



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



NÜKLEİK ASİTLER VE POLİPEPTİDLERİN ALT BİRİMLERİ (MONO-TETRAMER) ARASINDAKİ ETKİLEŞİMLERİNİN MOLEKÜLER MODELLEME YOLUYLA İNCELENMESİ

Yüksek Lisans Tezi

Fulya ÇAĞLAR

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı

İZMİR

2019



T.C.

EGE ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



NÜKLEİK ASİTLER VE POLİPEPTİDLERİN ALT BİRİMLERİ (MONO-TETRAMER) ARASINDAKİ ETKİLEŞİMLERİNİN MOLEKÜLER MODELLEME YOLUYLA İNCELENMESİ

Fulya ÇAĞLAR

DANIŞMAN

Prof.Dr. Cenk SELÇUKİ

Sağlık Biyoinformatiği Anabilim Dalı

Yüksek Lisans

İZMİR

2019

DEĞERLENDİRME KURULU ÜYELERİ

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan : Prof.Dr.Cenk Selçuki
(Danışman)

.....

Üye :

.....

Üye :

.....

Yüksek lisans tezinin kabul edildiği tarih :

.....

ÖNSÖZ

Bu araştırmada, REST transkripsiyon faktörünün aktif bağlanma bölgesinde yer alan üçlü serin molekülünün ikili nükleotid yapıları ile olan etkileşimleri araştırıldı.

Bu tez çalışması kapsamındaki hesaplamaların önemli bir kısmı TRUBA-ULAKBİM (Türk Ulusal Bilim e-Altyapı) kaynakları kullanılarak gerekeştirilmiştir. Tez çalışmasını gerçekleştirmemi sağlayan TRUBA-ULAKBİM'e desteklerinden ötürü teşekkür ederim. Ayrıca araştırma süresi boyunca Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Cenk Selçuki Araştırma Laboratuvarında bana çalışma imkânı sunan, yoğun iş temposuna rağmen bana vaktini ayıran, bilgi birikimi ve deneyimi ile bana destek olan saygıdeğer danışman hocam Prof. Dr. Cenk Selçuki ve çalışma ekibine teşekkürü bir borç bilirim.

Akademik hayatın başında karşılaştığım zorluklar karşısında, yılmadan devam etmemi sağlayan, manevi olarak her zaman yanımda olan ve beni sabırla destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Bu yolda benden hep birkaç adım önde olan ve bana yol gösteren, en büyük destekçim canım kardeşim Hasan Onur Çağlar'a ayrıca teşekkür ederim.

Son olarak tez çalışmamda başından sonuna kadar beni yalnız bırakmayan arkadaşım Hasip Çirkin'e teşekkür ederim.

İzmir, 10.06.2019

Fulya ÇAğLAR

ÖZET

Nükleik Asitler Ve Polipeptidlerin Alt Birimleri (Mono-Tetramer) Arasındaki Etkileşimlerinin Moleküler Modelleme Yoluyla İncelenmesi

Transkripsiyon faktörleri (TF) birçok farklı amino asidin bir araya gelmesi ile meydana gelen proteinlerdir. Yapısında bulunan amino asit dizileri, dış çevrenin entalpi değeri ve birbirleri arasındaki kovalent olmayan etkileşimlere bağlı olarak bu proteinin üç boyutlu bir yapı kazanmasını sağlamaktadır. Transkripsiyon faktörlerinin işlev gösterebilmesi ve DNA'ya etkin bir şekilde bağlanabilmesi için bu yapıyı kazanması gerekmektedir.

Bu çalışmada, RE-1 (Baskılayıcı Element-1) susturucu transkripsiyon faktörünün (REST) DNA bağlanma bölgesine ait üçlü serin yapısı ve REST'in etkin olarak bağlandığı bilinen tek iplikli DNA dizisi içerisindeki AG ve CC ikili nükleotid dizilerinin birbiri ile olan kovalent olmayan bağ etkileşimlerinin hesapsal moleküler yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır. Bunun için, üçlü serin molekülü yapıları, ikili nükleotid molekülü yapıları ve bu yapıların etkileşimlerine ait konfomer analizi Spartan'14 programı ile bulundu. Bulunan her bir konfomerin optimizasyon (opt) ve frekans (freq) hesaplamaları MOPAC2016 programı PM6-D3H4 yöntemi ve Gaussian09 programı B3LYP/6-311++G(d,p) ile sulu ortamda oldukları varsayılarak hesaplandı. Hesaplama sonrasında rölatif enerji değerleri hesaplanarak, etkileşime girmesi istenen en kararlı yapılar belirlendi. Moleküler yapıların gösterimi Discovery Studio Visualizer 2019 programı ile yapıldı.

Sonuç olarak, REST proteininin DNA'ya bağlanan aktif bölgesi içerisindeki serin rezidülerinin DNA ile kovalent olmayan etkileşimler içerisinde hidrojen (–H) bağı oluşturabileceği fakat diğer kovalent olmayan etkileşimlerin gerçekleşmediği bulundu.

Anahtar Kelimeler: REST; DNA; DFT ve PM6

ABSTRACT

Investigation Of Interactions Between Subunits Of Polypeptides And Nucleic Acids (Monomeric-Tetrameric) By Molecular Modelling

Transcription factors (TF) are proteins which are consisted of combinations of many different amino acids. The amino acid sequences in the structure provide three-dimensional structure due to the enthalpy value of the external environment and the non-covalent interactions. A protein must be in its optimal 3D conformational structure to perform its function: effectively binding to DNA.

In this study, the non-covalent interactions between AG and CC nucleotide dimer sequences in the single-stranded DNA, known to be effectively bound to REST, and the triple serine structure of the DNA binding region of RE-1 (Suppressor Element-1) silencer transcription factor (REST) were investigated by computational molecular methods. For this purpose, Spartan 14 program was used to find triple serine molecule structures and nucleotide dimer structures by conformational analysis. The MOPAC program with PM6-D3H4 method and Gaussian09 program with B3LYP-6-311++G(d,p) level were used for optimizations (opt) and frequency (freq) calculations for each investigated conformer. Using the calculated results, the most stable structures were determined using the relative energies. Molecular structures were drawn by Discovery Studio Visualizer 2019.

As a result, it was found that serine residues in the active DNA binding region of REST protein can form hydrogen (–H) bonds with DNA. Other non-covalent interactions such as van der Waals forces were not identified.

Keywords: REST; DNA; DFT and PM6

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	I
ÖZET	II
ABSTRACT	III
TABLolar DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
KISALTMALAR LİSTESİ	VIII
1. BÖLÜM	1
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	2
1.1. TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ	2
1.2. Çekirdek/Bazal Promotor Bağlanma Faktörleri	3
1.3. Proksimal/Distal Promotore Bağlanan Hızlandırıcı Faktörler	4
1.3.1. Heliks-Döngü-Heliks Motif	5
1.3.2. Lösin-Fermuar Motif	5
1.3.3. Çinko-Parmak Motif	5
1.3.3.1. Nöron Spesifik Çinko Parmak Protein: NRSF/REST	6
2. BÖLÜM	11
GEREÇ VE YÖNTEM	11
2.1. TEORİ	12
2.1.1. Hesaplama Kullarılan Programların Çalışma Prensipleri; Temel Kuantum Mekaniği	12
2.1.1.1. Schrödinger Denklemleri	12
2.1.1.2. Atom ve Moleküller	13
2.1.1.3. Hartree-Fock Teorisi	15
2.1.1.3.a Hartree-Fock Yaklaşımının Sınırlamaları ve Başarısızlıkları	19
2.1.1.4. Yarı-Ampirik Yöntemler	21

2.1.1.5. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi	22
2.1.1.5.a. Değişim-Korelasyon Fonksiyonları	22
2.1.1.6. BAZ SETLERİ	25
2.1.1.6.a. Minimal Baz Seti	25
2.1.1.6.b. Bölünmüş Değer Baz Seti	25
2.1.1.6.c. Polarize Baz Setleri	26
2.1.1.6.d. Difüze Baz Setleri	26
2.2. HESAPSAL YÖNTEM	26
2.2.1. REST Transkripsiyon Faktörü'nün DNA Bağlanma Bölgesine Ait Dizisinin ve Yapısının Belirlenmesi	26
2.2.2. REST Transkripsiyon Faktörü'nün DNA'ya Bağlandığı Gen Bölgesine Ait Dizinin ve Yapının Belirlenmesi	30
2.2.3. İkili-Nükleotid ve Üçlü-Peptid Yapı Etkileşim Hesaplaması	33
3. BÖLÜM	34
BULGULAR VE SONUÇ	34
3.1. Üçlü Peptid Yapısı Veri Sonuçları	34
3.2. İkili nükleotid Yapıları Veri Sonuçları	58
3.2.1. Yarı-Ampirik PM6-D3H4 Yöntemi Veri Sonuçları	58
3.2.2. B3LYP Yöntemi Veri Sonuçları	63
3.3. Üçlü Peptit İle İkili Nükleotid Etkileşimi PM6-D3H4 Yöntemi Veri Sonuçları	66
4. BÖLÜM	87
TARTIŞMA	87
5. BÖLÜM	90
SONUÇ VE ÖNERİ	90
KAYNAKLAR	91
ÖZGEÇMİŞ	97

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. Ac.S-S-S-Ac üçlü peptid yapısı B3LYP veri sonuçları. _____	34
Tablo 2. me-AG- PM6-D3H4 veri sonuçları. _____	58
Tablo 3. me-CC- PM6-D3H4 veri sonuçları. _____	61
Tablo 4. AG ikili nükleotidi B3LYP yöntemi veri sonuçları. _____	63
Tablo 5. CC ikili nükleotidi B3LYP yöntemi veri sonuçları. _____	65
Tablo 6. PM6-D3H4 yöntemi sonrası –AG- ikili nükleotid yapısı ile üçlü serin yapısı arasındaki etkileşimin veri sonuçları. _____	68
Tablo 7. PM6-D3H4 yöntemi sonrası –CC- ikili nükleotid yapısı ile üçlü serin yapısı arasındaki etkileşimin veri sonuçları. _____	74

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. PIC kompleksinin oluşum şeması. _____	3
Şekil 2. REST/NRSF ve çeşitli kofaktörler nöronal gen ifadesinin düzenlenmesinde etkin birer rol oynarlar. _____	7
Şekil 3. REST proteinin ve alternatif izoformlarının şematik gösterimi. _____	8
Şekil 4. REST TF izoform yapılarına ait peptid dizileri. CLUSTAL O(1.2.4) çoklu dizi karşılaştırması. _____	27
_____	28
Şekil 5. Spartan'14 programı- Ac-S-S-S-Ac yapısı. _____	28
Şekil 6. Üçlü peptid konfomer hesaplama basamakları. _____	28
Şekil 7. Üçlü peptid yapısına ait optimizasyon giriş dosyası _____	29
Şekil 8. Üçlü peptid yapısına slurm dosyası. _____	29
Şekil 9. Üçlü peptid yapısı frekans giriş dosyası. _____	30
Şekil 10. İnsan SYN1 geni promotor bölgesi nükleotid dizisi. _____	30
Şekil 11. REST transkripsiyon faktörü DNA etkin bağlanma dizisi. _____	31
Şekil.12. -AG- ikili nükleotid yapısı, Spartan'14 programı. _____	31
Şekil 13. ikili nükleotid yarı-ampirik yöntem optimizasyon veri giriş dosyası. _____	32
Şekil 14. . İkili nükleotid yarı-ampirik yöntem frekans veri giriş dosyası. _____	32
Şekil 15. Spartan'14 ikili nükleotid (-AG-) ve üçlü peptid molekülerin modellemesi. _____	33
_____	33
Şekil 16. AG, CC ve serin üçlü peptid yapılarının -H bağı alıcı ve verici bölgeleri. _____	67

KISALTMALAR LİSTESİ

REST	: RE-1 (Baskılayıcı Element-1) susturucu transkripsiyon faktörü
TF	: Transkripsiyon faktörleri
Opt	: Optimizasyon
Freq	: Frekans
RNA pol –II:	: RNA polimeraz II
snRNA	: Küçük nüklear RNA
mRNA	: Mesajcı RNA
Inr	: Primidin-zengin başlatıcı (pyrimidine-rich initiator)
Cap	: Katabolit aktivatör protein
PIC	: Preinitiation complex
CTD	: C-ucu domain
TBP	: TATA-kutusu bağlanma proteini
AdMLP	: Adenovirüs majör geç promotor
HMG	: Yüksek-mobilite grubu (high-mobility-group)
HTH	: Heliks-döngü-heliks
IgH	: İmmünglobülin ağır zincirinde
EMT	: Epitalyel-mezenkimal geçiş
NRSF	: Nöron-kısıtlayıcı susturucu faktör
CNS	: Merkezi sinir sistemi
NRSE	: Nöron-kısıtlayıcı faktör eleman
HDAC	: Sin3-Histon deasetilaz
SCN2A	: Voltaj-bağımlı sodyum kanal tipII-alfa
SCG10	: Üst servikal ganglion 10
DFT	: Density Functional Theory
QM	: Kuantum Mekanığı
HF	: Hartree-Fock
RHF	: Restricted HF-yöntemi
UHF	: Unrestricted HF
ROHF	: Restricted Open Shell HF
NDDO	: “Neglect of Diatomic Differential Overlap”
LDA	: Yerel yoğunluk yaklaşımı
GGA	: Genelleştirilmiş gradyan yaklaşımı

STO	: Slater-tipi orbital
GTO	: Gauss-tipi orbitaller
SYN1	: Synapsin I



1. BÖLÜM

GİRİŞ VE AMAÇ

Ökaryotlardaki gen ifadesi, transkripsiyon faktörlerinin (TF) gen dizisine ait promotor bölgesine bağlanması ve transkripsiyonda görevli diğer proteinleri göreve çağırmasıyla başlamaktadır. Transkripsiyon faktörleri; RNA polimeraz II (RNA pol - II) gibi genel bir transkripsiyon faktörü olabileceği gibi, sadece belirli bir gene özgü olarak transkripsiyonda rol oynayan özel bir transkripsiyon faktörü de olabilmektedir (Bernecky, Herzog, Baumeister, Plitzko, ve Cramer, 2016). Transkripsiyon faktörleri birçok farklı amino asitten meydana gelen proteinlerdir. Yapısını oluşturan amino asit dizisi, dış çevrenin entalpi değeri ve bir birleri arasındaki kovalent olmayan etkileşimlere bağlı olarak üç boyutlu bir yapı kazanmaktadır (Bernecky ve ark., 2016; Lin, Hu, Rimm, Rifai, ve Curhan, 2006). Transkripsiyon faktörlerinin işlev gösterebilmesi için bu yapıyı kazanması gerekmektedir. Yapılan çalışmalar, üç boyutlu yapısını kazanmış bir transkripsiyon faktörünün DNA bağlanma domaini içerisinde belirli bir polipeptid dizisinin nükleik asit ile etkileşime geçebileceğini göstermektedir (Bernecky ve ark., 2016; Bruce ve ark., 2009; Ingram, 2005). Transkripsiyon faktörlerinin üç boyutlu yapısını kazanması, DNA'ya bağlanan domainin içerisindeki polipeptid dizisinin DNA ile etkileşimini gerçekleştiren en önemli faktörlerden biri olabilir. Kanser biyolojisi üzerine yapılan çalışmalarda, gene özel transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma domainlerinde meydana gelen mutasyonların kanser patogenezinde rol oynadığı savunulmaktadır (Louis ve Shohet, 2015; Riaz ve ark., 2016). Ancak şuna kadar, transkripsiyon faktörlerinin DNA bağlanma motifinde meydana gelen mutasyonların domainin üç boyutlu yapısını değiştirerek proteinin fonksiyonunu etkilediği savunulmuştur. DNA bağlanma domain içerisindeki özel polipeptid dizilerinin DNA etkileşimi üzerindeki etkinliğine dair çok az bilgi bulunmaktadır. Ayrıca, domain içerisindeki olası polipeptid dizisinin DNA ile etkileşime geçiş şekli bilinmemektedir.

Bu çalışmada, birçok hastalık ile ilişkili olduğu bilinen REST transkripsiyon faktörünün DNA bağlanma bölgesine ait üçlü peptid dizisi ve DNA molekülü üzerinde TF'nün etkin olarak bağlandığı bilinen ikili nükleotid dizilerinin birbiri ile olan non-kovalent bağ etkileşimlerinin hesaplamalı moleküler yöntemler kullanılarak araştırılması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

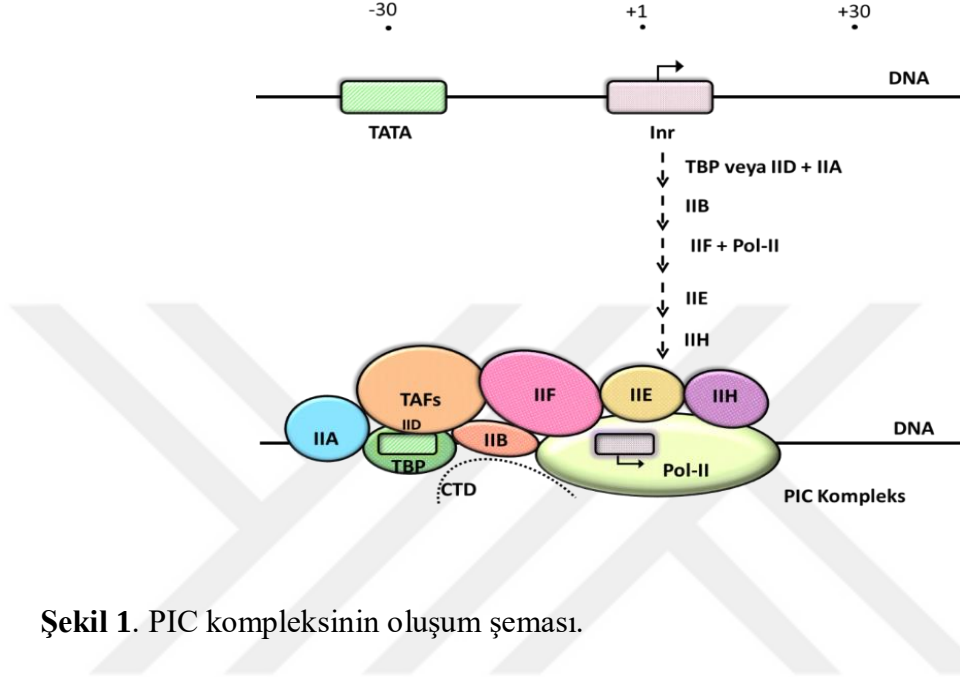
1.1. TRANSKRİPSİYON FAKTÖRLERİ

Ökaryot canlılarda, çekirdekte bulunan genlerin transkripsiyonu RNA polimeraz enzimleri (RNA polimeraz I, II ve III) tarafından gerçekleştirilmektedir. RNA polimeraz II (pol-II), bazı küçük nüklear RNA (snRNA)'ların ve mesajcı RNA (mRNA)'nın kodlanmasından sorumludur. RNA pol-II diğer iki polimerazdan farklı olarak hedef promotor bölgeyi direk tanıyarak bağlanamaz. Bu enzim, DNA üzerinde belirli dizilere bağlanabilen diziye özgün bağlanma proteinleri ile etkileşime girerek hedef gen bölgesine bağlanır ve gen aktivasyonunda veya baskılanmasında etkin bir rol oynar (D.S. Latchman, 1993; Lambert ve ark., 2018).

Pol-II tarafından transkripsiyonun başlatılması transkripsiyon faktörü (TF) olarak bilinen bu bağlanma proteinlerinin DNA üzerinde sınıf II gen promotorleri ile etkileşimi tarafından düzenlenmektedir. Sınıf II nüklear gen promotorleri; distal enhansır elementler, proksimal promotor elementler ve çekirdek (veya bazal) promotor elementler gibi belirli DNA dizilerinden meydana gelir. En etkin çekirdek promotor element, transkripsiyonun başlama bölgesinden 25 baz çifti yukarı-akış bölgesinde bulunan TATA element ve başlama bölgesinde yer alan primidin-zengin başlatıcı (pyrimidine-rich initiator (Inr)) element olarak bilinmektedir. Proksimal promotor element ise katabolit aktivatör protein (Cap) bölgesinin yukarı-akış yönünde 50-200 baz çifti arasında herhangi bir yerde bulunur ve transkripsiyonu modüle eden bu dizilere transkripsiyonal aktivatörler bağlanır. Son olarak, distal enhansır promotor elementler diğer ikisinden farklı olarak, transkripsiyonun başlangıç bölgesinden daha uzak bir yerde bulunabilirler (Sainsbury ve ark., 2015; Spitz ve Furlong, 2012).

Pol-II ile transkripsiyonun düzgün bir şekilde ilerleyebilmesi için sınıf-II çekirdek gen promotorlerinin bazı proteinler ile etkileşime geçmesi gerekmektedir. Bunların en önemlileri TFIIA, TFIIB, TFIID, TFIIIE, TFIIF ve TFIIFH'dir. Bu faktörlerin birçoğu direk DNA ile bağlanamaz. Bunun yerine doğrudan RNA polimeraz ile etkileşime geçerler. Sadece TFIID sekansa spesifik DNA bağlanmasını gerçekleştirebilir ve TFIID'in TATA kutusunu tanıyarak bağlanması transkripsiyonun başlamasını sağlar. TATA-TFIID kompleksinin oluşması diğer başlatıcı faktörlerin (sırası ile TFIIB, F, E ve H) ve non-fosforilize formda olan pol-II

enziminin bağlanma bölgesinde toplanmasını sağlayarak multiprotein-DNA kompleksini oluşturur. Ön-başlatıcı kompleks (preinitiation complex (PIC)) (Şekil.1’ de gösterildiği üzere) olarak bilinen bu yapı, çekirdek RNA polimeraz alt birimi ve çok az sayıda sigma faktörü içermektedir (Dimitrova ve ark., 2017; Division ve Berkeley, 2013; Kostrewa ve ark., 2009; Kresge ve ark., 1992).



Şekil 1. PIC kompleksinin oluşum şeması.

PIC oluşumu gerçekleştikten sonra, bu kompleks kapalı durumdadır. Promotor bölgesindeki DNA’nın iki ipliğinin denatürasyonu için yeterli ATP mevcut ise TFIIH tarafından kompleks açık duruma getirilir. Pol-II enziminin büyük alt birimine ait C-ucu domaininin (CTD) fosforilasyonu ile promotor transkripsiyona uygun hale gelir. Promotor bölgenin açılması sırasında TFIIB, TFIIE ve TFIIH polimerazdan ayrılır ve geriye kalan kısım (fosforilize pol-II ve TFIIF) uzama kompleksini oluşturur. Sonlandırmayı takiben, bir fosfotaz enzimi pol-II’nin non-fosforilize şekline geri dönmesini sağlayarak transkripsiyon sürecini yeniden başlamasına yardımcı olur (Kostrewa ve ark., 2009; Kresge ve ark., 1992; Sainsbury ve ark., 2015) .

1.2. Çekirdek/Bazal Promotor Bağlanma Faktörleri

Çekirdek promotor bağlanma faktörlerinden biri, A/T-zengin hedef DNA’yı tanıyarak küçük oluktan etkileşime geçen TATA-kutusu bağlanma proteini (TBP)’dir. Diğeri ise, B-form DNA’ya büyük oluktan bağlanan YY1’dir. YY1, dizi spesifik

başlatıcı (Inr) elementi tanıyarak bağlanan GLI-Kruppel ilişkili bir proteindir. Bu protein transkripsiyonu aktive edebilir veya durdurabilir. Diğerlerinden farklı olarak bu protein, TATA kutusunun varlığına rağmen TBP'den bağımsız olarak tek yönlü transkripsiyon sürecini başlatır. YY1-yönlendirilmiş transkripsiyonda YY1'in DNA'yı tanıması çinko-parmak proteinleri tarafından gerçekleşirken, YY1-DNA kompleksinin oluşabilmesi için TFIIB'ye ihtiyaç duyulmaktadır. YY1-TFIIB-DNA kompleksi oluşturulduktan sonra pol-II promotore yaklaştırılır ve transkripsiyon süreci TBP-yönlendirilmiş transkripsiyon ile benzer bir şekilde ilerler (Baumann ve ark., 2010; Hyde-deruyscher ve ark., 1995).

TATA proteini YY1'den farklı olarak DNA'ya bağlandıktan sonra çift sarmal yapıda konformasyonel bir değişime neden olur. İnsan TFIID'nin DNA'ya bağlanması Adenovirüs majör geç promotor (AdMLP) ile gösterilmiştir. Bu durum temelde TATA kutusu bağlanma proteini (TBP)'nin alt biriminin aracılık ettiği TFIID ve TATA elementleri arasındaki diziye özgü etkileşimlerin ortaya çıkmasını sağlamıştır (Bareket-Samish ve ark., 2000). TFIID'ye benzer şekilde DNA küçük oluşuna bağlanan diğer proteinler ise SRY ve LEF-1'dir. TBP tarafından DNA'nın deformasyonu, aktivatör PIC etkileşimleri ve PIC düzeneğinin stabilizasyonu için oldukça önemlidir. TBP'nin DNA'yı bükme özelliği PIC bileşenleri ve diğer transkripsiyon faktörlerinin çekirdek gen promotorüne yaklaşmasını sağlar. Bu noktada PIC, yüksek-mobilite grubu (high-mobility-group (HMG)) ve bakteriyel protein olan katabolit aktivatör protein (catabolite activator protein(CAP)) benzeri işlev görerek, başlangıç bölgesinin yukarısında DNA'nın bükülmesi ile transkripsiyonu aktive eder. Benzer HMG domainlerine sahip olan SRY ve LEF1 bu sayede çift sarmalın minör oluk yüzeyinden bir baz dizisi içerisine hidrofobik amino asitin interkalasyonu ile DNA'yı bükebilir veya gevşetebilir (Bareket-Samish ve ark., 2000; Phillips ve ark., 2006).

1.3. Proksimal/Distal Promotore Bağlanan Hızlandırıcı Faktörler

Gelişimsel veya çevresel sinyallere cevap olarak sınıf II nükleer gen transkripsiyonunun başlatılması, genin promotorü üzerindeki büyük multiprotein kompleksinin düzenlenmesiyle kontrol edilir. Proksimal veya distal hızlandırıcı transkripsiyonel aktivatörler ve genel transkripsiyon mekanizmasının bileşenleri arasındaki doğrudan protein-protein etkileşimleri pol-II aktivasyonunun düzenlenmesinde etkilidir (Stadhouders ve ark., 2012; Taher ve ark., 2013) . Ökaryot

canlılarda transkripsiyonu düzenleyen proteinlerde yapısal olarak Heliks-döngü-heliks (HTH), Lösün-fermuar ve çinko-parmak ortak motifleri saptanmıştır.

1.3.1. Heliks-Döngü-Heliks Motif

HTH transkripsiyonu düzenlerken özellikle DNA'nın büyük oluğuna bağlanır. Bunun nedeni HTH'ın yapısından kaynaklı olarak helikslerin kendi aralarında hidrofobik etkileşimlerinin olması, paralel bir konformasyonda bulunmamaları ve 34⁰A'luk bir mesafe (B-DNA'nın iki büyük oluğu arasındaki mesafeye eşit olarak) ile birbirinden ayrılmaları gösterilebilir. HTH, birçok canlıda homoloji gösteren homodomain proteinine sahiptir. Bu da, HTH için ökaryot ve prokaryot canlılarda transkripsiyonun düzenlenmesinde benzer gen promotorleri ile etkileştiklerini göstermektedir. HTH motifi ile benzerlik gösteren ve immünglobülin ağır zincirinde (IgH) oktomere bağlanan OCT1/OCT2 olarak bilinen proteinler IgH genlerinin pozitif düzenlenmesinde etkindirler (Susan Jones, 2004).

1.3.2. Lösün-Fermuar Motif

Lösün-fermuar motifi ise, DNA ile etkileştiği alanda yedi lösün tekrarı içermektedir. Lösün-fermuar proteinlerinin özellikle kanserde onkogen olarak davranış sergileyen FOS, MYC ve JUN proteinleri ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (Johnson, ve McKnight, n.d.).

1.3.3. Çinko-Parmak Motif

Diğer motiflerden ayrı olarak, Çinko-parmak ailesi oldukça geniş bir sınıfa sahiptir. Çinko-parmak motifi 5S ribozomal RNA genlerinin düzenlenmesinde etkin olan TFIIIA transkripsiyon faktörünün DNA ile etkileşen bölgesinde Cys-N2-Cys-N12-His-H3-His tekrar dizilerinin bulunması ile tanımlanmıştır. Ayrıca bu tekrar dizilerinde sisteinin'nin kükürt atomuna ve histidinin ise azot atomlarına tetrahedral bir şekilde bağlanan çinko (Zn) iyonu bulunmaktadır (Coleman, 1992; Fairall ve ark., 1986; Hanas ve ark., 1983).

TFIIIA, DNA'da büyük oluğa veya küçük oluğa bağlanabilir. TFIIIB ve TFIIIC ile bağlanarak tRNA genlerinin transkripsiyonunun başlamasına yardımcı olur. Ayrıca çinko parmak proteinlerinin, hücre döngüsü, proliferasyon ve apoptozunda etkili olan genlerin ekspresyonlarını düzenleyerek hücre homeostazında etkili oldukları bulunmuştur. Bununla birlikte, çinko-parmak ailesinin kanserin gelişimi ve ilerleyişi sürecinde hem onkogen hem de tümör baskılayıcı genleri içerdikleri bilinmektedir.

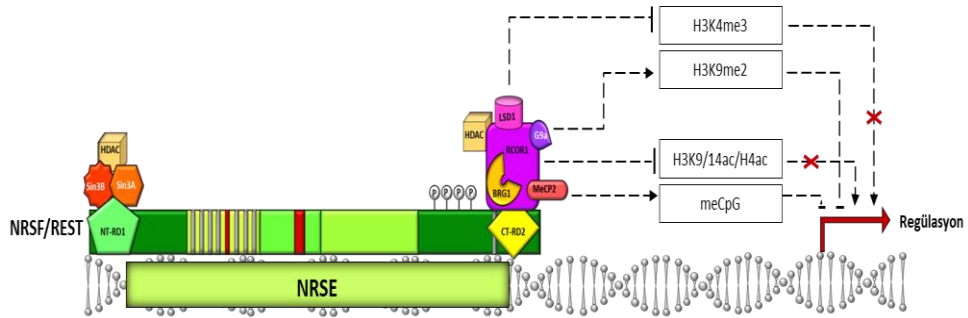
Örneğin, çinko parmak ailesinden olan ZNF281'in, tümör invazyonu ve oluşumunda rol oynadığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalara göre bu proteinin, kanserde DNA hasar cevabı ve epitalyel-mezenkimal geçiş (EMT)'de düzenleyici faktör olarak görev aldığı bulunmuştur. Buna ek olarak, EMT'nin düzenlenmesi ile kolorektal kanserde metazastada da etkili olduğu görülmüştür. ZNF281'e karşı başka bir çinko-parmak ailesi proteini olan ZBP89 ise, kolorektal kanserde hücre proliferasyonunu baskılar ve apoptozu indükler(Pierdomenico ve ark., 2018).

ZNF ailesi proteinlerinin sadece kanserde değil aynı zamanda nöronal hastalıkların patogeneğinde de önemli rolleri vardır. Örneğin, ZPR1 Spinal musküler atrofi (SMA)'de etkindir. Hastalığın nedeni, motor nöronların hayatta kalması için gerekli olan tam uzunluktaki SMN proteininin ekspresyonunun azalmasına yol açan, Survival Motor Nöron 1 (SMN1) genindeki bir mutasyondur. Bu durum, SMA görülen hastalarda SMN ile etkileşen ZPR1 proteininin ekspresyonunun azalmasına bağlanmıştır (Gangwani, 2006). Bunlara ek olarak, nörodejeneratif hastalıklarda etkili oldukları bilinen ve çinko parmak proteini olup transkripsiyon faktörü olmayan ZNF179 ve ZNF746 proteinleri sırası ile Alzheimer ve Parkinson hastalıklarının patogeneğinde tanımlanmışlardır (Cassandri ve ark., 2017).

1.3.3.1. Nöron Spesifik Çinko Parmak Protein: NRSF/REST

RE-1 (Baskılayıcı Element-1) susturucu transkripsiyon faktörü (REST) veya nöron-kısıtlayıcı susturucu faktör (NRSF), ilk olarak 1995 yılında nöral olmayan hücrelerde nöronal genlerin transkripsiyonunun baskılayıcısı olarak tanımlanmıştır. Bu gen, nöronal farklılaşmada kritik bir role sahiptir. Kruppel tipi çinko parmak transkripsiyon faktörü ailesinin bir üyesi olan bu protein, nöronal genlerin transkripsiyonal susturulmasını korumaktadır. Nöronal gen ifadesinde “Temel Düzenleyici” olan bu gen, nöron gelişimi, nörogenez ve nöral plastisite ilişkili transkripsiyonal yanıtlara da aracılık etmektedir. REST/NRSF'nin hücrede ki konumunun ve farklı izoform yapılarının merkezi sinir sistemi (CNS) bozukluklarından kansere kadar birçok hastalıkta etkili olduğu bulunmuştur (Chen ve ark., 1998; Ingram, 2005). Ayrıca, REST geninin, tümör oluşumu sürecinde hücre içi içeriğe bağlı olarak tümör baskılayıcı veya onkogen gibi davranabildiği gözlemlenmiştir. Örneğin, REST geni medullablastom ve nöroblastom gibi nöral kökenli tümörlerde yüksek gen ifadesine sahiptir ve tıpkı bir onkogen gibi davranış sergiler. Fakat meme, kolon veya prostat kanseri gibi nöral kökenli olmayan tümörlerde gen ifadesi düşüktür ve yüksek

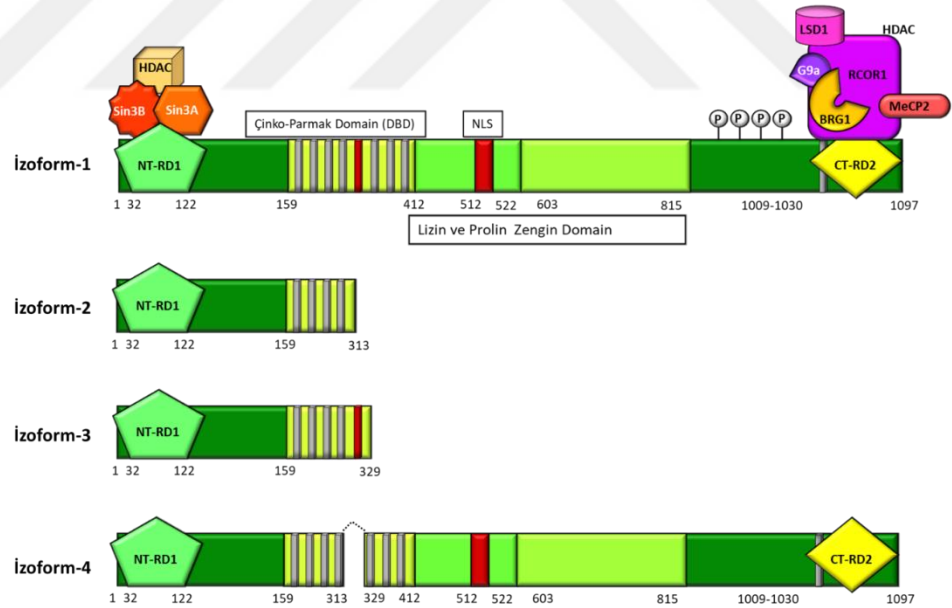
seviyede tümör baskılayıcı olarak işlev görmektedir (Majumder, 2006). REST transkripsiyon faktörü DNA'ya hedef genlerin kontrol bölgelerinde bulunan 21 baz çiftlik nöron-kısıtlayıcı faktör eleman (NRSE) bölgesinden tanıyarak bağlanır. NRSE ilk olarak nöronal olmayan hücrelerde voltaj-bağımlı sodyum kanal tipII-alfa (SCN2A) ve üst servikal ganglion 10 (SCG10) genlerinde transkripsiyonal baskılamaya aracılık eden element olarak tanımlanmıştır. NRSE gen kontrol bölgesinin tanınması REST/NRSF transkripsiyon faktörüne ait çinko-parmak alanları ve bu yapının baskılayıcı bölgelerine (RD1 ve RD2) bağlanan çeşitli kofaktörler ile gerçekleştirilir. Bu kofaktörler histon deasetilasyonu ile nöral genlerin baskılanmasını, REST/NRSF'nin amino (N-terminus) ucuna ko-faktör olarak bilinen Sin3-Histon deasetilaz (HDAC)'ın bağlanması ile kromatin yapısını değiştirerek gerçekleştirir. Karboksil (C-terminus) ucuna NRSF için spesifik olan Co-REST yardımcı elemanı ve diğer yardımcı elemanların (Sin3-HDAC, yeniden modelleme bileşeni SWI / SNF, metil-DNA-bağlayıcı protein (MeCP2), histon H3K9 metiltransferazları, H3K4 demetilaz LSD1 (lysine-specific demethylase 1), metiltransferaz G9a ve HP1.. gibi) bağlanması sonucu oluşan kompleks yapı, kromatin metilasyonu ile nukleozomun yeniden düzenlenmesi sağlar (Ballas ve ark., 2005) (şekil2.).



Şekil 2. REST/NRSF ve çeşitli kofaktörler nöronal gen ifadesinin düzenlenmesinde etkin birer rol oynarlar. REST DNA'yı çinko parmak kısımlarından tanır ve bağlanır. C-terminal (CT) ve N-terminal (NT) kısımları üzerine çeşitli kofaktörler bağlanır. HDAC (Sin3-Histon Deasetilaz) nöronal genlerin aktif baskılanmasında etkilidir. CT bölgesinde yardımcı baskılayıcı faktör CoREST ile birlikte G9a(histon metiltransferaz) ve MeCP2(metil CpG bağlayıcı protein) kompleks yapı oluşturur. Bu sayede NRSF/REST kromatin yapısını değiştirerek epigenetik modifikasyon sağlar. Bu modifikasyonların içerisinde histon asetilasyonunun azalmış seviyeleri

veya artmış deasetilasyon ve gen baskılanması veya susturulmasını teşvik ettiği bilinen (H3K9me2/3 ve H3K27me3) rezidülerdeki artmış metilasyon ve gen aktivasyonunda (H3K4me3 ve H3K9me1) yer alan azalmış metilasyon sayılabilir.

Hedef DNA'da NRSF'ye bağlanan yardımcı baskılayıcı kompleksler hücre tipi ve promotor dizileri arasında değişmektedir. Bu da NRSF'nin hem geçici gen baskılamasına hem de uzun süreli gen susturulmasına aracılık edebileceği anlamına gelmektedir. Gen baskılanmasında, CoREST ve MeCP2 gibi bazı yardımcı baskılayıcılar, belirli hücre tiplerinde düşük nöronal gen ekspresyonu seviyelerini korumak için NRSF-DNA ayrışmasını takiben metil CpG bölgelerinde bağlı kalabilirler. Bunun dışında NRSF nöral genlerde transkripsiyonun düzenlenmesini RNA pol-II aktivitesini, transkripsiyon ön başlatma kompleksinin oluşumunu ve TBP' yi küçük C-terminal fosfotaz alanı ile inhibe ederek gerçekleştirir (Godmann ve ark., 2007; Grimes ve ark., 2000; Naruse ve ark., 2002; Roopra ve ark., 2015; Sáez ve ark., 2015; Westbrook ve ark., 2005).



Şekil 3. REST proteinin ve alternatif izoformlarının şematik gösterimi. İzofom-1; RD1 ve RD2 baskılama domainleri, Lizin (400-603) ve prolin (595-815) zengin bölgeler, sekiz adet çinko-parmak motifi bulunan DNA bağlanma alt birimi (159-412) ve iki nükleer lokalizasyon sinyal bölgesi (kırmızı ile gösterilen, NLS) bulunur. Ayrıca fosfodegron (E1009-S1013 veya S1027-S1030) ve dokuz adet C-terminal çinko-

parmak motifi bulunan alt birime(1006-1082) sahiptir. RD1 ve RD2 çeşitli kofaktör bağlanma bölgesidir. Bu ko-faktörler; Sin3A (32-122), Sin3B (43-57) ve CoREST1(veya RCOR1, 1009-1087)'dir. İzofom-2; sadece çinko-parmak 1.-4. motifi içeren bölgeyi bulundurur. RD2 bölgesine sahip değildir. Sitoplazmada lokalizedir. İzofom-3; kesilmiş bir DNA bağlanma bölgesine ve sadece çinko parmak 1-5'e sahiptir. Çekirdekte lokalizedir. REST4 veya NRSF olarak bilinir. Nöroblastom ve SLSC'de yüksek gen ifadesine sahiptir. İzofom-4; çinko parmak 5. motifini kaybetmiştir. Isoform-1: 1097 amino acids, 122 kDa protein, Isoform-2: (Δ314-1097), 313 amino acids, 35 kDa protein, Isoform-3: (Δ330-1097), 329 amino acids, 37 kDa protein, Isoform-4: (Δ304-326), 1074 amino acids, 119 kDa protein. Ref. <http://atlasgeneticsoncology.org/Genes/RESTID44266ch4q12.html>)

Olgun dokularda ve nöronal olmayan hücrelerde NRSF yüksek oranda ifade edilir. Fakat bazı nöronal doku tiplerinde çok daha düşük seviyelerde bulunur, bu da ifadesinin büyük ölçüde hücreSEL ve fizyolojik çevreye bağlı olduğunu gösterir. Bu genin hücredeki konumu ve işlevi alternatif ekleme mekanizması ile belirlenir. NRSF geninden kodlanan farklı izofom yapıları (Şekil 3'de gösterildiği üzere) ilk üç kodlanmayan eksonun alternatif eklenmesi ile ortaya çıkmıştır. NRSF'nin 5' ekson bölgelerini alternatif eklemesi sırasında C-terminal baskılama alanı (RD2) eksik fakat erken durdurma kodonuna sahip olan N-eksonun kodlanması sonucu kısa NRSF (sNRSF) izoformu meydana gelir. Bu durumun hücrede NRSF geninin regülasyonunu zorlaştırdığı ve farklı kanser tiplerinin tümörögenezi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Özellikle sNRSF (REST4)'nin tam uzunlukta olan NRSF üzerinde dominant-negatif etki gösterdiği gözlemlenmiştir. Bu etki ilk olarak SLSC'de nöroendokrin fenotipinin tanımlanmasında erken bir belirteç olduğu bilinen nöropeptid gen AVP'nin baskısızlaştırılmasında tam uzunluktaki proteinin etkisini antagonize etmesi üzerine bulunmuştur. Daha sonraki çalışmalarda, benzer şekilde meme kanserinde REST/NRSF eksikliği olan "REST-eksik" tümörlerde kesilmiş NRSF izoformu rapor edilmiştir. REST-eksik meme kanseri alt tipine sahip hastalarda HER2 ve östrojen reseptörü risk faktörlerinden bağımsız olarak hastalık rekürrensini anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir. Nöroblastom ve medullablastom gibi nöral kökenli kanser türlerinde yapılan çalışmalarda ise,

REST4'ün gen ifadesindeki artışın, hastalığın kötüye prognozu ile yakın ilişkili olduğu bilinmektedir (Hyde-deruyscher ve ark., 1995; Wagoner ve ark., 2010) .



2. BÖLÜM

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu tez çalışması, Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Cenk Selçuki Araştırma Laboratuvarı'ndaki bilgisayar sistemleri ve TRUBA-ULAKBİM (Türk Ulusal Bilim e-Altyapı) sistemi kullanılarak ikili nükleotid ve üçlü peptid yapılarının kuantum mekaniğine dayanan yöntemlerle incelenmesini amaçlamaktadır. Bu amaçla, nöronal farklılaşmada ve CNS bozukluklarından kansere kadar birçok hastalıkta etkili olduğu bilinen REST transkripsiyon faktörünün aktif bölgesinin DNA'a bağlanma etkinliği araştırıldı.

REST transkripsiyon faktörünün etkin bağlanma bölgesinde bulunan peptid dizisi ENSEMBL ([Ensembl:ENSG00000084093](https://ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Ensembl/ENSG00000084093)) veri tabanından bulunarak, REST'in DNA'ya bağlanmasında etkin olabileceği düşünülen üçlü peptid yapısı belirlendi. Belirlenen bu peptid yapısına ait konfomer yapıları Spartan'14 programı ile bulundu. Difonksiyonel Teori (DFT) yöntemi ile optimizasyonları ve frekansları Gaussian09 programı kullanılarak hesaplandı.

REST TF'nün *Homo sapiens sp.* de *SYN1* (Synapsin I) geninin promotor bölgesine etkin olarak bağlandığı bilinen nükleotid dizisi Transkripsiyon Faktör Bağlanma Profilleri Bilgi Bankası "JASPAR" veri tabanı kullanılarak bulundu. Nükleik asit dizisi içerisinde bağlanma etkinliği en yüksek olan ikili nükleotid yapısına ait farklı konfomer yapıları belirlendi. Konfomer yapılarının opt. ve freq hesaplamaları MOPAC2016 programı ile Yarı-ampirik yöntem kullanılarak hesaplandı. Daha sonra DFT yöntemi kullanılarak yarı-ampirik yöntem ile belirlenen sadece en kararlı yapılar alınarak Gaussian09 programı ile yeni bir hesaplama yapıldı.

Elde edilen üçlü peptid ve ikili nükleotid kararlı yapıları bir araya getirilerek etkileşimleri incelendi. Bu amaçla, etkileşimi incelenen yapılar içerisinde en kararlı yapı alınarak konfomer analizi yapıldı. Yarı-ampirik yöntem ve takiben DFT yöntemi kullanılarak bu yapılara ait opt. ve freq. değerleri bulundu ve tüm değerler için rölatif enerji (E_{rel} - kcal/mol) değeri hesaplandı.

2.1. TEORİ

2.1.1. Hesaplamada Kullanılan Programların Çalışma Prensipleri; Temel Kuantum Mekaniği

Kuantum mekaniği (QM), elektronların ve dolayısıyla kimyanın davranışının matematiksel bir tanımıdır. Teoride, QM, tek bir atomun veya molekülün herhangi bir özelliğini tam olarak tahmin edebilmeyi sağlar. Fakat uygulamada, QM denklemleri yalnızca tek elektronlu sistemler için tam olarak çözülmüştür. Çoklu elektron sistemleri için çözüme yaklaşmak çok çeşitli yöntemler gerektirmektedir. Bu yaklaşımlar çok faydalı olabilir, ancak bu, her yaklaşımın ne zaman geçerli olduğunu ve sonuçların ne kadar doğru olacağını bilmeyi karmaşık bir hale getirmektedir. Schrödinger, QM'nin bu karmaşıklığını daha basit bir yaklaşım ile formüle etmiştir ve neredeyse tüm hesaplamalı kimya yöntemlerinin temelinde Schrödinger eşitliği olarak bilinen bu formülasyon kullanılmaktadır (Griffiths, 2004).

2.1.1.1. Schrödinger Denklemleri

1926 yılında Avusturyalı fizikçi Erwin Schrödinger' in “madde-dalgalarını” de Broglie'nin kuramsal düzlem dalgalarından yola çıkarak açıkladığı zamana bağlı bir dalga fonksiyonudur. Schrödinger denklemi ve türevleri kısmi diferansiyel denklemler alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu denklem; zamana bağlı ve zamandan bağımsız olmak üzere iki farklı şekilde yazılabilir. Zamana bağlı Schrödinger denklemi, zamanla gelişen bir sistemin tanımını veren en genel formdur ve zaman-bağımsız Schrödinger denklemi, sistemler durağan bir durumda olduğunda yeterlidir (Schrödinger, 1926).

$$i\hbar \frac{\partial}{\partial t} \psi(\vec{r}, t) = \hat{H}\psi(\vec{r}, t) \quad (2.1.1)$$

Fakat yukarıda gösterilen bu formülün tam bir göreceli formülasyonunu kullanmak çoğu zaman pratik değildir. Bu nedenle Schrödinger, günümüzde özellikle kuantum kimyasında sıklıkla kullanılan göreceli olmayan bir yaklaşımı benimsemiştir. Tek bir parçacık için Hamiltonian kullanımından yola çıkarak oluşturulan denklem aşağıdaki gibidir;

$$\hat{H} = \hat{T} + \hat{V} = -\frac{\hbar^2}{2m} \vec{\nabla}^2 + V(\vec{r}, t) \quad (2.1.2)$$

Bu denklemden yola çıkarak; göreceli olmayan, zamana bağımlı tek parçacık Schrödinger denklemi ise aşağıdaki gibidir;

$$\hbar \frac{\partial}{\partial t} \psi(\vec{r}, t) = \left[-\frac{\hbar^2}{2m} \vec{\nabla}^2 + V(\vec{r}, t) \right] \psi(\vec{r}, t) \quad (2.1.3)$$

Üç boyutlu N sayıda parçacık için olursa eğer Hamiltonian denklemi aşağıdaki gibidir;

$$\begin{aligned} \hat{H} &= \sum_{i=1}^N \frac{\hat{p}_i^2}{2m_i} + V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t) \\ &= -\frac{\hbar^2}{2} \sum_{i=1}^N \frac{1}{m_i} \vec{\nabla}_i^2 + V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t). \end{aligned} \quad (2.1.4)$$

Buna karşılık gelen Schrödinger denklemi ise;

$$\begin{aligned} \hbar \frac{\partial}{\partial t} \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t) &= \left[-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{i=1}^N \frac{1}{m_i} \vec{\nabla}_i^2 + \right. \\ &\quad \left. V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t) \right] \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, t) \end{aligned} \quad (2.1.5)$$

bu şekilde gösterilmektedir.

2.1.1.2. Atom ve Moleküller

Bütün atomik ve moleküler sistemler belirli bir yüke sahip olan parçacıkları ele alır. Kolomb potansiyeli ile hareket eden tek elektron için Schrödinger denklemi aşağıdaki gibidir;

$$\hbar \frac{\partial}{\partial t} \psi(\vec{r}) = \left[-\frac{\hbar^2}{2m} \vec{\nabla}^2 - \frac{e^2}{4\pi\epsilon_0} \cdot \frac{1}{|\vec{r}|} \right] \psi(\vec{r}) \quad (2.2.1)$$

Eğer bu denklemi daha da basitleştirecek olursak denklem;

$$E\psi(\vec{r}) = \left[-\frac{1}{2}\vec{\nabla}^2 - \frac{1}{|\vec{r}|} \right] \psi(\vec{r}) \quad (2.2.2)$$

şeklinde yazılabilir.

Schrödinger denkleminin, bu şekli ile analitik olarak çözümü mümkündür. Hatta atomlar için bile maddenin tanımlanmasında bu denklem analitik olarak erişebilirlik sınırlılığını aşmaktadır. Çok-gövdeli Hamilton denklemi kullanılarak oluşturulan çok-gövdeli Schrödinger denkleminde dış manyetik alan ve elektrik alan göz ardı edilerek, M çekirdek ve N elektrondan oluşan sistem için denklem yeniden düzenlenebilmektedir.

Çok-gövdeli Hamilton denkleminde oluşturulan çok-gövdeli Schrödinger denklemi;

$$\begin{aligned} E\psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \\ = \left[-\frac{\hbar^2}{2} \sum_{i=1}^N \frac{1}{m_i} \vec{\nabla}_i^2 \right. \\ \left. + V(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \right] \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \end{aligned} \quad (2.2.3)$$

Bu denklemden yola çıkarak yukarıdaki denklemi daha basit bir hale dönüştürmek için dış manyetik alan ve elektriksel alan ihmal edilerek oluşturulan denklem;

$$\begin{aligned} E_i\psi_i(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_N) \\ = \hat{H}\psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N, \vec{R}_1, \vec{R}_2, \dots, \vec{R}_N) \end{aligned} \quad (2.2.4)$$

İlk bakışta yukarıdaki denklem her ne kadar çok basit görünse de; bu denkleme karşılık gelen moleküler Hamilton denklemi, gerçek karmaşıklığını ortaya koymaktadır.

$$\hat{H} = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^N \vec{\nabla}_i^2 - \frac{1}{2} \sum_{k=1}^M \vec{\nabla}_k^2 - \sum_{i=1}^N \sum_{k=1}^M \frac{Z_k}{r_{ik}} + \sum_{i=1}^N \sum_{j>i}^N \frac{1}{r_{ij}} + \sum_{k=1}^M \sum_{l>k}^M \frac{Z_k Z_l}{R_{kl}} \quad (2.2.5)$$

Denklemden sağ tarafta yer alan ilk iki terim elektronların ve çekirdeğin kinetik enerjilerine karşılık gelmektedir. Sonraki üç terim ise, elektrostatik parçacık-parçacık etkileşimleri açısından Hamilton'ın potansiyel kısmını göstermektedir. Çekirdek ve elektronlar arasındaki potansiyel çekim “(-),negatif” olarak gösterilirken, “(+),pozitif” işaretler elektron-elektron ve çekirdek-çekirdek arasındaki potansiyel itimi göstermektedir.

Gerçekte bu durumun avantajı, bir protonun kütlesi bir elektronun kütlesinden yaklaşık 1800 kat daha büyüktür ve bunun sonucunda protonun elektronlardan daha ağır hareket etmesi başka bir basitleştirmeyi mümkün kılabilir. Born-Oppenheimer yaklaşımı, çekirdek kütlesi yerine elektron kütlesini esas alır ve çekirdek ile elektron hareketlerini ayırarak karmaşık yapıların Schrödinger denkleminde çözücü bir yaklaşım sunar.

2.1.1.3. Hartree-Fock Teorisi

Yarı-ampirik kuantum mekaniksel yöntemlerin ve *ab initio* yöntemlerin çoğunun başlangıç noktası Hartree-Fock alan yöntemidir. Yöntem ilk olarak D.R. Hartree tarafından ortaya atılmış ve daha sonradan V. Fock ve J.C. Slater tarafından geliştirilmiştir. Hartree-Fock yaklaşımı, klasik mekaniğin en az etki prensibine benzer şekilde olan varyasyon hesaplama aracıdır. Varyasyon hesabı kullanılarak E_0 sisteminin en düşük enerjisine karşılık gelen temel durum dalga fonksiyonu ψ_0 'a yaklaşılabilir. Kuantum mekaniğinde gözlenebilenler, operatörlerin olasılık değerleri olarak hesaplanır. Gözlenebilen enerji, Hamilton operatörüne karşılık gelir, bu nedenle genel bir Hamilton'a karşılık gelen enerji, aşağıdaki gibi hesaplanabilir;

$$E = \langle \hat{H} \rangle = \int d\vec{r}_1 \int d\vec{r}_2 \dots \int d\vec{r}_N \psi^*(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \hat{H} \psi(\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \quad (2.3.1)$$

Hartree-Fock yaklaşımının ana fikri, gerçek temel durum dalga fonksiyonundan farklı olan herhangi bir (normalize) girişim dalgası fonksiyonu ile elde edilen enerjinin her zaman bir üst sınırıdır, yani gerçek temel durum enerjisinden daha yüksek olmasıdır. Girişim fonksiyonu, istenen temel durum dalga fonksiyonu olduğunda enerjiler eşittir.

$$E_{trial} \geq E_0 \quad (2.3.2)$$

yani,

$$E_{trial} = \int d\vec{r}_1 \int d\vec{r}_2 \dots \int d\vec{r}_N \psi_{trial}^* (\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \hat{H} \psi_{trial} (\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \quad (2.3.3)$$

ve

$$E_0 = \int d\vec{r}_1 \int d\vec{r}_2 \dots \int d\vec{r}_N \psi_0^* (\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N) \hat{H} \psi_0 (\vec{r}_1, \vec{r}_2, \dots, \vec{r}_N). \quad (2.3.4)$$

Hamilton'un ($\hat{H}$, her biri bir enerji öz-değeri E_i 'e karşılık gelen) öz-fonksiyonları ψ_i tam bir temel setini oluşturur, bu nedenle herhangi bir normleştirilmiş girişim dalgası fonksiyonu çalışması bu öz-fonksiyonların doğrusal kombinasyonu olarak ifade edilebilir.

$$\psi_{trial} = \sum_i \lambda_i \psi_i \quad (2.3.5)$$

Girişim dalga fonksiyonunun normleştirilmesi istendiği için, öz-fonksiyonların normalize ve ortogonal olduğu varsayılmıştır.

$$\begin{aligned} \langle \psi_{trial} / \psi_{trial} \rangle &= 1 = \langle \sum_i \lambda_i \psi_i / \sum_j \lambda_j \psi_j \rangle \\ &= \sum_i \sum_j \lambda_i^* \lambda_j \langle \psi_i / \psi_j \rangle = \sum_i |\lambda_i|^2 \end{aligned} \quad (2.3.6)$$

$$\begin{aligned}
E_{trial} &= \langle \psi_{trial} / \hat{H} / \psi_{trial} \rangle = \langle \sum_i \lambda_i \psi_i / \hat{H} / \sum_j \lambda_j \psi_j \rangle \\
&= \sum_i E_j |\lambda_j|^2
\end{aligned} \tag{1.3.7}$$

Temel durum enerjisi E_0 en düşük olası enerji olarak tanımlanır ve en küçük öz-değere ($E_0 \leq E_i$) sahiptir.

$$E_{trial} = \sum_i E_j |\lambda_j|^2 \geq \sum_i E_0 |\lambda_j|^2 \tag{2.2.8}$$

Matematik kuralları çerçevesinde bakıldığında, fonksiyonlar veya fonksiyon olarak adlandırılan denklemler için sayısal değerler atanması yoğunluk fonksiyon teorisinde temel kavramı oluşturmaktadır. Yani, bir fonksiyon nümerik bir girdi alır ve nümerik bir çıktı verir, oysaki fonksiyonlar bir fonksiyon olarak girdi alır ve sayısal bir çıktı üretir. N-elektron dalga fonksiyonları her zaman temel dalga fonksiyonunu sağlayacaktır veya dejenere olan birden fazla temel dalga fonksiyonu minimum enerji sağlayacaktır. Bunun anlamı, N-elektron dalga fonksiyonları $\psi \rightarrow N$ 'e fonksiyonel hesaplamaların şekilsel ifadeleridir.

$$E_0 = \min_{\psi \rightarrow N} E[\psi] = \min_{\psi \rightarrow N} \langle \psi / \hat{H} / \psi \rangle = \min_{\psi \rightarrow N} \langle \psi / \hat{T} + \hat{V} + \hat{U} / \psi \rangle \tag{2.3.9}$$

N-elektron sistemleri, hesaplama gücünde ve zamandaki sınırlılıkların yanı sıra olası dalga fonksiyonlarının çok sayıda olması nedeniyle pratik olarak imkânsızdır. Bu durumda mümkün olan, Hartree-Fock yaklaşımında yapıldığı gibi, olası dalga fonksiyonunun daha küçük bir alt kümesine kısıtlanmasıdır. Bu yaklaşımda, N-elektron dalga fonksiyonunun N (normalize) bir elektron dalga fonksiyonu olan spin-orbitaller $x_i(\vec{x}_i)$ olarak adlandırılan anti-simetrik ürünü ile yaklaşık olarak sınırlandırılmıştır. Bu tür bir dalga fonksiyonu “Slater-determinant” olarak bilinir.

$$\psi_0 \approx \phi_{SD} = (N!)^{-\frac{1}{2}} \begin{bmatrix} x_1(\vec{x}_1) & x_2(\vec{x}_1) & \dots & x_N(\vec{x}_1) \\ x_1(\vec{x}_2) & x_2(\vec{x}_2) & \dots & x_N(\vec{x}_2) \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ x_1(\vec{x}_N) & x_2(\vec{x}_N) & \dots & x_N(\vec{x}_N) \end{bmatrix} \quad (2.3.10)$$

Burada önemli olan nokta, spin-orbitallerinin $x_i(\vec{x}_i)$ sadece uzaysal koordinatlara bağlı olmadıkları, aynı zamanda spin-fonksiyonu $\vec{x}_i = \vec{r}_i$ tarafından başlatılan bir spin-koordinatına da bağlı olduğudur. Spin-orbitalleri olarak örneğin; atomik hesaplamalar için hidrojen tipi orbitaller ve bunların doğrusal kombinasyonları kullanılır.

Eğer tekrar $E_0 = \min_{\psi \rightarrow N} E[\psi] = \min_{\psi \rightarrow N} \langle \psi / \hat{H} / \psi \rangle = \min_{\psi \rightarrow N} \langle \psi / \hat{T} + \hat{V} + \hat{U} / \psi \rangle$ denkleminde ve varyasyon prensibi geri dönersek, tek bir Slater-determinantı ile temel durum enerjisi yaklaşımı oluşturulur.

$$E_0 = \min_{\phi_{SD} \rightarrow N} \langle \phi_{SD} / \hat{H} / \phi_{SD} \rangle = \min_{\phi_{SD} \rightarrow N} \langle \phi_{SD} / \hat{T} + \hat{V} + \hat{U} / \phi_{SD} \rangle \quad (2.3.11)$$

Bir girişim fonksiyonu olarak Slater-determinantının kullanılmasıyla Hartree-Fock enerjisi için genel bir ifade elde edilebilir.

$$E_{HF} = \langle \phi_{SD} / \hat{H} / \phi_{SD} \rangle = \langle \phi_{SD} / \hat{T} + \hat{V} + \hat{U} / \phi_{SD} \rangle \quad (2.3.12)$$

Hartree-Fock enerjisinin son ifadesi ise üç ana kısımdan oluşur:

$$E_{HF} = \langle \phi_{SD} / \hat{H} / \phi_{SD} \rangle = \sum_i^N (i / \hat{h} / i) + \frac{1}{2} \sum_i^N \sum_j^N [(ii / jj) - (ij / ji)] \quad (2.3.13)$$

Bu denklem ile birlikte diğer üç denklem;

$$(i / \hat{h} / i) = \int x_i^*(\vec{x}_i) \left[-\frac{1}{2} \nabla_i^2 - \sum_{k=1}^M \frac{Z_k}{r_{ik}} \right] x_i(\vec{x}_i) d\vec{x}_i \quad (2.3.14)$$

$$(ii / jj) = \int \int |x_i(\vec{x}_i)|^2 \frac{1}{r_{ij}} |x_j(\vec{x}_j)|^2 d\vec{x}_i d\vec{x}_j \quad (2.3.15)$$

$$(ii/jj) = \int \int x_i(\vec{x}_i) x_j^*(\vec{x}_j) \frac{1}{r_{ij}} x_j(\vec{x}_j) x_i^*(\vec{x}_i) d\vec{x}_i d\vec{x}_j \quad (2.3.16)$$

bu denklemlerdir. İlk terim kinetik enerjiye ve çekirdek-elektron etkileşimlerine karşılık gelmektedir. $\hat{h}$ Hamilton' nun tek parçacık katkısını gösterirken, son iki terim ise elektron-elektron etkileşimlerine karşılık gelmektedir. Hartree-Fock enerjisi $E_{HF} = E[\{x_i\}]$ spin orbitallerinin fonksiyonel olarak ifadesidir. Bu yüzden, spin orbitallerinin değişimi minimum enerjiye yol açar. Minimizasyon süresince spin orbitalleri ortonormal kalmaktadır. Buradaki kısıtlama Hartree-Fock denklemleri ile ortaya çıkan denklemlerde λ_i Lagrangian çarpanlarının katılmasıyla gerçekleştirilir.

$$\hat{f} x_i = \lambda_i x_i \quad i = 1, 2, \dots, N \quad (2.3.17)$$

$$\hat{f}_i = -\frac{1}{2} \vec{\nabla}_i^2 - \sum_{k=1}^M \frac{Z_k}{r_{ik}} + \sum_i^N [\hat{j}_j(\vec{x}_i) - \hat{K}_j(\vec{x}_i)] = \hat{h}_i + \hat{V}^{HF}(i) \quad (2.3.18)$$

$\hat{f}$ inci elektron için Fock operatör. İlk iki terim çekirdek Hamilton $\hat{h}_i$ içerisinde nükleus-elektron etkileşimi nedeni ile toplanan kinetik ve potansiyel enerjiyi temsil ederken, sonrasında gelen terimler $\hat{V}^{HF}$ Hartree-Fock potansiyelini oluşturan diğer j elektronlarıyla $\hat{K}_j$ değişim operatörleri ve $\hat{j}_j$ kolomb operatörlerini temsil etmektedir.

2.1.1.3.a Hartree-Fock Yaklaşımının Sınırlamaları ve Başarısızlıkları

Moleküllerin yanı sıra atomlar da bir çift veya tek sayıda elektrona sahip olabilir. Eğer elektron sayısı eşitse ve hepsi çift yüklü ϕ_i uzaysal orbitallerde bulunuyorsa, bileşik tekil durumdadır. Bu tür sistemlere kapalı kabuk sistemleri denir. Tek bir çift elektronlu bileşiklerin yanı sıra tek bir orbitali dolu olan bileşikler, yani üçlü veya daha yüksek bir temel durumda olan bileşikler, açık kabuk sistemleri olarak adlandırılır. Bu iki sistem türü, Hartree-Fock yönteminin iki farklı yaklaşımına karşılık gelir. Kısıtlanmış HF-yönteminde (RHF), tüm elektronların orbitaller içinde eşlenmiş olduğu kabul edilirken, sınırsız HF'de (UHF) bu sınırlama tamamen kaldırılır. Tek dolu orbitallerde RHF yaklaşımıyla açık kabuk sistemleri sadece en yakın yaklaşım olan sınırlı açık kabuk HF (ROHF) sistemi ile değil aynı zamanda daha az popüler olan ve daha karmaşık olan UHF ile tanımlanması mümkündür.

Doğru sonuçlar elde etmek için sınırsız yaklaşımı gerektiren kapalı-kabuk sistemleri de vardır. Örneğin, H_2 'nin ayrışmasını tanımlarken her iki elektronu aynı uzaysal orbitale yerleştiren bir sistem kullanmak mantıklı değildir. Bu nedenle, yöntem seçimi, HF hesaplamalarında her zaman çok önemli bir noktadır ve incelenen sistemin büyüklüğü, hesaplamalar için sınırlayıcı bir faktör olabilir. Kohn, H_2 sisteminin araştırılmasında yeterli doğruluğa sahip bir sonuç için bir dizi $M = p^5$ 'i $3 \leq p \leq 10$ parametresiyle belirtmektedir.

Örneğin; $N = 100$ (aktif) elektronlu bir sistem için bu parametrelerin sayısı artar

$$M = p^{3N} = 3^{300}, 10^{300} \approx 10^{150}, 10^{300} \quad (2.3.1.1)$$

Bu denklemde, enerjinin en aza indirilmesi hesaplama olasılıklarının sınırını aşmak için en az 10^{150} boyutta bir alanda yapılması gerektiğini belirtmektedir. Bu nedenle HF-yöntemleri az sayıdaki ilgili elektronlu sistemlerle sınırlıdır ($N \approx 10$). Bu limit eksponansiyel duvar olarakta adlandırılmaktadır.

Pek çok elektron dalgası fonksiyonu tamamen bir Slater determinantı tarafından açıklanamadığı için, HF hesaplamaları ile elde edilen enerji her zaman temel durum enerjisinden daha büyüktür. HF yöntemleri ile elde edilebilen en doğru enerji Hartree-Fock-limit olarak adlandırılır. EHF ve Eexact arasındaki fark, korelasyon enerjisi olarak adlandırılır ve şu şekilde gösterilebilir:

$$E_{corr}^{HF} = E_{min} - E_{HF} \quad (2.3.1.2)$$

N_2 molekül örneğinde olduğu gibi, E_{corr} 'un E_{min} ' e karşı genellikle küçük olmasına rağmen, büyük bir etkiye sahip olabilir.

$$E_{corr}^{HF} = 14.9eV < 0.001 \cdot E_{min} \quad (2.3.1.3)$$

Örneğin, N_2 molekülünün deneysel ayrışma enerjisi, korelasyon enerjisinin, kuantum kimyasında özellikle ilgi çeken reaksiyon enerjileri gibi nispi enerjilere karşılık gelir.

$$E_{diss} = 9.9eV < E_{corr} \quad (2.3.1.4)$$

Korelasyon enerjisine ana katkı, HF-yönteminde kullanılan ortalama alan yaklaşımından kaynaklanır. Bu, elektron hareketlerinin içsel korelasyonunu tamamen ihmal eden bir yaklaşım olan diğerlerinin ortalama alanında bir elektron hareket ettiği anlamına gelir. Bunun ne anlama geldiğini daha iyi anlamak için, Hartree Fock-metodu gibi bir ortalama alan yaklaşımıyla açık bir şekilde kapatılamayan elektronların küçük mesafelerde itilmesinin tanımlanması mümkündür.

2.1.1.4. Yarı-Ampirik Yöntemler

Büyük moleküllerin *ab initio* yöntemler kullanılarak hesaplanmaları oldukça fazla zaman ve bilgisayar kullanımını gerektirmektedir. Bu sebeple daha hızlı ve güvenilir hesapların yapılabilmesi için yarı-deneysel olarak da bilinen yarı-ampirik yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde hesaplamada QM prensiplerine dayanırlar, fakat Schrödinger denkleminin çözümü esnasında *ab initio* yöntemlere kıyasla daha fazla yaklaşımda bulunmaktadır. Ayrıca yarı-ampirik yöntemler, HF hesaplamalarını daha basitte indirgemek için deneysel veri parametrelerini hesaplamada kullanmaktadır. Standart elektronik yapı yöntemlerinde, moleküler orbitallere (MO, $\{\psi_i\}$), atomik orbitaller (AO, $\{\chi_\mu\}$) ile temsil edilen temel fonksiyonların doğrusal bir kombinasyonu ile yaklaşılmaktadır:

$$\Psi_i(r) = \sum_{\mu} C_{\mu i} X_{\mu}(r)$$

Eğer hesaplanması çok zor olan bir integral varsa bunların bazılarını ya ihmal eder ya da olası en yakın yaklaşımları sunarak hesaplar. Çekirdekdeki orbitallere ait integrallerin yerine farklı parametreler kullanır. Ampirik bir yöntemin doğruluğu, yöntemi parametreleştirmek için kullanılan veri tabanına bağlıdır. Yarı-ampirik yöntem olan ve Stewart tarafından NDDO “Neglect of Diatomic Differential Overlap” yönteminin yeniden parametrelendirilmesi ile oluşturulan PM6-DH2, PM6-D3H4 ve PM6-DH3 (Dimitrova ve ark., 2017) gibi PM6 yönteminde uygulanan saçılma ve hidrojen bağlı düzeltmeleri çoğu durumda, DFT ile yakın doğrulukta etkileşim enerjileri verir. Buna ek olarak, temel PM6 yönteminin hesaplama etkinliği, proteinlerin geometri optimizasyonları veya büyük sistemlerin titreşimsel analizleri gibi DFT veya HF ile pratik olarak mümkün olmayan hesaplamaları olası hale

getirmektedir. Bu durum, molekül tipi ve veritabanındaki fiziksel ve kimyasal veriler için geçerlidir. Sık sık, ampirik yöntemler sınırlı bir sınıf veya az sayıda molekül için en iyi sonuçları vermektedir. Ampirik yöntemlerin bir dezavantajı, hesaplamalara başlamadan önce parametrelerin mevcut olması gerektiğidir. Parametre geliştirmek kolay olmamakla birlikte, fazla zaman almaktadır (Christensen, Kubaş, Cui, ve Elstner, 2016).

2.1.1.5. Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi

2.1.1.5.a. Değişim-Korelasyon Fonksiyonları

DFT teorisi kuantum mekaniğinde Slater'in çalışmalarına göre geliştirilmiş bir yöntemdir. Bu yöntem elektron yoğunluğuna ait genel bazı fonksiyoneller ile elektron korelasyonunu modellemektedir. Yerel yoğunluk yaklaşımı (Local Density Approximation, LDA), Kohn ve Sham tarafından ilk makalelerinde önerildiği gibi tekdüze elektron gazına dayanır ve burada elektronlar pozitif bir arka plan yüküne eşit olarak dağıtılır. LDA enerjisi, ϵ_{xc} 'nin tek elektronlu bir gazda elektron başına değişim-korelasyon enerjisi olarak verilmektedir (Bagayoko, 2014)

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = \int \rho(r) \epsilon_{xc}[\rho(r)] dr \quad (2.4.1.1)$$

Tekdüze bir elektron gazı için, değişim-korelasyon enerjisi, ayrılan değişim ve korelasyon enerjilerine bölünür. Dirac tarafından elde edilen tekdüze bir elektron gazı için değişim enerjisi;

$$E_{xc}^{LDA}[\rho] = -\frac{3}{4} \left(\frac{3}{\pi} \right)^{1/3} \int \rho^{4/3}(r) dr \quad (2.4.1.2)$$

Tekdüze bir elektron gazının korelasyon enerjisi için böyle basit bir ifade yoktur. Ancak, 1980 yılında Ceperley ve Alder, tekdüze elektron gazı üzerinde oldukça hassas Monte-Carlo simülasyonları gerçekleştirdiler ve Vosko, Wilk ve Nussair (VWN) tarafından çeşitli analitik formların geliştirilmesinde etkili oldular. Korelasyon enerjisi için, bu VWN fonksiyonel formlarından biri (sayı V), burada E_c^{VWN} olarak belirtilir ve LDA yaklaşımı için yaygın olarak kullanılmaktadır. LDA fonksiyonu aşağıdaki forma sahiptir,

$$E_{xc}^{LDA} = E_x^{LDA} + E_c^{VWN} \quad (2.4.1.3)$$

Oldukça basit bir forma rağmen, LDA, çoğu durumda HF yaklaşımından daha iyi veya daha iyi olmak üzere oldukça doğru sonuçlar verir. LDA fonksiyonu ile iyi titreşim frekansları, denge yapıları ve dipol momentleri elde etmek mümkündür. Bununla birlikte, bağ enerjileri sistematik olarak olması gerektiğinden çok daha yüksektir.

Genelleştirilmiş gradyan yaklaşımında (GGA), fonksiyonel enerji $E_{xc}^{GGA}[\rho]$, yoğunluğa ek olarak yoğunluk gradyanına $\nabla\rho(r)$ bağlıdır. Burada E_{xc} formu farklı fonksiyonlar için değişir. LDA için olduğu gibi, GGA değişim-korelasyon enerjisi E_{xc}^{GGA} ayrıca değişim ve korelasyon bölümlerine ayrılmıştır. Yaygın olarak kullanılan GGA işlevlerine sahip çeşitli fonksiyonlar vardır: BLYP, BPW91 ve PBE gibi. Örnek vermek gerekirse, BLYP fonksiyonu aşağıdaki forma sahiptir;

$$E_{xc}^{BLYP} = E_x^{LDA} + E_{\Delta x}^{B88} + E_c^{LYP} \quad (2.4.1.4)$$

İlk terim LDA değişim enerjisi olduğunda, ikinci terim Becke'nin önerdiği gibi değişim enerjisine GGA düzeltme ifadesidir ve üçüncü terim Lee, Yang ve Perdew (LYP) 'nin GGA korelasyon terimidir. HF teorisinde, Fermi korelasyonu, korelasyon enerjisinin büyük bir kısmını (yaklaşık% 90'ı) açıklayan değişim katkısı tarafından hesaplanır. LDA veya GGA yaklaşımları, tam olarak tatmin edici bir şekilde Fermi korelasyonunu ve Kolomb itme enerjisi hem HF hem de DFT'de ortaya çıkan kendi kendine etkileşim terimini içerir, (ii/ii) .

$$J = \frac{1}{2}(\rho/\rho) = \frac{1}{2} \sum_{ij}^{n_{occ}} (ii/jj) \quad (2.4.1.5)$$

Dolu orbitaldeki bir yörüngedeki bir elektron, kendisi de dahil olmak üzere tüm elektronların oluşturduğu ortalama potansiyelde hareket eder. HF de bu durum, kendi etkileşimi değişim zamanında görünen karışık işaretin eşdeğer bir etkileşimi ile iptal edilebilir.

$$K = \frac{1}{2} \sum_{ij}^{n_{occ}} (ij/ij) \quad (2.4.1.6)$$

DFT'nin en önemli noktası korelasyon faktörlerini devreye katmasıdır. Hartree-Fock' dan farklı olarak, korelasyon faktörünü eklemek çok büyük bir hesabı gerektirir. Fakat değişim katkısını tam olarak hesaplamak için bu teoriye ihtiyaç vardır. Bu durumda en uygun tercih DFT ile bölgesel yoğunluk yaklaşımı yöntemini kullanarak korelasyon faktörünü hesaplamak ve bu enerjiyi Hartree-Fock enerjisine eklemektir. Bu yaklaşımda değişim korelasyon enerjisi tam değişim terimi ile bölgesel yoğunluk yaklaşımından elde edilen korelasyon enerjisi bileşenlerinden oluşur. Değişim enerjisi de Kohn-Sham orbitallerinden oluşan Slater determinantından elde edilir. Ne yazık ki bu basit yaklaşım çok iyi sonuçlar vermemektedir. Fakat Becke bir strateji ile sonuçların daha iyi olmasını sağlamıştır. Hibrid fonksiyonlar, HF değişimi K'nin bir parçası x_k ile GGA fonksiyonel katkılarını birleştirir,

$$E_{xc}^{hybrid} = E_x^{GGA} - x_k K + E_c^{GGA} \quad (2.4.1.7)$$

Aslında K, HF değişiminden farklıdır, çünkü HF orbitallerinden ziyade K S orbitallerine dayanmaktadır. Yine de genellikle HF değişimi veya bazen yerel olmayan değişim veya tam değişim olarak da belirtilir. Tam HF değişiminin ($x_k = 1$) dahil edilmesi, Kohn ve Sham tarafından önerilmiş, ancak yerel olmayan değişim ile kullanım için uygun ve doğru bir korelasyonun türetilmesi zor olmuştur. Sadece HF değişiminin bir oranının dahil edilmesinin çok daha başarılı olduğu kanıtlanmıştır. Stevens ve ark.'nın B3LYP fonksiyonu bugüne kadar en popüler ve yaygın olarak kullanılan melez fonksiyondur. Bu melez fonksiyon, BLYP ve LDA fonksiyonlarının korelasyonunu ve değişim terimlerini yarı deneysel bir şekilde birleştirir,

$$E_{xc}^{B3LYP} = (1 - x_k)E_x^{LDA} + aE_{\Delta x}^{B88} - x_k K + bE_c^{LYP} + (1 - b)E_c^{VWN} \quad (2.4.1.8)$$

HF'nin B3LYP fonksiyonu % 20'de ($x_k = 0,2$), a ve b parametreleri sırasıyla 0.72 ve 0.81'dir. Hibrid fonksiyonel diğer örnekler PBE0 ve B97 serisidir. Kohn-Sham değişim-korelasyon fonksiyonu, her ikisi de bilinmeyen değişim ve korelasyon etkilerini içerir. Ancak Hartree-Fock teorisi, değişim enerjisi için tam bir ifadeye sahiptir. Böylece, 1992'de Becke başarılı bir şekilde HF teorisini ve DFT'yi birleştirmiştir. B3LYP fonksiyonu, diğer bazı hibrid fonksiyonlarla birlikte, küçük moleküllerin özelliklerini tahmin etmede oldukça başarılı olmuştur. DFT ile birlikte avantajı, düşük hesaplama maliyetlerine sahip olmasıdır. Bununla birlikte, HF tam değişimi (exact exchange, EXX) eklendiğinde, hesaplama maliyeti büyük ölçüde artar (Arbuznikov, 2007)

2.1.1.6. BAZ SETLERİ

Kuantum mekanik programlarının birçoğu tek-elektron moleküler orbitallerini oluşturabilmek için atomik orbitallerin doğrusal kombinasyonu (LCAO) yaklaşımını kullanır. En doğal atomik orbitaller Slater-tipi orbitallerdir (STO). Fakat bu orbitallerin kullanımı matematiksel olarak uygun değildir. Bu sebeple zaman içerisinde başka temel set türleri oluşturulmuştur. Gauss-tipi orbitaller (GTO) bunlardan biridir. GTO'lara ait integraller STO'larinkinden daha kolay hesaplanmaktadır.

2.1.1.6.a. Minimal Baz Seti

Minimal baz setler, her atom için gereken minimum temel işlev sayısını içerir. Minimal temel kümeler sabit atomik tip orbitalleri kullanır. STO-KG baz seti, K-GTO'ların STO'yu taklit etmesini sağlayan minimal bir baz settidir. Sık kullanılan STO-KG minimal baz seti STO-3G'dir. Minimal bir baz seti, her simetri tipi için sadece tek bir değerlik fonksiyonu kümesi içerdiğinden, moleküllerdeki küresel olmayan elektron dağılımını tanımlayamaz.

2.1.1.6.b. Bölünmüş Değer Baz Seti

Bir baz setinin esnekliğini geliştirmenin en basit yolu, her atomdaki temel fonksiyonların sayısını arttırmaktır. Bir minimal baz setinin işlevlerinin iki katına çıkarılmasıyla oluşturulan temel kümeye genellikle bir çift-zeta temel kümesi denir. Yalnızca minimum baz setin değerlik fonksiyonu iki katına çıkarsa, baz seti bölünmüş değerlik baz seti (split valence base set) olarak adlandırılır.

Yaygın olarak kullanılan bölünmüş-değer baz setleri 3-21G ve 6-31G temel setleridir. 3-21G temel setinde, bir atomun her iç orbitali, üç GTO'nun lineer kombinasyonu alınarak oluşturulurken, değerlik orbitali, sırasıyla iki ve bir GTO'nun doğrusal bir kombinasyonu alınarak oluşturulan iki kısma ayrılır. Üçlü-zeta baz seti 6-311G, değer orbitalinin üç orbital kümesine ayrılmasıyla oluşturulur.

2.1.1.6.c. Polarize Baz Setleri

Bölünmüş değerlik temel kümeleri, orbital boyutunun değişmesine izin verir, ancak şekli değiştirmez. Bu sınırlılık, her bir atomun temel durumunu tanımlayabilmek için gerekli olan açısal momentumlu orbitallerin eklenmesiyle giderilir. Yaygın olarak kullanılan 6-31G (d) baz seti, 6-31G baz setine hidrojen olmayan atomlar için d-tipi fonksiyonlar eklenerek oluşturulur. Hidrojen atomlarının tanımlanması önemli olduğu durumlarda, genellikle bir dizi p-tipi orbitaller eklenir. Örneğin, 6-31G (d, p), hidrojen atomları için bir dizi p-tipi orbital eklenerek oluşturulan 6-31G (d) temel kümedir. Benzer şekilde, 6-311G (d) ve 6-311G (d, p) temel kümeleri 6-311G temel kümesinden oluşturulur.

2.1.1.6.d. Difüze Baz Setleri

Difüze fonksiyonlar s ve p tipi fonksiyonların büyük boyutlu bir versiyonudur. Orbitallerin daha geniş bir bölge alanını işgal etmelerine izin verir. Difüz fonksiyonlara sahip temel setler, elektronların çekirdekten nispeten uzak olduğu ve uyarılmış durumlarında önemli negatif yüklere sahip sistemler için önemlidir. Örneğin, 6-31 + G (d) temel seti, ağır atomlara eklenen difüz fonksiyona sahip 6-31G (d) temel setidir. Genellikle temel setin uygunluğu, sonuçların ne kadar doğru olduğu ile ilişkilidir. Bununla birlikte büyük moleküller için çok geniş bir temel set uygulamak mümkün değildir.

2.2. HESAPSAL YÖNTEM

2.2.1. REST Transkripsiyon Faktörü'nün DNA Bağlanma Bölgesine Ait Dizisinin ve Yapısının Belirlenmesi

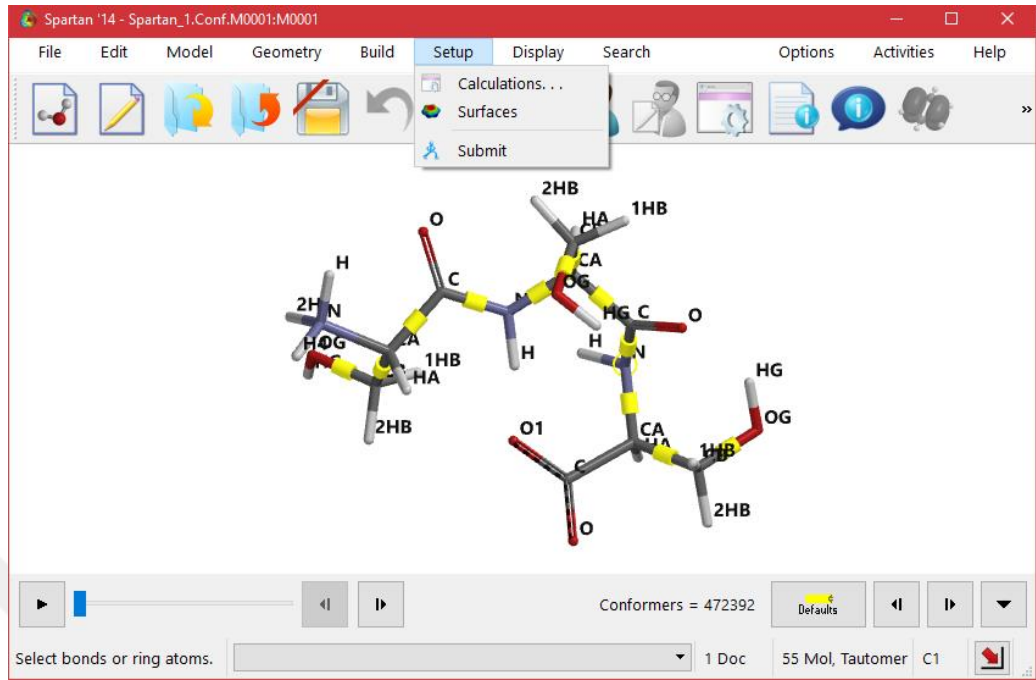
REST(4q12 kromozomal lokasyon, Atlas_Id: 44266) proteinine ait izoform yapıları “Atlas of Genetics and Cytogenetics in Oncology and Haematology” veri tabanından bulunarak, fasta formatında elde edildi. Bilinen 4 farklı REST TF izoform yapılarından aktif bağlanma bölgesi içerisindeki -YKCELCPYSSSQKTHLTRHMRTH- (159-412 amino asit) peptid dizisi delesyona uğramamış olan izoform 1 (1097 amino

asit, 122 kDa protein) ve izoform 3 ((Δ330-1097), 329 amino asit, 37 kDa protein) proteinlerine peptid dizileri çalışmaya dahil edildi. (şekil4).



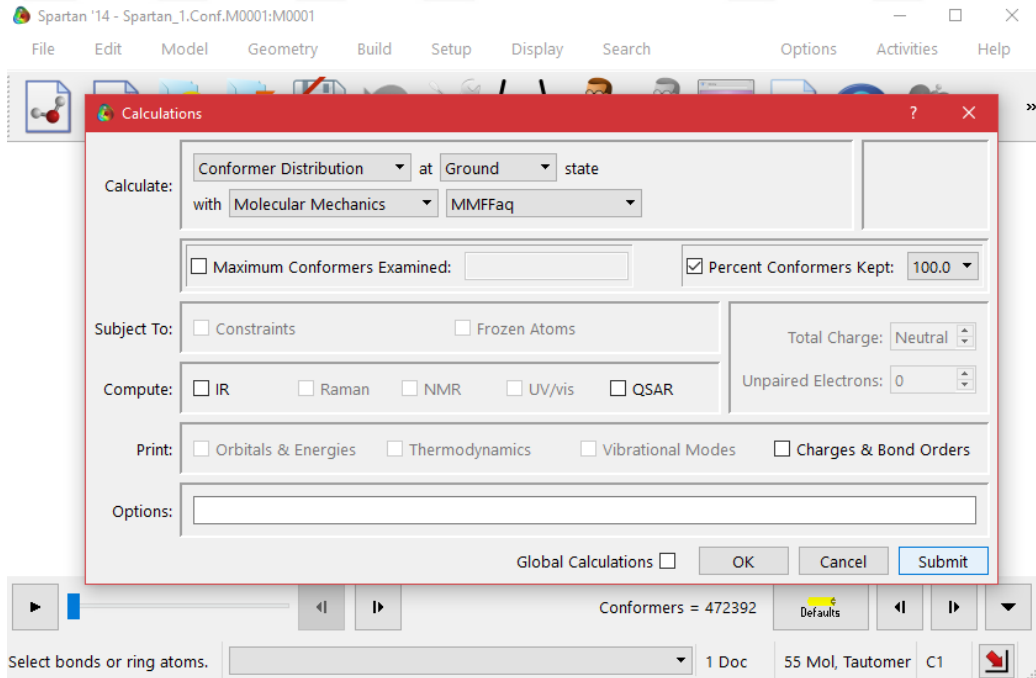
Şekil 4. REST TF izoform yapılarına ait peptid dizileri. CLUSTAL O(1.2.4) çoklu dizi karşılaştırması.

Bu yapı içerisinde yer alan aktif bağlanma bölgesine ait peptid dizisi içerisinde den bağlanmada etkin olabileceği düşünülen –SSS– üçlü peptid yapısı seçilerek bu yapı Spartan’14 programı kullanılarak oluşturuldu. Hesaplama öncesinde üçlü peptid yapısı dizi içerisinde yer aldığı ve etkileşim sırasında alternatif yapı ve bağlanmalara sebebiyet vermemesi amacı ile yapının hem N hem de C terminal ucu asetil (-COCH₃) molekülü ile kapatıldı. Spartan’14 programında yapı oluşturulduktan sonra farklı yapı olasılığını arttırmak için üçlü peptid yapısının torsiyon açısı 12-fold/30⁰ olarak seçildi (şekil 5).



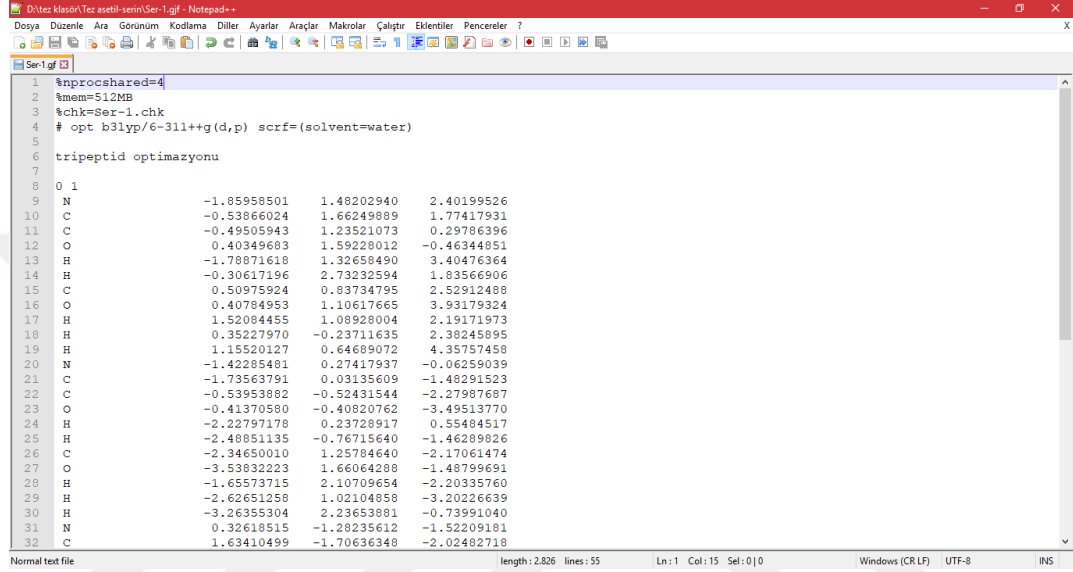
Şekil 5. Spartan'14 programı- Ac-S-S-S-Ac yapısı.

Hesaplama basamakları aşağıdaki şekilde oluşturuldu.



Şekil 6. Üçlü peptid konfomer hesaplama basamakları.

Hesaplama sonrasında Ac-Ser-Ser-Ser-Ac yapısına ait elde edilen 2000 adet konfomer yapısı opt. hesaplaması için Gaussview0.5 programı kullanılarak “.gjf” dosyasına dönüştürüldü. Her bir konfomer yapısı DFT metodu kullanılarak sulu ortamda 6-311++G(d,p) baz seti ile B3LYP hibrit fonksiyoneli kullanılarak TRUBA sisteminde Gaussian09 programı ile yapı optimizasyonu yapıldı. TRUBA sisteminde opt. için her bir “.gjf” dosyasına “.slurm” dosyası oluşturuldu (şekil 7 ve şekil 8).

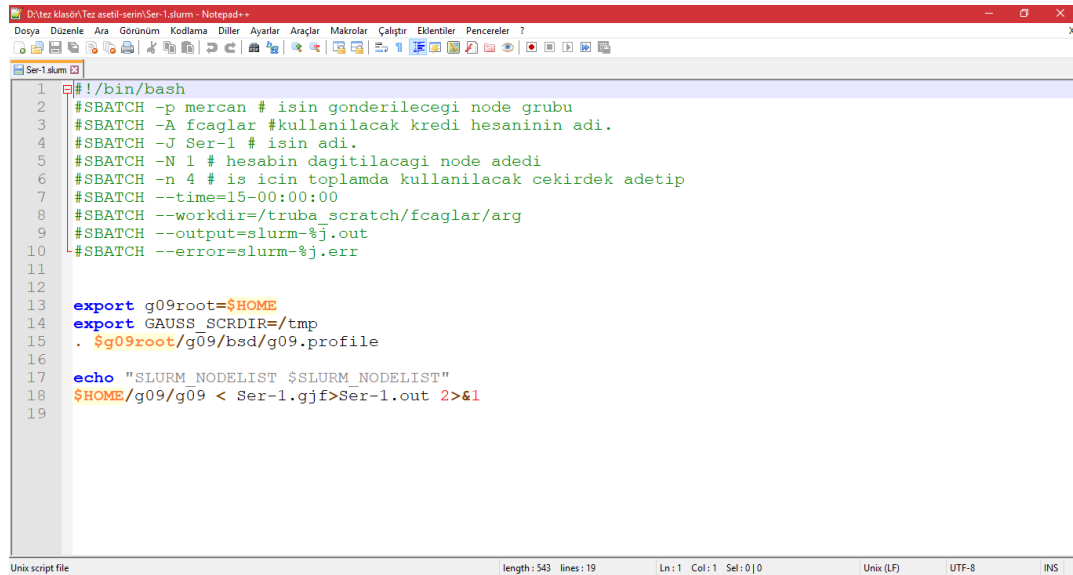


```

1 %nprocshared=4
2 %mem=512MB
3 %chk=Ser-1.chk
4 # opt b3lyp/6-311++g(d,p) scrf=(solvent=water)
5
6 tripeptid optimizasyonu
7
8 0 1
9 N -1.85958501 1.48202940 2.40199526
10 C -0.53866024 1.66249889 1.77417931
11 C -0.49505943 1.23521073 0.29786396
12 O 0.40349683 1.59228012 -0.46344851
13 H -1.78871618 1.32658490 3.40476364
14 H -0.30617196 2.73232594 1.83566906
15 C 0.50975924 0.83734795 2.52912488
16 O 0.40784953 1.10617665 3.93179324
17 H 1.52084455 1.08928004 2.19171973
18 H 0.35227970 -0.23711635 2.38245895
19 H 1.15520127 0.64689072 4.35757458
20 N -1.42285481 0.27417937 -0.06259039
21 C -1.73563791 0.03135609 -1.48291523
22 C -0.53953882 -0.52431544 -2.27987687
23 O -0.41370580 -0.40820762 -3.49513770
24 H -2.22797178 0.23728917 0.55484517
25 H -2.48851135 -0.76715640 -1.46289826
26 C -2.34650010 1.25784640 -2.17061474
27 O -3.53832223 1.66064288 -1.48799691
28 H -1.65573715 2.10709654 -2.20335760
29 H -2.62651258 1.02104858 -3.20226639
30 H -3.26355304 2.23653881 -0.73991040
31 N 0.32618515 -1.28235612 -1.52209181
32 C 1.63410499 -1.70636348 -2.02482718

```

Şekil 7. Üçlü peptid yapısına ait optimizasyon giriş dosyası.



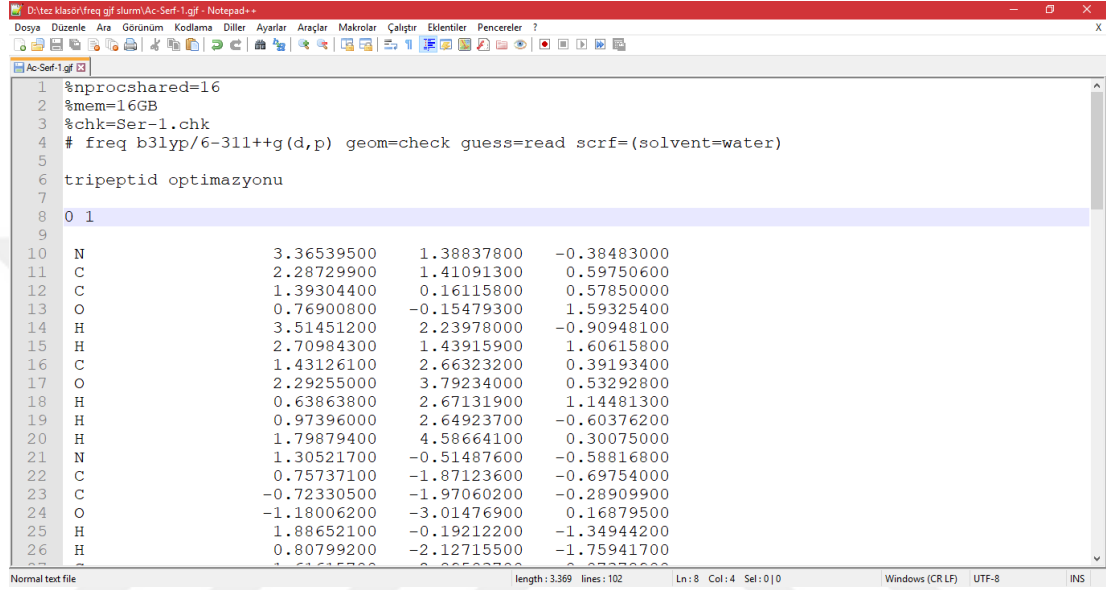
```

1 #!/bin/bash
2 #SBATCH -p mercan # isin gonderilecegi node grubu
3 #SBATCH -A fcaglar #kullanilacak kredi hesaninin adi.
4 #SBATCH -J Ser-1 # isin adi.
5 #SBATCH -N 1 # hesabin dagitilacagi node adedi
6 #SBATCH -n 4 # is icin toplamda kullanilacak cekirdek adetip
7 #SBATCH --time=15-00:00:00
8 #SBATCH --workdir=/truba_scratch/fcaglar/arg
9 #SBATCH --output=slurm-%j.out
10 #SBATCH --error=slurm-%j.err
11
12
13 export g09root=$HOME
14 export GAUSS_SCRDIR=/tmp
15 . $g09root/g09/bsd/g09.profile
16
17 echo "SLURM NODELIST $SLURM NODELIST"
18 $HOME/g09/g09 < Ser-1.gjf>Ser-1.out 2>&1
19

```

Şekil 8. Üçlü peptid yapısına slurm dosyası.

Opt. hesaplaması sonrası enerji seviyeleri eşit olan yapılar elenerek, farklı yapılar arasında freq. değerleri hesaplandı. Bu hesaplamada opt. için oluşturulan “.gjf” dosyasında opt. komutu değiştirilerek, “# freq b3lyp/6-311++g(d,p) geom=check guess=read scrf=(solvent=water)” komutu yazıldı (şekil 9). Freq. hesaplaması da opt. hesaplamasında olduğu gibi TRUBA sisteminde Gaussian09 programı kullanılarak yapıldı.



```

1 %nprocshared=16
2 %mem=16GB
3 %chk=Ser-1.chk
4 # freq b3lyp/6-311++g(d,p) geom=check guess=read scrf=(solvent=water)
5
6 tripeptid optimazyonu
7
8 0 1
9
10 N      3.36539500    1.38837800   -0.38483000
11 C      2.28729900    1.41091300    0.59750600
12 C      1.39304400    0.16115800    0.57850000
13 O      0.76900800   -0.15479300    1.59325400
14 H      3.51451200    2.23978000   -0.90948100
15 H      2.70984300    1.43915900    1.60615800
16 C      1.43126100    2.66323200    0.39193400
17 O      2.29255000    3.79234000    0.53292800
18 H      0.63863800    2.67131900    1.14481300
19 H      0.97396000    2.64923700   -0.60376200
20 H      1.79879400    4.58664100    0.30075000
21 N      1.30521700   -0.51487600   -0.58816800
22 C      0.75737100   -1.87123600   -0.69754000
23 C     -0.72330500   -1.97060200   -0.28909900
24 O     -1.18006200   -3.01476900    0.16879500
25 H      1.88652100   -0.19212200   -1.34944200
26 H      0.80799200   -2.12715500   -1.75941700

```

Şekil 9. Üçlü peptid yapısı frekans giriş dosyası.

2.2.2. REST Transkripsiyon Faktörü’nün DNA’ya Bağlandığı Gen Bölgesine Ait Dizinin ve Yapının Belirlenmesi

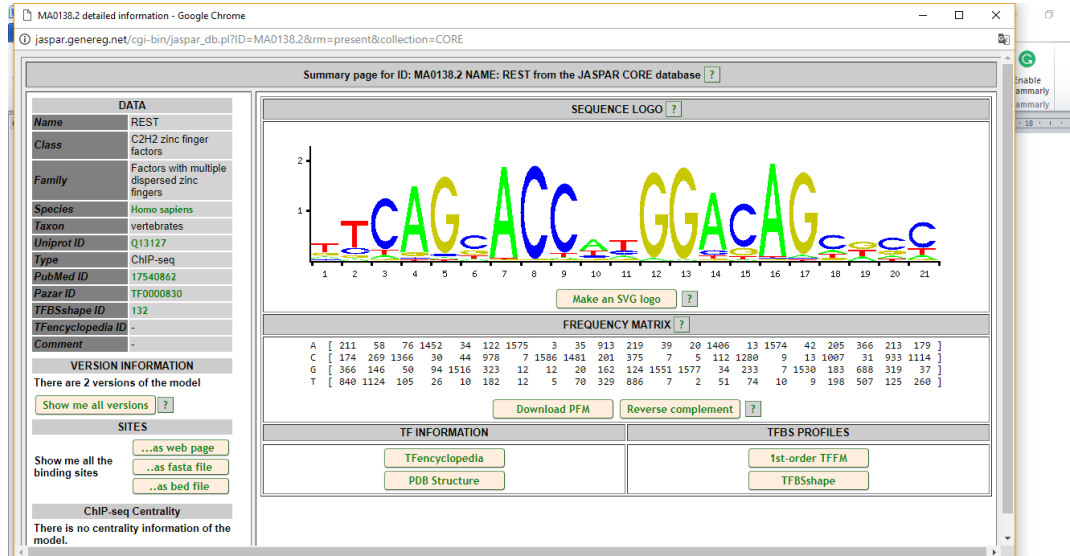
REST TF’nün *SYN1* geni promotor bölgesine bağlandığı bilinmektedir. Bunun üzerine REST’in DNA’a üzerinde etkin olarak bağlandığı bölge Transkripsiyon Faktör Bağlanma Profilleri Bilgi Bankası “JASPAR” veri tabanında bulundu ve *SYN1* gen bölgesi içerisinde dizi tarandı (Şekil.10 ve Şekil 11).

```

>X dna:chromosome chromosome:GRCh38:X:47571298:47620543:-1
.....
TAGGACCAGGATGAGGCGGGGTGGGGGTGCCTACCTGACGACCGACCCGACCCACTGGA
CAAGCACCCAACCCCATTTCCCAAAATTGCGCATCCCCTATCAGAGAGGGGGAGGGGAAA
CAGGATGCGGCGAGGCGCGTGCGCACTGCCAGC [TTCAGcACCGcGGAcAGTGcC] TTCC
CCCCGCCTGGCGGCGCGGCCACCGCCGCTCAGCACTGAAGGCGCGCTGACGTCACTC
GCCGGTCCCCCGAAACTCCCTTCCCGGCCA...

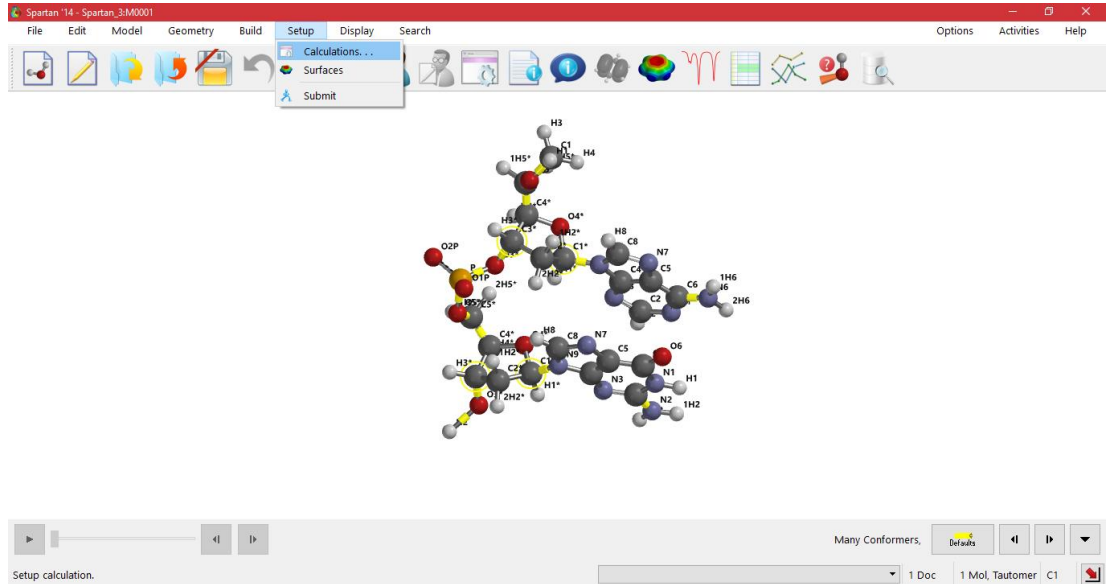
```

Şekil 10. İnsan *SYN1* geni promotor bölgesi nükleotid dizisi.



Şekil 11. REST transkripsiyon faktörü DNA etkin bağlanma dizisi.

REST'in DNA'ya bağlandığı dizi içerisinde en yüksek bağlanma etkinliğine sahip olduğu düşünülen –AG– ve –CC– ikili nükleotid yapıları çalışma için seçildi. Seçilen ikili nükleotid yapılarının 5'-ucu –CH₃ ve 3'-ucu -H grubu ile kapatıldı. Her bir ikili nükleotid yapısı tek iplik DNA (ssDNA-single strand DNA) olarak Spartan'14 programında yapılandırıldı (şekil12).



Şekil.12. –AG– ikili nükleotid yapısı, Spartan'14 programı.

İkili nükleotid yapılarının torsiyon açısı 12-fold/30⁰ olarak hazırlandı. Bulunan konformerler PM6-D3H4 metodu kullanılarak, MOPAC2016 programında opt. edildikten sonra freq değerleri hesaplandı. Bu yapılar içerisinde en kararlı yapılar seçilerek TRUBA sisteminde Gaussian09 programı ile yapı optimizasyonu ve freq. hesaplaması B3LYP metodu kullanılarak sulu ortamda 6-311++G(d,p) baz seti ile sağlandı (Şekil 13 ve şekil 14).

```

1 PM6-D3H4 OPT CHARGE=0 EPS=78.5 PDBOUT GNORM=0.01
2
3
4 O -2.39587058 -3.07298855 -2.15915847
5 C -1.90618176 0.18451793 -3.32782972
6 C -2.36991213 0.07485846 -1.88881993
7 C -1.18145020 -0.57217607 -1.22535336
8 C -0.57919562 -1.45106295 -2.32351456
9 C -0.96795405 -2.92503228 -2.18347707
10 O -1.06887775 -0.95406515 -3.59663038
11 H -1.29808267 1.08215963 -3.49140810
12 H -3.24685698 -0.57800412 -1.80716694
13 H -2.63444158 1.05226783 -1.47270349
14 H -1.46905307 -1.12425184 -0.32406197
15 H 0.51174863 -1.37289147 -2.36520897
16 H -0.58097592 -3.48770358 -3.04093378
17 H -0.54254581 -3.33526434 -1.26040095
18 O -0.25576076 0.45134921 -0.87542816
19 N -5.30340158 3.10017803 -5.84655672
20 C -4.30616314 3.41896937 -4.99105292
21 N -3.43773048 2.59718751 -4.37046141
22 C -3.66404867 1.31693838 -4.70774011
23 C -4.63856577 0.83936192 -5.56919184
24 C -5.47829467 1.79678664 -6.16319484
25 N -6.50812719 1.46555288 -7.03928028
26 N -4.59677399 -0.53802209 -5.65122047

```

Şekil 13. ikili nükleotid yarı-ampirik yöntem optimizasyon veri giriş dosyası.

```

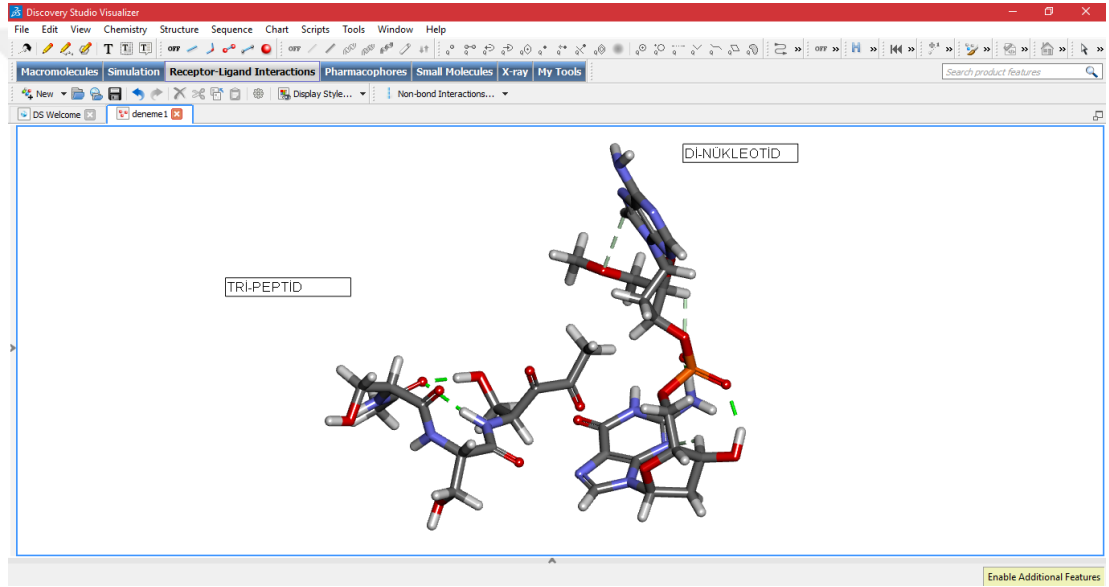
1 PM6-D3H4 FORCE CHARGE=0 EPS=78.5 GNORM=0.01
2
3
4 O (HETATM 1 O1 HET A 1) -0.68913045 +1 -1.24128438 +1 -1.78944612 +1
5 C (HETATM 2 C1 HET A 1) -2.34897556 +1 1.81709712 +1 -3.21231618 +1
6 C (HETATM 3 C2 HET A 1) -2.67152486 +1 1.84111572 +1 -1.71563650 +1
7 C (HETATM 4 C3 HET A 1) -1.47981924 +1 1.16414372 +1 -1.02713093 +1
8 C (HETATM 5 C4 HET A 1) -0.35261659 +1 1.10920095 +1 -2.09168204 +1
9 C (HETATM 6 C5 HET A 1) 0.25130679 +1 -0.27552901 +1 -2.32913173 +1
10 O (HETATM 7 O2 HET A 1) -0.93890428 +1 1.58356487 +1 -3.34383111 +1
11 H (HETATM 8 H1 HET A 1) -2.53765256 +1 2.76955052 +1 -3.76943455 +1
12 H (HETATM 9 H2 HET A 1) -3.63141113 +1 1.32495572 +1 -1.47696013 +1
13 H (HETATM 10 H3 HET A 1) -2.75284583 +1 2.90219839 +1 -1.35712072 +1
14 H (HETATM 11 H4 HET A 1) -1.73465259 +1 0.15589373 +1 -0.60997838 +1
15 H (HETATM 12 H5 HET A 1) 0.45058633 +1 1.86186108 +1 -1.88919050 +1
16 H (HETATM 13 H6 HET A 1) 0.37646696 +1 -0.46420605 +1 -3.42039789 +1
17 H (HETATM 14 H7 HET A 1) 1.20749570 +1 -0.38438412 +1 -1.76659351 +1
18 O (HETATM 15 O3 HET A 1) -1.07467179 +1 2.06241130 +1 0.03042367 +1
19 N (HETATM 16 N1 HET A 1) -5.57888740 +1 0.48147481 +1 -7.16072841 +1
20 C (HETATM 17 C6 HET A 1) -5.11927981 +1 1.69990968 +1 -6.74341889 +1
21 N (HETATM 18 N2 HET A 1) -4.27715454 +1 1.95796942 +1 -5.70464861 +1
22 C (HETATM 19 C7 HET A 1) -3.87872451 +1 0.82520299 +1 -5.02963109 +1
23 C (HETATM 20 C8 HET A 1) -4.29148069 +1 -0.50763630 +1 -5.36518522 +1
24 C (HETATM 21 C9 HET A 1) -5.17214243 +1 -0.66695110 +1 -6.48300289 +1
25 N (HETATM 22 N3 HET A 1) -5.61716276 +1 -1.87031602 +1 -6.91870916 +1
26 N (HETATM 23 N4 HET A 1) -3.70826882 +1 -1.42717942 +1 -4.47110571 +1
27 C (HETATM 24 C10 HET A 1) -2.97407680 +1 -0.69834424 +1 -3.62297931 +1
28 N (HETATM 25 N5 HET A 1) -3.04353007 +1 0.70275764 +1 -3.91194361 +1
29 H (HETATM 26 H6 HET A 1) -5.47644206 +1 2.57513393 +1 -7.32146688 +1
30 H (HETATM 27 H3 HET A 1) -6.26078996 +1 -1.93560714 +1 -7.71667076 +1

```

Şekil 14. . İkili nükleotid yarı-ampirik yöntem frekans veri giriş dosyası.

2.2.3. İkili-Nükleotid ve Üçlü-Peptid Yapı Etkileşim Hesaplaması

DFT hesaplamaları yapılarak seçilen en kararlı üçlü peptid ve ikili nükleotid yapılarının etkileşimleri için olası ikili yapılar Spartan'14 programı kullanılarak oluşturuldu. Etkileşim öncesinde ikili nükleotid ve üçlü peptid yapılarına ait H bağı veren (donor) ve alan (acceptor) bölgeler tespit edildi. Bir araya getirilen yapıların konfomer analizi yine aynı program kullanılarak yapıldı. Bulunan konfomer yapılarına ait opt. ve freq hesaplaması PM6-D3H4 metodu ile hesaplandı ve her birine ait rölatif enerji değerleri bulundu. $E_{rel}=0.00$ kcal/mol olan moleküler yapılar en kararlı yapı olarak belirlendi. Elde edilen yapıların modellenmesi Discovery Studio Visualizer programı kullanılarak gerçekleştirildi (şekil 15).



Şekil 15. Spartan'14 ikili nükleotid (-AG-) ve üçlü peptid molekülerin modellenmesi.

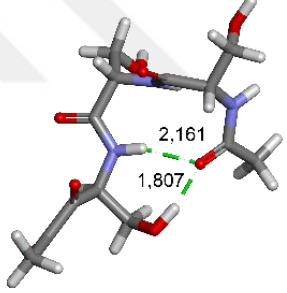
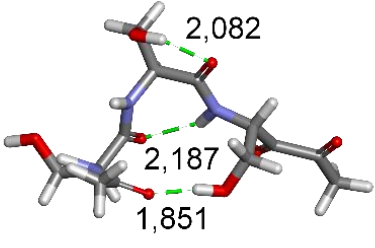
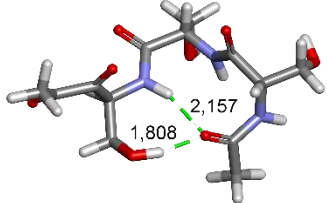
3. BÖLÜM

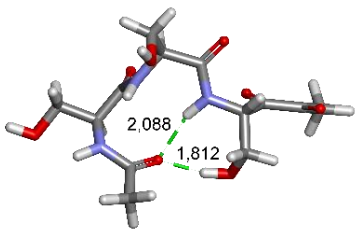
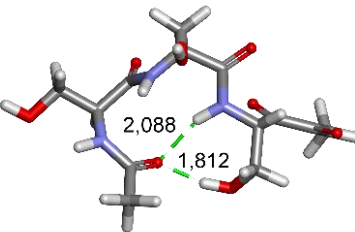
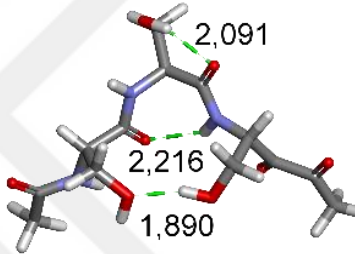
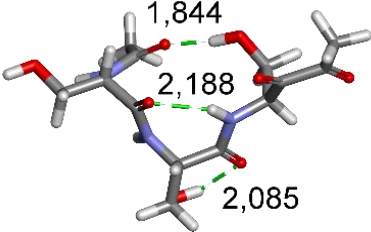
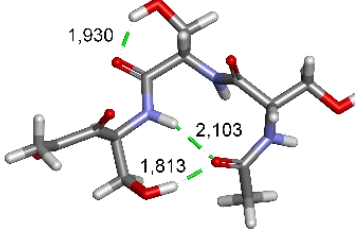
BULGULAR VE SONUÇ

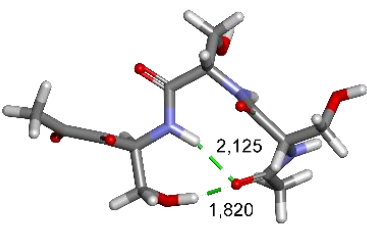
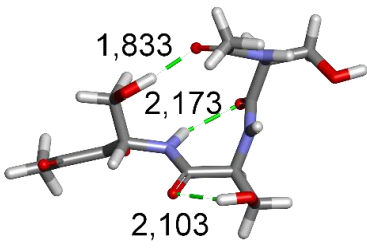
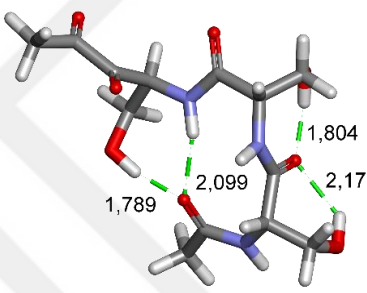
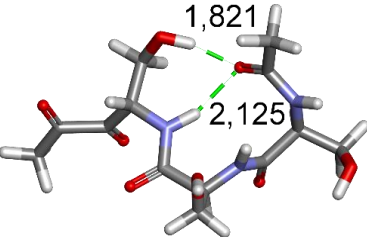
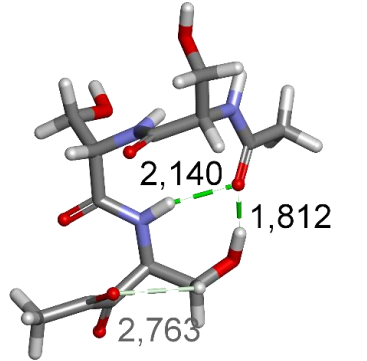
3.1. Üçlü Peptid Yapısı Veri Sonuçları

REST TF faktörünün DNA bağlanma bölgesi içerisinde bulunan üçlü peptid yapısına ait 2263 konfomerin opt. ve freq hesaplaması sulu ortam içerisinde DFT/ B3LYP yöntemi ve 6-311++G(d,p) baz seti kullanılarak bulundu. $E_{\text{rölatif}}$ (kcal/mol) değerleri hesaplandı. En kararlı yapılar belirlenerek, non-kovalent bağ etkileşimleri moleküler modelleme yöntemi ile gösterildi (Tablo1). E_{rel} değeri <5.00 kcal/mol olan yapılar en kararlı kabul edilerek değerlendirilmeğe alındı. Sonuç olarak tek bir yapıya ait farklı konfomer yapılarının rölatif değerlerinin birbirine yakın olduğu gözlemlendi (tablo1).

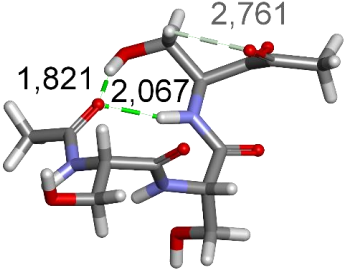
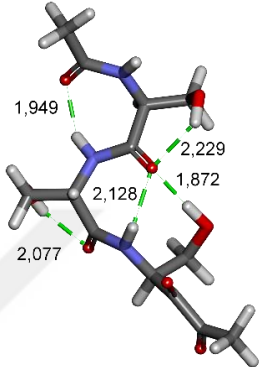
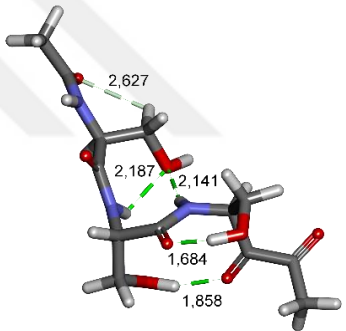
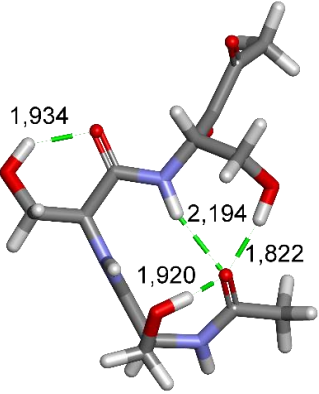
Tablo 1. Ac-S-S-S-Ac üçlü peptid yapısı B3LYP veri sonuçları.

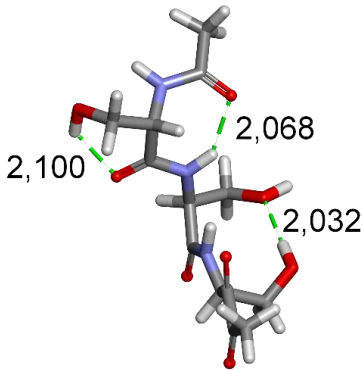
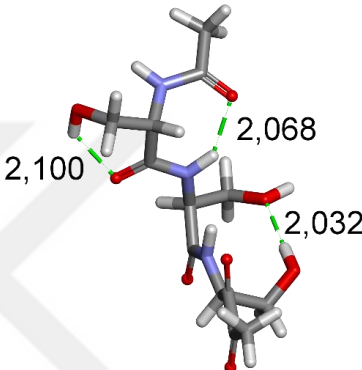
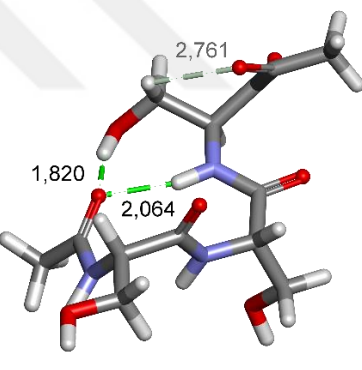
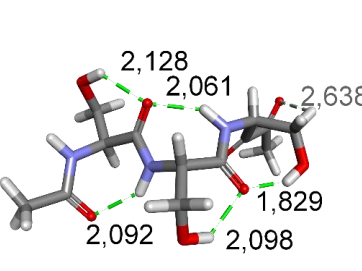
Ac-SSS-Ac	E (Hartree)	Dipol M. (Debye)	ZPE (Hartree)	E _{rel} (kcal/mol)	b3lyp/6-311++g(d,p)
Ac-SSS-Ac-194	-1274,5379	14,1059	-1274,1789	0,00	
Ac-SSS-Ac-15	-1274,5382	8,2925	-1274,1789	0,06	
Ac-SSS-Ac-177	-1274,5377	11,7294	-1274,1785	0,30	

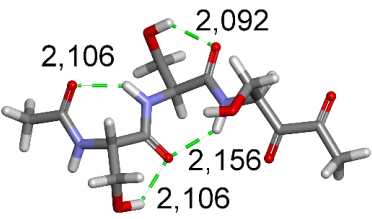
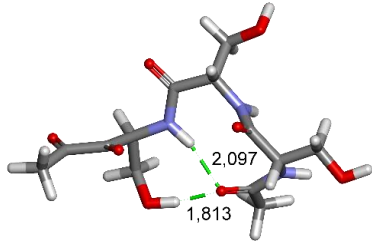
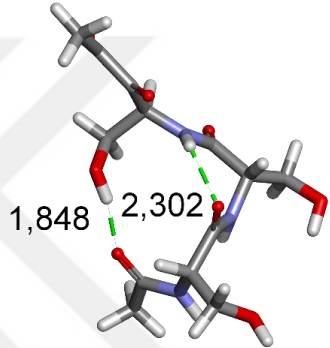
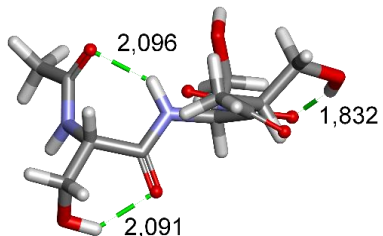
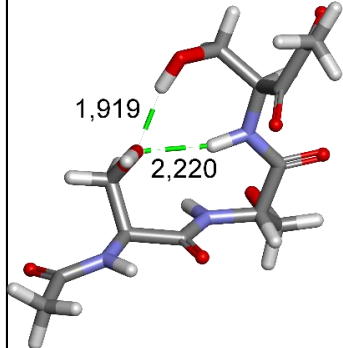
Ac-SSS-Ac-1103	-1274,5369	14,1819	-1274,1779	0,64	
Ac-SSS-Ac-185	-1274,5369	14,1783	-1274,1779	0,65	
Ac-SSS-Ac-237	-1274,5375	3,599	-1274,1778	0,71	
Ac-SSS-Ac-7	-1274,5367	8,3003	-1274,1776	0,82	
Ac-SSS-Ac-718	-1274,5373	13,3984	-1274,1776	0,86	

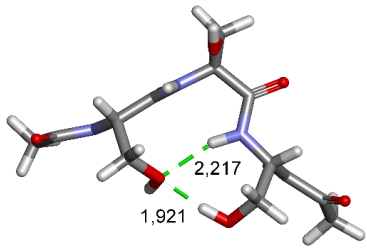
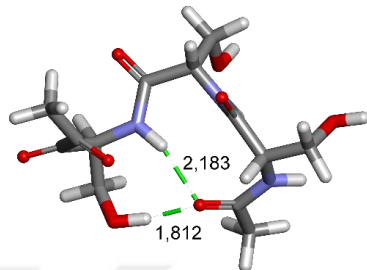
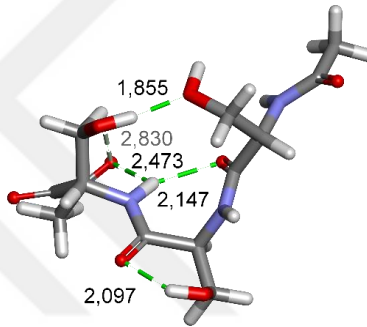
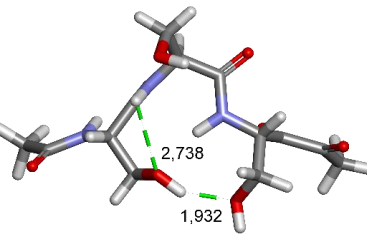
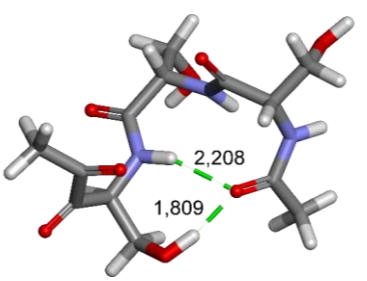
Ac-SSS-Ac-423	-1274,5365	13,2237	-1274,1775	0,90	
Ac-SSS-Ac-908	-1274,5365	9,32	-1274,1773	1,04	
Ac-SSS-Ac-402	-1274,5381	11,33	-1274,1772	1,12	
Ac-SSS-Ac-519	-1274,5363	10,72	-1274,1770	1,20	
Ac-SSS-Ac-844	-1274,5358	14,33	-1274,1768	1,33	

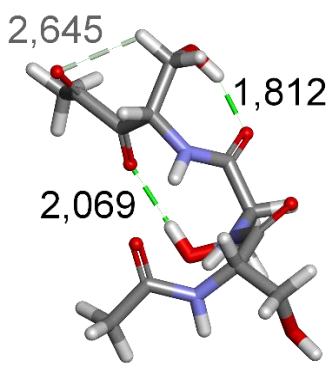
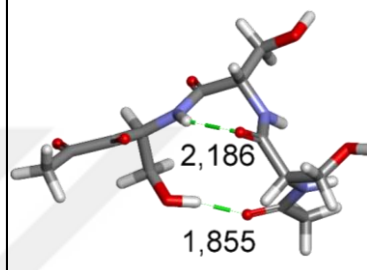
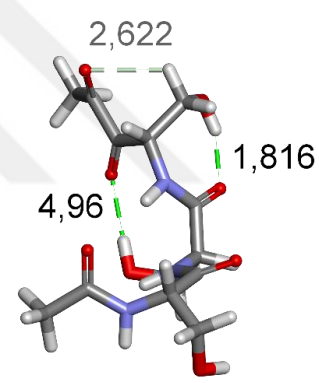
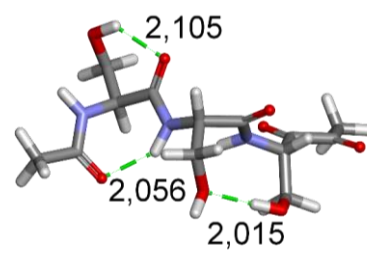
Ac-SSS-Ac-101	-1274,5371	9,46	-1274,1765	1,51	
Ac-SSS-Ac-19	-1274,5362	11,03	-1274,1763	1,66	
Ac-SSS-Ac-656	-1274,5354	13,47	-1274,1763	1,67	
Ac-SSS-Ac-223	-1274,5355	8,49	-1274,1762	1,75	
Ac-SSS-Ac-578	-1274,5353	11,42	-1274,1761	1,80	

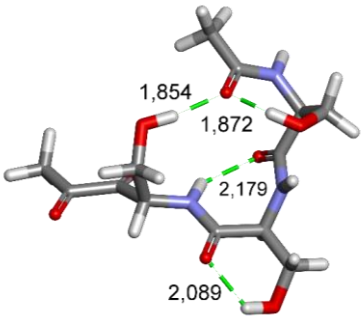
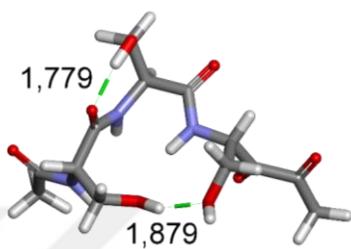
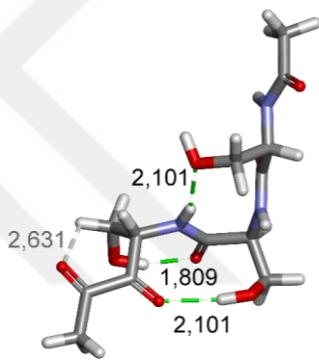
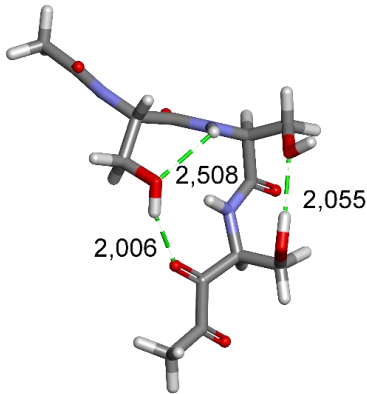
Ac-SSS-Ac-1005	-1274,5353	12,43	-1274,1759	1,91	
Ac-SSS-Ac-302	-1274,5357	5,14	-1274,1758	1,96	
Ac-SSS-Ac-308	-1274,5357	3,74	-1274,1758	1,97	
Ac-SSS-Ac-815	-1274,5368	12,5792	-1274,1758	2,00	

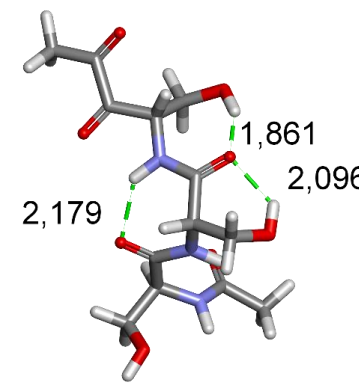
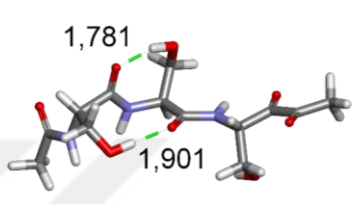
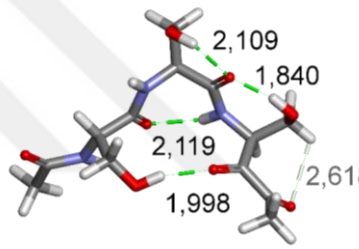
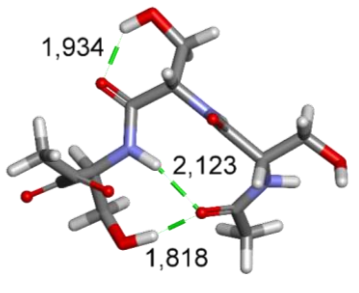
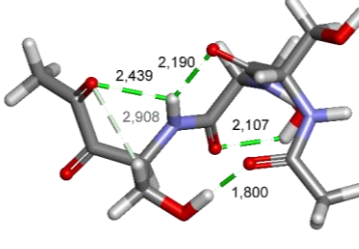
Ac-SSS-Ac-275	-1274,5349	11,7212	-1274,1757	2,02	
Ac-SSS-Ac-289	-1274,5355	6,6369	-1274,1757	2,03	
Ac-SSS-Ac-757	-1274,5347	14,8537	-1274,1756	2,08	
Ac-SSS-Ac-61	-1274,5361	5,8062	-1274,1756	2,11	

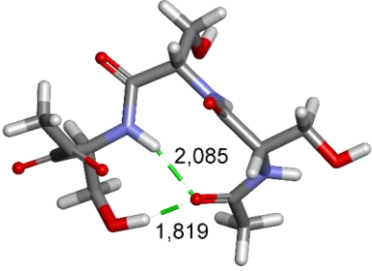
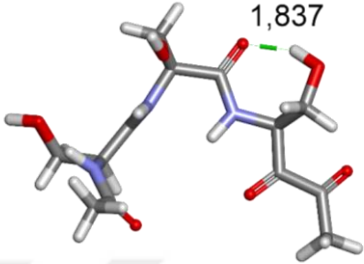
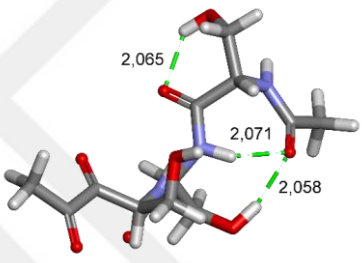
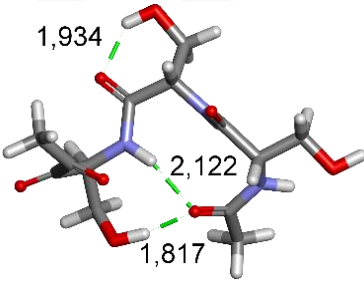
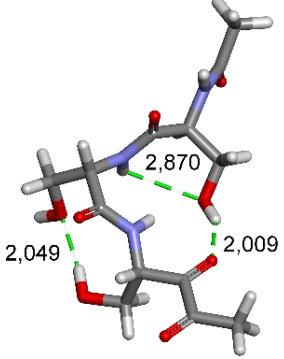
Ac-SSS-Ac-1089	-1274,5351	4,3874	-1274,1756	2,12	
Ac-SSS-Ac-428	-1274,5344	13,8212	-1274,1756	2,13	
Ac-SSS-Ac-209	-1274,5338	10,2655	-1274,1754	2,22	
Ac-SSS-Ac-413	-1274,5347	8,2905	-1274,1753	2,32	
Ac-SSS-Ac-334	-1274,5343	4,2394	-1274,1752	2,33	

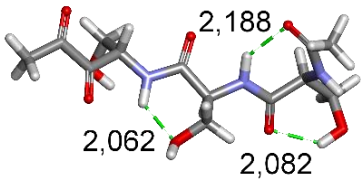
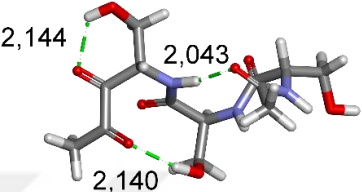
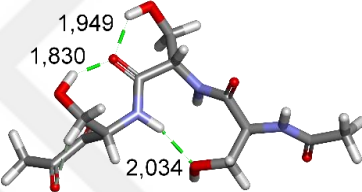
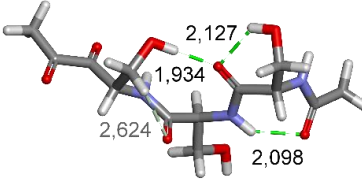
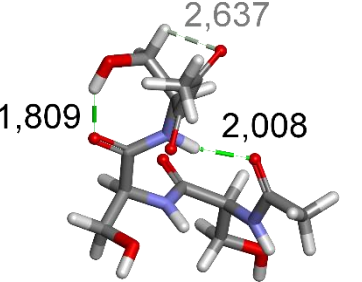
Ac-SSS-Ac-472	-1274,5343	4,2368	-1274,1752	2,34	
Ac-SSS-Ac-526	-1274,5342	13,7895	-1274,1752	2,36	
Ac-SSS-Ac-2356	-1274,5348	6,4438	-1274,1752	2,37	
Ac-SSS-Ac-566	-1274,5339	6,4865	-1274,1751	2,41	
Ac-SSS-Ac-716	-1274,5342	10,9056	-1274,1751	2,43	

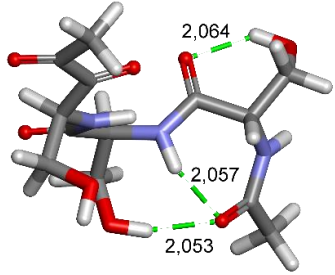
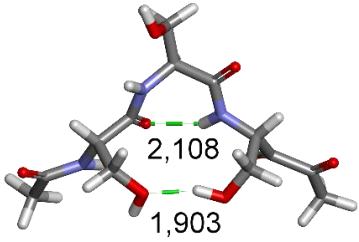
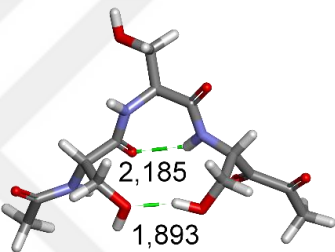
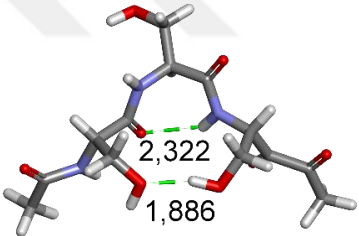
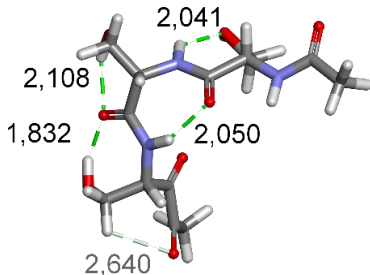
Ac-SSS-Ac-2343	-1274,5348	8,8692	-1274,1750	2,48	
Ac-SSS-Ac-452	-1274,5332	9,8029	-1274,1750	2,49	
Ac-SSS-Ac-163	-1274,5345	6,4041	-1274,1749	2,54	
Ac-SSS-Ac-959	-1274,5347	8,4654	-1274,1748	2,57	

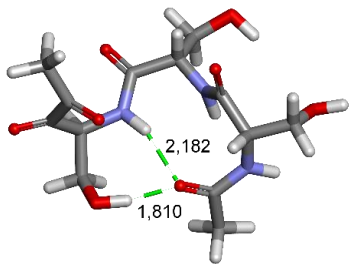
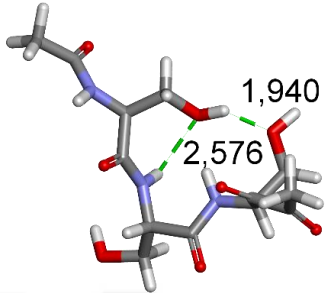
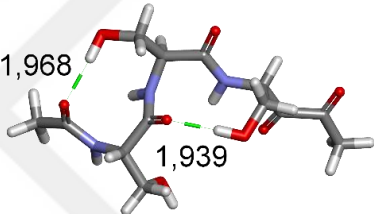
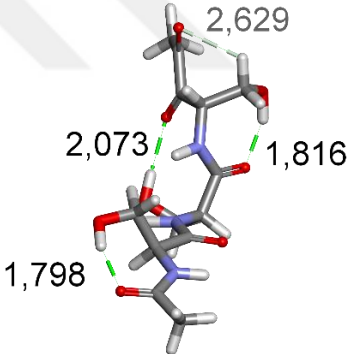
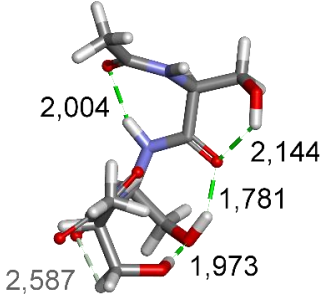
Ac-SSS-Ac-1803	-1274,5354	10,6499	-1274,1747	2,64	
Ac-SSS-Ac-246	-1274,5345	12,6158	-1274,1747	2,66	
Ac-SSS-Ac-284	-1274,5345	2,5864	-1274,1747	2,67	
Ac-SSS-Ac-133	-1274,5339	1,3509	-1274,1746	2,74	

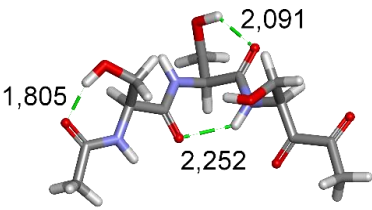
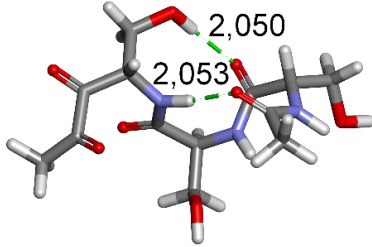
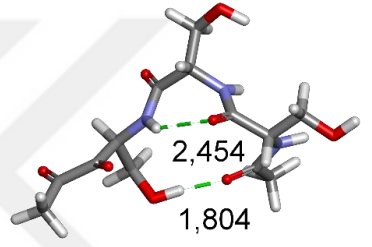
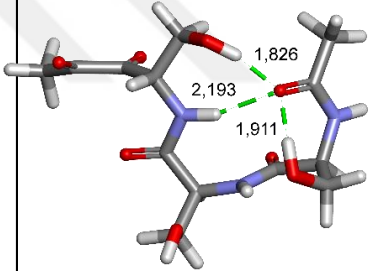
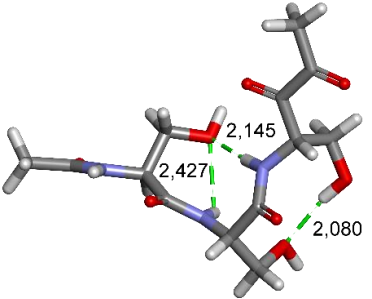
Ac-SSS-Ac-975	-1274,5337	8,7089	-1274,1745	2,78	
Ac-SSS-Ac-1223	-1274,5344	8,5662	-1274,1745	2,79	
Ac-SSS-Ac-157	-1274,5344	4,9747	-1274,1745	2,81	
Ac-SSS-Ac-1956	-1274,5343	10,6498	-1274,1744	2,83	
Ac-SSS-Ac-1043	-1274,5337	9,3323	-1274,1744	2,86	

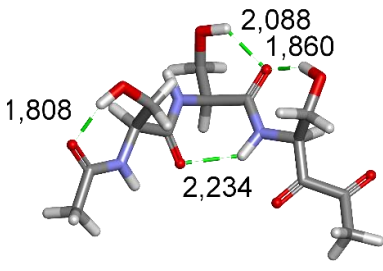
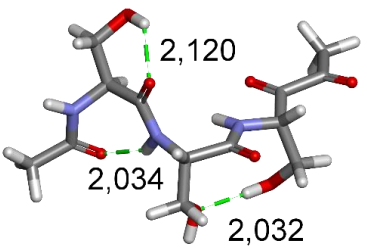
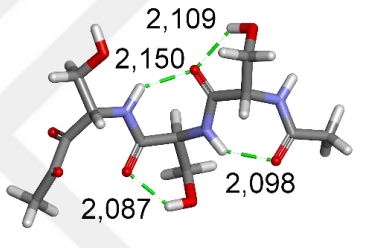
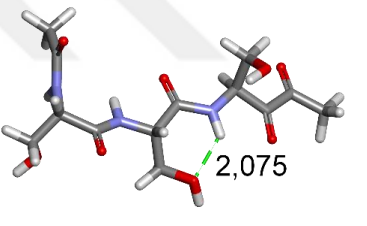
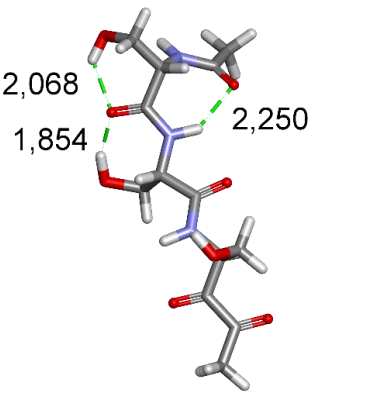
Ac-SSS-Ac-441	-1274,5331	15,1123	-1274,1743	2,90	
Ac-SSS-Ac-1362	-1274,5325	11,6276	-1274,1742	2,97	
Ac-SSS-Ac-1131	-1274,5339	8,7152	-1274,1742	2,98	
Ac-SSS-Ac-1992	-1274,5336	12,571	-1274,1742	3,00	
Ac-SSS-Ac-1461	-1274,5337	3,1155	-1274,1742	3,01	

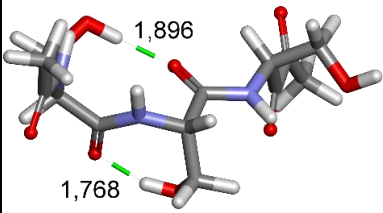
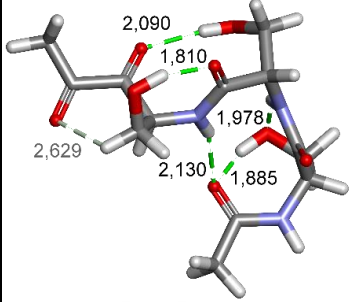
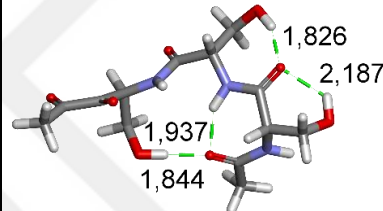
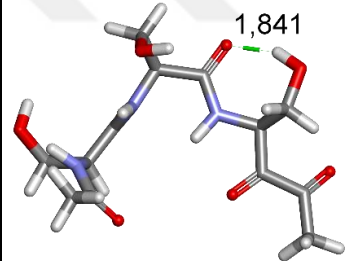
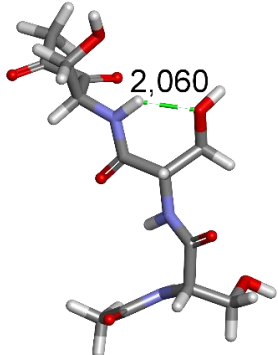
Ac-SSS-Ac-786	-1274,5327	5,0533	-1274,1741	3,02	
Ac-SSS-Ac-1809	-1274,5335	10,0367	-1274,1741	3,03	
Ac-SSS-Ac-2363	-1274,5338	6,231	-1274,1741	3,04	
Ac-SSS-Ac-236	-1274,5335	4,5038	-1274,1741	3,06	
Ac-SSS-Ac-96	-1274,5331	13,3172	-1274,1740	3,07	

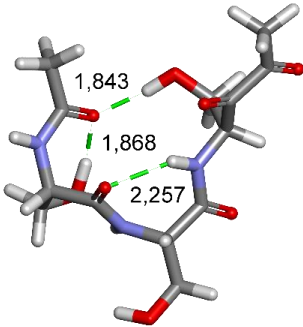
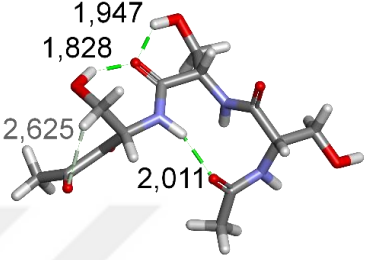
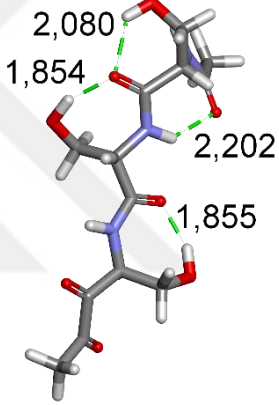
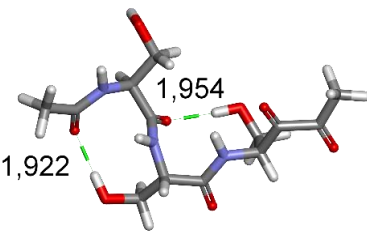
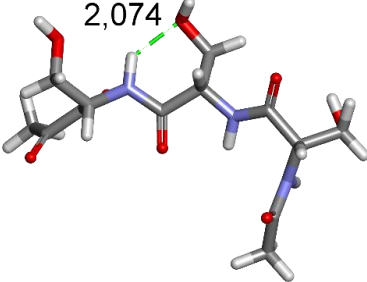
Ac-SSS-Ac-419	-1274,5336	6,5605	-1274,1740	3,08	
Ac-SSS-Ac-339	-1274,5329	4,6098	-1274,1740	3,09	
Ac-SSS-Ac-468	-1274,5325	2,0093	-1274,1740	3,10	
Ac-SSS-Ac-1084	-1274,5326	3,3774	-1274,1739	3,15	
Ac-SSS-Ac-823	-1274,5337	3,9851	-1274,1739	3,18	

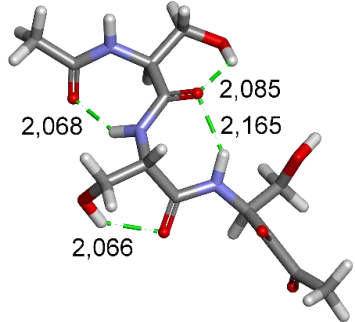
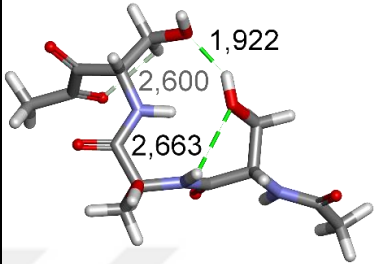
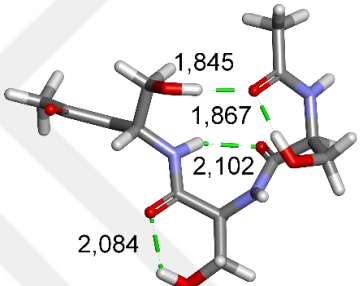
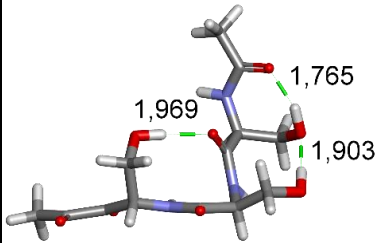
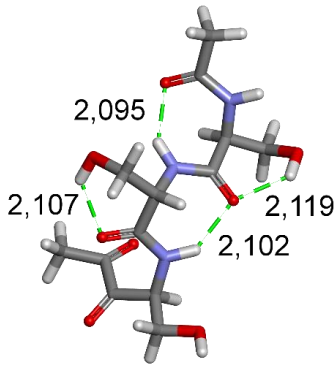
Ac-SSS-Ac-523	-1274,5328	13,3949	-1274,1739	3,19	
Ac-SSS-Ac-849	-1274,5329	8,783	-1274,1738	3,21	
Ac-SSS-Ac-44	-1274,5335	13,2285	-1274,1738	3,23	
Ac-SSS-Ac-679	-1274,5342	1,5972	-1274,1738	3,24	
Ac-SSS-Ac-107	-1274,5346	7,1283	-1274,1738	3,25	

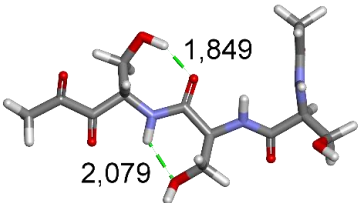
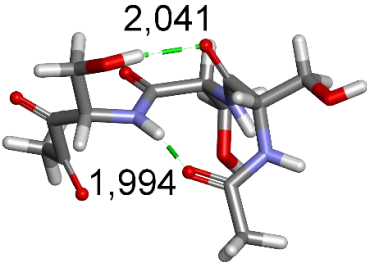
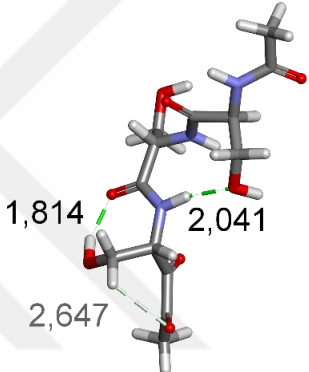
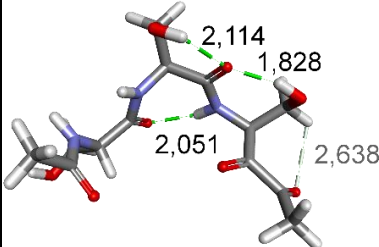
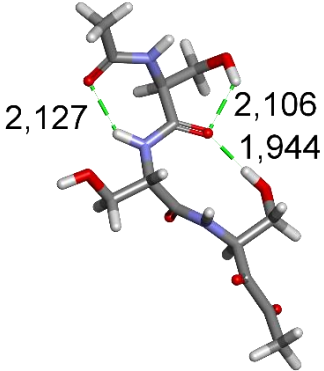
Ac-SSS-Ac-483	-1274,5332	6,968	-1274,1737	3,27	
Ac-SSS-Ac-1600	-1274,5325	14,5707	-1274,1737	3,29	
Ac-SSS-Ac-229	-1274,5323	10,3448	-1274,1737	3,30	
Ac-SSS-Ac-882	-1274,5343	11,0838	-1274,1737	3,31	
Ac-SSS-Ac-1413	-1274,5325	5,0403	-1274,1737	3,32	

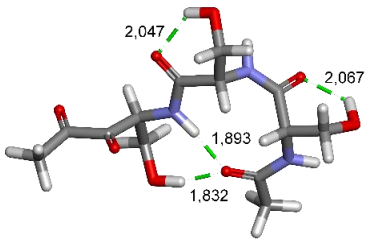
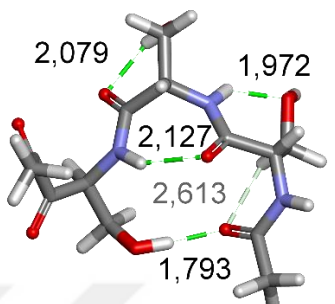
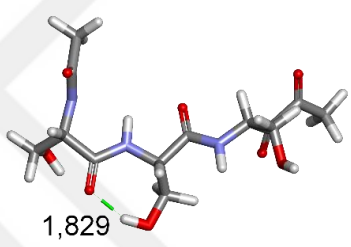
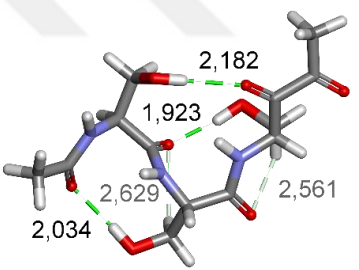
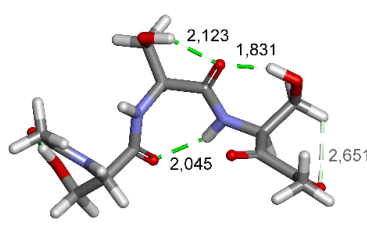
Ac-SSS-Ac-884	-1274,5334	8,7356	-1274,1736	3,35	
Ac-SSS-Ac-1587	-1274,5331	9,3771	-1274,1736	3,37	
Ac-SSS-Ac-559	-1274,5329	5,2029	-1274,1736	3,38	
Ac-SSS-Ac-1714	-1274,5314	8,3655	-1274,1735	3,39	
Ac-SSS-Ac-1220	-1274,5328	0,9463	-1274,1735	3,40	

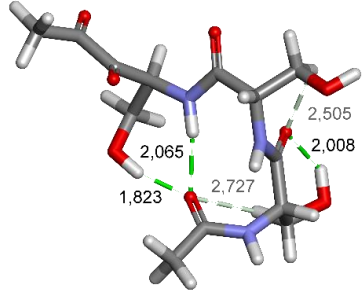
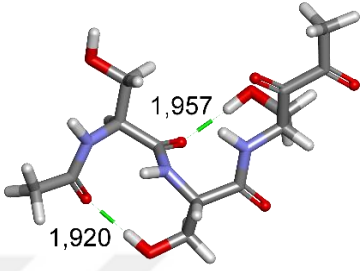
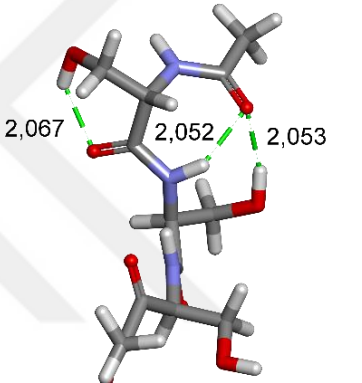
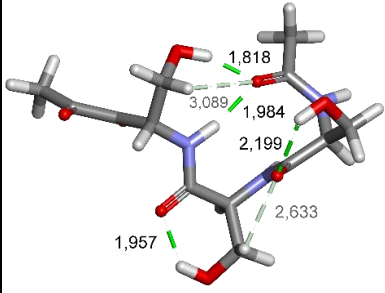
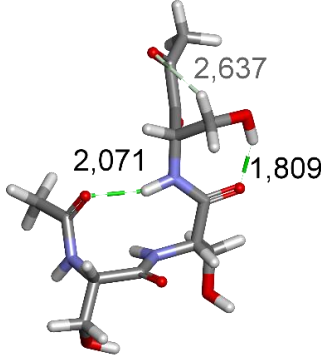
Ac-SSS-Ac-1329	-1274,5335	11,9748	-1274,1735	3,42	
Ac-SSS-Ac-147	-1274,5344	8,9079	-1274,1735	3,43	
Ac-SSS-Ac-42	-1274,5337	7,3363	-1274,1734	3,46	
Ac-SSS-Ac-1132	-1274,5321	6,4975	-1274,1734	3,48	
Ac-SSS-Ac-1511	-1274,5310	7,1052	-1274,1734	3,49	

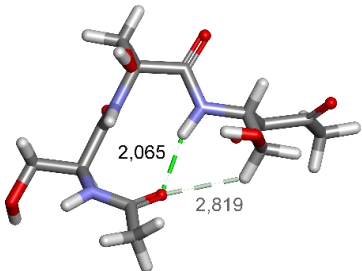
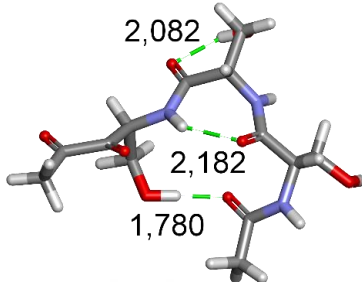
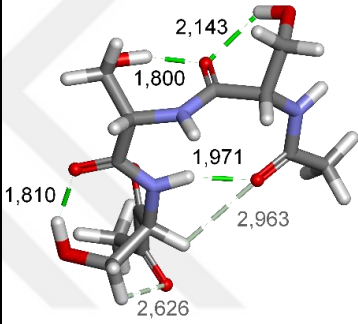
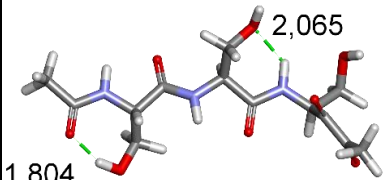
Ac-SSS-Ac-405	-1274,5333	10,4285	-1274,1734	3,50	
Ac-SSS-Ac-280	-1274,5332	12,2358	-1274,1734	3,51	
Ac-SSS-Ac-803	-1274,5330	3,1928	-1274,1733	3,52	
Ac-SSS-Ac-67	-1274,5330	11,2609	-1274,1733	3,55	
Ac-SSS-Ac-2284	-1274,5312	6,1418	-1274,1733	3,56	

Ac-SSS-Ac-1767	-1274,5325	7,2021	-1274,1732	3,58	
Ac-SSS-Ac-2181	-1274,5325	1,5987	-1274,1732	3,60	
Ac-SSS-Ac-2127	-1274,5341	12,4043	-1274,1731	3,64	
Ac-SSS-Ac-217	-1274,5342	12,332	-1274,1731	3,65	
Ac-SSS-Ac-811	-1274,5324	4,1617	-1274,1731	3,67	

Ac-SSS-Ac-2266	-1274,5314	8,797	-1274,1731	3,68	
Ac-SSS-Ac-1477	-1274,5319	15,1979	-1274,1731	3,69	
Ac-SSS-Ac-705	-1274,5324	6,3451	-1274,1730	3,72	
Ac-SSS-Ac-1279	-1274,5330	7,9915	-1274,1730	3,73	
Ac-SSS-Ac-715	-1274,5323	6,8868	-1274,1730	3,74	

Ac-SSS-Ac-1538	-1274,5336	6,3654	-1274,1730	3,76	
Ac-SSS-Ac-934	-1274,5324	11,5983	-1274,1729	3,77	
Ac-SSS-Ac-925	-1274,5314	5,9014	-1274,1729	3,78	
Ac-SSS-Ac-13	-1274,5332	11,2698	-1274,1729	3,80	
Ac-SSS-Ac-421	-1274,5337	5,9789	-1274,1729	3,81	

Ac-SSS-Ac-555	-1274,5327	11,0517	-1274,1728	3,85	
Ac-SSS-Ac-1	-1274,5324	13,1984	-1274,1728	3,86	
Ac-SSS-Ac-1524	-1274,5321	9,2777	-1274,1728	3,87	
Ac-SSS-Ac-1168	-1274,5332	13,5075	-1274,1727	3,89	
Ac-SSS-Ac-113	-1274,5320	8,5727	-1274,1727	3,92	

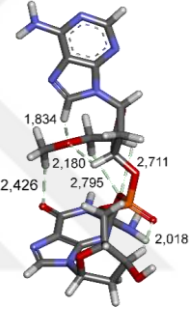
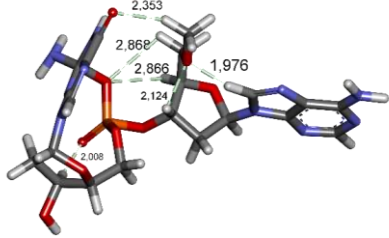
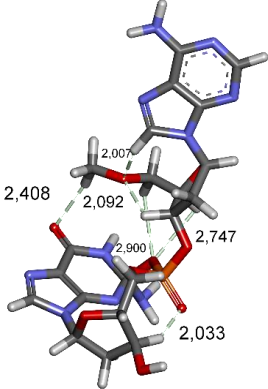
Ac-SSS-Ac-685	-1274,5312	10,6671	-1274,1727	3,93	
Ac-SSS-Ac-872	-1274,5320	6,7753	-1274,1727	3,94	
Ac-SSS-Ac-248	-1274,5335	11,5682	-1274,1726	3,97	
Ac-SSS-Ac-1276	-1274,5310	10,1001	-1274,1726	3,99	

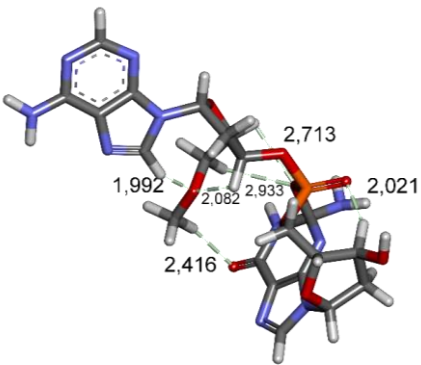
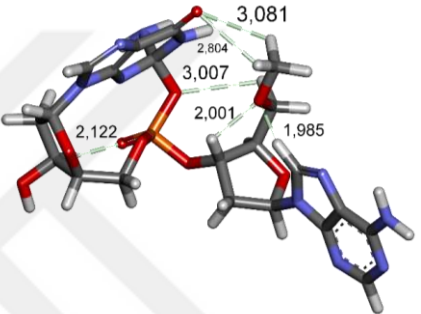
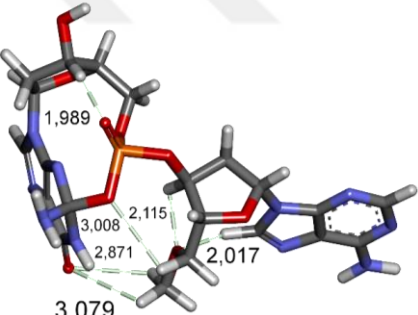
3.2. İkili nükleotid Yapıları Veri Sonuçları

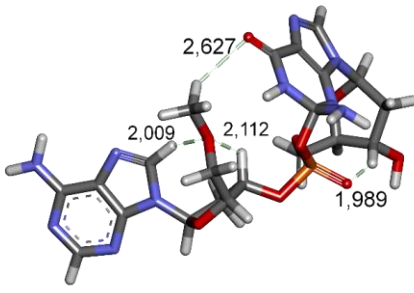
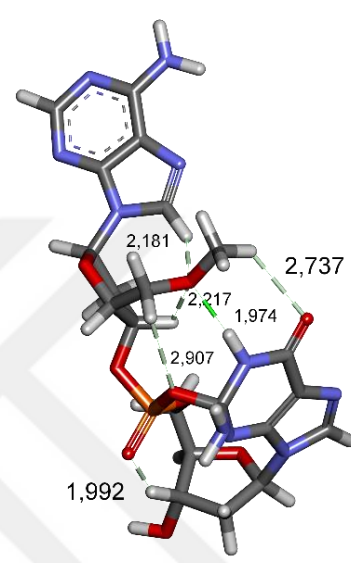
3.2.1. Yarı-Ampirik PM6-D3H4 Yöntemi Veri Sonuçları

-AG- ve -CC- ikili nükleotid yapılarına ait freq ve opt hesaplamaları PM6-D3H4 yarı-ampirik yöntem ile yapıldı. Freq hesaplaması sonrası sıfır-nokta enerji (Zero-point Energy) değeri bulunarak, rölatif enerji değeri mutlak sıfır olacak şekilde hesaplandı. En kararlı 10 yapı DFT yöntemi için ön veri olarak belirlendi (tablo.2). Belirlenen ikili nükleotid yapıları içerisinde –AG- ve –CC- yapılarının kendi konfomer yapıları içerisinde birbirine yakın $E_{\text{rölatif}}$ değerlerine sahip oldukları gözlemlendi (Tablo 2 ve Tablo 3).

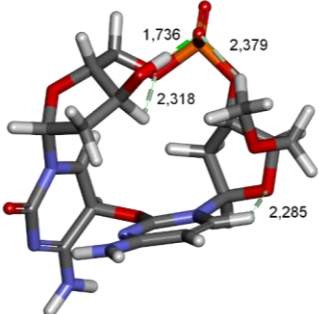
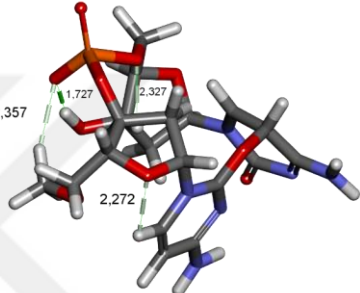
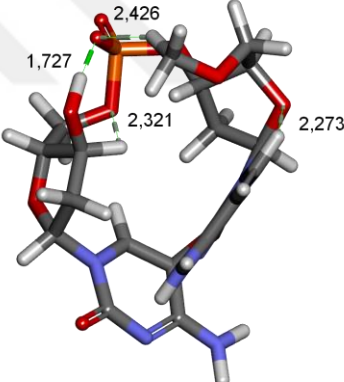
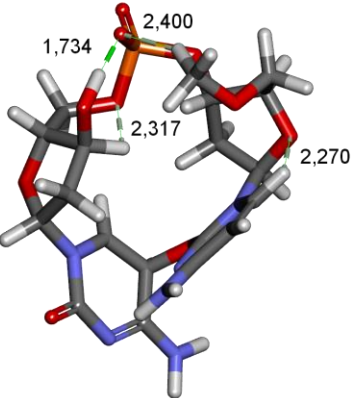
Tablo 2. me-AG- PM6-D3H4 veri sonuçları.

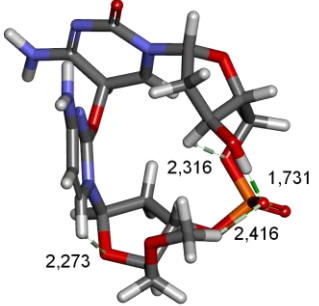
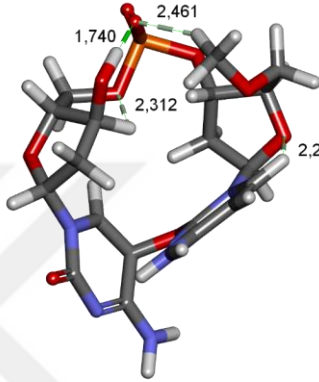
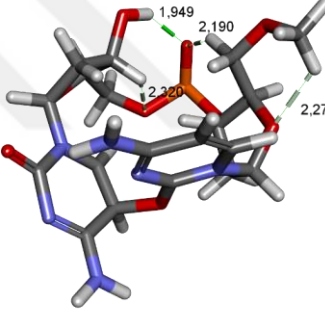
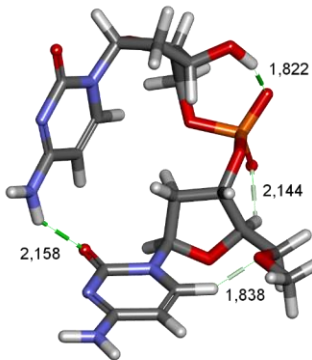
meAG-opt PM6-D3H4	$\Delta H(\text{kcal/mol})$	Dipol M	ZPE (kcal/mol)	Hrel (kcal/mol)	PM6-D3H4
meAG-295	-368,4279	7,42	-368,4353	0,00	
meAG-1167	-368,3131	6,86	-368,3210	0,11	
meAG-1059	-368,1282	7,24	-368,1472	0,29	

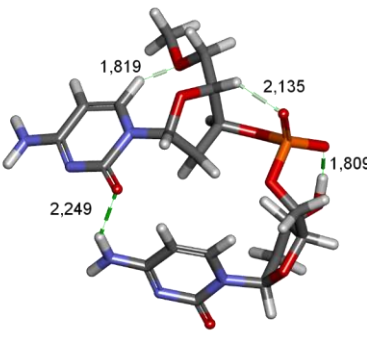
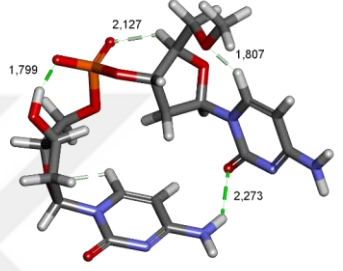
meAG-933	-368,1422	7,73	-368,1467	0,29	
meAG-1643	-367,6213	6,02	-367,6307	0,80	
meAG-792	-367,3717	6,05	-367,3879	1,05	

meAG-1644	-367,2465	5,90	-367,2655	1,17	
meAG-156	-367,2031	5,03	-367,2179	1,22	

Tablo 3. me-CC- PM6-D3H4 veri sonuçları.

meCC-opt PM6-D3H4	$\Delta H(\text{kcal/mol})$	Dipol M	ZPE (kcal/mol)	Hrel (kcal/mol)	PM6-D3H4
meCC-182	-468.05913	25.91191	-468,0592	0,00	
meCC-177	-468.05742	26.25444	-468,0574	0,00	
meCC-175	-467.98128	26.23981	-467,9813	0,08	
meCC-306	-467.96495	26.46885	-467,9649	0,09	

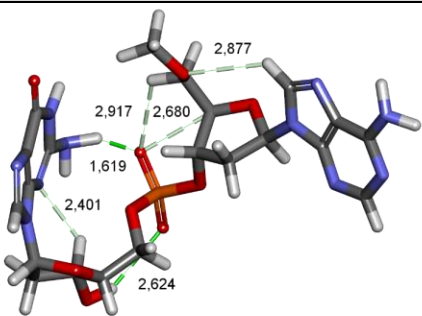
meCC-90	-467.94096	26.20493	-467,9409	0,12	
meCC-32	-467.90719	26.13771	-467,9071	0,15	
meCC-640	-467.06976	31.19824	-467,0693	0,99	
meCC-62	-445.68136	37.60109	-465,2724	2,79	

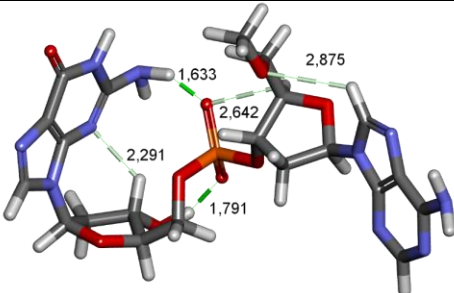
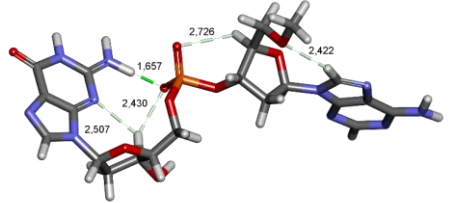
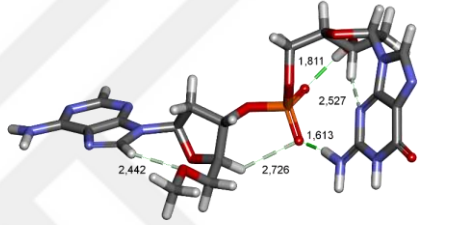
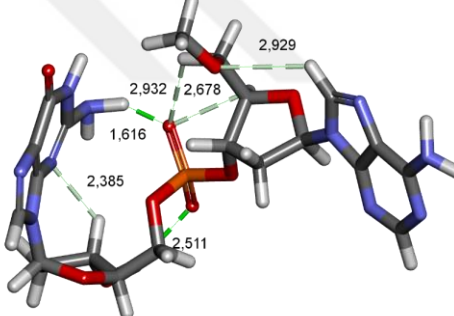
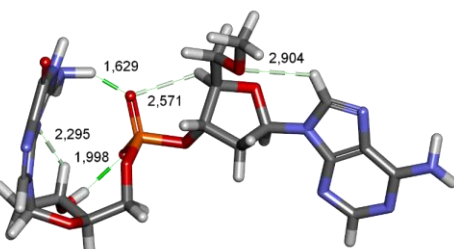
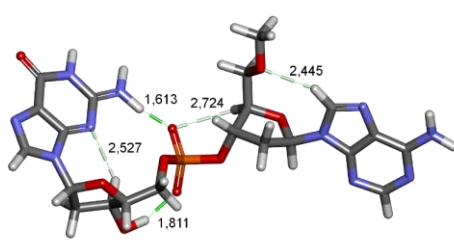
meCC-69	-465.10629	42.16009	-465,1066	2,95	
meCC-51	-465.08708	41.74400	-465,0871	2,97	

3.2.2. B3LYP Yöntemi Veri Sonuçları

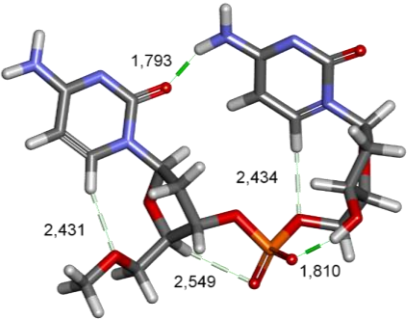
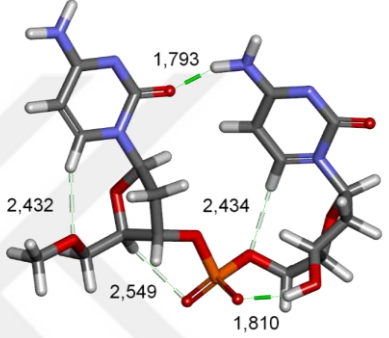
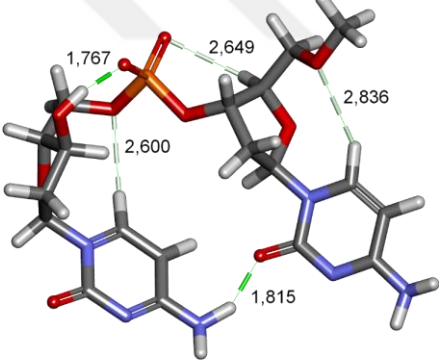
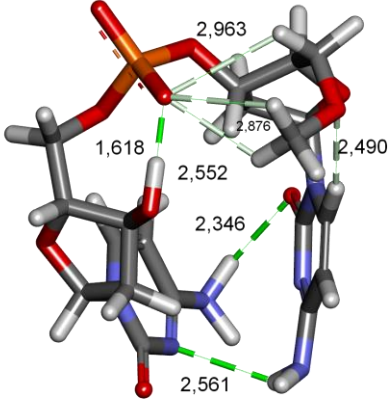
Yarı-ampirik yöntem kullanılarak belirlenen en kararlı ikili nükleotid yapılarının frek ve opt değerleri B3LYP yöntemi kullanılarak yeniden bulundu. Bulunan enerji değerleri üzerinden rölatif enerji değerleri hesaplandı (Tablo 4). B3LYP yöntemi sonrasında PM6-D3H4 yönteminden farklı olarak, ikili nükleotid yapıları içerisinde en kararlı yapının değiştiği gözlemlendi. B3LYP yöntemi sonrası $E_{rel} = 0.00$ kcal/mol olan ikili nükleotid yapıları rölatif enerjisi en kararlı yapılar olarak seçildi.

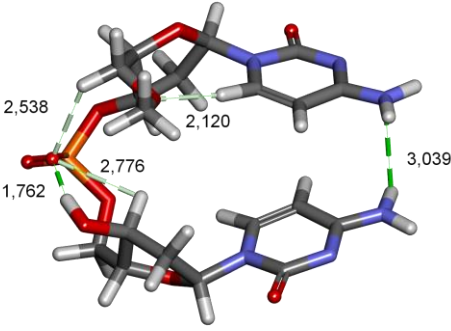
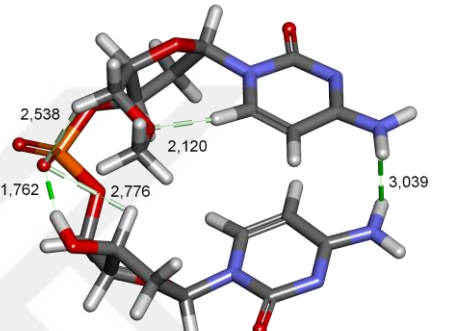
Tablo 4. AG ikili nükleotidi B3LYP yöntemi veri sonuçları.

meAG-opt DFT/B3LYP	E(Hartree)	Dipol M	ZPE (Hartree)	Erel (kcal/mol)	B3LYP/6-311++g(d,p)
meAG-1059	-2382,51158	18,08	-2381,93855	0,00	

meAG-156	-2382,51157	18,07	-2381,93681	1,09	
meAG-1167	-2382,50009	18,28	-2381,93681	1,09	
meAG-792	-2382,51158	18,07	-2381,93362	3,09	
meAG-933	-2382,51158	12,57	-2381,93317	3,37	
meAG-295	-2382,51157	18,07	-2381,93317	3,37	
meAG-1643	-2382,51157	18,27	-2381,93317	3,37	

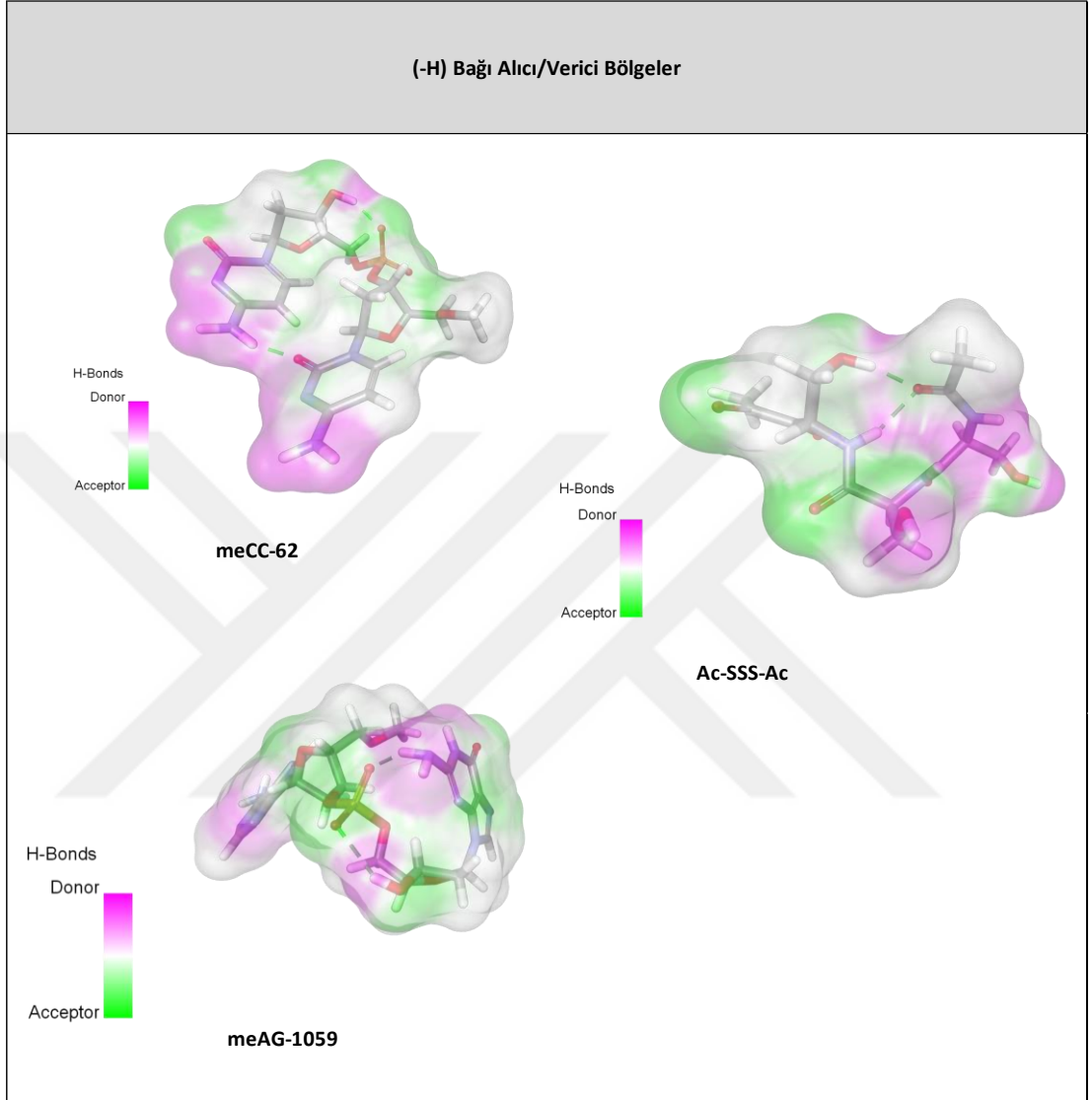
Tablo 5. CC ikili nükleotidi B3LYP yöntemi veri sonuçları.

meCC-opt DFT/B3LYP	E(Hartree)	Dipol M	ZPE (Hartree)	Erel (kcal/mol)	B3LYP/6-311++g(d,p)
meCC-62	-2162,4256	18,64	-2161,9431	0,00	
meCC-69	-2162,4256	18,64	-2161,9431	0,00	
meCC-51	-2162,4256	18,64	-2161,9365	4,16	
meCC-90	-2162,4240	23,89	-2161,9411	1,26	

meCC-182	-2162,4205	27,63	-2161,9375	3,53	
meCC-175	-2162,4205	27,63	-2161,9375	3,53	

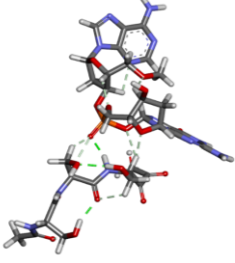
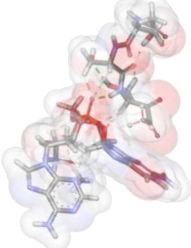
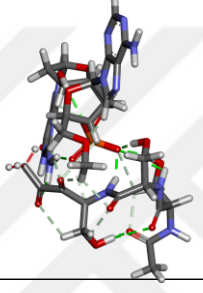
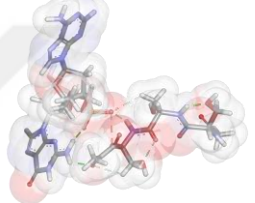
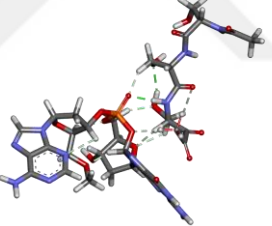
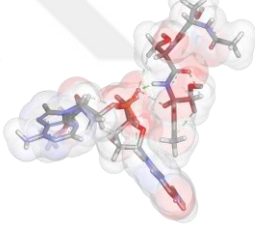
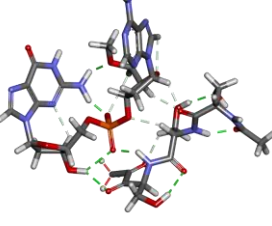
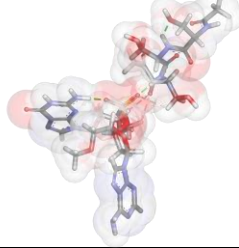
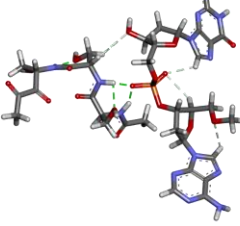
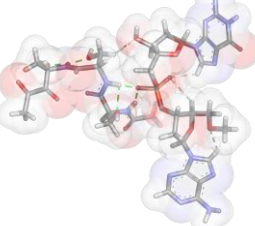
3.3. Üçlü Peptit İle İkili Nükleotid Etkileşimi PM6-D3H4 Yöntemi Veri Sonuçları

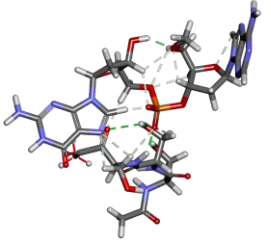
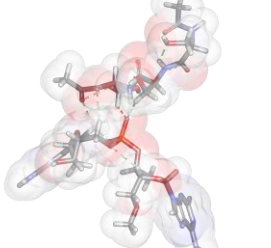
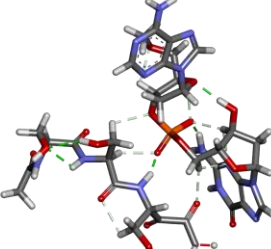
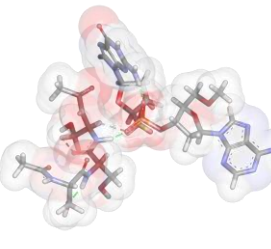
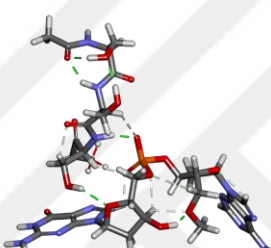
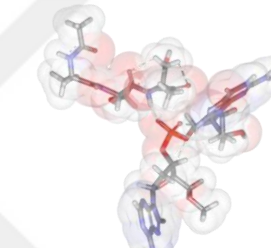
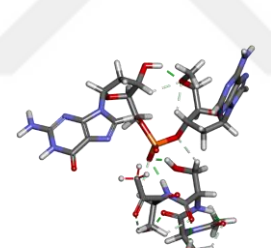
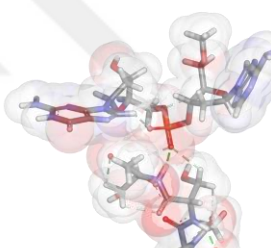
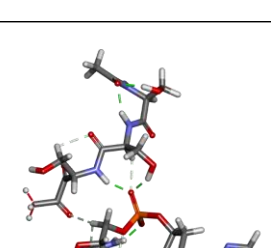
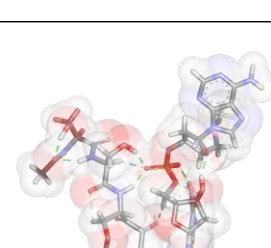
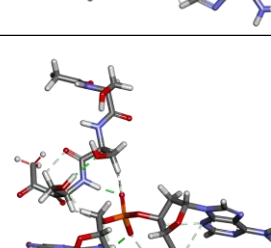
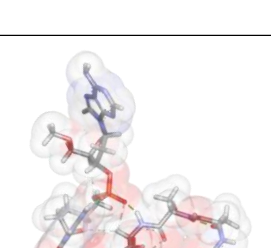
-AG- ve -CC- ikili nükleotid yapıları içerisinde B3LYP ve PM6-D3H4 yöntemi ile belirlenen en kararlı yapıların üçlü serin yapısı ile etkileşimi incelendi. İkili nükleotid ve üçlü peptid yapılarının etkileşimleri öncesinde belirlenen -H bağı alıcı ve verici bölgeleri dikkate alınarak olası etkileşimler denendi (şekil 16). Etkileşim sonucu meydana gelen bazı ikili yapılar arasında hidrojen bağı (-H) oluşumu gözlemlendi. Üçlü serin amino asidi ve ikili nükleotid yapıları arasındaki etkileşimin hem fosfat grubunu içeren sırt kısım hem de bazların yer aldığı iç kısımda olduğu gözlemlenmiştir. Buna ek olarak -CC- ikili nükleotid yapısının üçlü serin yapısı ile daha çok sırt kısmının etkileşime girdiği saptanmıştır. Moleküller arasındaki mesafenin artması ile birlikte iki yapı arasında herhangi bir kovalent olmayan etkileşime rastlanılmamıştır. Ayrıca yapılar arasında -H bağı haricinde farklı kovalent olmayan bir etkileşim bulunmamıştır (tablo6 ve tablo7).

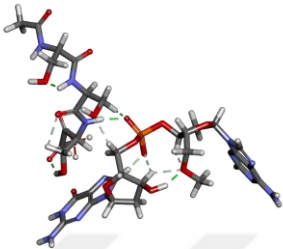
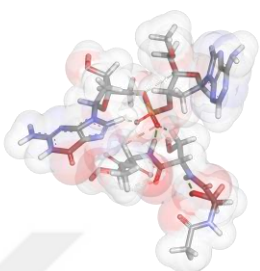
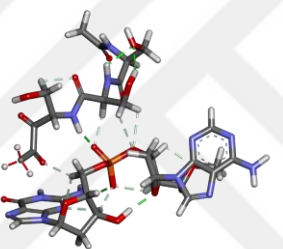
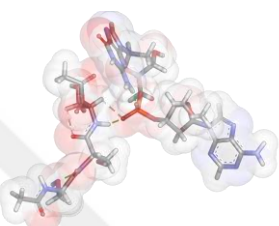
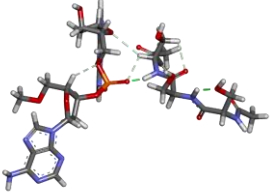
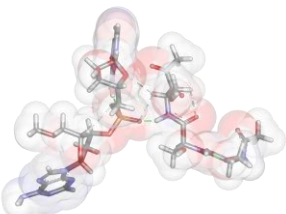
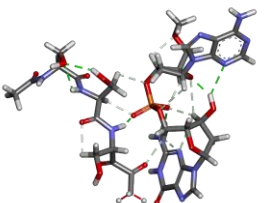
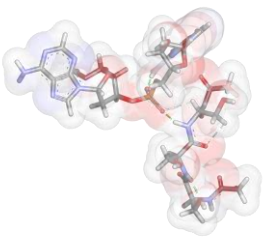


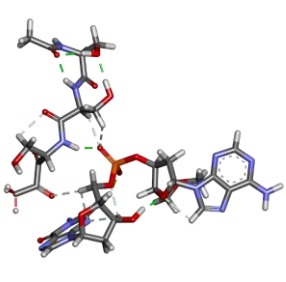
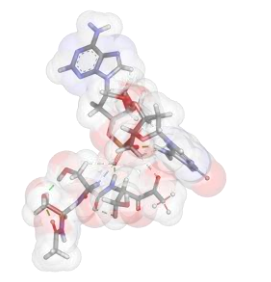
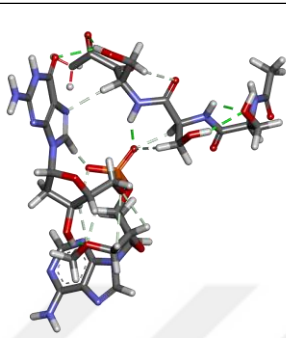
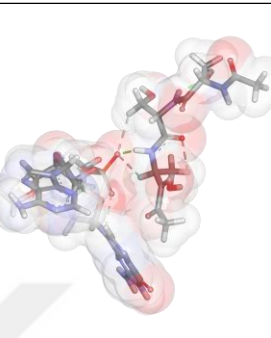
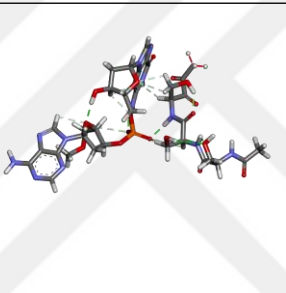
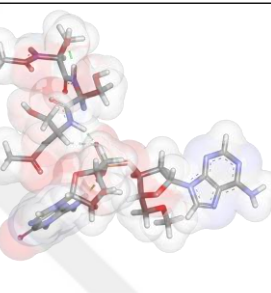
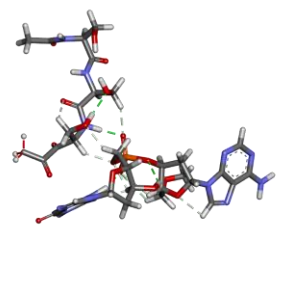
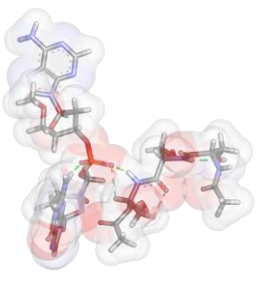
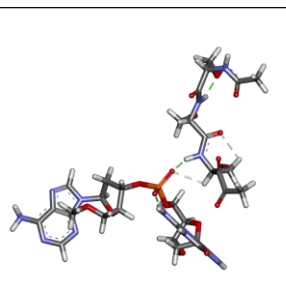
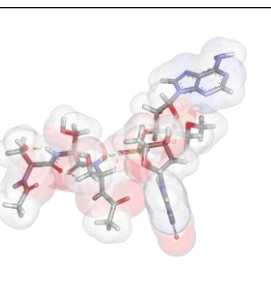
Şekil 16. AG, CC ve serin üçlü peptid yapılarının –H bağı alıcı ve verici bölgeleri.

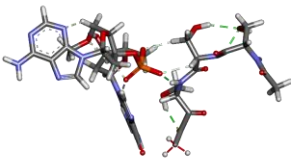
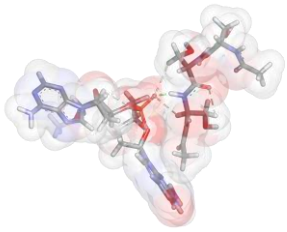
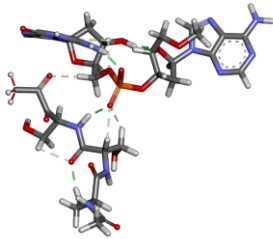
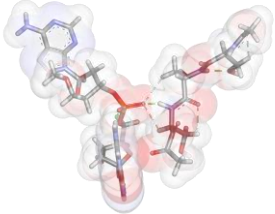
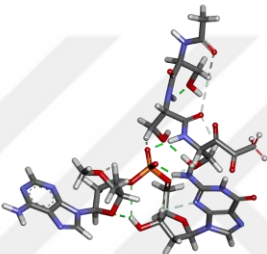
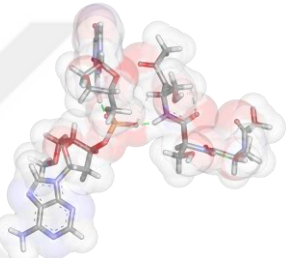
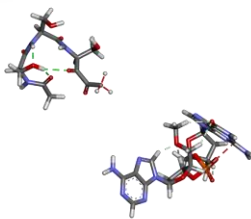
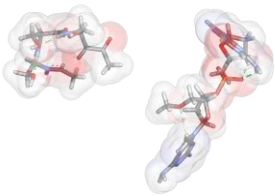
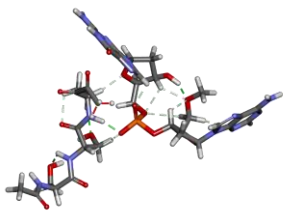
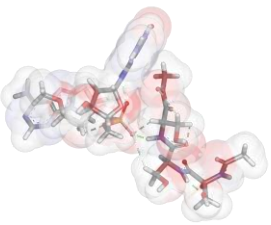
Tablo 6. PM6-D3H4 yöntemi sonrası –AG- ikili nükleotid yapısı ile üçlü serin yapısı arasındaki etkileşimin veri sonuçları.

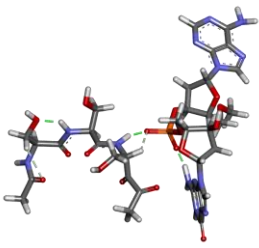
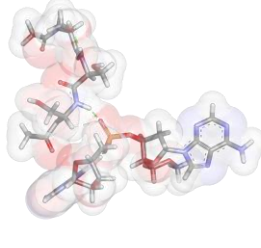
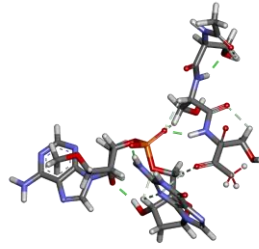
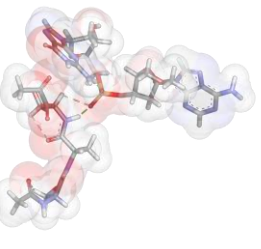
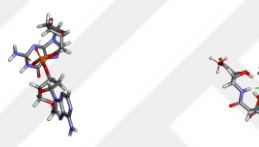
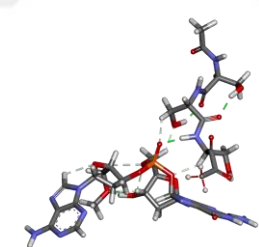
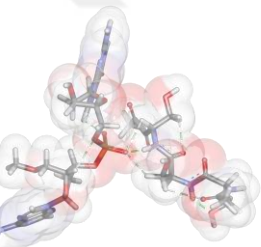
meAG1059/ Ac-SSS-Ac194 DFT-b3lyp	$\Delta H(\text{kcal/mol})$	Dipol M	ZPE (kcal/mol)	Hrel (kcal/mol)	PM6-D3H4	Solvent
Olasılık 8	-757,04	16,99	-757,04	0,00		
Olasılık 23	-757,02	15,32	-757,02	0,01		
Olasılık 5	-756,60	14,72	-756,60	0,44		
Olasılık 24	-755,76	12,86	-755,78	1,26		
Olasılık 36	-755,26	24,70	-755,27	1,77		

Olasılık 10	-745,71	32,89	-745,73	11,31		
Olasılık 12	-745,56	12,71	-745,56	11,47		
Olasılık 11	-745,11	26,85	-745,11	11,92		
Olasılık 6	-744,95	38,10	-744,96	12,08		
Olasılık 21	-744,51	20,78	-744,52	12,52		
Olasılık 17	-744,45	8,04	-744,45	12,58		

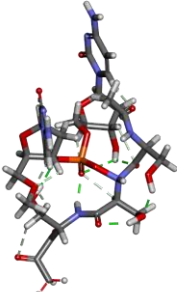
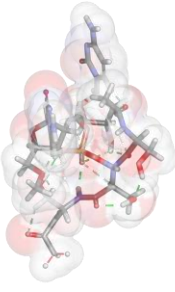
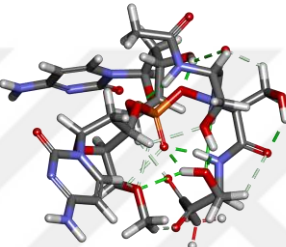
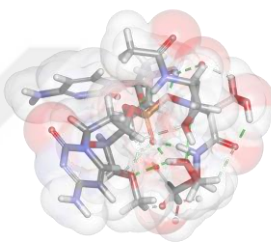
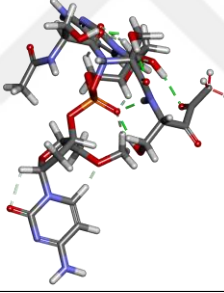
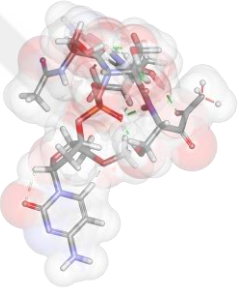
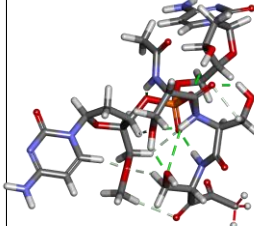
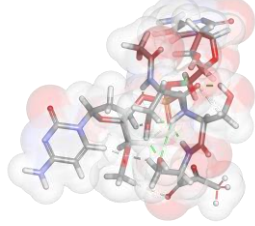
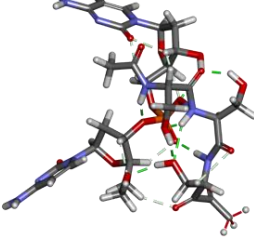
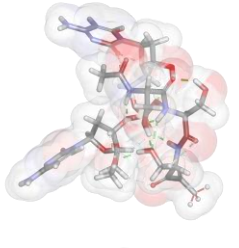
Olasılık 2	-744,37	17,13	-744,37	12,67		
Olasılık 9	-744,35	34,85	-744,36	12,68		
Olasılık 15	-743,73	12,75	-743,73	13,31		
Olasılık 33	-743,72	6,48	-743,72	13,31		
Olasılık 30	-743,39	8,82	-743,39	13,65		

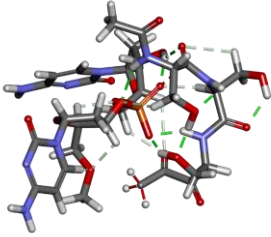
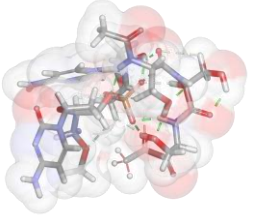
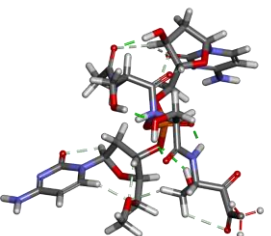
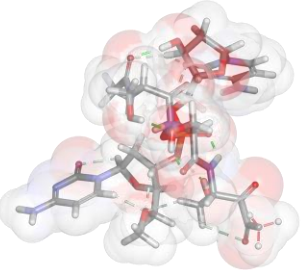
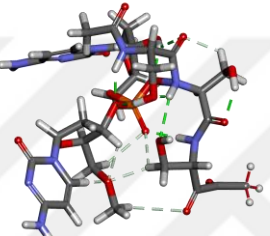
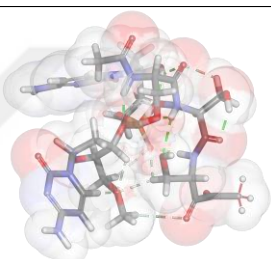
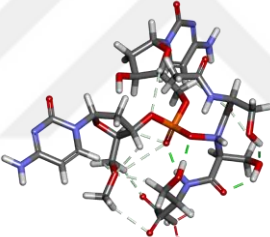
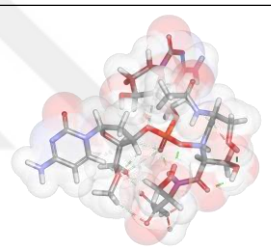
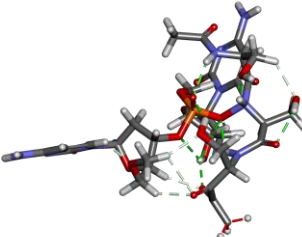
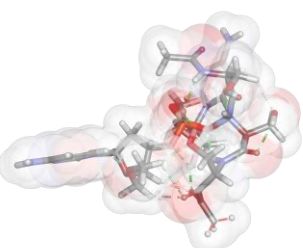
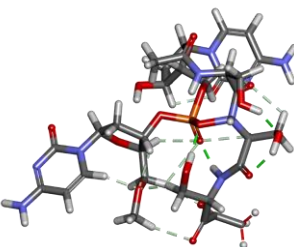
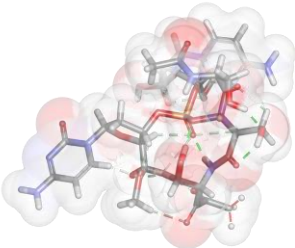
Olasılık 25	-743,03	15,05	-743,05	13,99		
Olasılık 16	-742,88	34,05	-742,90	14,14		
Olasılık 19	-742,32	20,11	-742,33	14,70		
Olasılık 13	-740,92	15,30	-740,93	16,11		
Olasılık 32	-740,59	11,58	-740,59	16,45		

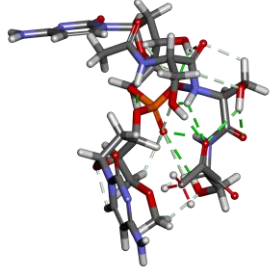
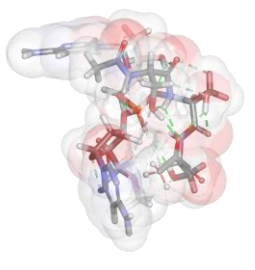
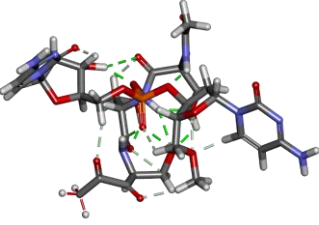
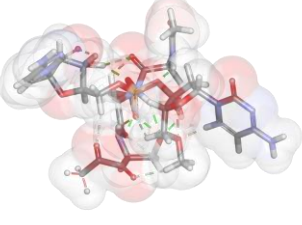
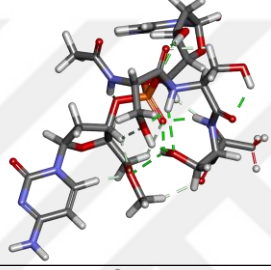
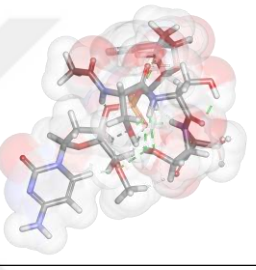
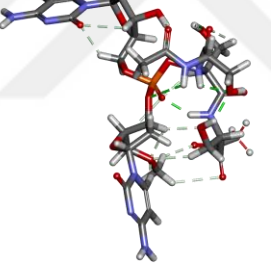
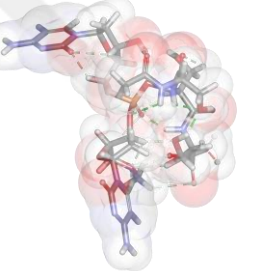
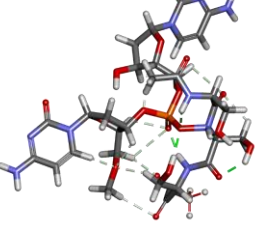
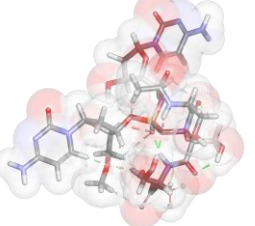
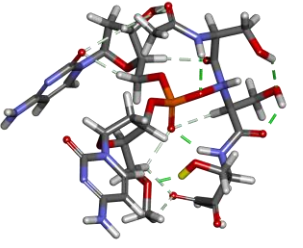
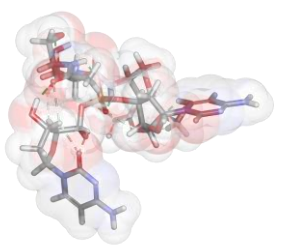
Olasılık 28	-740,47	36,42	-740,45	16,58		
Olasılık 26	-737,57	21,68	-737,58	19,45		
Olasılık 22	-737,53	9,26	-737,52	19,51		
Olasılık 4	-737,10	13,11	-737,10	19,94		
Olasılık 14	-735,81	31,75	-735,80	21,23		

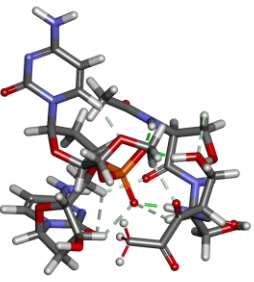
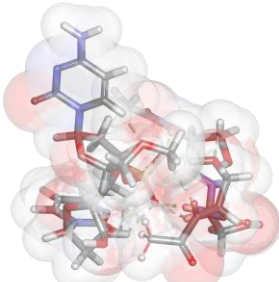
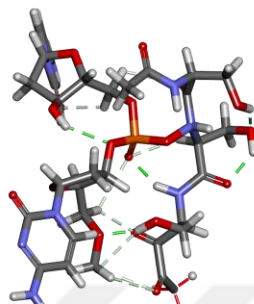
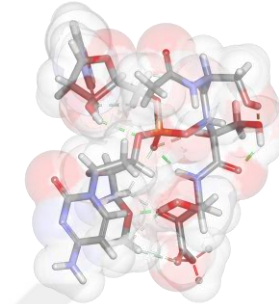
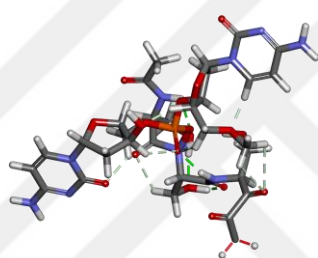
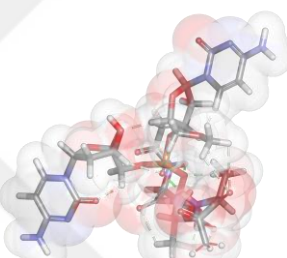
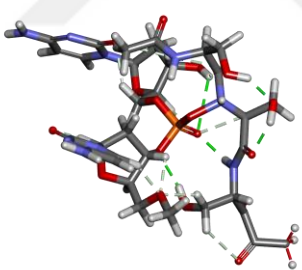
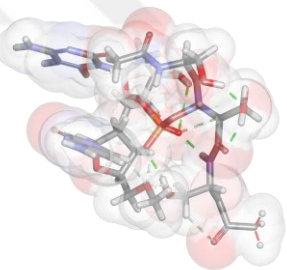
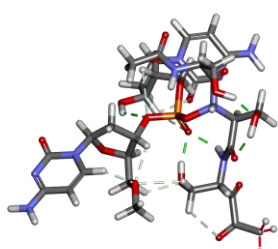
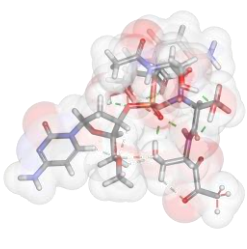
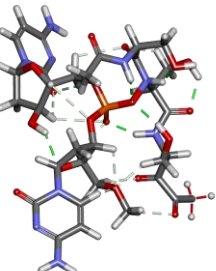
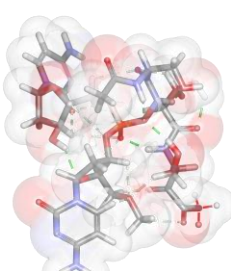
Olasılık 34	-735,25	10,37	-735,27	21,77		
Olasılık 20	-731,73	14,02	-731,74	25,30		
Olasılık 3	-728,19	18,27	-728,20	28,84		
Olasılık 27	-761,06	7,55	-716,09	40,95		

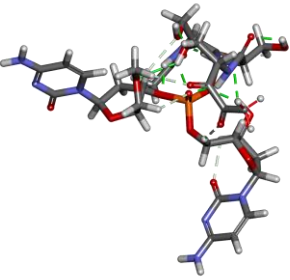
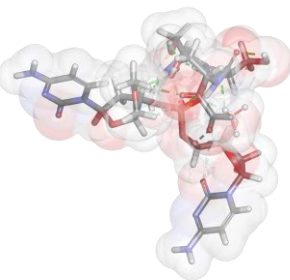
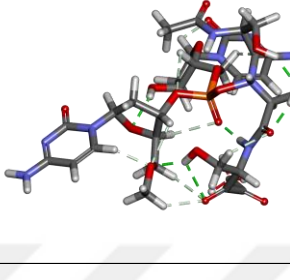
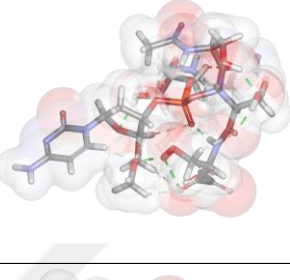
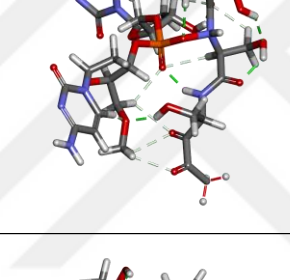
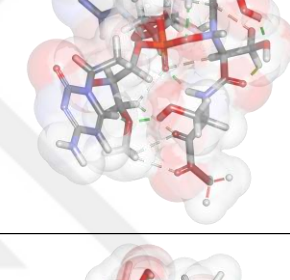
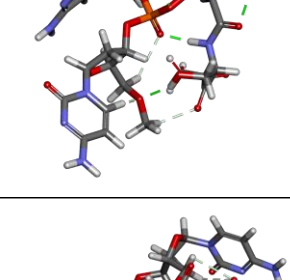
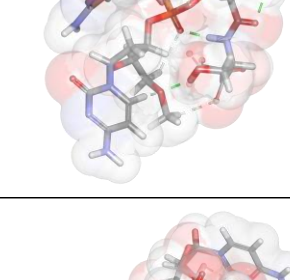
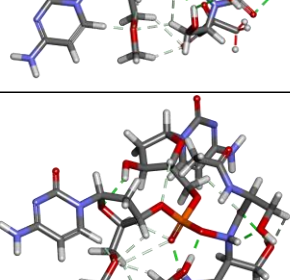
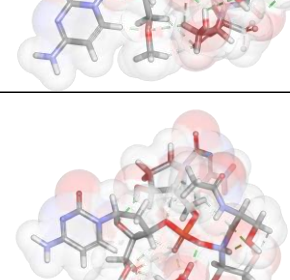
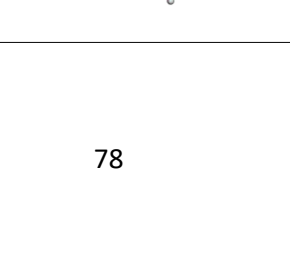
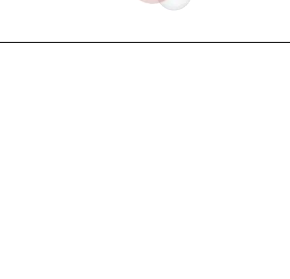
Tablo 7. PM6-D3H4 yöntemi sonrası –CC- ikili nükleotid yapısı ile üçlü serin yapısı arasındaki etkileşimin veri sonuçları.

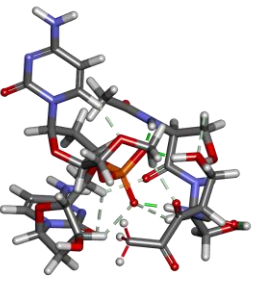
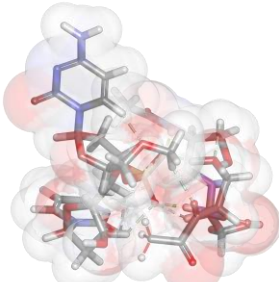
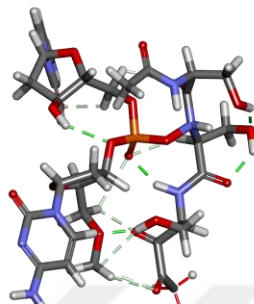
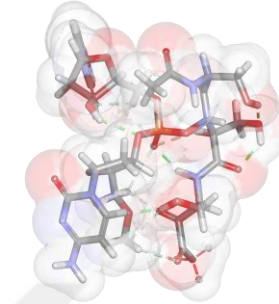
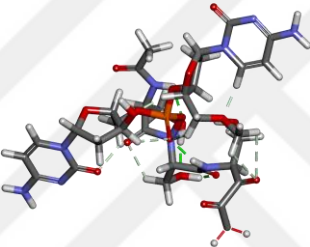
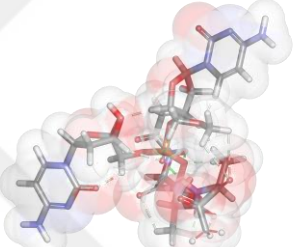
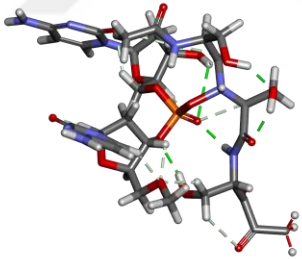
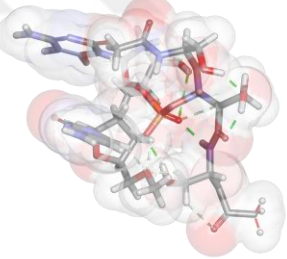
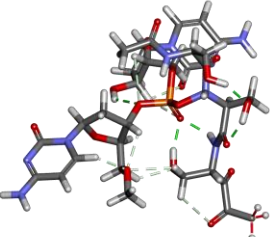
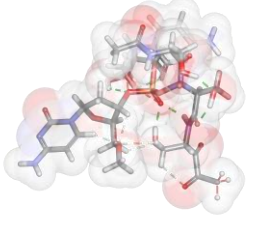
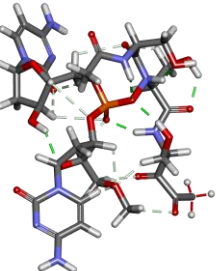
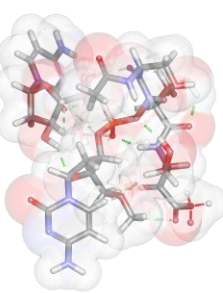
meCC62 / Ac-SSS-Ac194 DFT-b3lyp	$\Delta H(\text{kcal/mol})$	Dipol M	ZPE (kcal/mol)	Hrel (kcal/mol)	PM6-D3H4	Solvent
Olasılık57	-862,0533	2,02	-860,3314	0,00		
Olasılık6	-861,0971	2,02	-859,7317	0,60		
Olasılık37	-861,4316	2,07	-859,6616	0,67		
Olasılık59	-861,5425	0,77	-859,4868	0,84		
Olasılık44	-859,2921	3,62	-859,2922	1,04		

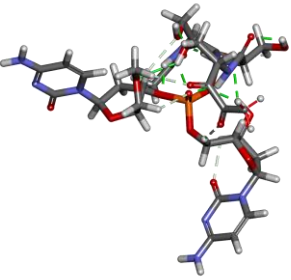
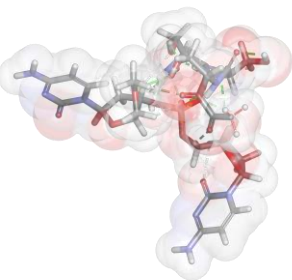
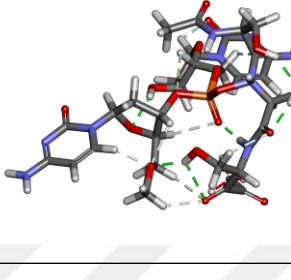
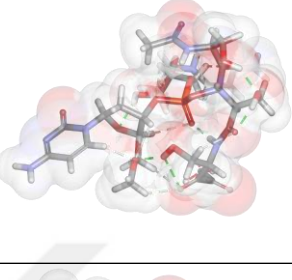
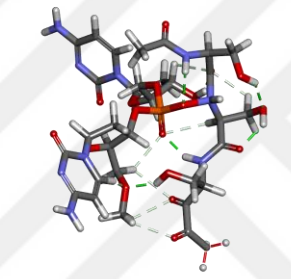
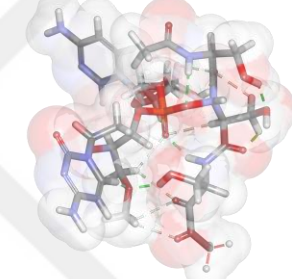
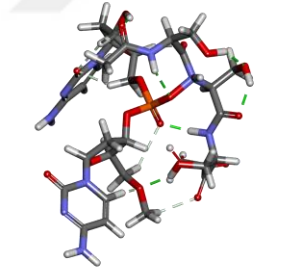
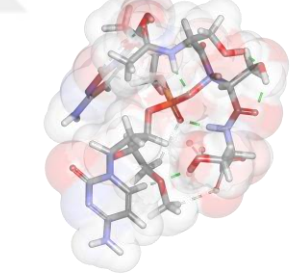
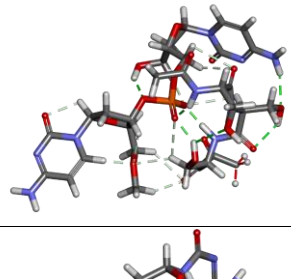
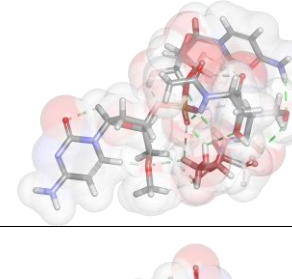
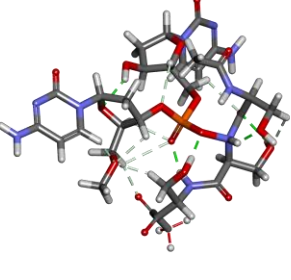
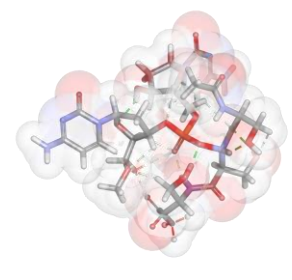
Olasılık48	-859,1757	1,26	-859,1757	1,16		
Olasılık52	-860,8510	1,66	-859,1505	1,18		
Olasılık30	-860,8733	3,61	-858,8384	1,49		
Olasılık36	-860,5393	2,60	-858,7924	1,54		
Olasılık31	-859,6437	2,26	-858,7340	1,60		
Olasılık13	-860,3739	1,69	-858,6355	1,70		

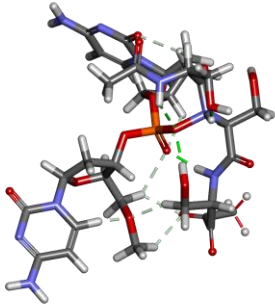
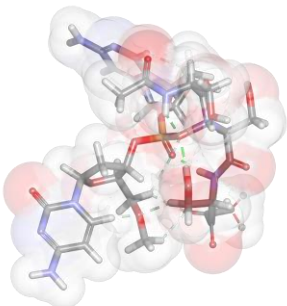
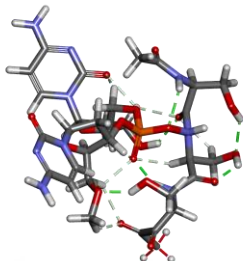
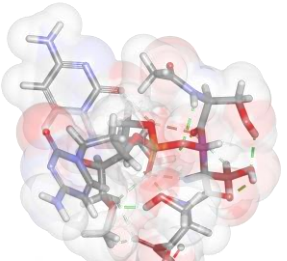
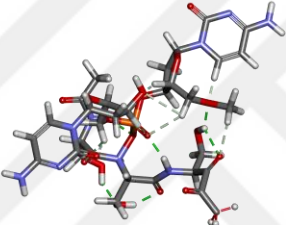
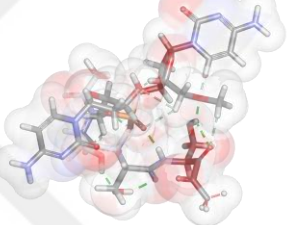
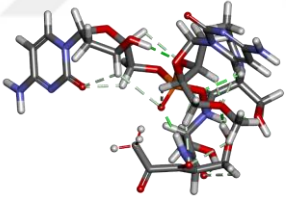
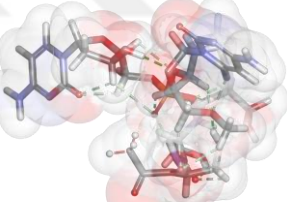
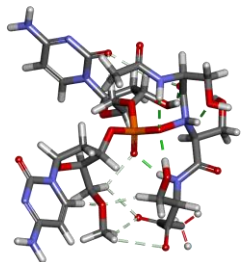
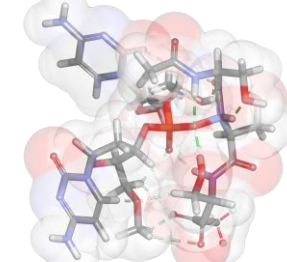
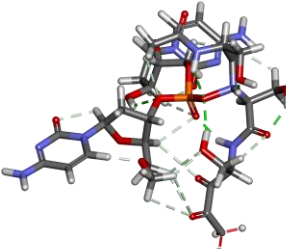
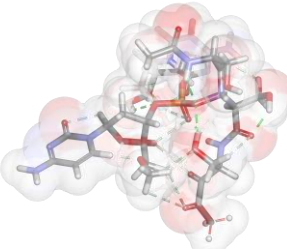
Olasılık53	-860,2869	2,83	-858,5697	1,76		
Olasılık5	-859,9567	1,18	-858,4125	1,92		
Olasılık32	-859,6712	1,66	-857,9285	2,40		
Olasılık58	-859,5320	2,27	-857,9146	2,42		
Olasılık34	-859,3778	1,04	-857,5649	2,77		
Olasılık7	-858,9416	1,44	-857,1766	3,15		

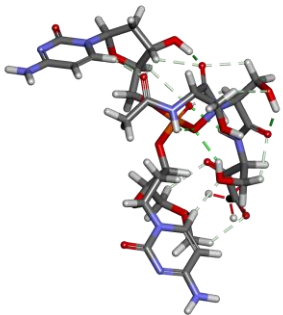
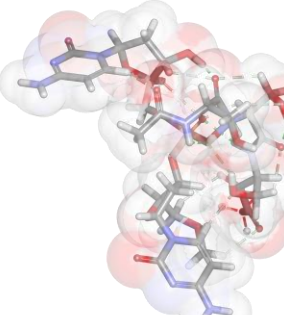
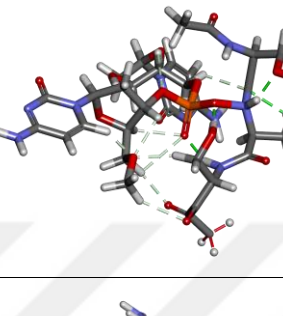
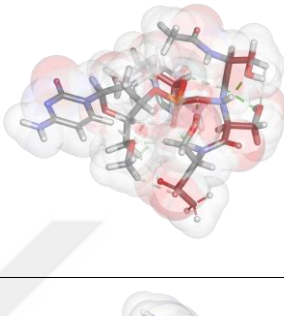
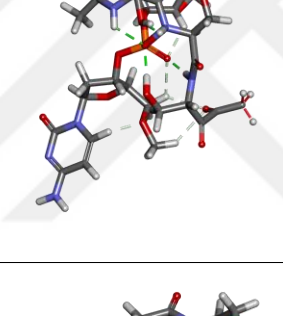
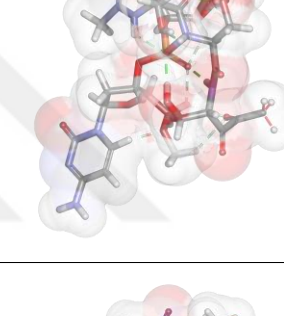
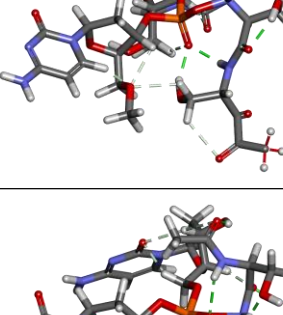
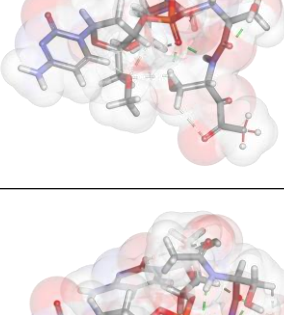
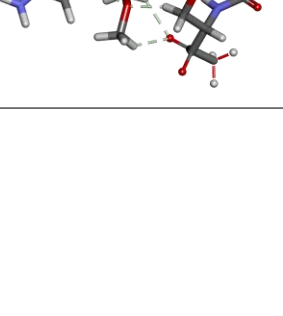
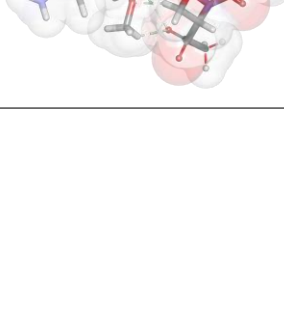
Olasılık23	-857,0679	2,01	-857,1727	3,16		
Olasılık9	-858,7053	1,92	-856,9472	3,38		
Olasılık10	-858,5637	1,57	-856,8256	3,51		
Olasılık54	-858,4410	2,83	-856,7353	3,60		
Olasılık49	-858,3256	3,84	-856,5888	3,74		
Olasılık20	-858,2783	1,63	-856,4806	3,85		

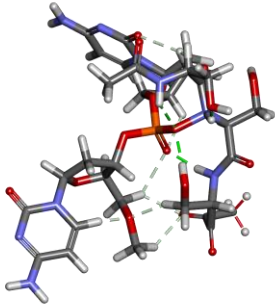
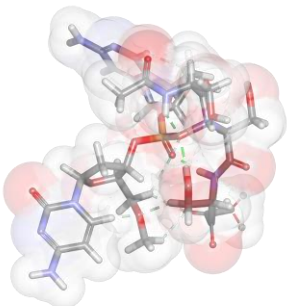
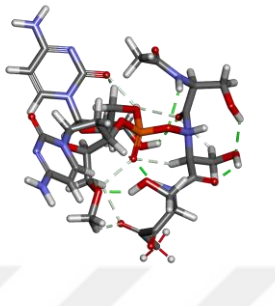
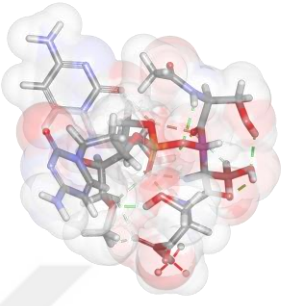
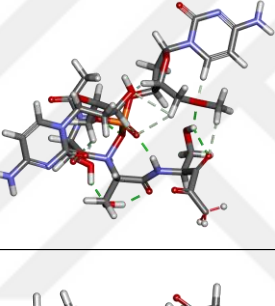
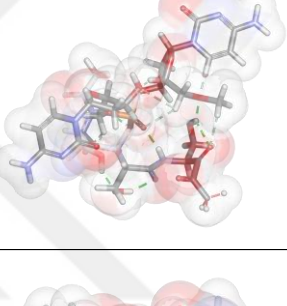
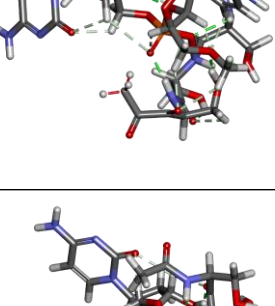
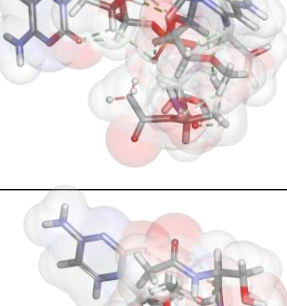
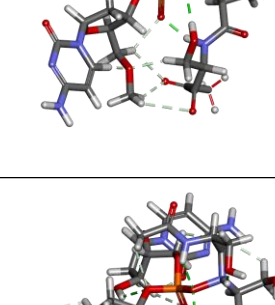
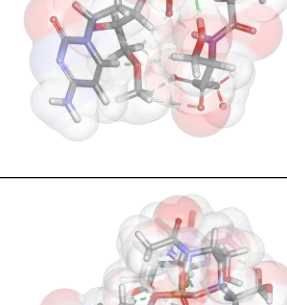
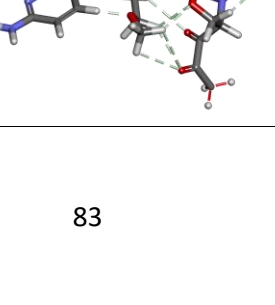
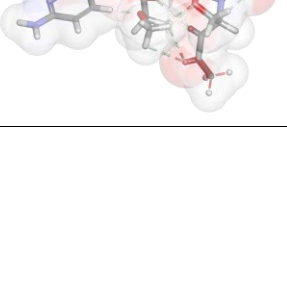
Olasılık29	-858,2332	2,29	-856,4696	3,86		
Olasılık14	-858,0852	1,68	-856,3055	4,03		
Olasılık16	-857,6498	2,22	-855,8923	4,44		
Olasılık4	-857,3507	2,38	-855,5872	4,74		
Olasılık43	-821,0044	2,57	-855,0944	5,24		
Olasılık47	-856,6487	1,63	-854,8610	5,47		

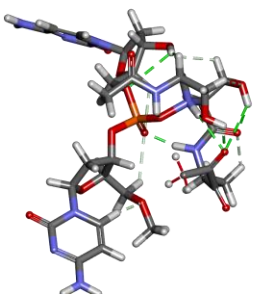
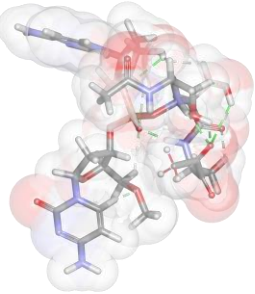
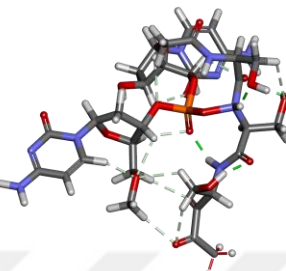
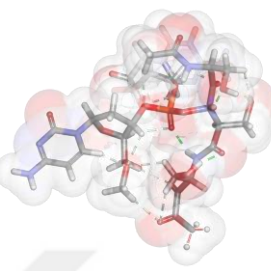
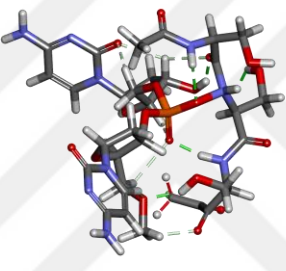
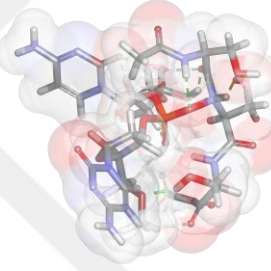
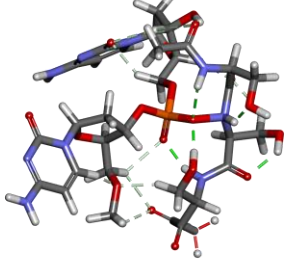
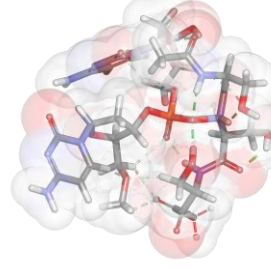
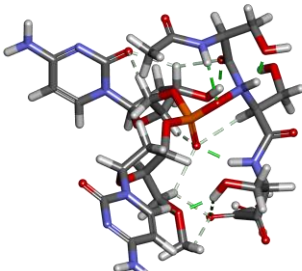
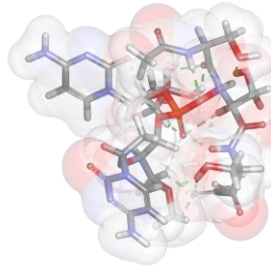
Olasilik23	-857,0679	2,01	-857,1727	3,16		
Olasilik9	-858,7053	1,92	-856,9472	3,38		
Olasilik10	-858,5637	1,57	-856,8256	3,51		
Olasilik54	-858,4410	2,83	-856,7353	3,60		
Olasilik49	-858,3256	3,84	-856,5888	3,74		
Olasilik20	-858,2783	1,63	-856,4806	3,85		

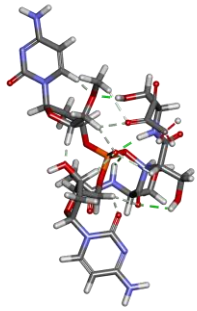
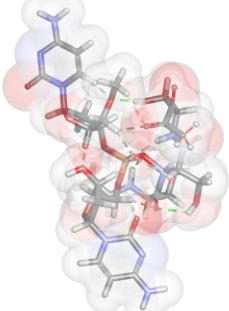
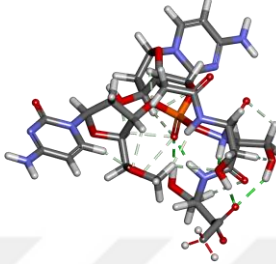
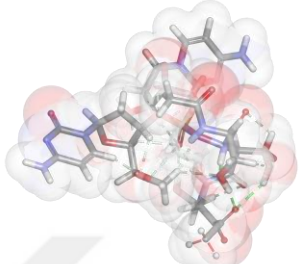
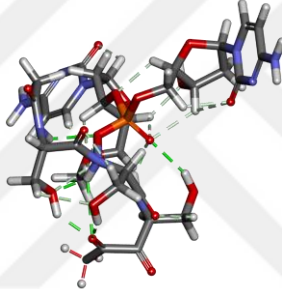
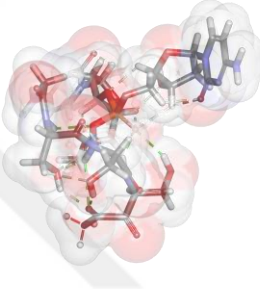
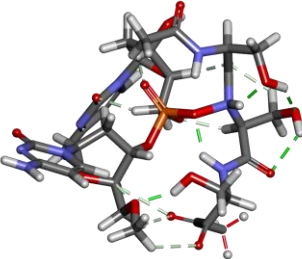
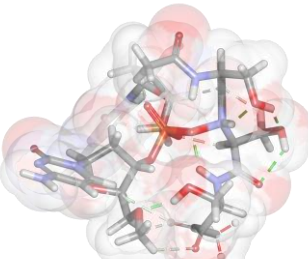
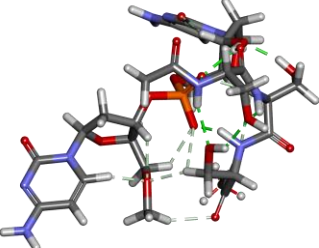
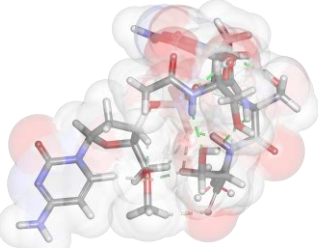
Olasılık29	-858,2332	2,29	-856,4696	3,86		
Olasılık14	-858,0852	1,68	-856,3055	4,03		
Olasılık16	-857,6498	2,22	-855,8923	4,44		
Olasılık4	-857,3507	2,38	-855,5872	4,74		
Olasılık43	-821,0044	2,57	-855,0944	5,24		
Olasılık47	-856,6487	1,63	-854,8610	5,47		

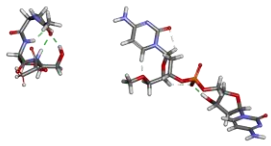
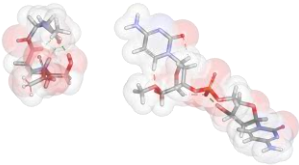
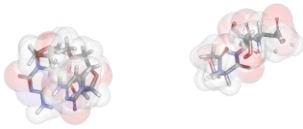
Olasılık39	-855,9440	5,13	-854,1363	6,20		
Olasılık17	-855,6911	2,15	-853,9762	6,36		
Olasılık2	-855,3355	3,16	-853,5873	6,74		
Olasılık3	-853,4227	3,35	-853,4220	6,91		
Olasılık42	-855,1761	2,29	-853,3594	6,97		
Olasılık15	-854,5372	3,25	-852,7368	7,59		

Olasılık28	-856,4533	1,58	-854,6441	5,69		
Olasılık25	-856,4220	1,89	-854,6375	5,69		
Olasılık41	-856,4488	1,97	-854,6368	5,69		
Olasılık40	-856,2537	1,46	-854,5020	5,83		
Olasılık38	-856,0254	1,40	-854,2194	6,11		

Olasılık39	-855,9440	5,13	-854,1363	6,20		
Olasılık17	-855,6911	2,15	-853,9762	6,36		
Olasılık2	-855,3355	3,16	-853,5873	6,74		
Olasılık3	-853,4227	3,35	-853,4220	6,91		
Olasılık42	-855,1761	2,29	-853,3594	6,97		
Olasılık15	-854,5372	3,25	-852,7368	7,59		

Olasılık45	-854,3219	6,57	-852,5330	7,80		
Olasılık35	-854,1103	1,78	-852,2872	8,04		
Olasılık21	-853,8505	1,66	-852,0117	8,32		
Olasılık22	-859,0131	1,67	-852,0117	8,32		
Olasılık26	-853,8047	1,33	-851,9664	8,37		

Olasılık8	-852,5438	3,49	-850,7022	9,63		
Olasılık50	-850,8215	2,51	-849,0342	11,30		
Olasılık46	-850,7955	3,17	-849,0228	11,31		
Olasılık18	-850,6323	1,68	-848,7703	11,56		
Olasılık56	-848,4490	1,98	-848,4490	11,88		

Olasılık60	-848,2188	1,36	-848,2188	12,11		
Olasılık1	-838,9968	5,40	-838,9971	21,33		



4. BÖLÜM

TARTIŞMA

DNA'nın proteinler tarafından tanınması ve bu proteinlerin DNA'nın nükleik asit bazları ile olan spesifik etkileşimleri, büyüme, farklılaşma ve olgunlaşma gibi canlı hücrelerin temel işlevlerini gerçekleştirmeleri için oldukça önemlidir. Biyolojik moleküler tanımada, kovalent olmayan etkileşimler karmaşık bir rol oynamaktadır. DNA-protein tanınmasında kanonik hidrojen bağları, elektrostatik ve van der Waals bağlarının yanı sıra kanonik olmayan katyon- π etkileşimi, CH- π etkileşimi ve π - π istiflenme (“*stacking*”) etkileşimleri gibi kovalent olmayan etkileşimler önemli bir rol oynamaktadırlar (Gime ve ark., 2007).

Tez çalışmamızda, REST transkripsiyon faktörü (TF)'nün DNA'ya bağlandığı aktif bölgesindeki serin amino asidinin nükleik asitler ile kovalent olmayan etkileşimi incelendi. Serin amino asidi yüksüz, polar ve hidrofilik bir amino asit olup, -OH grubuna sahiptir. Proton vericisi veya alıcısı olarak hidrojen bağları oluşturur. REST TF'nün izoform1 ve izoform4 yapıları aktif bağlanma bölgelerini kaybetmezler ve aktif bölge içerisindeki peptid dizisinde ardışık olarak üçlü serin amino asidine sahiptirler.

Araştırmamızda, suyun çözücü olduğu ortamda B3LYP ve PM6-D3H4 yöntemleri kullanılarak belirlenen en kararlı üçlü peptid yapısı ve REST'in etkin olarak bağlanabildiği nükleik asit yapılarının olası tüm yapı etkileşimleri incelendi. Peptid yapısı ile etkileşim öncesinde nükleik asit yapılarına ait opt. ve freq hesaplamaları PM6-D3H4 yarı-ampirik yöntemi ve B3LYP yöntemi kullanılarak hesaplandı. Rölatif enerji değerleri bulunarak birbiri ile etkileşime girecek olan en kararlı yapılar belirdi. Yapılan hesaplamalar sonrasında PM6-D3H4 yöntemi kullanılarak bulunan en kararlı yapı ile B3LYP yöntemi kullanılarak bulunan en kararlı yapıların farklı rölatif enerjiye sahip oldukları bulundu. Markovic ve ark. ise, B3LYP ve PM6-D3H4 yöntemlerini kullanarak yaptıkları araştırmada, bu iki yöntem ile buldukları sonuçların yaklaşık değerler gösterdiğini bulmuşlardır (Marković ve ark., 2013). Ayrıca PM6-D3H4 yönteminin B3LYP yöntemine kıyasla daha hızlı bir şekilde moleküler yapıları analizi yaptığı görüldü.

Etkileşim sonucu iki yapı arasında –H bağı oluşumu gözlemlendi. Yapılar birbirine uzak ve paralel konumda biçimlendirildiğinde aralarındaki –H bağı oluşumunun azaldığı ve moleküler mesafenin arttığı, fakat birbirine yakın ve paralel olacak şekilde konumlandırıldığında ise –H bağı oluşumunun arttığı ve moleküler mesafenin azaldığı saptandı. Bu durum iki molekül arasındaki etkileşim için entropi ve entalpi değerleri etkileşimin kendiliğinden gerçekleşebileceğini göstermektedir.

C2H2 çinko parmak ailesi transkripsiyon faktörü ile yapılan bir çalışmada, aralarında belirli bir mesafe olan protein-DNA arasındaki kovalent olmayan (–H bağı) etkileşimlerde su molekülünün rolü olduğu bulunmuştur (Joyce ve ark., 2015). Dolayısıyla yapılan bu tez çalışmasında, su molekülünün polar özelliğinin kovalent olmayan bağı oluşumu üzerindeki etkisi göz önüne alınarak yarı-ampirik yöntemde moleküllerin sulu ortam varlığındaki etkileşimleri incelendi. İkili nükleotid ve üçlü peptid yapıları arasında meydana gelen –H bağı etkileşimi gösterildi.

REST transkripsiyon faktörü, transkripsiyonel düzenleyicilerin çinko parmak ailesi içerisinde yer almaktadır. REST hedefindeki promotor bölgesine bağlanmadan önce co-REST ve SYN1 gibi proteinlerle etkileşime geçer. Ancak yapının DNA ile etkileşimi ve mRNA sentezi sadece REST proteinine bağlı olarak gerçekleşir. Transkripsiyonel yapıda yer alan diğer proteinlerin DNA ile etkileşimleri bulunmamaktadır. Bu nedenle REST’in DNA ile bağlanan aktif bölgesindeki serin üçlü amino asit tekrarının hedef promotor bölgede sıklıkla gözlemlenebilen –AG- ve -CC- ikili nükleotid dizileri ile olan etkileşimi incelendi. REST proteinin tüm yapısı incelenmediği için DNA-REST aktif bölge etkileşiminde van der Waals kuvvetlerinin rolü bilinmemektedir. Ancak ikili nükleotidlerin her bir çiftinin serin amino asit üçlüsü ile –H bağı oluşturduğu saptanmıştır.

Jones ve ark.’ları HBPLUS hidrojen bağı hesaplama programı yardımıyla RNA-protein, tek iplik DNA-protein ve çift iplik DNA-protein etkileşimlerini incelemişlerdir (S. Jones, 2001). Yaptıkları çalışmada genel olarak RNA’nın kendi üzerinde katlanarak ikincil yapılar oluşturması nedeniyle RNA-protein etkileşiminde van der Waals kuvvetlerinin etkili olduğu ancak DNA-protein etkileşiminde ise –H bağının daha etkin olduğu vurgulanmıştır. Jones ve ark.’ları ayrıca protein-tek iplik DNA birlikteliğinde, –H bağının oluşumunda her hangi bir baz seçimi olmadığını ancak nükleik asit ile –H bağı oluşumu için metiyonin, fenilalanin, triptofan, sistein

ve serin rezidülerinin proteindeki DNA bağlanma bölgesi içerisinde olması gerektiğini vurgulamışlardır (S. Jones, 2001). Bu çalışmada serin amino asidinin AG ve CC ikili nükleotid dizileri ile olan etkileşimi, ikili nükleotid seçimlerinden bağımsız olarak serin amino asidinin kendisine bağlı olabilir.

Luscombe ve ark.'ları ikili nükleotid ve amino asitlerin etkileşimini HBPLUS programı kullanarak araştırmışlardır (Luscombe ve ark, 2001). Jones ve ark.'larının (S. Jones, 2001) çalışmasıyla tutarlı olarak tekli etkileşimlerde çok az bir amino asidin baz tercihi yaptığını ancak arjinin, serin ve histidin amino asitlerinin –H bağı oluşturmak için her hangi bir baz tercihi olmadığını saptamışlardır. Luscombe ve ark.'larının bulduğu bir diğer sonuç ise serin ve trionin amino asitlerinin DNA ile oluşturduğu kovalent olmayan bağların daha çok molekülün sırt yüzeyinde (DNA backbone) meydana gelmesidir (Luscombe ve ark., 2001). Bu çalışmada oluşturulan yapılar incelendiğinde, serin amino asidinin ikili nükleotid yapılarında hem fosfat grubunu içeren sırt kısım hem de bazların yer aldığı iç kısım ile etkileşime geçtiği gözlenmiştir. Burada farklı sonuç alınmasındaki temel neden Luscombe ve ark.'larının çalışmalarını birleriyle hidrojen bağı oluşturmuş di-nükleotid yapıları (AT ve GC eşlenik ikili nükleotid) üzerinde kurgulamasıdır (Luscombe ve ark., 2001). Çalışmamızda di-nükleotid yapıları bir birleriyle eşlenik olmadığı için serin amino asidi yapı üzerinde –H bağı oluşturabilecek her hangi bir yerle etkileşime geçebilir.

Protein-DNA etkileşimi üzerine yapılan birçok çalışma, bu ikili etkileşimde kovalent olmayan bağların etkili olduğunu göstermiştir. REST transkripsiyon faktörü nöronal gelişimde önemli rol oynamaktadır. Ancak REST proteininin hedef DNA dizisine bağlanabilmesi için gerekli olan temel moleküler etkileşimler şimdiye kadar tanımlanmamıştır. Elde edilen veriler, REST proteini ve DNA etkileşimini ileri düzeyde incelenmesi için ön veri niteliğindedir. Bu çalışma kapsamında REST proteininin DNA'ya bağlanan aktif domeini içerisindeki serin rezidülerinin DNA ile –H bağı oluşturabileceği bulunmuştur. Aktif bölge içerisindeki serin rezidüleri REST transkripsiyon faktörünün fonksiyonu için oldukça önemli olabilir.

5. BÖLÜM

SONUÇ VE ÖNERİ

Bu tez çalışmasında çinko parmak ailesi transkripsiyon faktörü olduğu bilinen REST'e ait aktif bağlanma bölgesindeki “-SSS-“ üçlü peptid yapısı ile belirli ikili nükleotidler arasındaki kovalent olmayan etkileşimler incelendi. Üçlü peptid ve ikil nükleotidler arasında hidrojen (-H) bağı etkileşimi olduğu bulundu. Bu durum REST'in DNA'ya bağlanmasında aktif bölgesinde yer alan üçlü peptid yapısının etkili olabileceğini göstermekle birlikte, tüm yapı içerisinde yer alan diğer amino asitlerin etkileşime ve REST'in üç boyutlu katlanma yapısına nasıl bir katkısı olduğu bilinmemektedir. Bu sebeple bu çalışmanın devamı niteliğinde tüm yapı içerisindeki diğer amino asitlerinde moleküler modelleme yöntemleri kullanılarak araştırılması daha etkili olacaktır. Bununla birlikte bu çalışmada REST'in sadece en etkili bağlandığı nükleik asit dizisi içerisinde bazı ikili nükleotid yapılarının üçlü peptid etkileşimlerine bakılabildi. Nükleik asit dizilerinde ve peptid dizilerinde daha fazla bağlanma olasılığına bakılabilirdi.

Çalışmada iki farklı QM yöntemi olan B3LYP ve yarı-ampirik PM6/D3H4 yöntemi kullanıldı. B3LYP yöntemi zaman açısından oldukça yavaş olmasına rağmen PM6-D3H4 tam tersine daha hızlı sonuç almamızı sağladı. Ayrıca PM6-D3H4 yönteminin yapı analizi bakımından B3LYP yöntemi kadar etkili olduğu görüldü. Fakat REST'in aktif bağlanma bölgesinin tüm yapısının çalışılmasında her iki yöntemde yetersiz kalabilir. Bu sebeple bundan sonraki çalışmalarda REST-DNA etkileşimi moleküler docking yöntemi kullanılarak araştırılabilir. Böylece REST-DNA etkileşiminde deneysel verilerle daha yakın ve anlamlı sonuçlar elde edilebilir.

KAYNAKLAR

- Arbuznikov, A. V. (2007). Hybrid exchange correlation functionals and potentials: Concept elaboration. *Journal of Structural Chemistry*, 48(SUPPL. 1), 1–31. <https://doi.org/10.1007/s10947-007-0147-0>
- Bagayoko, D. (2014). Understanding density functional theory (DFT) and completing it in practice. *AIP Advances*, 4(12), 127104-12. <https://doi.org/10.1063/1.4903408>
- Ballas, N., Grunseich, C., Lu, D. D., Speh, J. C., ve Mandel, G. (2005). REST and its corepressors mediate plasticity of neuronal gene chromatin throughout neurogenesis. *Cell*, 121(4), 645–657. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.03.013>
- Bareket-Samish, A., Cohen, I., ve Haran, T. E. (2000). Signals for TBP/TATA box recognition. *Journal of Molecular Biology*, 299(4), 965–977. <https://doi.org/10.1006/jmbi.2000.3797>
- Baumann, M., Pontiller, J., ve Ernst, W. (2010). Structure and basal transcription complex of RNA Polymerase II core promoters in the mammalian genome: An overview. *Molecular Biotechnology*, 45(3), 241–247. <https://doi.org/10.1007/s12033-010-9265-6>
- Bernecky, C., Herzog, F., Baumeister, W., Plitzko, J. M., ve Cramer, P. (2016). Structure of transcribing mammalian RNA polymerase II. *Nature*, 529(7587), 551–554. <https://doi.org/10.1038/nature16482>
- Bruce, A. W., López-Contreras, A. J., Flicek, P., Down, T. A., Dhami, P., Dillon, S. C., ... Vetrie, D. (2009). Functional diversity for REST (NRSF) is defined by in vivo binding affinity hierarchies at the DNA sequence level. *Genome Research*, 19(6), 994–1005. <https://doi.org/10.1101/gr.089086.108>
- Cassandri, M., Smirnov, A., Novelli, F., Pitolli, C., Agostini, M., Malewicz, M., ... Raschellà, G. (2017). Zinc-finger proteins in health and disease. *Cell Death Discovery*, 3(1), 1-12. <https://doi.org/10.1038/cddiscovery.2017.71>
- Chen, Z. F., Paquette, A. J., ve Anderson, D. J. (1998). NRSF/REST is required in vivo for repression of multiple neuronal target genes during embryogenesis. *Nature Genetics*, 20(2), 136–142. <https://doi.org/10.1038/2431>

- Christensen, A. S., Kubaş, T., Cui, Q., ve Elstner, M. (2016). Semiempirical Quantum Mechanical Methods for Noncovalent Interactions for Chemical and Biochemical Applications. *Chemical Reviews*, 116(9), 5301–5337.
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00584>
- Coleman, J. (1992). Zinc Proteins: Enzymes, Storage Proteins, Transcription Factors, and Replication Proteins. *Annual Review of Biochemistry*, 61(1), 897–946.
<https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.61.1.897>
- D.S. Latchman. (1993). Transcription factors: an overview Function of transcription factors. *Int. J. Exp. Path*, 74, 417–422. Retrieved from
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2002184/pdf/ijexpath00017-0003.pdf>
- Dimitrova, N., Zamudio, J. R., Jong, R. M., Soukup, D., Resnick, R., Sarma, K., ... Jacks, T. (2017). Structure of an RNA Polymerase II–TFIIB Complex and the Transcription Initiation Mechanism. *PLoS ONE*, 32(7), 736–740.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178059>
- Division, L. S., ve Berkeley, L. (2013). *Structural visualization of key steps in human transcription initiation*. 495(7442), 481–486.
<https://doi.org/10.1038/nature11991.Structural>
- Fairall, L., Rhodes, D., ve Klug, A. (1986). Mapping of the sites of protection on a 5 S RNA gene by the *Xenopus* transcription factor IIIA. A model for the interaction. *Journal of Molecular Biology*, 192(3), 577–591.
[https://doi.org/10.1016/0022-2836\(86\)90278-0](https://doi.org/10.1016/0022-2836(86)90278-0)
- Gangwani, L. (2006). Deficiency of the zinc finger protein ZPR1 causes defects in transcription and cell cycle progression. *Journal of Biological Chemistry*, 281(52), 40330–40340. <https://doi.org/10.1074/jbc.M608165200>
- Gime, X., Bofill, J. M., ve Gonza, J. (2007). Algorithm to Evaluate Rate Constants for Polyatomic Chemical Reactions. II. Applications. *Journal of Computational Chemistry*, 28, 2111–2121. <https://doi.org/10.1002/jcc>
- Godmann, M., Auger, V., Ferraroni-Aguiar, V., Sauro, A. Di, Sette, C., Behr, R., ve Kimmins, S. (2007). Dynamic Regulation of Histone H3 Methylation at Lysine 4 in Mammalian Spermatogenesis1. *Biology of Reproduction*, 77(5), 754–764.

<https://doi.org/10.1095/biolreprod.107.062265>

Griffiths, D. J. (2004). Introduction to Quantum Mechanics Corrections. *Introduction to Quantum Mechanics*, pp. 9–11.

Grimes, J. A., Nielsen, S. J., Battaglioli, E., Miska, E. A., Speh, J. C., Berry, D. L., ... Kouzarides, T. (2000). The co-repressor mSin3A is a functional component of the REST-CoREST repressor complex. *Journal of Biological Chemistry*, 275(13), 9461–9467. <https://doi.org/10.1074/jbc.275.13.9461>

H, W., Johnson, P. F., ve Mcknight, S. L. (n.d.). Hypothetical to. *Science*.

Hanas, J. S., Hazuda, D. J., Bogenhagen, D. F., Wu, F. Y., ve Wu, C. W. (1983). Xenopus transcription factor A requires zinc for binding to the 5 S RNA gene. *Journal of Biological Chemistry*, 258(23), 14120–14125.

Hyde-deruyscher, R. P., Jennings, E., ve Shenk, T. (1995). DNA binding sites for the transcriptional activator/repressor YY1. *Nucleic Acids Research*, 23(21), 4457–4465. <https://doi.org/10.1093/nar/23.21.4457>

Ingram, G. C. (2005). Plant development: Spacing out stomatal pores. *Current Biology*, 15(17), 665–668. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2005.08.026>

Jones, S. (2001). Protein-RNA interactions GIVES % van der Waals IN DNA AND RNA!! *Nucleic Acids Research*, 29(4), 943–954. <https://doi.org/10.1093/nar/29.4.943>

Jones, Susan. (2004). An overview of the basic helix-loop-helix proteins. *Genome Biology*, 5(6), 1–6. <https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-6-226>

Joyce, A. P., Zhang, C., Bradley, P., ve Havranek, J. J. (2015). Structure-based modeling of protein: DNA specificity. *Briefings in Functional Genomics*, 14(1), 39–49. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elu044>

Kostrewa, D., Zeller, M. E., Armache, K. J., Seizl, M., Leike, K., Thomm, M., ve Cramer, P. (2009). RNA polymerase II-TFIIB structure and mechanism of transcription initiation. *Nature*, 462(7271), 323–330. <https://doi.org/10.1038/nature08548>

Kresge, C. T., Leonowicz, M. E., Roth, W. J., Vartuli, J. C., Beck, J. S. (1992).

- Crystal structure of TFIID TATA-box binding protein. *Nature*, 359, 710–713.
- Lambert, S. A., Jolma, A., Campitelli, L. F., Das, P. K., Yin, Y., Albu, M., ... Weirauch, M. T. (2018). The Human Transcription Factors. *Cell*, 172(4), 650–665. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.01.029>
- Lin, J., Hu, F. B., Rimm, E. B., Rifai, N., ve Curhan, G. C. (2006). The association of serum lipids and inflammatory biomarkers with renal function in men with type II diabetes mellitus. *Kidney International*, 69(2), 336–342. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000021>
- Louis, C. U., ve Shohet, J. M. (2015). Neuroblastoma: molecular pathogenesis and therapy. *Annual Review of Medicine*, 66(Figure 1), 49–63. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-011514-023121>
- Luscombe, N. M., Laskowski, R. A., ve Thornton, J. M. (2001). Amino acid-base interactions: a three-dimensional analysis of protein-DNA interactions at an atomic level. *Nucleic Acids Research*, 29(13), 2860–2874. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11433033> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC55782>
- Majumder, S. (2006). REST in good times and bad: Roles in tumor suppressor and oncogenic activities. *Cell Cycle*, 5(17), 1929–1935. <https://doi.org/10.4161/cc.5.17.2982>
- Marković, Z., Milenković, D., Crossed D Signorović, J., Dimitrić Marković, J. M., Lučić, B., ve Amić, D. (2013). A DFT and PM6 study of free radical scavenging activity of ellagic acid. *Monatshefte Fur Chemie*, 144(6), 803–812. <https://doi.org/10.1007/s00706-013-0949-z>
- Naruse, Y., Aoki, T., Kojima, T., ve Mori, N. (2002). Neural restrictive silencer factor recruits mSin3 and histone deacetylase complex to repress neuron-specific target genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(24), 13691–13696. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.24.13691>
- Phillips, N. B., Jancso-Radek, A., Ittah, V., Singh, R., Chan, G., Haas, E., ve Weiss, M. A. (2006). SRY and human sex determination: The basic tail of the HMG box functions as a kinetic clamp to augment DNA bending. *Journal of Molecular Biology*, 358(1), 172–192. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.01.060>

- Pierdomenico, M., Palone, F., Cesi, V., Vitali, R., Mancuso, A. B., Cucchiara, S., ... Stronati, L. (2018). Transcription Factor ZNF281: A Novel Player in Intestinal Inflammation and Fibrosis. *Frontiers in Immunology*, 9(December), 2907. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02907>
- Riaz, N., Wolden, S. L., Gelblum, D. Y., ve Eric, J. (2016). *Transcriptional Addiction in Cancer*. 118(24), 6072–6078. <https://doi.org/10.1002/cncr.27633.Percutaneous>
- Roopra, A., Sharling, L., Wood, I. C., Briggs, T., Bachfischer, U., Paquette, A. J., ve Buckley, N. J. (2015). Transcriptional Repression by the Neuron-Restrictive Silencer Factor (REST/NRSF) is Mediated via the Sin3/Histone Deacetylase complex. *Biochemical Society Transactions*, 28(3), A88.2-A88. <https://doi.org/10.1042/bst028a088a>
- Sáez, J. E., Gómez, A. V., Barrios, Á. P., Parada, G. E., Galdames, L., González, M., ve Andrés, M. E. (2015). Decreased expression of CoREST1 and CoREST2 together with LSD1 and HDAC1/2 during neuronal differentiation. *PLoS ONE*, 10(6), 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131760>
- Sainsbury, S., Bernecky, C., ve Cramer, P. (2015). Structural basis of transcription initiation by RNA polymerase II. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 16(3), 129–143. <https://doi.org/10.1038/nrm3952>
- Schrödinger, E. (1926). An undulatory theory of the mechanics of atoms and molecules. *Physical Review*, 28(6), 1049–1070. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.28.1049>
- Spitz, F., ve Furlong, E. E. M. (2012). Transcription factors: from enhancer binding to developmental control. *Nature Reviews. Genetics*, 13(9), 613–626. <https://doi.org/10.1038/nrg3207>
- Stadhouders, R., van den Heuvel, A., Kolovos, P., Jorna, R., Leslie, K., Grosveld, F., ve Soler, E. (2012). Transcription regulation by distal enhancers. *Transcription*, 3(4), 181–186. <https://doi.org/10.4161/trns.20720>
- Taher, L., Smith, R. P., Kim, M. J., Ahituv, N., ve Ovcharenko, I. (2013). Sequence signatures extracted from proximal promoters can be used to predict distal enhancers. *Genome Biology*, 14(10). <https://doi.org/10.1186/gb-2013-14-10->

Wagoner, M. P., Gunsalus, K. T. W., Schoenike, B., Richardson, A. L., Friedl, A., ve Roopra, A. (2010). The transcription factor REST is lost in aggressive breast cancer. *PLoS Genetics*, 6(6), 1–12.

<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000979>

Westbrook, T. F., Martin, E. S., Schlabach, M. R., Leng, Y., Liang, A. C., Feng, B., ... Elledge, S. J. (2005). A genetic screen for candidate tumor suppressors identifies REST. *Cell*, 121(6), 837–848.

<https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.03.033>



ÖZGEÇMİŞ

Doğum Yılı:	1988
Yazışma Adresi:	Güzelyalı mah. 41 sok. No:10/3 Konak/İZMİR
Telefon:	0(506) 109 2360
e-posta:	fulya_caglare@hotmail.com

Eğitim Bilgileri

ÜLKE	Üniversite	Fakülte/Enstitü	Öğrenim Alanı	Derece	Mezuniyet yılı
Türkiye	Ege Üniversitesi	Fen Fakültesi	Biyoloji - Moleküler Biyoloji ve Genetik Ağırlıklı	LİSANS	2013
Türkiye	Ege Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Temel Onkoloji Kanser İmmünolojisi ve Biyolojisi	Yüksek Lisans	2019

Akademik/Meslekte Deneyim

Kurum/Kuruluş	Ülke	Şehir	Bölüm/Birim	Görev Türü	Görev Dönemi
Bursa Devlet Hastanesi	Türkiye	Bursa	Mikrobiyoloji Laboratuvarı	Gözlemci Öğrenci	2009
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi	Türkiye	İzmir	Biyokimya Laboratuvarı	Gözlemci Öğrenci	2010
Ege Eczacılık Fakültesi	Türkiye	İzmir	Moleküler laboratuvarı	Gözlemci Öğrenci	2010
Genmar	Türkiye	İzmir	Moleküler laboratuvarı	Zorunlu Stajer	2012
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi	Türkiye	İzmir	Moleküler laboratuvarı	Gözlemci Öğrenci	2012

Hakemli Konferans/Sempozyumların Bildiri Kitaplarında Yer Alan Yayınlar

Yegane Özcan, Fulya Çağlar , Ayşe Banu Demir, Ayşe Pınar Erçetin, Zekiye Altun ve Safiye Aktaş. MESANE KANSERİNDE İMMÜN YANIT İLİŞKİLİ SİTOKİN VE KEMOKİNLER İLE KANSER KÖK HÜCRELERİNİN İLİŞKİSİ. Turk J Biochem, 2015; 40 (S1).
Yegane Özcan, Safiye Aktas, Ayşe Pınar Erçetin, Ayşe Banu Demir, Fulya Çağlar , Zekiye Altun. PP-100 The role of cancer stem cells at the immune response in bladder cancer. 3rd Anticancer agent development congress. Abstract book. 2015; 157
Ayşe Pınar Erçetin, Safiye Aktas, Banu Demir, Fulya Çağlar , Zekiye Altun and Nur Olgun. OP-06 ROLE OF EXPRESSION OF NEURAL CELL ADHESION MOLECULE SYNCAM IN NEUROBLASTIC TUMORS. 3rd Anticancer agent development congress. Abstract book. 2015;47.
Prostat Kanseri Hücreleri ve Kök Hücrelerinde Taksanların Etkisi- Melek AYDIN ¹ , Berika ŞENTÜRK ¹ , A.Pınar ERÇETİN ² , Ayça PAMUKOĞLU ² , Fulya ÇAĞLAR ² , Banu DEMİR ² , ve Safiye AKTAŞ ² -Sözlü bildiri
Yegane Özcan, Fulya Çağlar , Safiye Aktaş. MESANE KANSERİ VE KANSER KÖK HÜCRESİNİN REKÜRRENS İLE İLİŞKİSİ. Tepecik Eğit. ve Araşt. Hast. Dergisi 2016; 26(3):185-190.
Fulya Çağlar , Gözde Bilir, Cenk Selçuki. PP-19 Arjininin İyonik Formlarının Konformasyonel Analizi. 2. Ulusal Proteomik Kongresi. Abstract book. 2017;42.

Tamamlanan Projeler

TÜBİTAK-1002-215S048- Üçlü Negatif Meme Kanseri Deney Hayvanı Modelinde Tacrolimus Etkisi-Bursiyer-2016-2016
BAP-TYL-2018-20105-Astrosit-GBM Hücre Hatlarında Radyasyona Bağlı Bystander Etkisinin Değerlendirilmesi- 2018-2019

Sertifikalar

Deney Hayvanları Kullanımı Sertifikası-DEÜ-İZMİR-2015

Bilgisayar Programları/ Yazılım

Ofis Programları- Microsoft office, Word, Excel, Powerpoint, Outlook, Openoffice
Diğer program ve yazılımlar-Spartan' 08 V1.2.0, Guassian 09, Graphpad prism V6.01, SPSS, Sequence scanner V1.0, Argus lab V4.0.1, Python2/3, Orange Canvas.

Deneyimli Olduğu Alanlar

Hayvan Hücre ve Doku Kültürü
Flow Cytometry(Ploidi ve Apoptoz Tayini)
RT-PCR, QPCR
ELİSA, IHC (FISH, CISH, TUNEL)
Deney Hayvanında Tümör Modeli Oluşturma