Delta F = k_B T \int dq dp \rho(q, p, t) \ln \rho(q, p, t) / \tilde{\rho}(q, -p, t) \quad (59)$$

Olarak hesaplanır. Bu denklemin birkaç önemli özelliğine dikkat çekilebilir. İlk olarak görelî entropi negatif değer alamayacağı için dissipatif kuvvet de termodinamiğin 2. yasası ile uyum içinde negatif değer alamaz. İkinci olarak dissipatif ya da tersinmez iş ileri ve geri protokoller arasında asimetriden kaynaklanır ve ancak $\rho(q, p, t) = \tilde{\rho}(q, -p, t)$ olduğunda 0 değerini alır. Üçüncü olarak ise hesaplanması için faz uzay yoğunluğunun tam bilgisini gerektirir.

2.4 Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD)

Termodinamiksel olarak önemli olaylar bir denge durumundan diğerine geçişleri içerir. Ancak nadir görülen bariyer geçiş olaylarının 1 mikro saniyelerle sınırlı olan MD zaman skalasında örneklenmesi çok zordur. Bu sorunun üstesinden gelebilmek için reaksiyon koordinatına harici dış kuvvetlerin uygulanması örneklemeyi geliştirebilir. Küçük moleküllerin AFM ya da optik cımbız ile uygulamaları polimerlerin mekanik özelliklerine dair bilgimizi artırmıştır. SMD ise bu tür deneylerin in silico tamamlayıcısı durumundadır ve MD simülasyonlarının çok yavaş modelleri hızlandırmak için kullanılmaktadır.

Gelişmiş bir örnekleme türü olarak SMD bilinen bir reaksiyon koordinatının örneklenmesini iyileştirmek konusunda şemsiye örnekleme ile benzerlik taşır ancak şemsiye örnekleme denge durumunda birçok simülasyon gerektirirken SMD dışardan bir kuvvet uygulayarak dengeden büyük sapmalar gerçekleştirir. Dolayısıyla SMD sonuçlarının analizinde denge durumunda olmayan termodinamik ya da diğer adıyla stokastik termodinamik yöntemleri kullanılmalıdır.

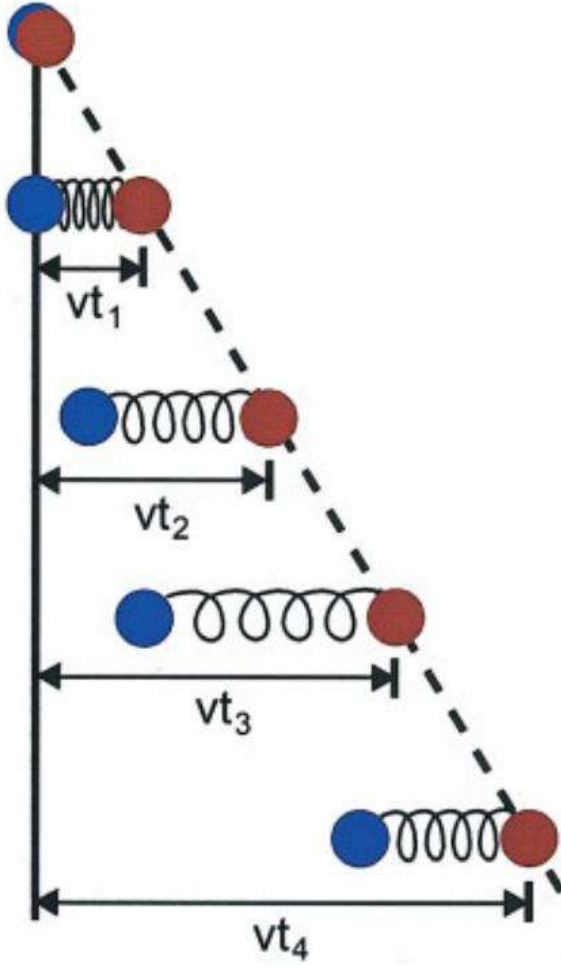
Sabit hızla bir molekül ya da ağırlık merkezi çekildiğinde SMD AFM ucunun hareketini taklit eder. Bu işlem bir atomu ya da büyük bir molekülün kütle merkezine harmonik bir potansiyel uygulayıp daha sonra bu potansiyeli sabit hızda hareket ettirerek atomun ya da tüm kütlelerin takip etmesi sağlanır.

Üzerine uygulanan harmonik potansiyel n doğrultusunda, v hızıyla ve k kuvvet sabiti ile hareket eden bir atoma uygulanan potansiyel:

$$\Delta U(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, t) = \frac{1}{2}k[v t - (\vec{R}(t) - \vec{R}_0) \cdot \vec{n}]^2 \quad (60)$$

$\vec{R}(t)$ SMD atomunun kütle merkezinin bulunduğu pozisyon, $\vec{R}_0$ kütle merkezinin başlangıç pozisyonu, $\vec{n}$ ise hareketin doğrultusunu belirten birim vektördür.

Bilgisayar işlem gücündeki kısıtlamalar nedeniyle simülasyon zamanları tipik AFM deneylerinden 10^5 daha kısadır. Bu nedenle de SMD simülasyonları sırasında dissipatif iş büyük miktarda ortaya çıkar ve denge durumu bilgisi elde etmek için kompanse edilmesi gereklidir.



Şekil 2.3: Tek boyutta sabit hızla çekme. Sahte atom kırmızı, SMD atomu mavi renktedir. Sahte atom sabit hızla hareket ederken, SMD atomu, her iki atom arasındaki mesafeye doğrusal olarak bağlı olan bir kuvvete maruz kalır. (Phillips ve ark., 2005).

SMD simülasyonların tek amacı katlanmış bir molekülün açılması için gereken kuvvetin ölçümü değildir. Bu değer deneysel gözlemlerin aynısı olsa bile sistemin dinamiklerini anlamak için yeterli bilgiyi sağlamayacaktır. SMD sisteminin birden çok simülasyonunu çalıştırarak Jarzynski eşitliğinde kullanılacak ortalama iş elde edilirse iki denge durumu arasında serbest enerji farkı hesaplanabilir. Fakat uygulamada biyolojik sistemlerdeki kompleks etkileşimler ve örnekleme yetersiz yörüngeler tarafından doğru sonuçlar vermez. (Bastug ve Kuyucak., 2007b ve Bastug ve ark., 2008). Jarzynski eşitliğindeki üstel ortalama özellikle iş dağılımının solunda kalan düşük iş değerlerinin ortalamaya büyük bir katkı vermesine yol açar ancak SMD çekme yörüngeleri dağılım kuyrukları yerine ortalamayı örnekler. İş olasılık fonksiyonunun yetersiz örnekleme durumu

ciddi hata payları ortaya çıkabilir. Ayrıca hesaplanan potansiyellerdeki hata sistemde ortaya çıkan dissipatif iş ile doğru orantılıdır ve bu yüzden denge durumundan uzakta PMF olması gerekenden çok büyük değerler alabilir.

Dolayısıyla SMD simülasyonları sırasında ortaya çıkan dissipatif iş PMF eğrisinden çıkarılırsa bağlanma-ayrılma sürecini yöneten termodinamik potansiyel bulunabilir ancak yukarıda da bahsedildiği gibi denge dışı durumlarda ve kompleks sistemlerde gerçek değerden sapmalar istenilenden büyük olabilir.



3. METOD VE BULGULAR

Bu tez, moleküler dinamik simülasyonlarında dissipatif kuvvetin yaptığı işin hesaplanması için daha önceki bölümde anlatılan Faz uzayı yöntemini kullanmayı öngörmüştür. Bu amaçla Faz Uzayı yönteminin Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD) uyarlaması üzerine çalışılmıştır ve “dissipatif” kuvvetin gösterilebilmesi için basit sistemler tasarlanmıştır. Bu amaç için alınacak en basit sistem su içindeki bir iyonun ucuna bağlı bir yay ile belli bir yönde, A noktasında B noktasına çekilmesinden ibarettir. Dissipatif kuvvetin yaptığı iş Jarzynski yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Literatürde basit sistemlerde Jarzynski yönteminin çalıştığı daha önce gösterilmiştir (Baştuğ ve ark., 2008). Bu tez kapsamında yeni olan ise: basit sistemlerde dissipatif kuvvetin yaptığı işin gösterilmesidir. SMD simülasyonlarında değişik hız ve yay sabitleri kullanılarak etki eden dissipatif kuvvet tayin edilmeye çalışılmıştır.

Denge dışı yola bağlı serbest enerji hesaplamalarında yeni bir teorik yaklaşım da Kawai, Parrondo ve Van der Broeck tarafından önerilen faz uzayı hesabıdır. (Kawai, Parrondo ve Broeck, 2007) Bu yaklaşımı tanımlayan temel ifade,

$$\langle W \rangle = \sum_j \rho_j \langle W \rangle_j = \Delta F + k_B T D(\rho_j | \tilde{\rho}_j) \quad (61)$$

şeklindedir. Bu ifadede “W” yapılan işi, ΔF serbest enerji farkını, ρ_j ve $\tilde{\rho}_j$ sırasıyla ileri ve geri olasılık dağılımlarını ve “ $D(\rho_j | \tilde{\rho}_j)$ ” ise göreceli entropiyi (dissipatif kuvvet) göstermektedir. Göreceli entropi yani dissipatif kuvvet olarak “ $D(\rho_j | \tilde{\rho}_j)$ ” şeklinde tanımlanan ifadenin açık hali $\sum_j \rho_j \ln(\rho_j / \tilde{\rho}_j)$ şeklindedir.

KPB denklemi (denklem 61), termodinamik sürecin aşamalarının her birinin belirli bir t zamanı anında olduğunu ve kapalı bir sistemin Hamilton fonksiyonunun zaman içinde simetrik olduğu gözlemine dayanır. Bu akıl yürütmeye Liouville denklemi zaman içinde

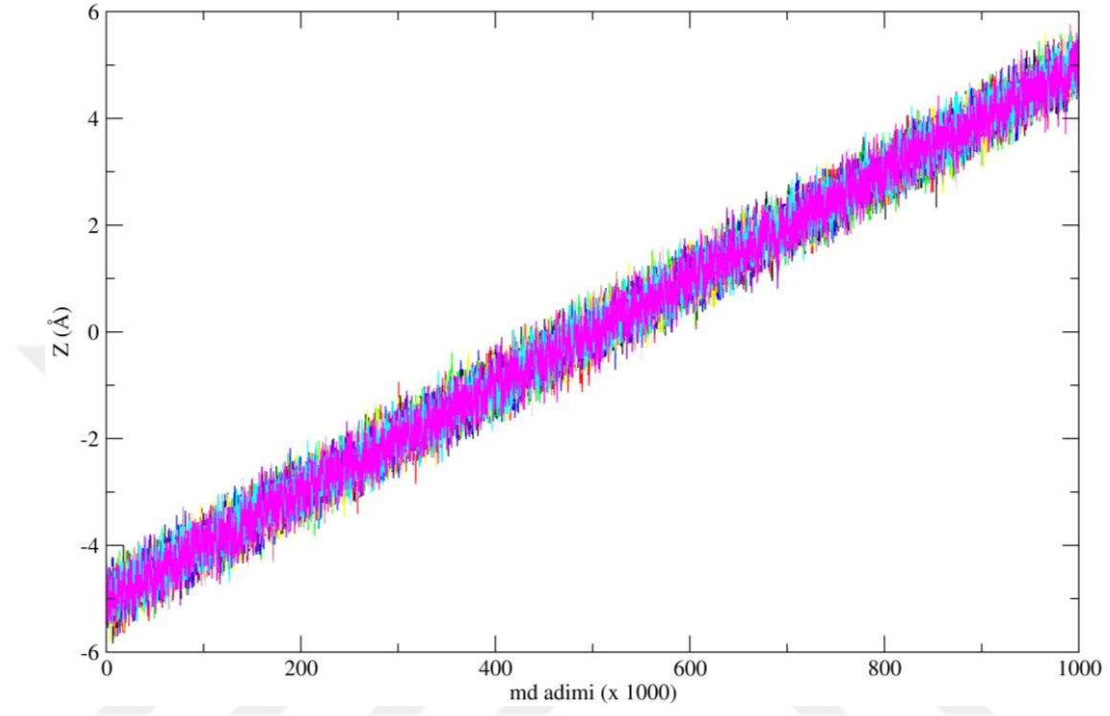
olasılık yoğunluğunun aynı kalacağını gösterdiğinden KPB denklemi hem zamanın ileri yönünde (yani $+t$ yönünde) hem de zamanda tersinir şekilde ($-t$ yönünde) olasılık yoğunluklarını kullanır. Denklem 61’de Tilda ($\sim$) işareti aslında zamanın tersinir olduğu durumdaki olasılık yoğunluğunu göstermektedir. Bu açıdan bakıldığında bu denklem aslında bir termodinamik sürecin aynı aşamasına bir yönden zamanın ileri yönünde bakarken diğer yönden de sürecin sonundan aynı termodinamik noktaya geri giderek bakılması fikrine dayanır. Burada dikkat edilmesi gereken termodinamik sürecin aynı aşamasına bakıldığıdır. Diğer bir deyişle ileri yöndeki sürecin t anındaki durumuna bakılmak isteniyorsa geriden bakıldığında seçilecek olasılık yoğunluğu, $(T - t)$ ile ilgili olasılık yoğunluğu olacaktır. Burada T termodinamik işlemin tamamlanma süresidir. Bu iki olasılık yoğunluğunun yani t ve $(T - t)$ anına karşılık gelen olasılık yoğunluklarının göreceli entropisi, tam olarak dissipatif işe eşit olmaktadır. KPB denklemi bu açıdan ele alındığında termodinamiğin ikinci yasasının faz uzayındaki görünümünü temsil eder.

KPB denkleminin doğru uygulanması için bazı niceliklerin hesaplanmasına dikkat edilmesi gerekmektedir. Bunlardan ilki, ortalama işin yol üstünden hesaplanıp yine farklı yollar üzerinden ortalamasının alınmasıdır. İkinci dikkate değer konu ise serbest enerji farkının hesaplanmasına ilişkindir. Her ne kadar KPB denklemi termodinamik sürecin herhangi bir (ara) durumuna bakmak için kullanılabilirse de serbest enerji farkı, her zaman sistemin termal banyoya bağlı olduğu, yani termodinamik olarak denge durumunda olduğu, başlangıç ve sonuç durumları üzerinden hesaplanır. Diğer bir deyişle serbest enerji farkı, bakılan noktanın değil genel sürecin başı ve sonu üzerinden hesaplanır. Son olarak bir başka önemli nokta ise bakılan sistemin, başı ve sonu hariç termal banyoya bağlı olmasının gerekmemesidir. Böyle bir sınırlama olmaması, KPB denkleminin önemli bir genel ifade olması anlamına gelir. Genel açıdan bakıldığında bir başka önemli husus da sistemin dış parametresinin değiştirilme hızının keyfî olmasıdır. Bu parametre, sistem her an dengeye ulaşacak kadar yavaş değiştirilirse dissipatif iş, diğer bir deyişle entropi farkı, sıfır olacaktır ki bu, tersinir sürece işaret eder. Daha hızlı değişimler ise, sıfırdan farklı dissipatif iş verip termodinamik sürecin tersinmez olduğunu gösterecektir.

Denklem 61'deki göreceli entropi yani dissipatif kuvvet olarak " $D(\rho_j|\tilde{\rho}_j)$ " şeklinde tanımlanan ifadenin açık hali $\sum_j \rho_j \ln(\rho_j/\tilde{\rho}_j)$ olan büyüklüğün hesaplanabilmesi için öncelikle olasılık yoğunluk fonksiyonları hesaplanmalıdır. Bu olasılık yoğunluk fonksiyonları, şemsiye örnekleme ve yönlendirilmiş moleküler dinamik (SMD) simülasyonlarında kullanılan olasılık yoğunluk fonksiyonlarından farksızdır. Olasılık dağılım fonksiyonları hesaplandıktan sonra KPB denklemi ile dissipatif kuvvetin yaptığı iş hesaplanabilir olacaktır. Bu hesabın doğrulanması için ise Jarzynski eşitliği ile iki termodinamik durum arasında serbest enerji SMD simülasyonlarından elde edilen ortalama iş ile hesaplanacak ve JE'den elde edilen serbest enerji farkından dissipatif iş çıkarılarak kullanılan sistemdeki önceden bilinen potansiyel elde edilmeye çalışılacaktır.

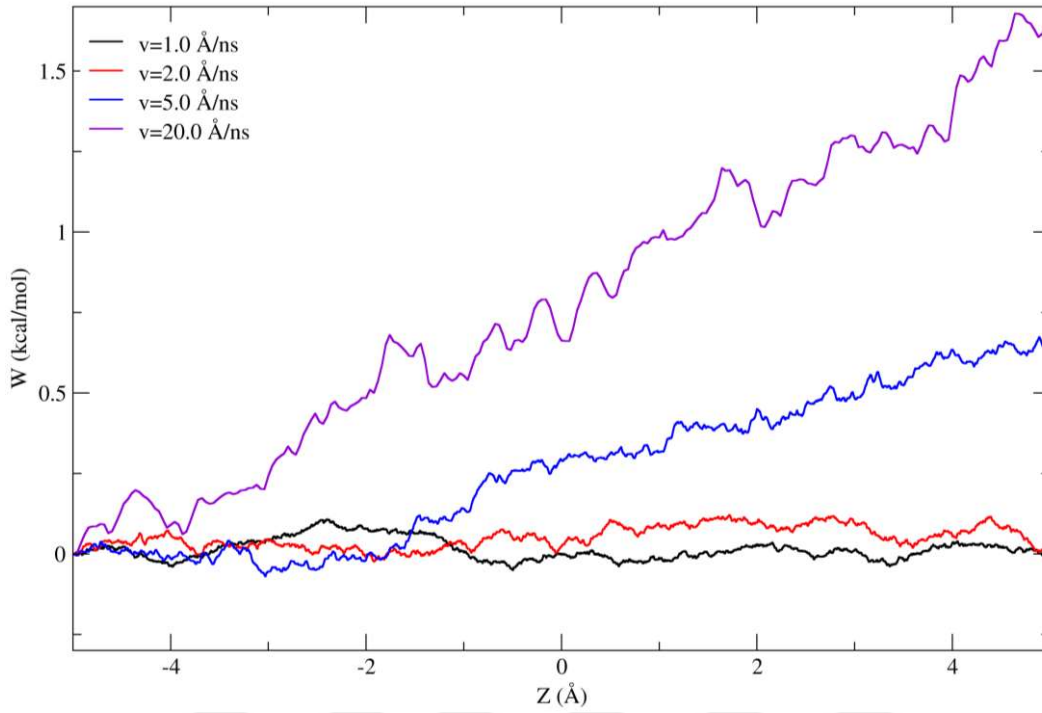
Bu nedenle faz uzayı metodu ile serbest enerji ve dissipatif kuvvetin yaptığı iş hesaplamalarının basit sistemlerde test edilmesi işlemi için su kutusunda tek bir iyonu bir eksen boyunca çekecek fiziksel olmayan basit bir sistem tasarlanmıştır. Bu sistem $30 \times 30 \times 30 \text{ Å}^3$ 'lük bir hacim içine 1088 su molekülünün yerleştirilmesi, ileri ve geri yönlü simülasyonlar için Z koordinatında -5 Å ve 5 Å konumlarına birer sodyum ve klor atomu konumlandırılmasıyla toplam 3266 atomdan oluşur. Klor atomunun sisteme eklenmesi Ewald toplamının sonlu bir değer alabilmesi için sistemin nötr yüke sahip olması gerekliliğinden kaynaklanır. Sistemin oluşturulması sırasında atomların rastgele yerleştirilmesi sonucu bazı atomlar arası mesafe Van der Waals denge uzaklıklarından daha küçük olur ve sistemin enerjisinin minimize edilmesi gerekir. Bu nedenle MD zaman adımı 2 femto-saniye alınarak, oluşturulan iki sistemde de 5000 adım minimize edildi. Enerji minimizasyonları gerçekleştirildikten sonra sistem 300 K'ye ısıtıldı ve iyonlar üzerine $k = 20 \text{ kcal/mol/Å}^2$ olan bir harmonik kuvvet uygulayarak 10 ns simüle edildi. İyonlar üzerindeki harmonik kuvvet sabiti $k = 0 \text{ kcal/mol/Å}^2$ değerine ulaşana kadar her $k = 10, 5, 2, 1, 0.5, 0$ değeri için 10 ns simüle edildi. Sistem NVT kümesinde, 300 K ve $30 \times 30 \times 30 \text{ Å}^3$ 'lük dengeye ulaştıktan sonra kesme mesafesi 12 Å ve simülasyon adımı 2 femto-saniye kullanılarak NAMD programının 2.8 versiyonu ve CHARM22 kuvvet alanı kullanılarak simüle edildi.

Bu sistemde sodyum iyonu, $v = 2.5, 5, 10, 20, 40 \text{ Å/ns}$ hızları ve $k = 1$ ve $k = 10$ kcal/mol/Å² kuvvet sabitleri ile Z eksenı boyunca kutunun bir ucundan diğır ucuna çekilmiştir. Çekme işlemi ($-5 \text{ Å} ; 5 \text{ Å}$) aralığında 20 örnekleme ile yapılmıştır. Şekil 3.1’de her bir örneklemede iyon koordinatları gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Su kutusunda bir sodyum iyonunun -5 Å pozisyonundan $+5 \text{ Å}$ pozisyonuna ileri yönlü çekilmesi. Çekme işleminde 20 örnekleme ve $v = 2.5, 5, 10, 20, 40 \text{ Å/ns}$ hızları kullanılmıştır. Şekilde, $v = 2.5 \text{ Å/ns}$ için yörüngeler verilmiştir.

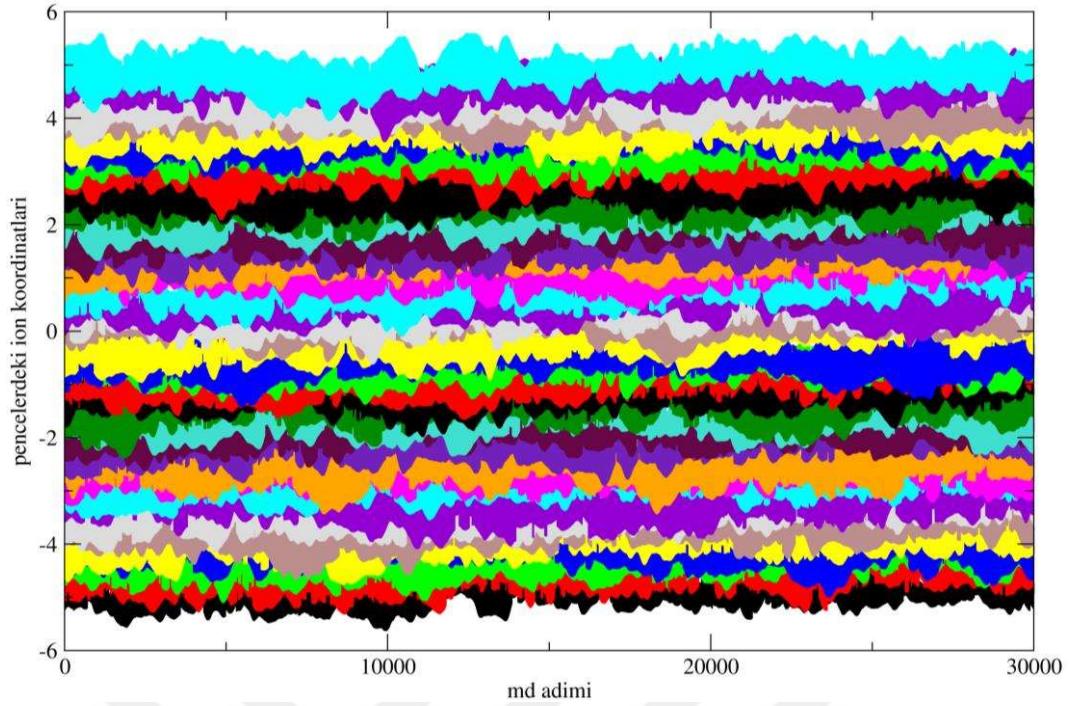
Su kutusunda farklı hızlarda çekilen iyon için Jarzynski eşitliği ile iş fonksiyonları hesaplanarak karşılaştırılmıştır. Sistem üzerine uygulanan hiçbir potansiyel olmadığı için Jarzynski eşitliği ile elde edilen serbest enerji farkı iş fonksiyonlarının ortalamasına eşit olacaktır, hesaplanan iş fonksiyonları Şekil 3.2’de gösterilmiştir. SMD simülasyonlarında sistem üzerine yapılan iş ise $\Delta W = v \int_{t_0}^{t_1} F(t) dt$ integrali ile simülasyon çıktısı olarak elde edilmiştir.



Şekil 3.2. Su kutusunda bir sodyum iyonunun hareketi esnasında hesaplanan iş fonksiyonları. Çekme işleminde 20 örnek alınmış ve dissipatif kuvvet 20 örnek üzerinden Jarzynski eşitliği ile hesaplanmıştır.

Şekil 3.2’de görüldüğü üzere hız arttıkça dissipatif kuvvet artmaktadır. Dissipatif kuvvetin yaptığı işin çekme hızı ile artması teori ile uyumludur. Daha önce de bahsedildiği gibi Jarzynski eşitliğinin bu basit sistemde çalışması bize faz uzayı yöntemi ile elde edilen dissipatif iş için bir teyit imkânı sunar.

Denge dışı faz uzayı yöntemini bu sisteme uygulamak için bu tez kapsamında geliştirilen SMD2US yöntemi kullanıldı. Bu yöntem, orijinal halinde Hummer ve Szabo (Hummer ve Szabo, 2001; Hummer ve Szabo, 2005) tarafından optik cımbız deneyinde kullanılmıştır. Hummer ve Szabo (2001) ve Hummer ve Szabo (2005) çalışmalarındaki optik cımbız yerine bu projede SMD simülasyonları kullanıldı ve orijinal halinde önerilen yönteme uyarlandı. Uygulanan yöntemde SMD ile elde edilen veriler, 0.25 Å aralıklı verilere bölünmek suretiyle, pencereler oluşturulmuştur. Kısaca SMD verileri kullanılarak şemsiye örnekleme (Umbrella Sampling) verileri oluşturulmuştur. Yani burada olasılık yoğunluklarını elde etmek için SMD simülasyonlarında US pencereleri oluşturulan bir yaklaşım kullanılmıştır. Şekil 3.3’da ise Şekil 3.1’de verilen koordinat değerleri için oluşturulan pencereler gösterilmiştir.

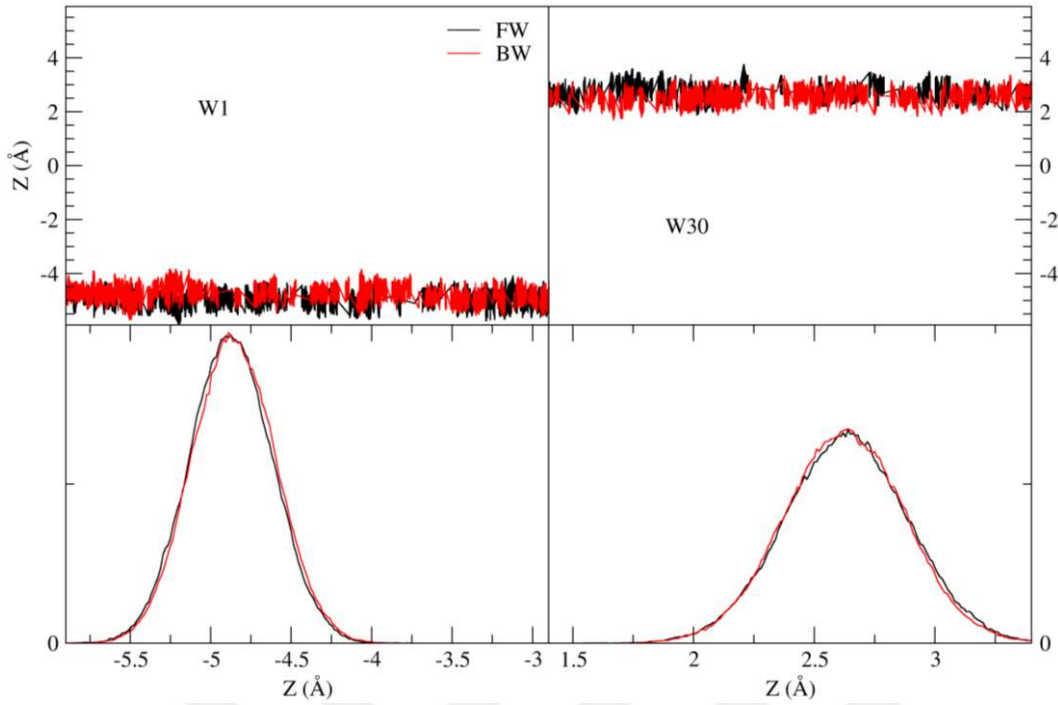


Şekil 3.3. SMD'den elde edilen verilerin şemsiye örnekleme yöntemine dönüştürülmesi.

Dönüştürme işleminde pencere genişliği $0.25 \text{ \AA}$ alınmış, 40 pencere oluşturulmuş ve çekme işlemi $v = 2.5, 5, 10, 20, 40 \text{ \AA/ns}$ hızlarında 20 örneklemede yapılmıştır.

SMD2US yönteminde iyon sürekli çekiliyor olmasına karşın pencere aralıkları kısa seçilerek sanki bir noktada örnekleme yapılıyor yaklaşımı kullanılmıştır. Yani şemsiye örneklemede bir pencerenin simülasyonu için geçmesi gereken zaman ile SMD simülasyonun 1 pencere uzunluğunda yolu alması için gereken zaman aynıdır. Bu zamanların aynı alınmasındaki motivasyon proje kapsamında iki metodun yakınsama zamanları bakımından verimliliklerini karşılaştırmaktır.

Bu yaklaşımın doğruluğunu göstermek için 1. ve 30. İleri-geri çekme pencereleri alınmış ve Şekil 3.4'de koordinat dağılımları gösterilmiştir. Koordinat dağılımı ileri ve geri yönde Gauss tipi dağılım vermektedir ki bu, şemsiye örnekleme yönteminden bildiğimiz bir dağılımdır ve bu dağılımlar KPB denkleminde olasılık dağılımları olarak kullanılabilirler.

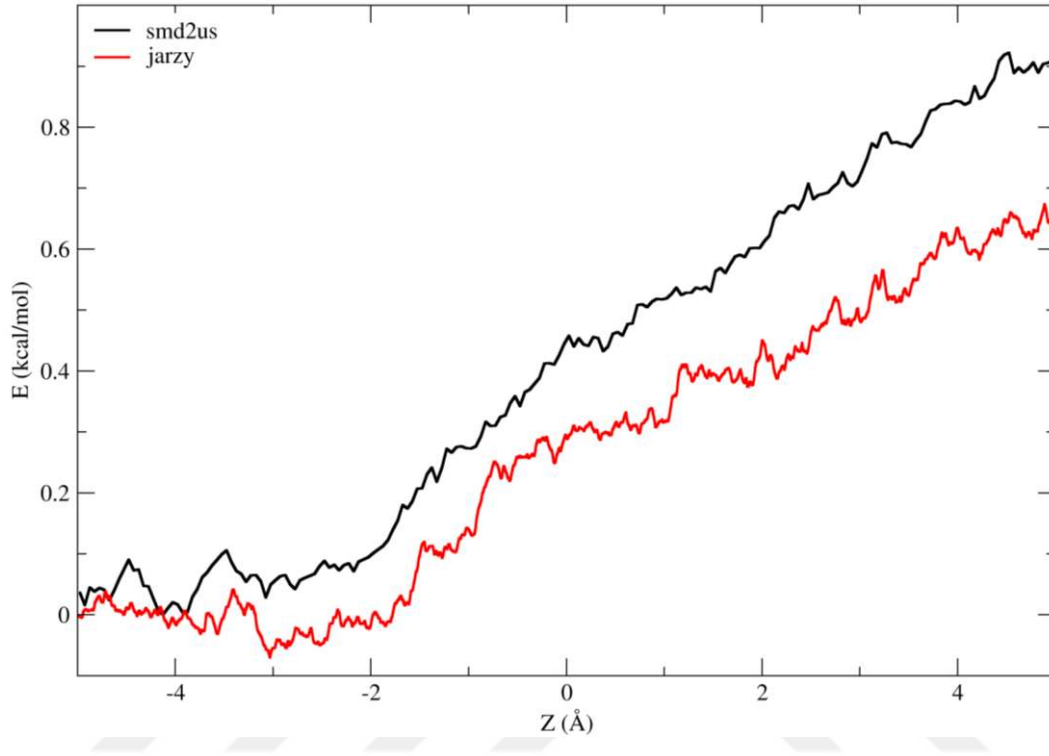


Şekil 3.4. SMD verisinde elde edilen 1. (W1) ve 30. (W30) pencerelere ait koordinatlar ve dağılımları.

SMD'den elde edilen şemsiye örnekleme pencerelerine WHAM yöntemi uygulanarak serbest enerji ve serbest enerjiye ait normalize edilmiş dağılım fonksiyonları (ρ_j ve $\tilde{\rho}_j$) elde edilmiştir. WHAM yöntemi için Alan Grossfield'in programı (Grossfield, 2002) uygulanmıştır. $v = 5 \text{ Å/ns}$ hız ile su içinde çekilen iyon için (dissipatif kuvvetten dolayı) elde edilen Jarzynski ve US/WHAM serbest enerji karşılaştırması Şekil 3.5'de verilmiştir.

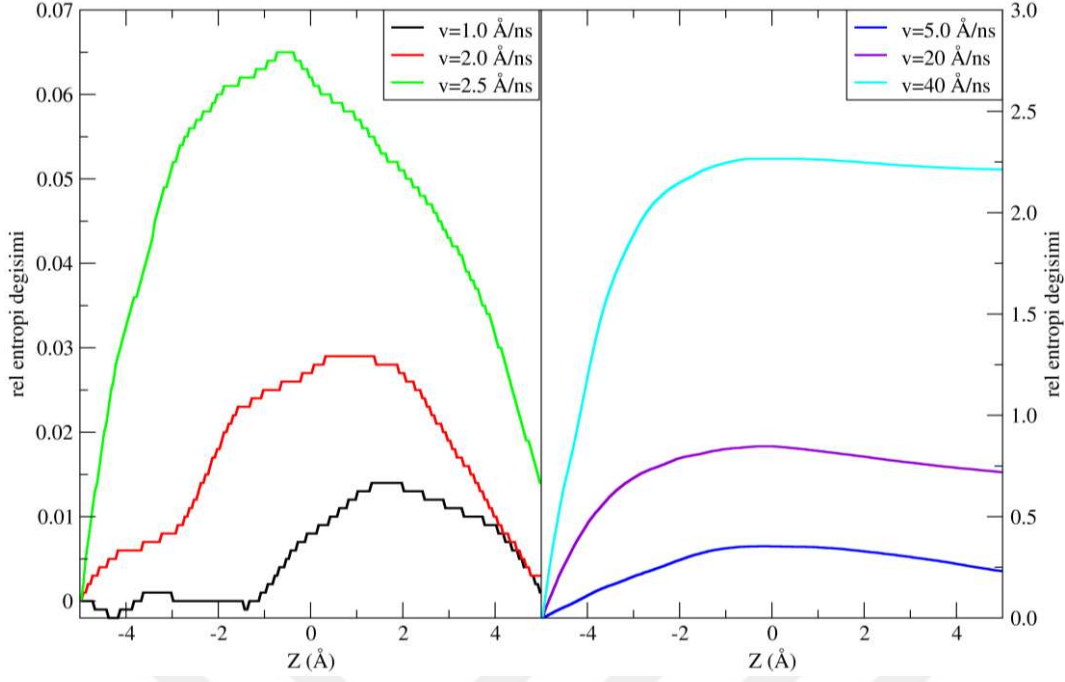
Şekil 3.5'de de görülebileceği üzere skala küçük olsa da her iki enerji arasında fark vardır. Bu fark, SMD2US yönteminde SMD simülasyonun WHAM analizinde kullanılan bayas potansiyelini SMD simülasyonunda SMD atomunu çekmek için seçtiğimiz harmonik potansiyel olarak kullanıldığı için kaynaklanmaktadır. SMD2US metodunun uygulamasında pencere aralığının daha da küçültülmesi, 40 pencere yerine 96 pencere kullanılması, Şekil 3.5'deki farkı kaldırmamıştır. Yeterli verinin oluşması ve uygun dağılım fonksiyonlarının elde edilmesi için pencere aralığının 0.25 Å olarak seçilmesi

uygun bulunmuştur. İki yöntem arasındaki farkın daha kompleks ya da dış potansiyel uygulanan sistemlerde nasıl davrandığı araştırılması gereken bir özelliktir.



Şekil 3.5. $v = 5 \text{ Å/ns}$ hızla çekilen iyonun dissipatif kuvvetin yaptığı işin Jarzynski ve SMD2US yöntemleri ile hesaplanması. Jarzynski hesabında 20 örnekleme üzerinden ortalama alınmış, aynı örnekleme SMD2US için kullanılmıştır.

Dissipatif kuvvetin yaptığı işin “ $ktD(\rho_j|\tilde{\rho}_j)=kt \sum_j \rho_j \ln(\rho_j/\tilde{\rho}_j)$ ” hesabı için gerekli olan yoğunluklar bu şekilde elde edilmiş ve eşitlikteki toplama işlemi yapılarak görelî entropi değeri hesaplanmıştır. Şekil 3.6’de bütün çekme hızları için görelî entropi değişimi verilmiştir. $v = 1 \text{ Å/ns}$ ve diğer düşük hızlardaki görelî entropi değişimleri Jarzynski’nin makalesindeki (Horowitz ve Jarzynski, 2009) Eş. 21 ve Şekil 3.1 ile uyum içindedir. Yüksek hızlarda elde edilen grafik ise Eş. 21’de verilen fonksiyonun kısmi bir parçasını oluşturur ancak denklemdeki tüm parametreler aynı olmadığından birebir karşılaştırmak mümkün değildir.



Şekil 3.6. Değişik hızlarda hesaplanan görelî entropî eğrileri. Eğriler reaksiyon yolu boyunca integrand değerlerini vermektedir.

Bu noktaya kadar yapılan işlemleri kısaca özetlemek gerekirse görelî entropinin yola bağlı olarak hesaplanması için öncelikle WHAM yöntemi ile normalize yoğunluklar hesaplanmış ve

$$kTD(\rho_j|\tilde{\rho}_j) = kT \sum_j \rho_j \ln(\rho_j/\tilde{\rho}_j) \quad (62)$$

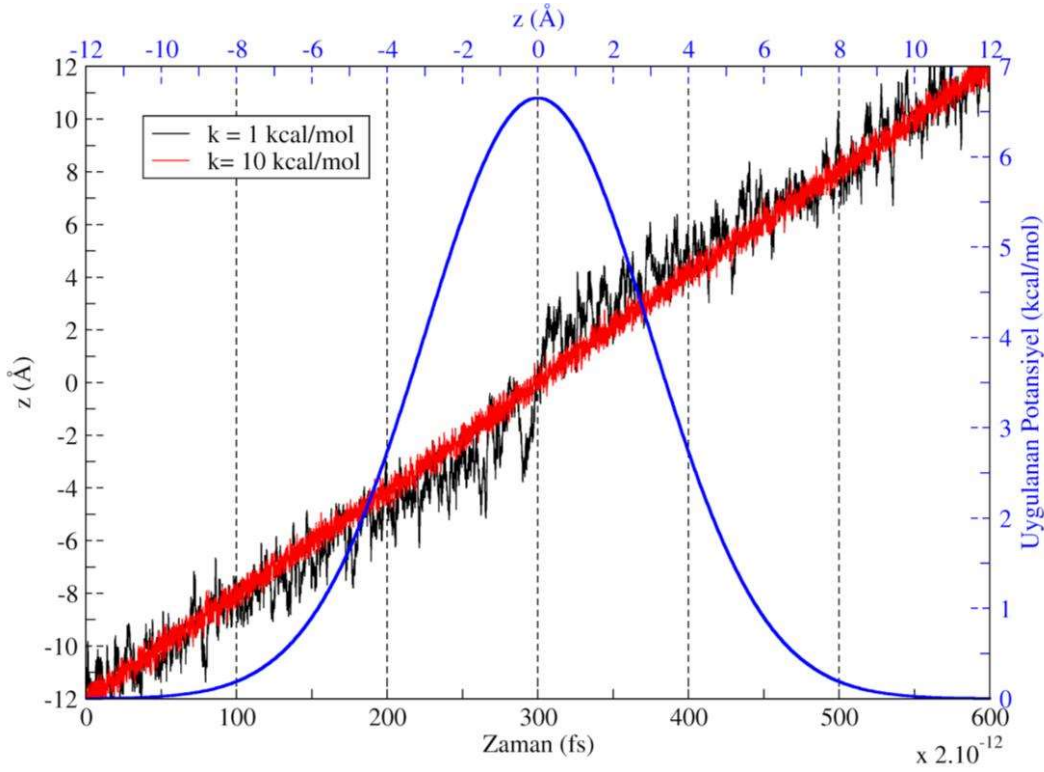
denklemden yola bağlı dissipatif kuvvetin yaptığı iş hesaplanmıştır.

Denklem 61'in test edilmesi açısından iş fonksiyonunun yani serbest enerji değişiminin sıfır olması kullanışlı değildir ve yanıltıcı sonuçlar doğurabilir. Bu nedenle su kutusu içerisine bilinen bir potansiyel uygulanarak bu potansiyelin faz uzayı yönteminde verilen görelî entropî ile hesaplanması amaçlanmıştır. Bilinen potansiyel olarak Gauss tipi bir potansiyel seçilmiş ve denklem 63'de bu potansiyelin biçimi verilmektedir.

$$U(x) = \frac{A}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{1}{2}\left(\frac{x-\mu}{\sigma}\right)^2} \quad (63)$$

Burada A sabiti 50 kcal/mol , sigma sabiti de $3 \text{ \AA}$ ve $\mu = 0$ olarak seçilmiştir. Bu parametreler kullanılarak elde edilen potansiyel Şekil 3.7’te mavi çizgiyle gösterilmiştir. Bu aşamadan sonra karar verilmesi gereken bir başka konu da kuvvet sabitinin seçimidir. Kuvvet sabiti, uygulanan potansiyeli yenebilecek kadar yüksek olduğunda iyon bu potansiyele tepki göstermeyecektir. Bu nedenle yapılan hesaplama hatalı sonuçlar verecektir. Tasarlanan bu basit sistemde iyonun gördüğü potansiyel önceden bilindiği için bu durum bir sorun teşkil etmemektedir ancak kompleks sistemlerde temel amaç bu potansiyeli tayin etmek olduğu için ve bu potansiyelin şekli ve büyüklüğü bilinmediğinden kuvvet sabiti parametresinin optimize edilmesi gerekmektedir.

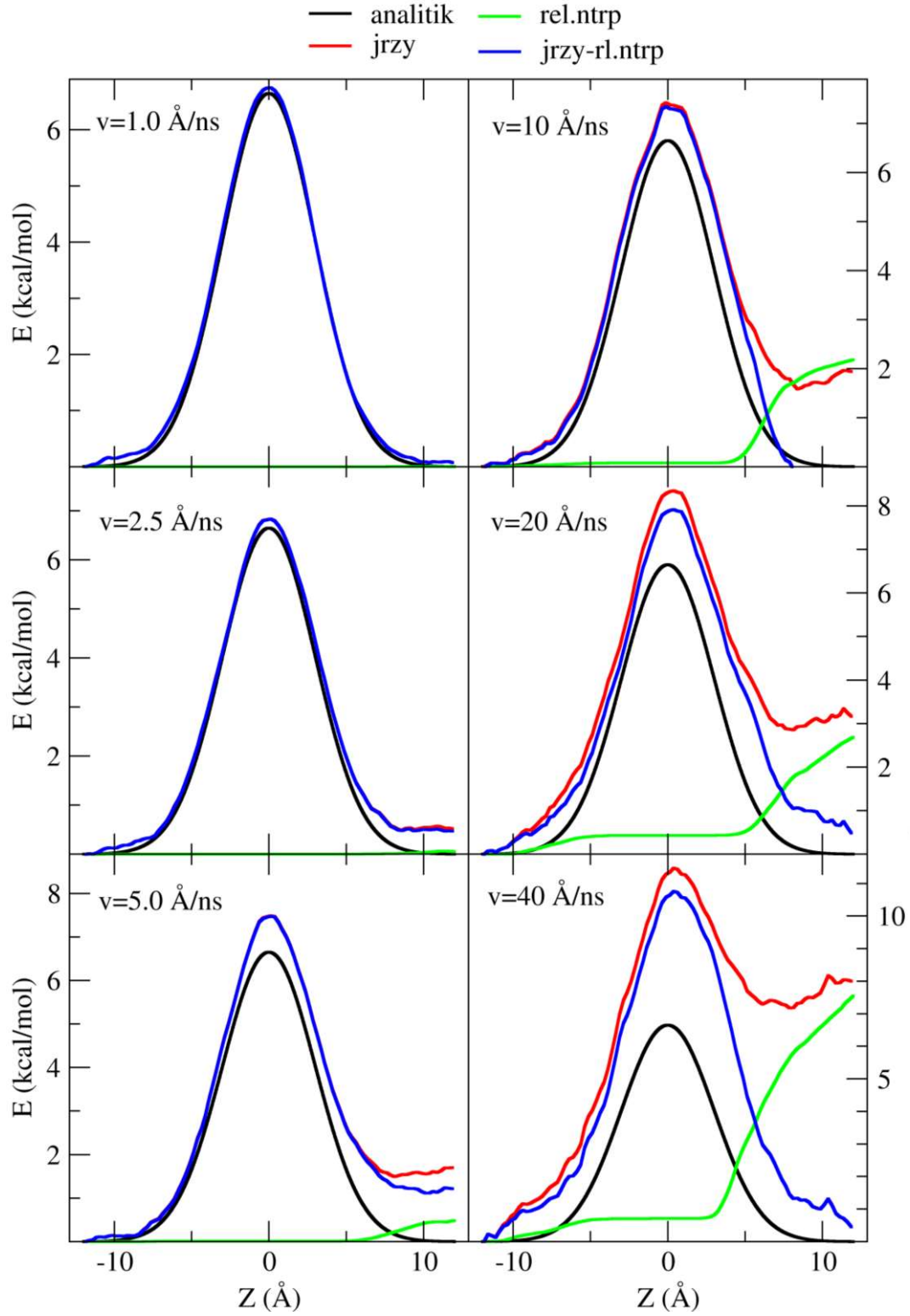
Bu etkinin daha iyi anlaşılması için Şekil 3.7’te gösterilen iki farklı kuvvet sabiti kullanılarak iyon su kutusunda çekilmiş ve iyonun koordinatları gösterilmiştir. Kuvvet sabiti, çekilen SMD atomunun sabit hızının ne kadar iyi korunduğunu etkiler bu yüzden kuvvet sabiti potansiyelin doğru bir şekilde ölçülmesini sağlayacak yüksek ancak ölçümü gürültünün domine etmeyeceği kadar düşük olmalıdır. Bu aynı zamanda sert yay yaklaşımı (stiff-spring approximation) olarak da bilinir. Kuvvet sabiti $k = 10 \text{ kcal/mol/\AA}^2$ için uygulanan potansiyelin maksimum olduğu noktada dahi kırmızı çizgi ile gösterilen iyonun hareketi bu potansiyelden etkilenmemiştir. Ancak $k = 1 \text{ kcal/mol/\AA}^2$ kuvvet sabiti kullanıldığında, uygulanan potansiyel arttıkça iyonun koordinat dağılımında (siyah çizgi) kaymalar gözlenmektedir. İyonun gördüğü potansiyeli tayin etmenin yolu, bu koordinat dağılımındaki kaymalara bağlıdır. Çünkü denklem 62’de verilen göreceli entropi tamamen olasılık dağılımının bir sonucudur. Bu yüzden bu sistem için $k = 10 \text{ kcal/mol/\AA}^2$ alınmıştır.



Şekil 3.7. Su kutusu içerisine uygulanan Gauss potansiyeli ve iyonun farklı kuvvet sabitleri ile çekildiğinde elde edilen koordinat dağılımı.

Uygulanan potansiyelin parametreleri optimize edildikten sonra faz uzayı metodunu uygulamak için geliştirilmiş olan SMD2US yöntemi uygulanmıştır. Yönlendirilmiş MD hesabında A noktasından B noktasına ileri (forward) ve B noktasından A noktasına geri (reverse) 20 farklı örnekleme yapılmış bu örneklemlerden aynı noktalarda ileri ve geri normalize edilmiş yoğunluk hesabı yapılmıştır. Bu yoğunluk hesapları kullanılarak göreceli entropi (dissipatif kuvvet) hesaplanmış ve Jarzynski metodu ile hesaplanan iş fonksiyonundan çıkarılarak serbest enerji değişimi yani bu basit sistem için uygulanan Gauss potansiyelin elde edilmesi amaçlanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.8’te gösterilmiştir. Bu çalışmada iyonu çekmek için $v = 1.0 \text{ Å/ns}$, 2.5 Å/ns , 5.0 Å/ns , 10 Å/ns , 20 Å/ns ve 40 Å/ns hızları kullanılmıştır. Şekil 3.8’te siyah eğrilerle Gauss potansiyelinin kendisi, kırmızı eğrilerle Jarzynski eşitliğinden elde edilen potansiyel, yeşil eğrilerle hesaplanan bağıl entropi eğrileri ve mavi eğrilerle denklem 61’de verilen Jarzynski eşitliğinden hesaplanan iş fonksiyonundan göreceli entropi değeriyle hesaplanan dissipatif enerjinin çıkarılması ile elde edilen serbest enerji eğrisi verilmiştir. Şekil 3.8’ten görülebileceği gibi düşük hızlarda; $v = 1.0 \text{ Å/ns}$ ve $v = 2.5 \text{ Å/ns}$ değerleri için serbest

enerji denge durumu hesapları aynıdır. Hızın artırılması ile dissipatif kuvvet artmakta ve bu kuvvetin yaptığı iş belirgin hale gelmektedir. Çok yüksek hızlarda potansiyel, şekil itibarı ile elde edilmiş olsa bile potansiyel bariyeri olduğundan çok daha fazla çıkmaktadır. Şekil 3.8'ten elde edilen sonuç, $v = 10 \text{ Å/ns}$ hızında Gauss potansiyel eğrisinin elde edilmesidir. Elde edilen PMF'i denge durumunda kullanılan US metodu ile karşılaştırsak: ulaşabilen $v = 10 \text{ Å/ns}$ hızında, 10 örnekleme üzerinden hesapladığımızda harcanılan zaman 24 ns'dir. Şemsiye örnekleme yöntemi kullanılmış olsaydı bu aralık için 49 örnekleme penceresine ihtiyaç olacaktı ve her bir pencere için minimum 1 ns örnekleme yapıldığında toplamda 49 ns simülasyon zamanına ihtiyaç olacaktı. Dolayısıyla denge durumunu dışı faz uzayı yöntemi kullanılarak şemsiye örneklemesine göre PMF oluşturmak için ihtiyaç duyulan zaman yarıya indirilmiştir.



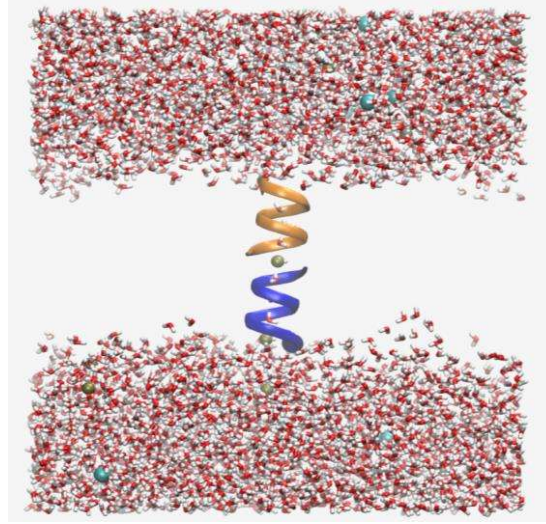
Şekil 3.8. Gauss potansiyeli uygulanan iyonun su içinde değişik hızlarda çekilmesiyle elde edilen iş ve serbest enerji eğrileri.

Azami 10 Å/ns için bu basit sistemde faz uzayı yöntemi kullanılarak denge dışı serbest enerji hesabının çalıştığı gösterilmiştir. Bir sonraki aşamada bu yöntemin daha karmaşık biyolojik sistemler için yöntemin çalışıp çalışmadığı test edilmelidir.

Bu amaç için iyon kanallarının 1970'lerden beri bilinen ve üstünde uzun süre çalışılmış Gramicidin A (GA) kanalı kullanılmıştır. Üstünde uzun süredir çalışılması sebebiyle yeni yöntemlerin testlerinde doğruluğu kontrol etmek için iyi bir adaydır.

Bu kapsamda Gramicidin A (GA, PDB Code: 1JNO) (Townsend vd, 2001) kanalında şemsiye örnekleme kullanılmıştır. Bunun için GA membrana gömülü, hücre içi ve dışına yeteri miktarda su ve fizyolojik konsantrasyonda K^+ ve Cl^- iyonları eklenerek simülasyon sistemi kurulmuştur.

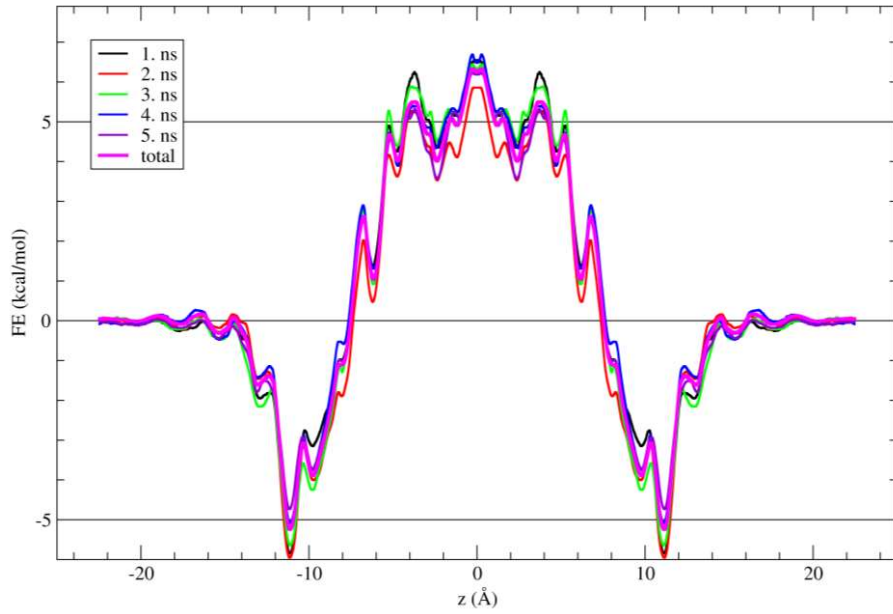
Şekil 3.9'da GA sistemi verilmiştir. Şekildeki simetrik helis çifti (turuncu ve mavi) protein, kırmızı ve beyaz olarak gösterilen kısımlar su moleküllerini, su arasında kalan boşluk membranı oluşturan lipid moleküllerince doldurulmaktadır. Sistem nötral olup toplamda 15 adet K^+ ve 15 adet Cl^- iyonu (tan ve cyan rengi) bulunmaktadır. Şekilde alt bağlanma cebi ve merkezinde K^+ iyonu bulunmaktadır. Daha GA kanalı için membran olarak 56 POPE lipid molekülü ($65 \times 65 \text{ Å}^2$ alanda) kullanılmıştır. GA sistemi $65 \times 65 \times 85 \text{ Å}^3$ boyutunda bir kübik yapı olarak hazırlanmış, yaklaşık 29 500 atomdan oluşmaktadır. Bu sistem sabit atmosferik basınç ve oda sıcaklığında (yaklaşık 300 K) (NPT kümesi) termodinamik dengeye getirilmiştir. Bu amaç için yaklaşık 100 ns simülasyon yapılmıştır. Sistem denge haline getirildikten sonra 0.5 mikro saniye simüle edilmiş ve RMSD değeri 1 Å civarında bulunmuştur. Kesme mesafesi 12 Å ve simülasyon adımı 2 femto-saniye kullanılarak NAMD programının 2.8 versiyonu ve CHARM22 kuvvet alanı kullanılarak simüle edildi.



Şekil 3.9. GA sistemi verilmiştir. Şekilde, simetrik helis çifti proteini, su moleküllerini, K^+ ve Cl^- iyonlarını göstermektedir. Şekilde alt ve orta bağlanma cebinde bulunan K^+ iyonu bulunmaktadır. GA sistemi $65 \times 65 \times 85 \text{ Å}^3$ boyutundadır.

GA kanalı için de tek iyonu çektiğimiz işlemleri tekrarlamamız için GA kanalının da PMF'ini hesaplanması gerekmektedir. Şemsiye örnekleme yönteminde kanal eksenine boyunca pencereler 0.5 Å aralıklarla alındı. GA kanalında hücre içinden hücre dışına kadar ($-22; +22 \text{ Å}$) aralığında 89 şemsiye örnekleme penceresi alınmıştır. Her bir pencerede toplam 5 ns örnekleme simülasyonu yapıldı ve iyon yörünge verilerinden ağırlıklı histogram analiz yöntemi (WHAM) kullanılarak serbest enerji hesabı yapıldı. Her bir şemsiye örnekleme penceresinde 10 kcal/mol/Å^2 büyüklüğünde harmonik potansiyel kullanıldı, WHAM analizi ile bu potansiyel ayıklanmıştır. GA kanalı simetrik bir yapıya sahip olduğundan referansta gösterildiği (Baştuğ ve Kuyucak, 2006a) gibi serbest enerji verileri simetrize edilmiştir. PMF sonucu Şekil 3.10'da gösterilmiştir.

Bu sonuç literatürdeki daha önceki çalışmalar ile uyum içerisindedir (Baştuğ ve Kuyucak, 2006a; Baştuğ ve Kuyucak, 2006b; Baştuğ ve Kuyucak, 2007; Baştuğ vd, 2008). Bağlanma cebi yaklaşık $z=\pm 11 \text{ Å}$ 'da, bağlanma cebi ve kanal merkezi arasındaki potansiyel fark yaklaşık 10 kcal/mol iken, bağlanma cebi ve kanal dışı su (bulk) arası potansiyel farkı yaklaşık 5 kcal/mol 'dür. Beş ns'lik simülasyon verisi içinde her bir ns için elde edilen kuvvet potansiyelleri arasındaki fark 1 kcal/mol büyüklüğündedir.



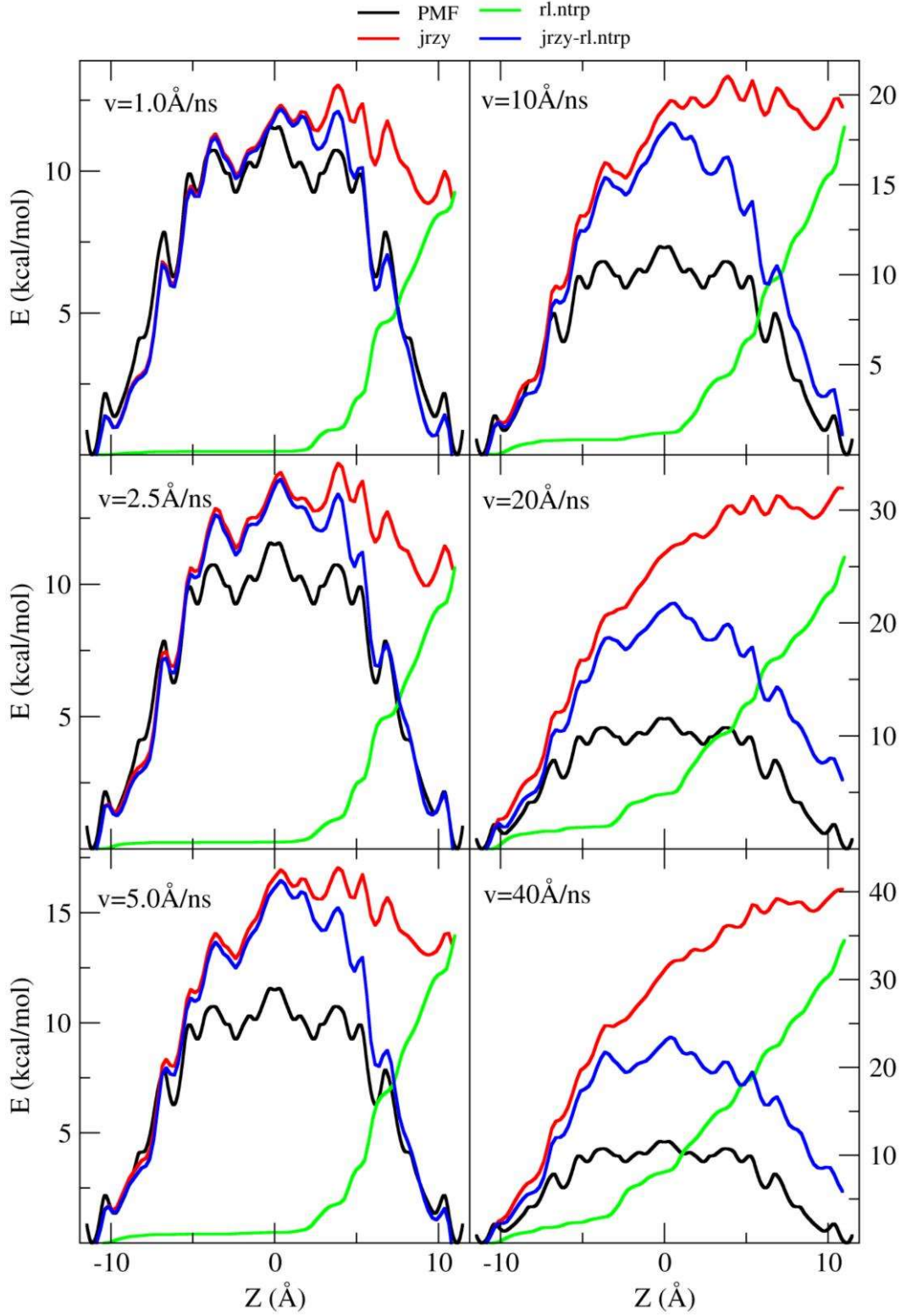
Şekil 3.10 GA kanal eksenı boyunca hesaplanan ortalama kuvvet potansiyeli. Toplam potansiyel 5 ns süresince toplanan yörüngesinden elde edilmiştir.

GA kanalında iyon alt bağlanma cebinden üst bağlanma cebine yönlendirilmiş hem ileri hem geri yönde SMD simülasyonları ile çekilip 20 örnekleme için veriler elde edilmiştir. Çekme sürecinde yine $v = 1.0 \text{ Å/ns}$, 2.5 Å/ns , 5.0 Å/ns , 10 Å/ns , 20 Å/ns ve 40 Å/ns hızları kullanılmıştır. Kuvvet sabiti olarak $k = 10 \text{ kcal/mol/Å}^2$ alınmıştır. Sonuçlar Şekil 3.11’te verilmiştir. Şekil 3.11’te siyah eğriler şemsiye örnekleme yöntemi ile elde edilen PMF, kırmızı eğriler Jarzynski eşitliği ile elde edilen, yeşil eğriler görelı entropi ile elde edilen eğrilerdir. Şekil 3.11’te mavi eğrilerle; Eş. 15’teki Jarzynski eşitliğinden hesaplanan iş fonksiyonundan, görelı entropi değeriinden elde edilen dissipatif kuvvetin yaptığı işin çıkarılmasıyla hesaplanan serbest enerji eğrisi verilmiştir.

Şekil 3.11’ten görüleceğı gibi düşük hızlarda dahi Jarzynski eşitliği ile sonuç almak mümkün değilken (Bastug ve ark., 2008) faz uzayı yöntemi ile PMF hesabı yapılmıştır. Dolayısıyla hesaplanan dissipatif iş de tutarlıdır. Yüksek hızlarda potansiyel, şekil itibarıyla lokal minimumlarıyla üretilmiş olmasına karşın potansiyel bariyeri Gauss potansiyelinde olduğu gibi kompleks sistemlerde de yüksek çıkmıştır. Bu bölümde alınan yüksek hızlar 10 Å/ns , 20 Å/ns ve 40 Å/ns denge dışı dinamik hızlarının da üzerinde olup kompleks sistemler için yeterli örnekleme problemi de doğurmaktadır. Bu nedenle kompleks sistemlerde 20 örnekleme için maksimum çekme hızı $v = 5.0 \text{ Å/ns}$ olmalıdır.

Buna ek olarak Şekil 3.11 Jarzynski eşitliğinin doğrudan çalışmadığı gösterilen önceki çalıŐmalara (Bastug ve Kuyucak., 2007b ve Bastug ve ark., 2008) daha küçük hızlar için dahi doğrulamakta ve faz uzayı düzeltmesinin, Şekil itibarı ile dahi olsa, serbest enerji eğrisinin çıkartılması için gerekli olduğunu göstermektedir. Bu sayede dissipatif işin de Şekil itibarı ile doğru olduğunu ancak ölçekleme konusuna daha fazla dikkat edilmesi gerektiğini gösterir.





Şekil 3.11. GA kanalında reaksiyon koordinatı boyunca PMF eğrileri. GA kanalında iyon alt bağlanma cebinden üst bağlanma cebine yönlendirilmiş MD simülasyonları ile çekilmiştir. Çekme sürecinde yine $v = 1.0 \text{ Å/ns}$, 2.5 Å/ns , 5.0 Å/ns , 10 Å/ns , 20 Å/ns ve 40 Å/ns hızları kullanılmıştır.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu çalışmada ilk olarak Faz uzayı metodu ile görelî entropi ve dissipatif iş, SMD2US algoritmasından da faz uzayı için gerekli olan olasılık yoğunluklarının elde edilmesi için programlar yazıldı. Bu programlarla yapılmak istenen ise dissipatif işi hesapladıktan sonra sistemin serbest enerji farkını Jarzynski metodu ile hesaplayıp bizim tarafımızdan uygulanan potansiyellerde ya da bizim basit sistemimizden daha kompleks ve potansiyel yüzeyi bilinen biyolojik molekülleri kullanarak ortalama işten dissipatif işi çıkardığımızda sistemin potansiyelini elde ederken hesaplamaları doğrulamaktır.

Faz uzayı metodu kullanılarak dissipatif kuvvetin yaptığı işin hesaplanması ve serbest enerji hesaplamalarının basit sistemlerde test edilmesi işlemi için su kutusunda tek bir iyonu bir eksen boyunca çekerek fiziksel olmayan basit bir sistem tasarlanmıştır. Bu sistem üzerinde dissipatif iş hesaplanırken sistem üzerine etki eden hiçbir potansiyel olmadığından elde edilen dissipatif kuvveti karşılaştırabileceğimiz ya da teyit edilebilecek düzgün bir veri yoktur. Ancak iyon çekilirken artan hızlarda dissipatif hızın da artması teori ile uyumlu olduğunu göstermiştir.

İkinci olarak hesaplanan dissipatif işin doğru hesaplandığından emin olmak için sisteme z koordinatı boyunca gausyen potansiyel uygulandı. Şekil 3.8’de görüldüğü sistemde potansiyel uygulayacak bir etkileşim olmadığı için sistemin PMF’i sisteme bizim tarafımızdan uygulanan gausyen potansiyele ve dissipatif işin toplamına eşittir. Yani Jarzynski eşitliği ile serbest enerji farkından dissipatif iş çıkarılınca çekme hızı $v = 10.0 \text{ Å/ns}$ ’e kadar bu basit sistemde dissipatif iş hesaplanabilmiştir.

Üçüncü olarak ise Gramicidin A kanalı için bu işlemler tekrarlanmıştır. Şekil 3.11’de görülebileceği üzere sadece en yavaş hızda PMF’e yakın bir sonuç alınırken daha yüksek hızlarda dissipatif kuvvet olması gerekenden daha küçük çıkmıştır. Bütün sistemlerde yüksek hızlarda dissipatif işin olması gerekenden daha düşük çıkma nedeni ilk olarak Jarzynski eşitliğini kullanırken denge durumundan daha hızlı uzaklaştıkça dissipatif kuvvetin daha fazla iş yapması ancak bu durumda hala 20 örnekleme kullanılması

nedeniyle iş dağılımlarının yetersiz örneklenmesi olabilir. Bu nedenle artan hız ile artan örnekleme ilişkisinin incelenmesi yüksek hızlardaki sapmanın nedenlerinden birine ışık tutabilir. Buna ek olarak SMD2US algoritmasında kullanılan WHAM yöntemi normalde birbiri ile çakışan pencerelerden oluşan şemsiye örnekleme için kullanılır. Ancak SMD simülasyonları şemsiye örneklemesine göre penceresizdir. Dolayısıyla WHAM yerine Multi-state Bennet Acceptance Ratio ya da diğer adıyla -binless WHAM- penceresiz WHAM metodunun kullanılması yüksek hızlarda daha düzgün sonuçlar verebilir.

Farklı parametrelerle ve farklı sistemlerde bulunan dissipatif işin doğrulamasının ancak dolaylı yollardan yapılabilecek olması sebebiyle faz uzayı yöntemi üzerine kurulu SMD2US yola bağlı denge durumu serbest enerji hesapları ile yani PMF hesabı ile karşılaştırmak mümkündür. Bu karşılaştırma hem doğrulama açısından hem de denge dışı bir yöntem kullanılmasına rağmen daha az işlem gücü kullanarak daha isabetli sonuçlar alma açısından olacaktır.

Basit sistem olarak seçilen, fiziksel olmayan Gauss potansiyelinin elde edilmesi için şemsiye örnekleme yönteminde $(-12.0; 12.0)$ Å aralığında ihtiyaç duyulan örnekleme pencere sayısı, 49 olup Gauss potansiyelini denge durumunda elde edebilmek için her bir pencere için 2 ns simülasyon yapılmıştır. Bu bilgiler ışığında en basit Gauss potansiyelini, fiziksel olmayan sistemde dahi denge durumu gerektiren serbest enerji yöntemi ile elde etmek için 98 ns'lik simülasyon süresi gerekmektedir. Aynı potansiyeli SMD ve Jarzynski yöntemi ile elde etmek için maksimum çekme hızının $v = 1.0$ Å/ns olması gerekmektedir. Ancak bu yöntemi minimum 10 örnekleme ile uygulayabildiğimiz dikkate alındığında, gerekli olan zaman 240 ns olup şemsiye örnekleme yönteminin yaklaşık 2.5 katıdır. Diğer taraftan SMD2US yönteminde bu sistem için $v = 10.0$ Å/ns hızına kadar Gauss eğrisini elde ettiğimiz görülmektedir. Ulaşabileceğimiz maksimum hızı $v = 10.0$ Å/ns almamız durumunda 20 örnekleme için ihtiyaç duyulan simülasyon zamanı 48 ns'dir. Bunun şemsiye örnekleme yönteminde ihtiyaç duyulan simülasyon zamanının yarısı olması önemli bir gelişmedir.

GA sisteminde şemsiye örnekleme yöntemi ile elde edilen PMF eğrisi Şekil 3.4'te sunulmuştur. Şekilde $(-11.0; 11.0)$ Å aralığında ihtiyaç duyulan örnekleme pencere sayısı 45 olup PMF potansiyelini denge durumunda elde edebilmek için her bir pencere için 5 ns simülasyon yapılmıştır. Denge durumu gerektiren serbest enerji yöntemi ile PMF elde etmek için toplamda 225 ns'lik simülasyon süresi gerekmektedir. Aynı potansiyeli SMD ve Jarzynski yöntemi ile elde etmenin hiçbir şekilde mümkün olmadığı gösterilmiştir. SMD2US yöntemi sonuçlarında PMF eğrisini elde etmek için alınacak maksimum hız $v = 2.5$ Å/ns olmalı ve minimum 20 örneklem kullanılmalıdır. Bu durumda gereksinim duyulan simülasyon zamanı 176 ns'dir. Bu durumda da ihtiyaç duyulan simülasyon zamanı 176 ns olup şemsiye örnekleme yönteminde ihtiyaç duyulan simülasyon zamanından daha azdır. Dolayısıyla bazı parametre ve yaklaşımların optimize edilmediği durumlarda bile denge dışı faz uzayı metodu sayesinde hem dissipatif kuvvetin yaptığı iş hesaplanıp hem de şemsiye örnekleme yönteminde ihtiyaç duyulan serbest enerji hesabı yöntemi elde edilmiştir.

Özet olarak Faz uzayı yöntemini uygulamak için SMD2US olarak adlandırdığımız yöntem geliştirilip basit ve kompleks sistemlerde uygulanmış. Jarzynski eşitliğinin çok düşük hızlarda dahi çalışmadığı durumlarda faz uzayı yöntemiyle yola bağlı serbest enerji eğrileri elde edilmiş ve denge durumu PMF eğrisi ile karşılaştırılmıştır. Kompleks sistemlerde ise düşük hızlarda PMF eğrisi faz uzayı yöntemi ile elde edilmiş ve yöntemin çalıştığı gösterilmiştir. Dissipatif kuvvetin yaptığı işi biyolojik sistemler için hesaplayan ilk çalışma ortaya çıkmıştır. Bu çalışma aynı zamanda nano boyutta sürtünme kuvvetinin hesaplanabilmesini sağlamıştır.

Dissipatif kuvvetin yaptığı işin hesaplanması ve bu hesap sayesinde serbest enerjinin bulunabilmesi gelecek vaat eden ancak dikkatli kullanılması gereken bir metottur.

6. KAYNAKLAR

- Adcock S. A., McCammon J. A., “Molecular dynamics: survey of methods for simulating the activity of proteins”, Chem Rev. 2006 May;106(5):1589-615, **2006**.
- Alder, B. J. & Wainwright, T. E., “Phase Transition for a Hard Sphere System”, J. Chem. Phys., 27, 1208, **1957**.
- Ayalasomayajula M.K.P., “Theoretical studies of single molecule biophysical systems and photochemical ensembles”, Doktora Tezi, California Institute of Technology, 141, Pasadena, California, **2007**.
- Baştuğ, T., Kuyucak, S., “Molecular dynamics simulations of calcium binding in gramicidin A”, Chem. Phys. Lett. 424, 82-85, **2006a**.
- Baştuğ, T., Kuyucak, S., “Energetics of ion permeation, rejection, binding and block in gramicidine A from free energy simulations”, Biophys. J. 90, 3941-3950, **2006b**.
- Baştuğ, T., Kuyucak, S., “Free energy simulations of single and double ion occupancy in gramicidin A”, J. Chem. Phys. 126, 105103, **2007a**.
- Baştuğ, T., Kuyucak, S., “Application of Jarzynski’s equality in simple versus complex systems”, Chemical Physics Letters, 436(4-6), 383–387, **2007b**.
- Baştuğ, T., Chen, P. C., Patra, S. M., Kuyucak, S., “Potential of mean force calculations of ligand binding to ion channels from Jarzynski's equality and umbrella sampling”, Journal of Chemical Physics, 128, 155104, **2008**.
- Baştuğ, T., Kuyucak, S., “Comparative study of the energetics of ion permeation in Kv1.2 and KcsA potassium channels”, Biophys. J. 100, 629-636, **2011**.
- Baumann, H. M., Gapsys, V., de Groot, BL. & Mobley D. L., “Challenges Encountered Applying Equilibrium and Nonequilibrium Binding Free Energy Calculations”, The Journal of Physical Chemistry B 125 (17), 4241-4261, **2021**.
- Beveridge, D. L. & DiCapua F. M., “Free Energy via Molecular Simulation: Applications to Chemical and Biomolecular Systems”, Annu. Rev. Biophys., 18: 431, **1989**.
- Bustamante, C., Liphardt, J., Ritort F., “The Nonequilibrium Thermodynamics of Small Systems”, Physics Today, 58, 43-48, **2005**.

- Calderon, C. P., Janosi, L., Kosztin, I., “Using stochastic models calibrated from nanosecond nonequilibrium simulations to approximate mesoscale information”, *Journal of Chemical Physics*, 130, 144908, **2009**.
- Chen L., “Valid and efficient formula for free energy difference from nonequilibrium work”, *Nature Precedings*, 60, **2008**.
- Crooks, G. E., “The entropy production fluctuation theorem and the nonequilibrium work relation for free energy differences”, *Phys. Rev. E*, 60, 2721-2726, **1999**.
- Cuendet M. A., Michielin O., “Protein-protein interaction investigated by steered molecular dynamics: the TCR-pMHC complex”, *Biophys J.* 95(8):3575-90, **2008**.
- Çetiner U, Raz O, Sukharev S, Jarzynski C. “Recovery of Equilibrium Free Energy from Nonequilibrium Thermodynamics with Mechanosensitive Ion Channels in *E. coli*.”, *Phys Rev Lett*, 124(22):228101 **2020**.
- De Fabritiis, G., Coveney, P. V., & Villa-Freixa, J., “Energetics of K1 permeability through Gramicidin A by forward-reverse steered molecular Dynamics”, *Proteins: Structure, Function and Genetics*, 73, 185-194, **2008**.
- Dellago, C., Hummer, G., “Computing Equilibrium Free Energies Using Non-Equilibrium Molecular Dynamics”, *Entropy*, 16(1), 41-61, **2014**.
- Edwards, S. B., Corry, S. Kuyucak, & S. H. Chung., “Continuum electrostatics fails to describe ion permeation in the gramicidin channel”, *Biophys. J.* 83:1348–1360., **2002**.
- Grossfield, A., “WHAM: the weighted histogram analysis method”, version 2.0.10, http://membrane.urmc.rochester.edu/wordpress/?page_id=126 Son erişim tarihi: 24.10.2021., **2002**.
- Gumbart, J., Roux, B., “Determination of Membrane-Insertion Free Energies by Molecular Dynamics Simulations”, *Biophysical Journal*, 102, 795–801., **2012**.
- Horowitz, J., & Jarzynski, C., “Illustrative example of the relationship between dissipation and relative entropy”, *Physical Review E*, 79(2), **2009**.
- Hsu, S., Ying, C. & Zhao, F., “The nature of friction: A critical assessment”, *Friction* 2, 1–26, **2014**.

- Hummer G, Szabo A., “Free energy reconstruction from nonequilibrium single-molecule pulling experiments”, *Proceedings of the National Academy of Sciences* 98 (7): 3658-3661, **2001**.
- Hummer G, Szabo A., “Free Energy Surfaces from Single-Molecule Force Spectroscopy”, *Accounts of Chemical Research* 38 (7): 504-513, **2005**.
- Humphrey, W., Dalke A., ve Schulten. K., “VMD-Visual Molecular Dynamics”, *J. Molecular Graphics*, 14:33-38, **1996**.
- Jarzynski, C., “Nonequilibrium Equality for Free Energy Differences”, *Physical Review Letters*, 78(14):2690-2693, **1997**.
- Kale, L., Skeel, R., Bhandakar, M., Brunner, R., Gursoy, A., Krawetz, N., Phillips, J., Shinozaki, A., Varadarajan, K. & Schulten, K., “NAMD2: Greater Scale Ability For Parallel Molecular Dynamics”, *J. Comput.Phys.* 151, 283–312, **1999**.
- Karplus, M., McCammon, J., “Molecular dynamics simulations of biomolecules”, *Nat Struct Mol Biol* **9**, 646–652, **2002**.
- Kästner J, Thiel W., “Analysis of the statistical error in umbrella sampling simulations by umbrella integration”, *J Chem Phys*, 124(23):234106, **2006**.
- Kawai, R., Parrondo, J. M., & Van den Broeck, C., “Dissipation: The phase-space perspective”, *Physical review letters*, 98(8), 080602, **2007**.
- Kosztin, I., Barz, B., & Janosi, L., “Calculating potentials of mean force and diffusion coefficients from nonequilibrium processes without Jarzynski’s equality” *The Journal of Chemical Physics*, 124, 064106, **2006**.
- Kukol, A., *Molecular Modeling of Proteins (Second Edition)* Springer New York, **2015**.
- Lemkul J. A., “Umbrella Sampling”. Gromacs Tutorial.Web.
http://www.mdtutorials.com/gmx/umbrella/05_pull.html (Erişim tarihi: 2 Haziran 2022)
- Lindorff-Larsen, K., Maragakis, P., Piana S., Eastwood M. P., Dror R. O., Shaw D. E., “Correction: Systematic Validation of Protein Force Fields against Experimental Data”, *PLOS ONE* 8(4): e32131, **2013**.

- Liphardt J., Dumont S., Smith S. B., Tinoco I. Jr., Bustamante C., “Equilibrium information from nonequilibrium measurements in an experimental test of Jarzynski's equality”, *Science* 296(5574):1832-5, **2002**.
- MacKerell, A. D., Bashford, D., Bellott, M., Dunbrack, R. L., Evanseck, J. D., Field, S., Fischer, J., Gao, H., Guo, S., Ha, D., Joseph-McCarthy, L., Kuchnir, K., Kuczera, F. T. K., Lau, C., Mattos, S., Michnick, T., Ngo, D. T., Nguyen, B., Prodhom, W. E., Reiher, B., Roux, M., Schlenkrich, J. C., Smith, R., Stote, J., Straub, M., Watanabe, J., Wiorkiewicz-Kuczera, D., Yin, Karplus M., “All-Atom Empirical Potential for Molecular Modeling and Dynamics Studies Of Proteins”, *J. Phys. Chem. B* 102: 3586–3616, **1998**.
- Manini, N., Mistura, G., Paolicelli G., Tosatti, E., Vanossi, A., “Current trends in the physics of nanoscale friction”, *Advances in Physics: X*, 2, 3:569-590, **2017**.
- Park, S., Khalili-Araghi, F., Tajkhorshid, E., Schulten, K., “Free energy calculation from steered molecular dynamics simulations using Jarzynski's equality”, *Journal of Chemical Physics*, 119, 3559-3566, **2003**.
- Park, S., Schulten, K., “Calculating potentials of mean force from steered molecular dynamics simulations”, *Journal of Chemical Physics*, 120, 5946-5961, **2004**.
- Parrondo, J. M. R., Van der Broeck C. & Kawai, R. "Entropy production and the arrow of time", *New Journal of Physics* 11, 073008, **2009**.
- Phillips, J. C., Braun, R., Wang, W., Gumbart, J., Tajkhorshid, E., Villa, E., Chipot, C., Skeel, R. D., Kale', L., & Schulten, K., “Scalable Molecular Dynamic Swith NAMD”, *J. Comput. Chem.*, 26, 1781–1802, **2005**.
- Ritort F., “Single-molecule experiments in biological physics: methods and applications” *J Phys Condens Matter*, 18(32),531-583, **2006**.
- Rodriguez, A., M.S. Jaman, O., Acikgoz, B., Wang, J., Yu, P. G., Grützmacher, A., Rosenkranz, & M.Z. Baykara. “The Potential of ti3c2tx Nano-Sheets (Mxenes) for Nanoscale Solid Lubrication Revealed by Friction Force Microscopy”, *Applied Surface Science*, 535, **2021**.

- Sankar, K.M., Kakkar, D., Dubey S., Garimella, S., Goyat, MS, Joshi, SK, & Pandey, J.K., “Theoretical and Computational Studies on Nanofriction: A Review”, *Journal of Engineering Tribology*, 234, 448–465 **2019**.
- Salomon-Ferrer, R., Götz, A. W., Poole, D., Le Grand, S. Walker R. C., “Routine Microsecond Molecular Dynamics Simulations with AMBER on GPUs. 2. Explicit Solvent Particle Mesh Ewald”, *Journal of Chemical Theory and Computation* 9 (9), 3878-3888, **2013**.
- Senn, H. M. & Thiel, W., “QM/MM Methods for Biomolecular Systems”, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48: 1198-1229, **2009**.
- Shaw, D. E., Deneroff, M. M., Dror, R. O., Kuskin, J. S., Larson, R. H., Salmon, J. K., Young, C., Batson, B., Bowers, K. J., Chao, J. C., Eastwood, M. P., Gagliardo, J., Grossman, J. P., Ho, C. R., Ierardi, D. J., Kolossvary, I., Klepeis, J. L., Layman, T., McLeavey, C., Moraes, M. A., Mueller, R., Priest, E. C., Shan, Y., Spengler, J., Theobald, M., Towles, B., Wang, S. C., “Anton, a special-purpose machine for molecular dynamics simulation”, *Commun. ACM* 51, 7:91–97, **2008**.
- Torrie, G. M., & Valleau, J. P., “Monte Carlo free energy estimates using non-Boltzmann sampling: Application to the sub-critical Lennard-Jones fluid”, *Chemical Physics Letters*, 28, 578-581, **1974**.
- Torrie, GM., & Valleau, JP., “Nonphysical sampling distributions in Monte Carlo free-energy estimation: Umbrella sampling”, *Journal of Computational Physics*, 23, 187-199, **1977**.
- Townsley, L. E., Tucker, W. A., Sham, S., Hinton, J. F., “Structures of Gramicidins A, B, and C Incorporated into Sodium Dodecyl Sulfate Micelles”, *Biochemistry* 40: 11676, **2001**.
- Vanommeslaeghe. K., Hatcher, E., Acharya, C., Kundu, S., Zhong, S., Shim, J., Darian, E., Guvench, O., Lopes, P., Vorobyov, I., & MacKerell, Jr. A. D., “CHARMM General Force Field (CGenFF): A force field for drug-like molecules compatible with the CHARMM all-atom additive biological force fields”, *J Comput Chem.*, 31: 671-690, **2010**.

- Vashisth, H., & Abrams, C., F., “Ligand escape pathways and (un)binding free energy calculations for the hexameric insulin-phenol complex” *Biophysical journal*, 95(9), 4193–4204, **2008**.
- Zwanzig, R. W., “High-Temperature Equation Of State By A Perturbation Method 1. Nonpolargases”, *J. Chem. Phys.*, 22: 1420–1426, **1954**.
- Zhu, F. & Hummer, G., “Convergence and error estimation in free energy calculations using the weighted histogram analysis method”, *J. Comput. Chem.*, 33: 453-465, **2012**.

