

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DNA:RNA HİBRİT YAPILARDAKİ MUTASYONLARIN MOLEKÜLER YAPI
VE ELEKTRİKSEL İLETKENLİK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Büşra DEMİR

Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre ÖREN

ARALIK 2018

Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı

.....
Prof. Dr. Osman EROĞUL
Müdür

Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora derecesinin tüm gereksinimlerini sağladığımı onaylarım.

.....
Prof. Dr. Hamza KURT
Ana Bilim Dalı Başkanı

TOBB ETÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 161611024 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi **Büşra DEMİR**'in ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı “**DNA:RNA HİBRİT YAPILARDAKİ MUTASYONLARIN MOLEKÜLER YAPI VE ELEKTRİKSEL İLETKENLİK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**” başlıklı tezi **13 Aralık 2018** tarihinde aşağıda imzaları olan jüri tarafından kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı: **Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre ÖREN**
TOBB Ekonomik ve Teknoloji Üniversitesi

Jüri Üyeleri: **Dr. Öğr. Üyesi Şule ATAHAN EVRENK**
TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi

Prof. Dr. Turgut BAŞTUĞ
Hacettepe Üniversitesi

TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, alıntı yapılan kaynaklara eksiksiz atıf yapıldığını, referansların tam olarak belirtildiğini ve ayrıca bu tezin TOBB ETÜ Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlandığını bildiririm.

Büşra DEMİR

İMZA

ÖZET

Yüksek Lisans

DNA:RNA HİBRİT YAPILARDAKİ MUTASYONLARIN MOLEKÜLER YAPI
VE ELEKTRİKSEL İLETKENLİK ÜZERİNDEKİ ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Büşra Demir

TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre Ören

Tarih: Aralık 2018

Kalıtımın temel taşlarını oluşturan genetik maddenin (DNA ve/veya RNA) saptanıp baz dizilimlerinin ortaya çıkarılması bakteri ve virüsler ile kanserli hücrelerin tespit edilerek belirlenmesini sağlar. Bu konu, başta klinik teşhis ve araştırma olmak üzere, gıda güvenliği, su ve çevre koruma, bitki ve hayvan patolojisi, ve biyo-güvenlik gibi birçok uygulama için son derece önemlidir. Günümüzde, biyoteknoloji ve nanoteknoloji alanlarında genetik maddenin hızlı ve doğru tespit edilebilmesi için yoğun çalışmalar yapılmaktadır.

2000’li yılların başında tek bir molekül üzerinden geçen elektrik akımının ölçülebileceğinin gösterilmesiyle molekülleri elektriksel iletkenlik ile ayırt etme fikri ortaya çıktı. Gerçekleştirilen deneysel ve teorik çalışmalar sonucunda, genetik maddenin tespiti için moleküler elektronik tabanlı bir biyosensör kavramı geliştirildi. Atomik düzeyde elektrotlar kullanarak ölçülen elektrik akımlarındaki picoamper düzeyindeki değişimlerin analizi ile, attomolar (10^{-18} M) ölçeğinde DNA/RNA derişimine sahip çözeltilerde, genetik dizilimlerdeki tek bir baz değişimini (mutasyonu) bile belirleyebilen bir teknik geliştirildi.

Bu tez kapsamında deneysel olarak iletkenlikleri ölçülen DNA:RNA hibritlerinin moleküler yapıları ve elektriksel özellikleri incelendi. Bunun için AMBER 16 programı kullanılarak moleküler dinamik yöntemleri ile DNA:RNA hibritlerinin üç boyutlu yapısı modellendi. Zaman içerisinde moleküler yapıda meydana gelen değişiklikler, hem DNA ve RNA sarmalları arasındaki hidrojen bağları hem de dizilim üzerindeki pürinler arası mesafeler hesaplanarak incelendi. Gaussian 09 programı kullanılarak kuantum mekaniksel (yoğunluk fonksiyonel teorisi) hesaplamaları gerçekleştirildi. Buradan elde edilen sonuçlar ile DNA:RNA hibritlerinin moleküler orbitalleri ve bant yapıları analiz edildi. Daha sonra her bir yapı için elektron iletim olasılıkları hesaplandı. Sonuç olarak, iletkenliğin üç boyutlu yapı ile doğrudan ilişkili olduğu gösterildi. Bu özellik sayesinde iletkenlik ölçümleri ile genetik maddenin tespit edilip baz dizilimlerinin belirlenebileceği bulundu.

Bu tez kapsamında elde edilen bilgi birikimi ile hedef RNA bölgesi için prob DNA tasarımının önü açılmış olup, bu çalışmalar sonucunda ileride insan ve toplum sağlığına katkı sağlayacak yeni biyosensör teknolojilerinin geliştirilmesi beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: Biyosensör, Genetik madde, DNA:RNA hibritleri, *Escherichia coli*, Moleküler elektronik, Teori ve modelleme, Moleküler dinamik, Yoğunluk fonksiyonel teorisi, Yük taşıma.

ABSTRACT

Master of Science

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF MUTATION ON THE MOLECULAR STRUCTURE AND CONDUCTANCE OF DNA:RNA HYBRIDS

Büşra Demir

TOBB University of Economics and Technology
Institute of Natural and Applied Sciences
Micro and Nanotechnology Science Programme

Supervisor: Assist. Prof. Dr. Ersin Emre Ören

Date: December 2018

Identifying and revealing base sequences of the genetic material (DNA and/or RNA) which is the cornerstone of inheritance, allows detection and identification of disease-causing bacteria and viruses as well as cancer cells. This topic is particularly crucial for clinical diagnosis and research as well as food safety, water and environmental protection, plant and animal pathology and bio-security. Nowadays, in biotechnology and nanotechnology fields, many studies are being carried out to determine the genetic material fast and accurately.

The idea of detecting and identifying molecules via electrical conductance measurements is developed with the first reported measurement of conductance through a single molecule in the early 2000s. As a result of several experimental and theoretical studies, a molecular electronic based bionanosensor idea was developed for the detection of genetic material. A technique capable of detecting a single base change (mutation) in genetic sequences, which are in solutions with attomolar concentration, was developed by analyzing the changes in electrical currents in picoampere level.

In this thesis, molecular structures and electrical properties of DNA:RNA hybrids, whose conductance were measured experimentally, were investigated. For this, the

three dimensional structure of DNA:RNA hybrids were modelled in AMBER 16 software program using molecular dynamics methods. Analysis of the obtained structures are done by clustering algorithms, which are developed during this study. By using Gaussian 09 software program, quantum mechanics (density functional theory) calculations were performed and molecular orbitals and band structures of DNA:RNA hybrids were analyzed. Then, the probability of electron transmission from one electrode to another was calculated for each structure. As a result, it is shown that conductance is directly related to the three-dimensional structure. It was found that the genetic material could be detected and identified via conductance measurements because of this particular feature.

The knowledge obtained with this thesis pave the way for designing probe DNAs for the specific target region of RNA molecules. This study is expected to be a pioneer in the design and development of new biosensor technologies that will contribute to human and public health in the future.

Keywords: Bionanosensors, Genetic material, DNA:RNA hybrids, *Escherichia coli*, Molecular electronics, Theory and modelling, Molecular dynamics, Density functional theory, Charge transport.

TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren danıőmanım Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre Ören'e, kıymetli tecrübelerinden faydalandığım Doç. Dr. Josh Hihath ve Prof. Dr. Manjeri P. Anantram'a, desteklerinden dolayı başta annem olmak üzere aileme, Biyonanotasarım Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma ve ayrıca her zaman yanımda olan Doğukan Őenyıldız ve Ömer Çaylan'a çok teşekkür ederim. Son olarak, burs sağladığı için TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
ÇİZELGE LİSTESİ	xiii
KISALTMALAR	xiv
SEMBOL LİSTESİ	xv
1 GİRİŞ	1
1.1 Genel Bilgiler	3
1.1.1 DNA ve RNA'nın yapısı.....	3
1.1.2 DNA:RNA hibrit yapısı	5
1.1.3 Tek molekül bağlantı kopma ölçümleri	6
1.1.4 Deneysel kurgu	7
1.2 Literatür özeti	9
2 TEORİK MODEL VE YÖNTEM	13
2.1 Moleküler Dinamik	13
2.1.1 Potansiyel enerji fonksiyonu	14
2.1.2 Kuvvet alanları (force fields)	16
2.1.3 Simülasyon akışı ve kullanılan diğer parametreler	17
2.1.4 Yapıların kararlılıklarının hesaplanması	18
2.1.5 MD sonuçlarından temsilci yapıların seçilmesi	19
2.2 Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT)	21
2.3 Elektron Taşınım Hesapları	23
2.4 Analiz Yöntemleri	27
3 BULGULAR VE TARTIŞMALAR	31
3.1 Kimyasal Değişimin Elektriksel Özelliklere Etkisi	34
3.1.1 Bant yapısı ve moleküler orbital analizi	36
3.1.2 Elektron taşınım analizi	38
3.2 Mutasyonun DNA:RNA Hibrit Yapılarına Etkisi.....	40
3.2.1 Moleküler yapı ve kararlılık analizi	41
3.2.2 Temsilci yapı seçimi	47
3.3 Mutasyonların DNA:RNA Hibritlerinin Elektriksel Özelliklerine Etkisi .	52
3.3.1 Bant yapısı ve moleküler orbital analizi	52
3.3.2 Elektron taşınım analizi	55
3.3.3 Durum yoğunluğu analizi	65
4 SONUÇ VE ÖNERİLER	71
KAYNAKLAR	73
EKLER	80
ÖZ GEÇMİŞ	85

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1:	DNA için nükleobaz çeşitleri.	3
Şekil 1.2:	DNA'nın heliks yapısı.	3
Şekil 1.3:	DNA'nın farklı konformasyonlarından A-DNA, B-DNA ve Z-DNA'nın üç boyutlu şekillerinin gösterimi (Brown, T. ve Brown, T. (Jr)).	4
Şekil 1.4:	Urasil nükleobazı.	4
Şekil 1.5:	Riboz ve Deoksiriboz Şekerleri.	5
Şekil 1.6:	DNA:RNA Hibrit yapısı (Mor: DNA ve Turuncu: RNA).	5
Şekil 1.7:	SMBJ ölçüm tekniği şematik gösterimi.	6
Şekil 1.8:	DeneySEL yöntemin şematik gösterimi.	7
Şekil 1.9:	Hedef RNA (<i>E. coli</i> O157:H7) ve tamamlayıcı DNA prob dizilimleri. ...	8
Şekil 1.10:	<i>E. coli</i> O157:H7 bakterisine ait dizilimden yalnızca bir baz değişimine sahip diğer bakteri türleri.	8
Şekil 2.1:	Yapıların belirlenmesi için gerçekleştirilen iş akış şeması.	17
Şekil 2.2:	Merkez yapıların bulunması için geliştirilen algoritma akış şeması.	20
Şekil 2.3:	<i>E. coli</i> O157:H7 Shiga zehrini üreten 15 baz çifti uzunluğundaki kısmında Pürin yolunun şematik gösterimi.	20
Şekil 2.4:	Yapıların A veya B formu benzerliklerini gösteren diyagram.	27
Şekil 2.5:	Karşılıklı baz çiftleri arasındaki H bağı sayısını gösteren örnek şema. (Mor: 0, Turkuaz: 1, Yeşil: 2, Kırmızı: 3).	28
Şekil 2.6:	(a) Moleküler orbitallerin molekül üzerindeki üç boyutlu yapısının ve (b) enerji seviyelerinin gösterimi.	28
Şekil 2.7:	Etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği örnek gösterimi.	29
Şekil 2.8:	Molekül üzerinde DoS gösterimi.	29
Şekil 2.9:	DNA:RNA hibrit yapısında olası elektron iletim yolları.	30
Şekil 3.1:	<i>E. coli</i> O157:H7'nin 15 baz çiftinden oluşan 5'-CGACCCUCUUGAAC-3' dizisinin Shiga zehri alt birim A'da ifade edildiğini gösteren BLASTn 2.6.1+ (Altschul vd., 1997) sonucu (Li, Y. vd., 2018).	31
Şekil 3.2:	İncelenen dizinin görüldüğü diğer türlerin adları (Li, Y. vd., 2018).	32
Şekil 3.3:	SMBJ ölçümleri sonucunda farklı suşlar için elde edilen iletkenlik verileri (Li, Y. vd., 2018).	33
Şekil 3.4:	Dizilimler üzerinde mutasyonların yerlerinin gösterimi.	34
Şekil 3.5:	Yapılar üzerindeki tek baz değişimlerinin kaçınıcı bazda olduğu ve kimyasal formülleri (Karbon atomları turkuaz, azotlar mavi, oksijenler kırmızı ve hidrojenler beyaz renk ile gösterilmiştir).	35
Şekil 3.6:	Yalnızca kimyasal baz farklılıkları bulunan NAB web sitesi kullanılarak üretilen yapıların bant yapıları (moleküler dinamik uygulanmamış halleri).	37

Şekil 3.7:	Farklı DNA:RNA hibritleri için HOMO ve LUMO üç boyutlu moleküler orbitalleri.	38
Şekil 3.8:	NAB web sitesinden elde edilen her bir yapı için hesaplanan etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği ($\Sigma_B = 10$ meV ; Buttiker uçları bazlarda).	39
Şekil 3.9:	NAB web sitesinden elde edilen her bir yapı için hesaplanan etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği ($\Sigma_B = 10$ meV ; Buttiker uçları atomlarda).	40
Şekil 3.10:	Hibrit yapılarının MD simülasyonlarında elde edilen konformasyonlarının A ve B formunda referans yapılara göre karşılaştırılması (her bir nokta bir konformasyonu, renkler ise zamanı temsil etmektedir).	42
Şekil 3.11:	Her bir yapı için karşılıklı iki baz çifti arasındaki hidrojen bağı sayılarının zamana göre değişimi (Li, Y. vd., 2018).	43
Şekil 3.12:	<i>E. coli</i> O157:H7 diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri..	44
Şekil 3.13:	<i>E. coli</i> O175:H28 diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri..	44
Şekil 3.14:	<i>E. coli</i> ED1a diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.	44
Şekil 3.15:	<i>P.Damsela</i> diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.	45
Şekil 3.16:	CD spektrum sonucu elde edilen dalga boyu - Δ soğurma grafiği (Li, Y. vd., 2018).	46
Şekil 3.17:	CD ölçümlerinden 260 nm'de normalize edilmiş diferansiyel soğurma kullanılarak elde edilen erime sıcaklıkları değerleri (Li, Y. vd., 2018). ..	46
Şekil 3.18:	Aralarında sadece bir baz fark bulunan DNA:RNA hibrit dizilimleri ve baz uyumsuzluklarının gösterimi (yeşil kısımlar).	48
Şekil 3.19:	Farklı dizilimler için pürin yolu gösterimi.	49
Şekil 3.20:	Kısmi pürin uzunluklarının zamana göre ortalama değerleri.	49
Şekil 3.21:	Pürin yolu uzunluklarını gösteren histogramlar (Li, Y. vd., 2018).	50
Şekil 3.22:	Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) en kısa olduğu zamanki hibrit yapılarının konformasyonları.	51
Şekil 3.23:	Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) en uzun olduğu zamanki hibrit yapılarının konformasyonları.	51
Şekil 3.24:	Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) ortalama uzunluklarına sahip hibrit yapılarının konformasyonları.	51
Şekil 3.25:	Farklı konformasyonlardaki hibrit yapılarının DFT ile hesaplanan bant boşluğu değerleri ve bant yapılarının gösterimi.	53
Şekil 3.26:	Farklı konformasyonlar için moleküler orbitallerin gösterimi.	54
Şekil 3.27:	<i>E. coli</i> O157:H7 yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.	57
Şekil 3.28:	<i>E. coli</i> O175:H28 yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.	58

Şekil 3.29: <i>E. coli</i> ED1a yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.....	59
Şekil 3.30: CTC konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.....	61
Şekil 3.31: SPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.....	62
Şekil 3.32 : LPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.....	63
Şekil 3.33: MPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.....	64
Şekil 3.34: CTC konformasyonları için durum yoğunluklarının gösterimi.	66
Şekil 3.35: MPPW Konformasyonları için durum yoğunluklarının gösterimi.	67
Şekil 3.36: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşıma yolları: <i>E. coli</i> O157:H7 (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu.....	68
Şekil 3.37: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşıma yolları: <i>E. coli</i> O175:H28 (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu.....	69
Şekil 3.38: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşıma yolları: <i>E. coli</i> ED1a (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu.....	70

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

- Çizelge 3.1: Vakum altında DFT hesaplamaların sistemin boyutuna göre bant boşluğunun değişimi gerektirdiği hesap süreleri 36
- Çizelge 3.2: Gruplandırma sonucu elde edilen gruptaki konformasyon sayıları. 47



KISALTMALAR

DNA	: Deoksiribonükleik asit
RNA	: Ribonükleik asit
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Polimerease Chain Reaction)
UC Davis	: California Davis Üniversitesi (University of California Davis)
UW	: Washington Üniversitesi (University of Washington)
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
mRNA	: Mesajcı RNA
A	: Adenin
T	: Timin
C	: Sitozin
G	: Guanin
U	: Urasil
SMBJ	: Single Molecule Break Junction
<i>P. damselae</i>	: <i>Photobacterium damselae</i>
MD	: Moleküler Dinamik
DFT	: Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (Density Functional Theory)
DoS	: Durum Yoğunlukları (Density of States)
NAB	: Nucleic Acid Builder
VMD	: Visual Molecular Dynamics
RMSD	: Kare Ortalamının Karakökündeki Sapma (Root Mean Square Deviation)
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital (Highest Occupied Molecular Orbital)
LUMO	: En Düşük Dolu Olmayan Moleküler Orbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
CTC	: Merkez Yapı (Center of the Top Cluster)
SPPW	: En Kısa Pürin Yolu (Shortest Purine Pathway)
MPPW	: Ortalama Pürin Yolu (Mean Purine Pathway)
LPPW	: En Uzun Pürin Yolu (Longest Purine Pathway)
ICDD	: Uluslararası Kırınım Verileri Merkezi (International Centre for Diffraction Data)

SEMBOL LİSTESİ

Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
F	Kuvvet
m	Kütle
a	İvme
U	Toplam potansiyel enerji
r	Atomlar arasındaki uzaklık
k	Yay sabiti
θ	Herhangi üç atom arasındaki denge açısı
σ	Potansiyelin sıfırlandığı andaki iki atom arası uzaklık
q	Elektron yükü
ε	Dielektrik sabiti
h	Planck sabiti
E	Enerji
$T(E)$	E enerjisine sahip elektron geçişi
k_B	Boltzmann sabiti
T	Sıcaklık
t	Zaman
H	Hamiltonyen matrisi
S	Örtüşme matrisi

1 GİRİŞ

Genetik madde (DNA ve/veya RNA) kalıtımın temel taşlarını oluşturur. Bu genetik maddenin tespit edilmesi ve baz dizilimlerinin belirlenmesi sonucunda hastalık yapıcı virüs ve bakteriler (patojenler) ile kanserli hücrelerin doğru bir şekilde tespit edilmesi sağlanır. Bu konu genetik mühendisliği, klinik araştırmalar, hayvan ve bitki patolojisi, adli tıp, biyo-güvenlik ve gıda güvenliği gibi çeşitli alanlarda çok büyük bilimsel ve teknolojik öneme sahiptir.

Biyoteknoloji ve nanoteknolojideki gelişmeler ile birlikte genetik maddeyi daha hızlı ve yüksek hassasiyetle tespit edebilecek yeni yöntemler (biyosensörler) geliştirilmek üzere birçok çalışma yapılmaktadır. Bu teknolojilerin yaygın kullanıma geçerek hayatımızda yer alabilmeleri için hem hızlı hem de çok hassas (düşük derişimlerde bile çalışabilecek) ve seçici (çok çeşitli mutasyonları ayırt edebilecek) ölçümler yapılabilmesi ve aynı zamanda da ucuz ve erişilebilir olmaları gerekmektedir.

Günümüzde mikroorganizmalar iki ana yöntem ile belirlenir. Bunlar klinik araştırmalarda sıkça kullanılan epitoplara belirlenmesi ve doğrudan DNA/RNA'nın baz dizilimlerinin tespit edilmesidir. DNA/RNA'dan elde edilen bilgiler her zaman çok daha hassas ve doğru sonuçlar verir. Ancak, bu bilgilerin edinilebilmesi için zahmetli ve pahalı hücre kültürleri ve PCR-tabanlı (Polimeraz zincir reaksiyonu) çoğaltma tekniklerine ihtiyaç vardır. Yaygın olarak kullanılan PCR (Bartlett vd., 2003) tabanlı yöntemler ile genetik madde numunesinin kopyaları oluşturularak test edilebilecek büyüklüğe (baz çifti sayısına) ulaşması sağlanır (NIH, 2009). PCR bazlı yöntemlerde test edilmek istenen DNA numunesi için sırasıyla çift iplikli DNA'nın ısıyla ipliklerinin ayrılması, çoğaltma mekanizmasının gerçekleşmesi için gerekli primerlerin (DNA polimerazsyonunu başlatan molekül) ana DNA zincirine bağlanması, istenen dizilimin kopyasını oluşturmak için polimerizasyon işleminin gerçekleştirilmesi gerekir. Günümüzde PCR bazlı yöntemler yaygın kullanılmalarına karşın, DNA'nın çoğaltılması sırasında hatalı kodlamalar oluşabilir ve çoğaltılan dizilim mutasyonlara sahip olabilir (Zhou vd., 1991).

2000'li yılların başında tek bir molekülden geçen elektrik akımının ölçülebileceği gösterildikten (Xu ve Tao, 2003) sonra ölçülen iletkenlik değerleri ile moleküllerin (DNA, RNA) ayırt edilemeyeceği fikri ortaya çıkmıştır. Bu konuda giderek artan sayıda yapılan çalışmalar sonucunda, Xiang ve arkadaşları iki elektrotla köprülenmiş DNA moleküllerinden akım ölçümü yapmışlar ve DNA uzunluğu (baz sayısı) artıkça iletkenliğin azaldığını raporlamışlardır (Xiang vd., 2015). Li ve arkadaşları ise DNA:RNA hibritlerinin aynı dizilimdeki çift iplikli DNA'ya göre daha iyi iletkenliğinin olduğunu göstermişlerdir (Li vd., 2016). Bu bilgiler göz önüne alınarak, genetik maddenin elektriksel iletkenlik ölçümleri ile tespit edilemeyeceği konusunda, California Davis Üniversitesi (UC Davis) ve Washington Üniversitesi'ndeki (UW) araştırmacılar ile ortak çalışmalar gerçekleştirildi. Yapılan ortak çalışmalarda, hedef bir DNA ya da RNA üzerinden elektrik akımı geçirilerek farklı yapıdaki genetik maddenin ayırt edilebilmesi üzerine yoğunlaşıldı. Hem deneysel hem de teorik araştırmalar aynı anda yürütülerek gerekli bilimsel ve teknolojik altyapının oluşturulması hedeflendi. Bu kapsamda Shiga zehri üreten *Escherichia coli* (*E. coli*) bakterilerinin genetik dizilimleri incelenerek zehrin kodlandığı mesajcı RNA (mRNA) bölgeleri üzerinde çalışmalar yapıldı. Bu bölgeler ile hibritleşebilecek tek zincirli DNA problemleri üretildi ve hedeflenen mRNA'nın da içinde bulunduğu çözelti içerisine eklenerek, iki zincirin hibritleşmeleri (DNA probu ile hedef mRNA) sağlandı. Çözelti içerisinde oluşan DNA:RNA sarmalından altın elektrotlar yardımı ile akım geçirilerek iletkenlik ölçümleri yapıldı. Deneysel sonucunda, birbirleri ile sadece tek bir baz farklılığı olan DNA:RNA sarmallarının farklı iletkenlik sonuçları verdiği belirlendi ve iletkenliğin genetik maddedeki en küçük değişikliklere bile duyarlı olduğu saptandı.

Bu tezin amacı, UC Davis grubundan elde edilen deneysel veriler ışığında, genetik maddenin elektriksel özelliklerinin araştırılması ve çeşitli hesaplama yöntemleri kullanarak DNA:RNA sarmalı boyunca elektrik akımı iletiminin fiziksel temellerinin belirlenmesidir. Bu kapsamda, deneylerde kullanılan tek bir baz değişikliğine sahip DNA:RNA hibrit yapıları moleküler dinamik ile modellenmiş, yapılan analizlerle sistemi temsil eden yapılar seçilmiş ve daha sonra yoğunluk fonksiyonel teorisi ile, seçilen temsilci yapılar üzerindeki elektronların bulunma olasılıkları ve yoğunlukları hesaplanmıştır. UW çalışma grubunca geliştirilen kuantum iletkenlik modelleme

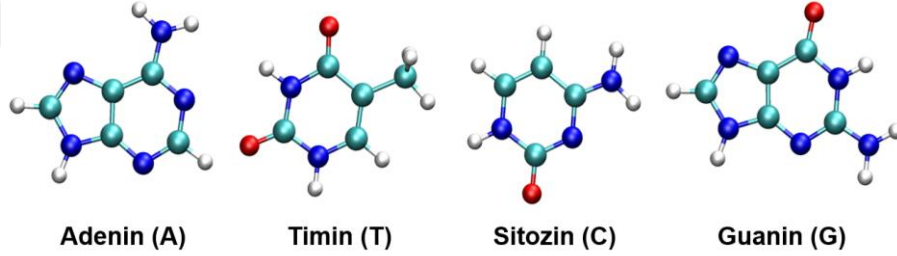
yöntemleri ile elektronların molekül üzerindeki iletim olasılıkları incelenmiştir. Sonuç olarak iletkenliğin moleküllerin üç boyutlu yapılarına bağlı olduğu bulunmuştur.

Bu çalışmanın uzun süreli amplifikasyon veya hücre kültürü adımlarına ihtiyaç duyulmayan yeni biyoalgılayıcı teknolojilerine öncü olması beklenmektedir. Bu teknolojiler patojenlerin, antimikrobiyal dirençli suşların, kanser biyobelirteçlerinin ve mRNA'nın tespit edilmesi ve ayrıca gen ekspresyonunun izlenmesi gibi sayısız uygulama için önemlidir.

1.1 Genel Bilgiler

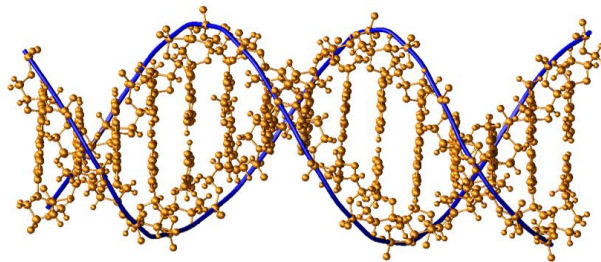
1.1.1 DNA ve RNA'nın yapısı

DNA (Deoksiribonükleik Asit), canlı organizmaların ve çoğu virüsün yaşamsal faaliyetlerini yerine getiren proteinlerin üretimi için gerekli genetik (kalıtım) bilgilerin yer aldığı iki zincirden oluşan bir moleküldür. DNA birbirlerine ters yönde ilerleyen iki polimer zincirinin hidrojen bağları ile bir arada durmasıyla oluşur. DNA dört farklı nükleobazdan (Adenin (A), Timin (T), Sitozin (C) ve Guanin (G), Şekil 1.1) oluşur.



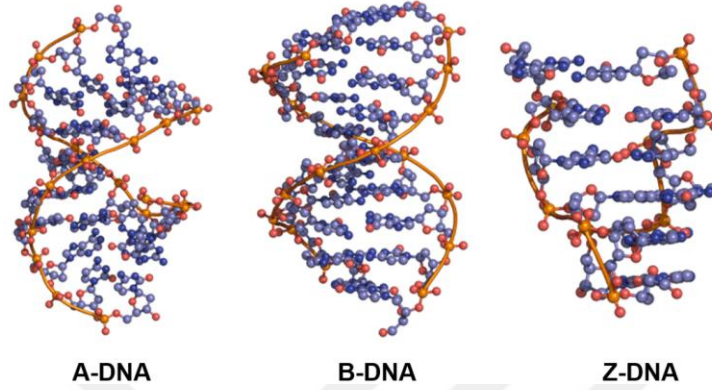
Şekil 1.1: DNA için nükleobaz çeşitleri.

DNA zinciri heliks formundadır (Şekil 1.2) ve zincirin en küçük yapı birimi olan nükleobazlardan A ve G pürinler, T ve C pirimidinler olarak gruplandırılır. Her bir pürin ile pirimidin arasında hidrojen bağları oluştuğunda DNA'nın iki ayrı sarmalı bir arada kalır.



Şekil 1.2: DNA'nın heliks yapısı.

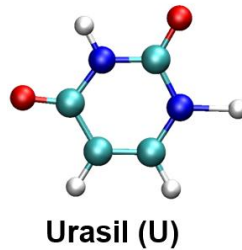
DNA doğada farklı geometrilerde (konformasyon) bulunabilir. Bu konformasyonlar aynı dizilime sahip olmalarına rağmen, farklı boyda, farklı genişlikte olabilmektedir. DNA'nın en iyi bilinen üç konformasyonu olan A, B ve Z formları (Brown, T. ve Brown, T. (Jr)) aşağıda gösterilmiştir.



Şekil 1.3: DNA'nın farklı konformasyonlarından A-DNA, B-DNA ve Z-DNA'nın üç boyutlu şekillerinin gösterimi (Brown, T. ve Brown, T. (Jr)).

DNA'nın konformasyonunun içerisinde bulunduğu solüsyona bağlı olarak değiştiği gösterilmiştir (Ussery, 2002) örneğin su ortamında DNA B formunu alırken, etanol-su çözeltilerinde etanol miktarındaki artış ile DNA A formuna dönüşmektedir (Ussery, 2002).

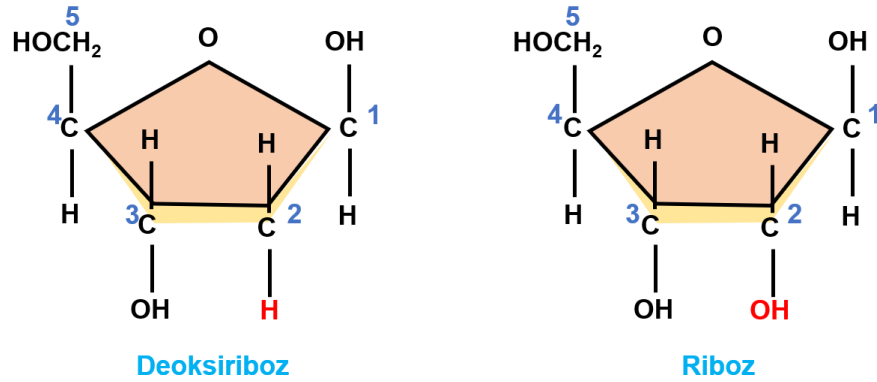
RNA (Ribonükleik Asit), DNA'nın aksine tek zincirden oluşan bir polimer molekülüdür. Bu nedenle genellikle kendi üzerine katlanmış bir yapıya sahiptir. DNA gibi yukarıda bahsedilen nükleobazlardan oluşur ancak bir RNA zinciri T'ye sahip olamaz onun yerine Urasil (U) adı verilen nükleobazı vardır. Urasil nükleobazı aşağıdaki şekilde gösterilmiştir.



Şekil 1.4: Urasil nükleobazı.

RNA ile DNA arasındaki bir diğer fark da nükleobazların bağlı olduğu şekerlerdir. RNA ikinci pozisyonunda hidroksil grup içeren beşgen riboz şekerine sahipken

DNA'daki şekerde bu hidroksil grubu yoktur. Riboz ve deoksiriboz şekerlerinin karşılaştırılması Şekil 1.5'te sunulmuştur.

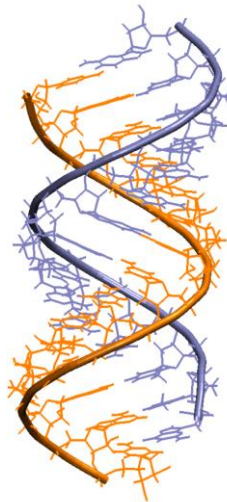


Şekil 1.5: Riboz ve Deoksiriboz Şekerleri.

RNA, bazı virüslerin genetik kodlamasında, bazı organizmaların proteinlerinin sentezini yönlendiren genetik bilgiyi iletmesinde ve biyolojik reaksiyonları katalize etmede aktif bir role sahiptir. Bu gibi çeşitli görevlerinden dolayı, RNA molekülünün birçok formu bulunmaktadır. Bunlar, mesajcı RNA (mRNA), transfer RNA, ribozomal RNA, küçük nükleer RNA ve kodlanmayan RNA olarak gruplandırılmaktadır.

1.1.2 DNA:RNA hibrit yapısı

Tek zincir DNA ile RNA'nın karşılıklı bir araya gelerek oluşturduğu sarmal DNA:RNA hibrit yapısıdır. Şekil 1.6'da örnek bir DNA:RNA hibrit yapısı gösterilmiştir. Hibrit yapı DNA'nın A ve B konformasyonu arasında ve A'ya daha yakın bir formda bulunur (Shaw vd., 2008).

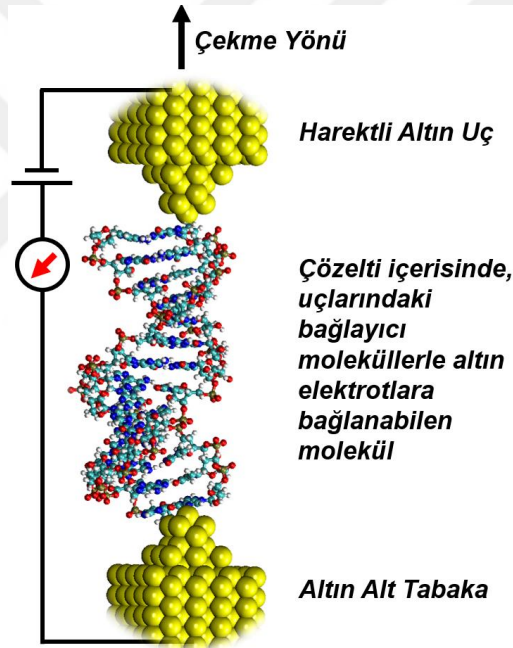


Şekil 1.6: DNA:RNA Hibrit yapısı (Mor: DNA ve Turuncu: RNA).

DNA-RNA hibritlerine hücrelerde genellikle transkripsiyon ve replikasyon gibi temel hücresel işlevler sırasında rastlanmaktadır (Gillespie vd., 1968). Bu yapıların genetik instabilite ve kanser ile ilişkisi olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle yeni araştırmalara sıkça konu olan bir moleküldür.

1.1.3 Tek molekül bağlantı kopma ölçümleri

Tek molekül bağlantı kopma (SMBJ) yöntemi büyük örnekleme sayıları sonucu tek molekülde iletkenlik ölçümlerinin yapılmasını sağlayan bir yöntemdir. Ölçüm esnasında analiz edilecek çözeltiliye daldırılmış ince bir altın uç ile altın alt tabaka arasında sabit bir voltaj uygulanır. Altın uç, elektrik devresini kapalı ve açık durumlar arasında değiştirmek için defalarca alt tabakaya doğru bastırılır ve yukarı doğru çekilir (Şekil 1.7).

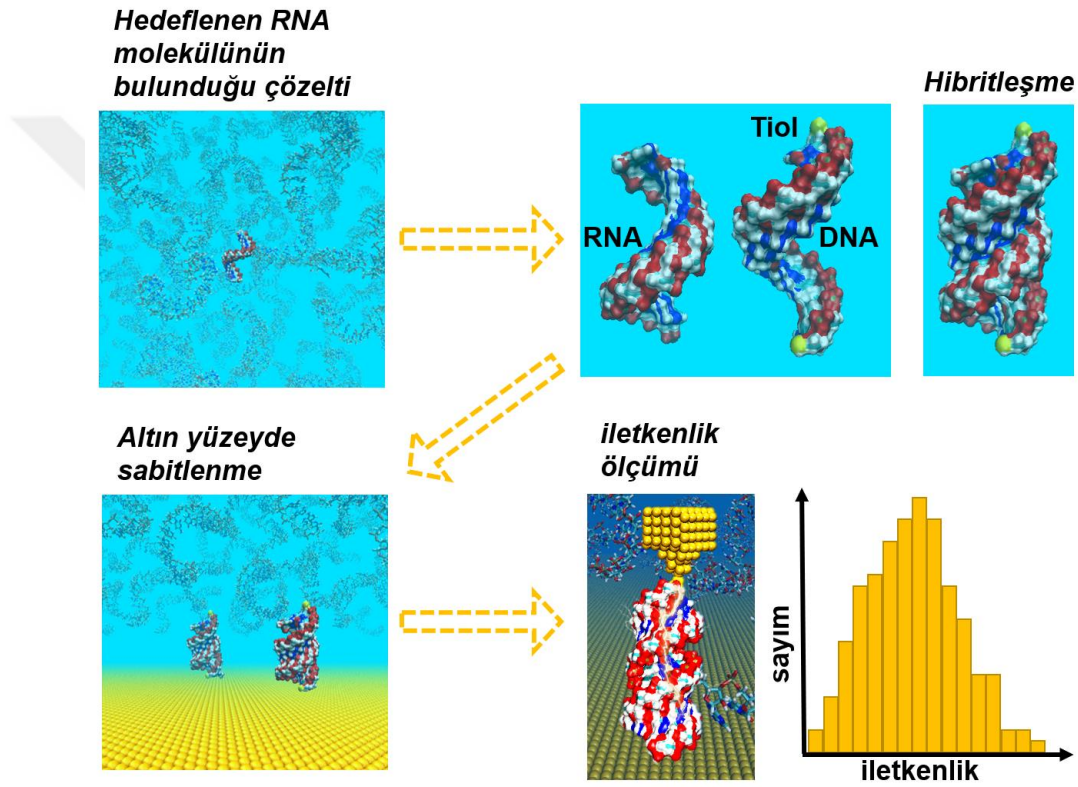


Şekil 1.7: SMBJ ölçüm tekniği şematik gösterimi.

Altın uç, alt tabakadan yukarı doğru çekildiğinde, bağlantı koptuğu anda, devre iletkenliği sıfıra düşer. Eğer çözeltili içerisinde molekül bulunuyorsa ve bu molekül uç ile alt tabaka arasında bağlanmış konumda ise normalden farklı olarak uzatılmış iletkenlik profili oluşur. Böylece molekül üzerinden geçen akım değeri ölçülür. SMBJ yöntemi ile yapılan ölçümler binlerce kez tekrar edilerek ölçümlerin doğru alınıp istatistiksel olarak sağlam veri kümelerinin oluşması sağlanır. Çıkan sonuçlar kullanılarak iletkenlik – sayım histogramları oluşturulur ve moleküllerin en çok hangi iletkenlik değerine sahip olduğu elde edilir.

1.1.4 Deneysel kurgu

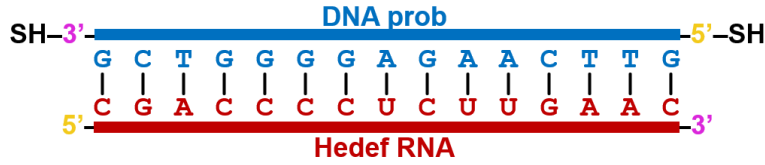
Deneysel olarak SMBJ tekniğinin genetik maddenin tespitinde kullanılıp kullanılmayacağıın araştırılması için *E. coli* bakterilerine ait mRNA'ların zehir ürettiği bilinen kısımlarına yoğunlaşmıştır. UC Davis'deki araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen deneylerde, belirli bir RNA dizisinin saptanmasını sağlamak için, her bir uçta altın elektrotlara bağlanmayı sağlayacak tiyol grupları ile modifiye edilmiş, tek iplikli DNA şeklinde tamamlayıcı (hedef RNA dizisinin tamamlayıcısı) dizi çözelti içerisine eklenmiştir (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: Deneysel yöntemin şematik gösterimi.

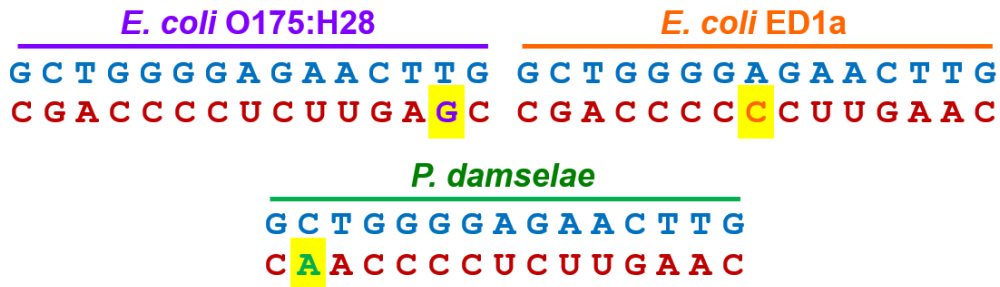
Eğer hedef RNA çözelti içerisinde mevcutsa, tiyol grupları ile modifiye edilmiş tek iplikli DNA ile hibritleşerek iletken DNA:RNA'yı oluşturacak ve DNA:RNA hibrit tiyollerden dolayı altın alt tabakasında sabitlenmiştir (Şekil 1.8). Yukarıdan getirilen altın uç ile DNA:RNA hibritinin alt tabakada sabitlenmemiş ucu birleştiğinde ise uygulanan voltaj farkından dolayı hibrit üzerinden akım geçirilmiş ve bu değer ölçüm olarak alınmıştır. Alınan binlerce ölçüm sonucunda iletkenlik için histogramlar oluşturulmuş ve belirlenen molekülün iletkenlik değerleri elde edilmiştir.

Birçok *E. coli* suşu patojeniktir ve bir veya daha fazla Shiga zehrini üretir (Johannes ve Römer, 2010). Shiga zehri diyare ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlara neden olur (O'Brien vd., 1984). Shiga zehri üreten *E. coli* O157:H7 bakterilerinin SMBJ yöntemi ile tespit edilip edilemeyeceğinin deneyler ile belirlenmesi için mRNA sekansı üzerinde zehir etkisinde rol oynadığı bilinen 15 baz çiftinden oluşan kısım seçilmiştir. Seçilen mRNA ve tamamlayıcı DNA Şekil 1.9'da gösterilmiştir.



Şekil 1.9: Hedef RNA (*E. coli* O157:H7) ve tamamlayıcı DNA prob dizilimleri.

Doğada benzer dizilimlerde olup, yalnızca bir baz değişimi ile farklı özelliklere sahip aynı türde mikroorganizmalar bulunabileceği gibi, farklı türlerde tek bir baz değişimine sahip mikroorganizmalar da bulunabilir. Bunun yanı sıra çeşitli sebeplerden dolayı bilinen bir dizilim üzerinde mutasyon gerçekleşebilir. Bu ölçüm tekniklerinin herhangi bir biyosensör uygulaması için kullanılabilmesi adına tekniğin spesifik olması önemlidir. Bir biyosensörün spesifik olması, ölçümlere müdahale edebilecek maddelerin de bulunduğu ortamda ayırt edici sonuçlar verebilmesidir. Bu yöntemde ise, tasarlanan DNA probuna bağlanabilen diğer RNA dizileri arasından hedeflenmiş RNA'nın ayırımını yapabilmektir. Bu gibi olasılıklar da düşünülerek yalnızca bir baz değişikliğine sahip ve ölçümler sırasında hedef RNA ile karıştırılabilecek dizilimler araştırılmış ve aşağıda gösterilen üç dizilime rastlanmıştır. Bu üç dizilim ve hangi türe ait oldukları aşağıdaki şekilde sunulmuştur.



Şekil 1.10: *E. coli* O157:H7 bakterisine ait dizilimden yalnızca bir baz değişimine sahip diğer bakteri türleri.

E. coli O157:H7 hibritine göre farklı olan baz sarı ile renklendirilmiştir. Bunlardan *E. coli* O175:H28 de Shiga zehri salgılayan *E. coli* ED1a bu zehri salgılamamaktadır

(Touchon vd., 2009). *Photobacterium damsela* (*P. damsela*) ise balıklarda etkili hastalık yapıcı başka bir tür bakteridir.

1.2 Literatür özeti

Son yıllarda, çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktiviteleri nedeniyle, nükleik asitler biyosensörlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Berney vd., 2000; Sharma vd., 2003). Nükleik asit bazlı biyosensörlerde, algılama elemanları, bilinen bir baz dizisine, DNA veya RNA'nın bir parçasına sahip oligonükleotidlerdir (Kavita, 2017). Nükleik asit bazlı biyosensörlerde genel olarak ya çok spesifik DNA:RNA hibritleşmesi ile ya da nükleik asitlerin spesifik moleküller ile etkileşmesi sonucu algılama sağlanır (Millan ve Mikkelsen, 1993; Erdem, 2000; Campbell vd., 2002; Prabhakar vd., 2007). DNA/RNA tabanlı biyosensörler, dizilimlere özgü bilgileri geleneksel olanlara göre daha hızlı, kesin, basit ve ucuz bir şekilde sunabilme potansiyellerinden dolayı bilim ve teknolojide büyük bir ilgi görmektedir (Kavita, 2017).

1990'lardan itibaren genetik maddenin elektriksel iletkenliğini ölçmeye yönelik deneysel girişimler başlamıştır (Reed vd., 1997). Değişik deneysel yaklaşımlar kullanan farklı gruplar tarafından nükleik asitlerin yarı iletken (Porath vd., 2000; Yoo vd., 2001), iletken (Cai vd., 2000; Fink ve Schonberger, 1999) ve yalıtkan (Braun vd., 1998; Storm vd., 2001) olmak üzere geniş bir elektriksel özellik yelpazesi raporlanmıştır ve bunun sebebi olarak nükleik asitlerin hem çevresel etkilerden etkilendiğini hem de kendi özelliklerinden (dizilim şekli, uzunluk) dolayı çeşitli elektriksel özelliklere sahip olduğu düşünülmektedir.

2000'li yılların başında Xu ve çalışma arkadaşları tarafından tek bir molekülden geçen elektrik akımının ölçülebileceği gösterilmiştir (Xu vd., 2003). Bunun üzerine DNA, RNA gibi moleküllerinin elektriksel özelliklerini anlamaya yönelik çalışmalar artmıştır. Son yıllarda geliştirilen, SMBJ ölçümleri çift iplikli DNA veya DNA:RNA hibritlerinin iletkenliğinin moleküler seviyede ölçülebildiğini gösterilmiştir (Xiang, vd., 2015; Li, vd., 2016). Bu yöntemin en iyi özelliklerinden bir tanesi ölçümlerin nükleik asitlerin bulunduğu çözeltiler içerisinde gerçekleştirilmesidir. Çevresel etkilerin daha iyi anlaşılmasına başlanması ile birlikte nükleik asitlerin elektriksel özellikleri hakkında çeşitli sonuçlar oluşmaya başlamıştır. Bu alanda yapılan ilk deneylerden biri Xu ve meslektaşları tarafından gerçekleştirilmiştir (Xu vd., 2004). Deneylerinde 8 ile 14 baz çifti arasında değişen uzunluklarda GC baz çiftinden oluşan

DNA yapılarının iletkenliği ölçülmüş ve sonuç olarak uzunluğa göre ters orantılı şekilde iletkenliğin değiştiği gösterilmiştir. GC baz çifti yerine AT baz çifti eklendiğinde ise iletkenliğin düştüğü raporlanmıştır. 2005 yılında Arizona Üniversitesi'ndeki araştırmacılar tarafından yapılan başka bir çalışmada 11-12 baz çiftinden oluşan kısa çift iplikli DNA dizilimlerinde GT baz uyumsuzluğu bulunması durumunda elektriksel iletkenliğin arttığı görülürken (Hihath, 2005) bir başka çalışmada da AC baz uyumsuzluğunun bulunması durumunda elektriksel iletkenliğin düştüğü raporlanmıştır (Seidel, 1996). Yine literatürde bulunan bazı çalışmalarda nükleik asit dizilimine göre üzerindeki elektron taşınım mekanizmasının tünelleme (Risser, Beratan ve Meade, 1993) veya elektron atlama (Bixon vd., 1999) şeklinde olabileceği gösterilmiştir. Ayrıca, nükleik asitleri oluşturan bazlardan, pürinlerin (A ve G), pirimidinlerden (C,T,U) daha fazla yük taşınımında rol aldığı raporlanmıştır (Berlin vd., 2001).

RNA gen ekspresyonunda çok önemli bir role sahiptir ve hücre içindeki biyokimyasal reaksiyonlardan sorumludur (Clancy, 2008). Bunun yanında, RNA birçok organizmanın immünolojik tepkilerinde de yer almaktadır (Eddy, 2001). RNA bu görevlerini yerine getirirken çoğu zaman DNA ile hibrit halindedir. Dolayısıyla birçok kişi için DNA:RNA hibritlerinin elektriksel özelliklerinin çalışılması büyük önem kazanmıştır ve bu amaçla farklı çalışmalar yapılmıştır. GC baz çifti bakımından zengin DNA:RNA hibritlerinin iletkenliğinin, eşdeğer çift iplikli DNA dizisinden daha yüksek iletkenlik değerlerine sahip olduğu bulunmuştur (Liv d., 2016). Yine aynı çalışmada artan uzunluğa göre DNA:RNA hibritlerinin daha hızlı iletkenlik düşüşü sergilediği raporlanmıştır. Bir başka çalışmada, Kratochvílová ve çalışma arkadaşları tarafından DNA:RNA hibritlerinin çift iplikli DNA'lara göre konformasyonel olarak daha esnek olduğu ve daha geniş elektron boşluk alanına sahip olduğu bulunmuştur (Kratochvílová, 2013).

DeneySEL çalışmalarda gözlenen olayların fiziksel mekanizmalarını anlamaya yönelik teorik çalışmalar özellikle DNA ve/veya RNA dizilerinin moleküler yapılarının bulunmasına ve bu yapıların elektriksel özelliklerinin hesaplanmasına odaklanmaktadır. Nükleik asitler esnek polimerlerdir, bu nedenle çok farklı geometrilere bulunabilirler. Nükleik asitlerin bu özelliklerini anlamak önemlidir. Ancak deneySEL olarak çeşitli sınırlamalardan dolayı bununla ilgili zor bilgi edinebilmekte ve hatta çoğu karakterizasyon tekniklerinden (atomik kuvvet

mikroskobu, optik cımbızlar, nano-boşluklardan geçirgenlik vb.) elde edilen veriler düşük çözünürlükte olduklarından yeterince detaylı bilgi vermemektedir (Perez vd., 2012). Nükleik asitlerin yapıları için kesin deneysel verilerin olmaması, fiziksel özelliklerinin yeterince iyi anlaşılmasını engeller, bu nedenle farklı simülasyon teknikleri ile yapılar üzerinde incelemeler yapılmaktadır. Bu konuda moleküler dinamik çalışmaları DNA üzerindeki yapısal veriler için en önemli bilgi kaynağı haline gelmiştir (Mccammon, 1977). Örneğin, moleküler dinamik simülasyonları sonucunda DNA yapısının su içerisinde A formundan B formuna dönüşüm dinamiği gösterilmiş (Chetham ve Kollman, 1997a), farklı dizilimler için DNA molekülünün kararlılığının değiştiği raporlanmıştır (Chetham vd., 1997). Yine moleküler dinamik ile nükleik asitlerin çeşitli iyon konsantrasyonların yapılarına etkisi (Sergei vd., 2004; Várnai ve Zakrzewska, 2004), DNA:DNA, RNA:RNA ve DNA:RNA çift sarmallar arasındaki yapısal farklılıklar (Chetham ve Kollman, 1997a) modellenmiştir.

Nükleik asitlerin yapısal özelliklerinin anlaşılabilmesi için geliştirilen modelleme tekniklerinin yanı sıra elektriksel özellikleri üzerine de birçok çalışma yapılmıştır. DNA ve/veya RNA gibi moleküller üzerinden ölçülen elektrik akımları sırasında küçülen boyutlar sebebi ile artık klasik Ohm yasası yerine kuantum yasaları geçerli olmaya başlar. Bu nedenle bu kadar küçük moleküller üzerinden iletilen elektronların hareketinin anlaşılması yeni geliştirilecek teknolojiler için önemlidir. Bu konu üzerine teorik olarak birçok çalışma bulunmaktadır.

Yük taşınımı üzerine yapılan teorik hesaplamalar sonucunda ardışık bazlar arasındaki mesafe ve açının değişmesinin elektron iletim kanallarında değişkenliğe neden olabileceği gösterilmiştir (Adessi vd., 2003). Buna ek olarak, deneysel çalışmalarda da görülen uzunluk ve dizilime göre iletkenliğin değişmesi modellenip, raporlanmıştır (Meggers vd., 1998; Yoo vd., 2001). Bunların yanında, iki metal kontak arasında yer alan DNA moleküllerinin iletkenliği farklı gruplar tarafından modellenmiştir (Gutierrez vd., 2005; Malyshev, 2007; Mallajosyula vd., 2008; Macia vd., 2016). Bahsedilen bu çalışmaların çoğunda nükleik asitlerin atom koordinatları sabit alınıp bunun üzerinden hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Ancak, gerçekte moleküller hep hareket halindedir. Bununla ilgili literatürde moleküler dinamik ve *ab initio* yaklaşımlarının aynı anda kullanıldığı ve moleküllerin zaman içindeki hareketlerinin elektriksel iletkenliğe etkisi üzerine birçok çalışma bulunmaktadır. Örneğin Gutierrez ve diğerleri tarafından moleküler dinamik ve kuantum mekaniksel hesaplamaların

kombinasyonlarını kullanarak yük taşınımında DNA konformasyonel dalgalanmalarının önemli olduğu ve iletkenlikteki etkileri gösterilmiştir (Gutierrez vd., 2009). Mallajosyula ve çalışma arkadaşları ise çeşitli fizyolojik koşullar altında dört farklı DNA dizisinde elektriksel yapı ve iletim olasılığını analiz etmek için moleküler dinamik simülasyonları ve yoğunluk fonksiyonel teorisini beraber kullanmışlardır (Mallajosyula vd., 2008). Chattopadhyay ve Mukherjee tarafından ise çeşitli iyonlar ile birlikte A-DNA'dan B-DNA'ya geçiş sırasında elektriksel özelliklerin değişimi üzerine çalışmışlar ve moleküler dinamik simülasyonları ile elde ettikleri yapılar üzerinde yoğunluk fonksiyonel teorisi kullanarak moleküler orbital analizleri yapmışlar (Chattopadhyay ve Mukherjee, 2011) ve sonuç olarak sistemdeki termal dalgalanmaların elektriksel özellikleri etkilediğini bulmuşlardır.

Literatürden elde edilen bilgiler ile DNA:RNA hibritlerinin elektriksel özelliklerinin modellenmesi için gerekli alt yapı bilgisi edinilmiş ve bu doğrultuda moleküler dinamik ve yoğunluk fonksiyonel teorisi bazlı simülasyonlar ve hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

2 TEORİK MODEL VE YÖNTEM

Moleküler modelleme, biyolojik moleküller, metaller, seramikler gibi birçok malzemenin özelliklerini anlamak, yeni davranışlarını öngörmek için kullanılan teorik hesaplama yöntemlerinin tümünü kapsamaktadır. Bu yöntemler, malzeme biliminde, yeni ilaçların tasarımında ve birçok kimyasal sistemin işleyişini anlamak adına önemli ve yaygın olarak kullanılan yöntemlerdir. Moleküler modelleme yapılırken en çok dikkat edilmesi gereken şey kullanılan yöntemin doğruluğu ve bu doğruluğa ulaşmak için harcanan süredir. Hesaplama yapılacak sistemin boyutu ne kadar büyükse sonuca ulaşmak için gereken süre o kadar fazla olmaktadır. Bu nedenle hesaplanacak özellik için doğruluk ve süre bakımından en uygun hesaplama yöntemi seçilmesi gerekmektedir.

Bu tez kapsamında her bir DNA:RNA hibrit yapılarının karakteristik yapılarını bulmak için atomistik modelleme yöntemlerinden moleküler dinamik, elektriksel özelliklerini anlamak için kuantum mekaniksel hesaplama yöntemlerinden yoğunluk fonksiyonel teorisi (Density Functional Theory, DFT) kullanılmış ve yapıların elektriksel iletkenliklerini ölçmek için Green fonksiyonu kullanılarak durum yoğunlukları (Density of States, DoS) ve elektron geçişi olasılıkları hesaplanmıştır. Bu bölümde bahsedilen yöntemler tez kapsamında yapılan çalışmaların daha iyi anlaşılması adına genel olarak tanıtılmış ve daha sonra bu tez çalışmasında belirtilen hesaplamaların hangi parametreler kullanılarak yapıldığı sunulmuştur.

2.1 Moleküler Dinamik

Moleküler dinamik (MD) yöntemi, atomların, moleküllerin belirli bir süre boyunca birbirleriyle etkileşiminin incelenmesidir. MD simülasyonları sonucunda, moleküllerin olası üç boyutlu geometrileri (konformasyon), termodinamik özellikleri ve belirlenen zaman içerisindeki dinamik davranışları (örneğin DNA'nın su ortamında boyunun uzaması, etanol ortamında ise kısalması gibi) hakkında bilgi edinilir.

MD simülasyonlarında, sistemin zaman içerisindeki davranışının araştırılması için Newton'un hareket denklemi (Denklem 2.1) ile kuvvetin potansiyel enerji tanımı

(Denklem 2.2) kullanılarak Denklem 2.3 elde edilir. Burada her i 'nci atom üzerine etki eden kuvvet F_i , bu atomların kütleleri ve ivmeleri sırasıyla m_i ve a_i , sistemin potansiyel enerjisi U , ve zaman ise t olarak tanımlanmıştır.

$$F_i = m_i a_i \quad (2.1)$$

$$F_i = -\frac{dU}{dx_i} \quad (2.2)$$

$$-\frac{dU}{dx_i} = m_i \frac{\partial^2 x_i}{\partial t^2} \quad (2.3)$$

Bir MD simülasyonunda genel olarak Denklem 2.3'e sistemdeki potansiyel enerji fonksiyonunun tanımlaması yapılır ve bu denklem sayısal yöntemler (genellikle Verlet (Verlet, 1967) algoritması kullanılarak) ile çözülür. Bu sayede atomların bir sonraki zaman dilimindeki konumları ve doğal olarak hızları bulunur. Yeni bulunan konumlar kullanılarak tekrar atomlar üzerindeki kuvvet hesaplanır ve yine Denklem 2.3 ile daha sonraki zamandaki yeni konumları bulunur. Bu şekilde, bir döngü içerisinde, sistemin dinamik davranışları incelenir. Bulunan her yeni konum için, MD programları atomların koordinatlarını çıktı olarak alır ve böylece istenilen süre boyunca parçacıkların hareketi kaydedilmiş olur. Daha sonra program çıktıları üzerinden analizler yapılarak parçacıkların farklı konformasyonları veya termodinamik özellikleri incelenir.

MD simülasyonlarını gerçekleştirebilmek literatürde sayısız yazılım ve çeşitli sistemler için tasarlanmış, potansiyel enerji fonksiyonu tanımlamada kullanılan, kuvvet alanları (force fields) bulunmaktadır. Bu tez kapsamında AMBER 16 (Case vd., 2016) yazılım paketi kullanılmış ve içerisindeki kuvvet alanlarından yararlanılmıştır. Bu nedenle MD ile ilgili diğer bilgiler bu program üzerinden anlatılacaktır.

2.1.1 Potansiyel enerji fonksiyonu

MD simülasyonlarının doğruluğu ve güvenilirliği direkt olarak parçacıklar arası etkileşimleri tanımlayan potansiyel enerjiye bağlıdır. Potansiyel enerji fonksiyonu, atomların konumlarının bir fonksiyonu olarak tanımlanır. Bu fonksiyon aşağıda gösterildiği gibi kovalent etkileşimler ve kovalent olmayan (non-kovalent) etkileşimler olmak üzere iki ayrı terime ayrılmaktadır.

$$U(\vec{r}) = \sum U_{kovalent}(\vec{r}) + \sum U_{non-kovalent}(\vec{r}) \quad (2.4)$$

Kovalent etkileşimler harmonik potansiyeller olarak atomlar arasındaki bağ uzunluğu (Denklem 2.5), bağ açısı (Denklem 2.6), burulma veya dihedral açısı için (Denklem 2.7) olarak tanımlanır. Kovalent bağlı iki atom (i ve j) arasındaki titreşim hareketi bağ potansiyeli ile aşağıdaki gibi verilir. Burada $r_{ij} = \|\vec{r}_i - \vec{r}_j\|$ atomlar arasındaki uzaklık, r_{eq} denge uzaklığı ve k yay sabitidir.

$$U_{bağ} = k(r_{ij} - r_{eq})^2 \quad (2.5)$$

Kovalent olarak bağlanmış üç atom (i , j ve k) arasındaki açının tanımlanması için gerekli bağ açısı potansiyeli açısal titreşimler olarak Denklem 2.6'daki gibi hesaplanır. θ üç atom arasındaki açıyı ifade eder ve $\vec{r}_{ij} = \vec{r}_j - \vec{r}_i$ vektörü ile $\vec{r}_{kj} = \vec{r}_j - \vec{r}_k$ vektörü arasındaki açıdır. θ_{eq} denge açısı ve k_θ açısal sabitidir.

$$U_{açı} = k_\theta(\theta - \theta_{eq})^2 \quad (2.6)$$

Dihedral açı potansiyeli, ardışık bağlı dört atomun ilk üçlü ve son üçlü olarak oluşturdukları düzlemler arasındaki açının titreşimini tanımlamaktadır. ϕ iki düzlem arasındaki açı, γ faz kaymasıdır. n periyodikliği ifade eden bir sabit sayı, V_n burulma için aşılması gereken enerji bariyeri yüksekliği ve k çarpım sabitidir.

$$U_{dihedral} = \sum \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \gamma)] \quad (2.7)$$

Kovalent olmayan etkileşimler Lenard-Jones potansiyeli ve elektrostatik potansiyel olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Lenard-Jones potansiyeli, uzak atomlar arasındaki zayıf dipol çekimlerini ve atomların birbirlerine yaklaştığında oluşan çekirdek çekirdek itmelerini tanımlamak için aşağıdaki gibi hesaplanmaktadır.

$$U_{LJ} = 4\varepsilon_{ij} \left[\left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^{12} - \left(\frac{\sigma_{ij}}{r_{ij}} \right)^6 \right] \quad (2.8)$$

Bu denklemde, r_{ij} iki atom arasındaki uzaklığı, ε_{ij} i ve j atomları arasındaki etkileşim potansiyelinin derinliği ve σ_{ij} potansiyelin sıfır olduğundaki iki atom arasındaki mesafeyi ifade etmektedir. ε_{ij} ve σ_{ij} her atom çifti için değişmektedir.

Elektrostatik potansiyel, aynı işaretli yüke sahip atomlar için itici ve zıt işaretleri olanlar için ise çekici etkileri tanımlamak için kullanılır ve Denklem 2.8’de gösterildiği gibi Coulomb yasası ile hesaplanır. q_i ve q_j atomlar üzerindeki yükler, $\varepsilon(r_{ij})$ uzaklığa bağlı olarak değişen dielektrik fonksiyonudur.

$$U_{el} = \frac{q_i q_j}{\varepsilon(r_{ij}) r_{ij}} \quad (2.8)$$

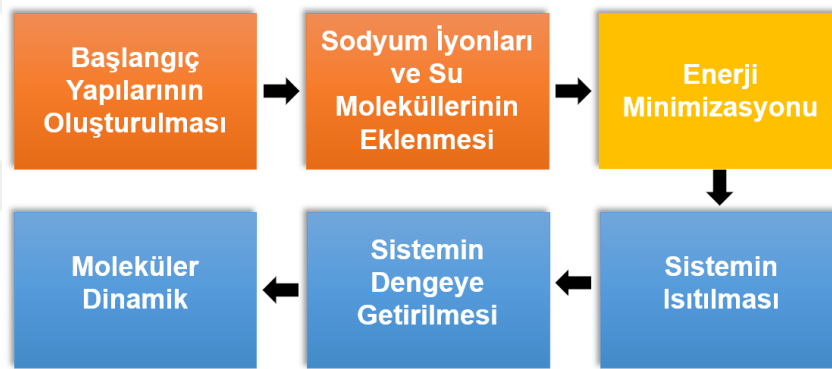
2.1.2 Kuvvet alanları (force fields)

Kuvvet alanları, MD simülasyonlarında sistemin potansiyel enerjisinin hesaplanabilmesi için gerekli parametrelerin bulunduğu program girdileridir. Yukarıda da belirtildiği gibi bir MD simülasyonunun güvenilirliği bu parametrelerin düzgün bir şekilde seçilmesiyle yakından ilintilidir. Bu parametreler çıkartılırken deneylerden, kuantum mekaniksel hesaplardan ya da her ikisinden de yararlanılmaktadır.

Literatürde farklı sistemler için geliştirilmiş birçok kuvvet alanı bulunmaktadır. Bunlardan AMBER (Dickson vd., 2014), CHARMM (MacKerell vd., 2001) ve GROMOS (Gunsteren, 1987) biyomoleküller için en çok kullanılan üçüdür. Hangisinin deneysel veriler ile daha çok örtüştüğüne dair literatürde çeşitli çalışmalar bulunmaktadır (Martin, 2006; Guvench ve MacKerell, 2008; Smith vd., 2015; Dans vd., 2017). Ancak tek bir kuvvet alanının tüm sistemlerde en iyisi olduğunu söylemek imkansızdır. Bu nedenle kullanılacak sisteme en uygun kuvvet alanının seçilmesi gerekmektedir. Bu tez kapsamında DNA-RNA hibrit molekülünün yapısının araştırılabilmesi için literatürde bulunan DNA ve RNA molekülleri ile ilgili MD çalışmaları incelenmiş ve çalışılan sistemi tanımlayabilmek için konuyla alakalı çalışmalarda kullanılan kuvvet alanları seçilmiştir. DNA molekülü için AMBER kuvvet alanı üzerinden DNA için gereken düzeltmelerin yapıldığı, literatürdeki en son kuvvet alanı bsc1 (Ivani vd., 2016) kullanılırken, RNA molekülü için yine AMBER kuvvet alanının RNA molekülleri için düzenlenmiş parametrelerin bulunduğu ff99OL3 (Perez, A. vd., 2007; Zgarbova vd., 2011) kuvvet alanı kullanılmıştır.

2.1.3 Simülasyon akışı ve kullanılan diğer parametreler

Bu tez kapsamında yapılan MD simülasyonlarında her bir DNA:RNA hibrit yapısının konformasyonlarının bulunması için bu bölümde anlatılan adımlar verilen sıraya göre yapılmıştır. Akış şeması Şekil 2.1’de gösterilmiştir. Öncelikli olarak A formuna sahip 15 baz çiftine sahip DNA:RNA hibrit yapıları Nucleic Acid Builder web sitesi (Url-1) kullanılarak oluşturulmuştur. Oluşturulan hibrit yapılar her bir tarafından 10 Å uzaklıkta olacak şekilde TIP3P (Jorgensen, 1983) su molekülleri ile çevrelenmiştir. Burada sistem, mümkün olan en az sayıda su molekülünün kullanılmasını sağlayacak şekilde sekizyüzlü (octahedron) periyodik kutu içerisine yerleştirilmiştir. Sırasıyla yapıların enerji minimizasyonu gerçekleştirilmiş, sistem 300 K’ye ısıtılarak sıcaklık dengeye getirilmiş ve daha sonra bu sıcaklıkta moleküler dinamik simülasyonları AMBER 16 (Case vd., 2016) yazılım programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.



Şekil 2.1: Yapıların belirlenmesi için gerçekleştirilen iş akış şeması.

Öncelikli olarak su molekülleri ve iyonlar için enerji fonksiyonunun minimumu 500 adım gradyan iniş (gradient descent) ve daha sonra 500 adım da eşlenik gradyan (conjugate gradient) yöntemleri kullanılarak hesaplanmıştır. Bu hesaplamada DNA:RNA hibrit yapıları 25 kcal/mol kuvvet altında sabit tutulmuştur, böylece yalnızca solüsyondaki atomsal uyuşmazlıklar en aza indirilmiştir. Daha sonra, tüm sistem (DNA:RNA hibrit, su molekülleri ve iyonlar) 1500 adım gradyan iniş ve 1500 adım eşlenik gradyan yöntemleri kullanılarak minimize edilmiştir. Minimizasyon tamamlandıktan sonra, sistem sıcaklığı her 1 ps’de 3 K artırılarak 300 K’ye getirilmiştir. Sıcaklık artırılırken DNA:RNA hibrit yapısı bozulmaması için sabit tutulmuştur. Sistemin bu sıcaklığa alışabilmesi için, yine hibrit yapısı sabit tutularak, 50 ps için dengeleme simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Sistemin daha sonra 52.5 ns

boyunca moleküler dinamik simülasyonu tamamlanmıştır. Hidrojen atomları diğer atomlara göre oldukça küçük olduğundan, daha çok hareket edip sistemi bozabilmektedir. Bunun üstesinden gelmek için, SHAKE algoritması (Ryckaert, J. P., Ciccotti, G. ve Beÿrendsen, H.J.C., 1977) kullanılmış ve hidrojen atomlarının bağ uzunlukları simülasyon boyunca sabitlenmiştir. SHAKE algoritması kullanıldığında doğru bir hesaplama için, zaman aralığının maksimum alınabilecek değeri, 2 fs MD simülasyonlarında zaman adımı olarak kullanılmıştır (Ryckaert, J. P., Ciccotti, G. ve Beÿrendsen, H.J.C., 1977). Sistemdeki uzun mesafeli elektrostatik etkileşimler ise Particle Mesh Ewald yöntemi kullanılarak modellenmiştir (Darden, York ve Pedersen, 1998).

2.1.4 Yapıların kararlılıklarının hesaplanması

MD simülasyonları sonucunda her bir yapının belirli bir zaman aralığında dinamik hareketleri incelenebilmektedir. Bu tez kapsamında incelenen yapılar üzerinde bulunan mutasyonların sistemi nasıl etkilediğini araştırmak adına MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir. Oluşan etkilerin anlaşılabilmesi için çeşitli matematiksel analizler geliştirilmiştir. Her bir yapının simülasyon süresi içerisinde bir referans yapısı olarak A ve B formunda oluşturulan yapılara göre ne kadar değiştiği incelenmiştir. Buradan yapıların ne kadar değişken oldukları üzerinden kararlılık analizleri gerçekleştirilmiştir. Bunun için konformasyonlar arasındaki kare ortalamanın karakökündeki sapma (Root Mean Square Deviation, RMSD) hesaplanarak incelenmiştir. Simülasyon boyunca oluşan her bir yapının atomları ile aynı dizilime sahip A ve B formundaki yapıların atomları arasındaki RMSD değerleri hesaplanmıştır. Her iki yapının atomları arasındaki RMSD hesabının denklemi aşağıda verilmiştir (Denklem 2.9). Burada N simülasyon sonunda elde edilen toplam yapı sayısını, n bir yapıdaki toplam atom sayısını, $\vec{r}_{i,k}$ ve $\vec{r}_{j,k}$ i 'inci ve j 'inci yapıların k 'nci atomunun pozisyon vektörünü temsil etmektedir.

$$RMSD_{i,j} = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n (\vec{r}_{i,k} - \vec{r}_{j,k})^2} \quad i, j : 1 \rightarrow N \quad (2.9)$$

MD simülasyonları sonucunda elde edilen her bir konformasyonun A referansına göre alınan RMSD değerleri x eksenine, B referansına göre alınan RMSD değerleri ise y eksenine yerleştirilmiş ve her bir konformasyon için (x,y) ikilileri elde edilmiştir. Daha

sonra bunlar koordinat sistemindeki noktalar halinde çizdirilerek A-B dönüşüm diyagramları elde edilmiştir. Her bir nokta, temsil ettiği konformasyonun A formuna mı yoksa B formuna mı daha çok benzediği belirtmektedir. Bu analiz ile ilgili geliştirilen algoritma ekte sunulmuştur (EK 1).

2.1.5 MD sonuçlarından temsilci yapıların seçilmesi

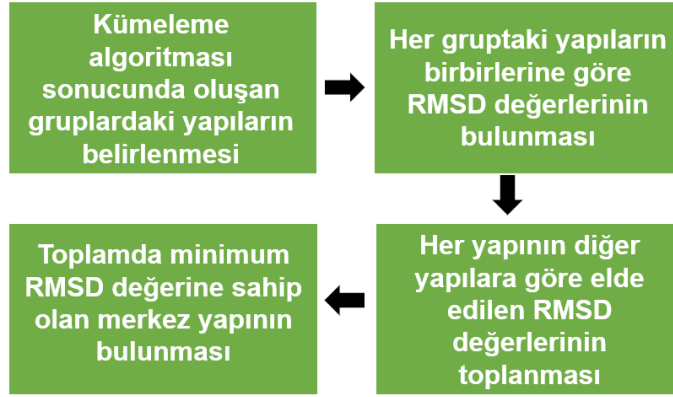
MD ile bir yapının zaman içerisindeki hareketi incelenebilmektedir. Simülasyon sonucunda, zaman adım sayısına ve yazdırma sıklığına göre çok sayıda yapı elde etmek mümkündür. Bu çalışmada, her bir yapının 50 ns'lik zaman dilimindeki hareketi incelenmiştir. Simülasyon zaman adımı 2 ps olarak alınmış ve sonuç olarak her bir yapı için zaman içerisinde oluşan 25 bin farklı konformasyon elde edilmiştir. Bu konformasyonlardan bazıları birbirine çok benzer iken bazıları birbirinden tamamen farklı olabilmektedir. 25 bin yapının aynı anda elektriksel özelliklerinin incelenmesi, zaman içerisinde elektriksel iletkenliğin nasıl değiştiğini anlamak adına önemlidir, ancak bu kadar çok yapının hesaplanabilmesi neredeyse imkansızdır. Bu nedenle bu yapılar arasından temsilci yapıların seçilmesi gerekmektedir.

Temsilci yapıları seçmek için çeşitli yöntemler uygulanabilir. Bu tez kapsamında temsilci yapılar seçilirken iki farklı yöntem uygulanmıştır birincide sistemi moleküler yapı olarak ikincisinde ise sistemi pürinler arasındaki uzunluklar cinsinden temsil edebilecek yapılar kümeleme (clustering) yöntemi kullanılarak seçilmiştir.

Kümeleme nesnelerin belirli bir özelliğine göre gruplandırılmasıdır. Bunun için geliştirilmiş birçok algoritma bulunmaktadır (Castro, 2002). MD sonucu elde edilen yapılar literatürde sıkça kullanılan VMD (Humphrey, Dalke ve Schulten, 1996) programı içerisindeki kümeleme eklentisi kullanılarak analiz edilmiştir ve bu programda yapıların birbirlerine benzeyip benzemedikleri her iki yapı için RMSD (Denklem 2.9) hesaplanarak yapılmaktadır.

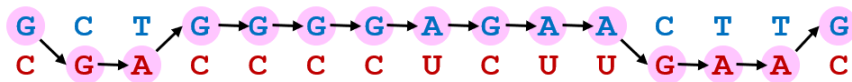
Seçilen bir RMSD eşik seviyesine göre yapılar kümelenebilir. Örneğin RMSD eşik değeri 0.5 Å ise, her bir küme içerisindeki yapıların birbirleriyle karşılaştırılığında RMSD değerleri 0.5 Å'ı geçmemektedir, yani bu yapılar birbirlerine diğer kümelerde olanlara göre daha çok benzemektedir. Burada her bir küme içerisinde bir merkez yapı bulunmaktadır ve küme içerisindeki diğer yapılar ile arasındaki RMSD değerlerin toplamı minimum olmaktadır. Bu yapı, ait olduğu kümedeki diğer yapıları temsil etmektedir. Her bir yapının elektriksel özelliklerini incelemek için 50 ns süresinde en

çok oluşan konformasyon yani kümeleme analizinde elde edilen en büyük grubun merkezindeki yapı 1. temsilci yapı olarak alınmıştır. Bu yapı alınırken python yazım dili kullanılmış ve aşağıda (Şekil 2.2) gösterilen akışa göre bir algoritma kurulmuştur (EK 2).



Şekil 2.2: Merkez yapıların bulunması için geliştirilen algoritma akış şeması.

Literatürde de bahsedildiği üzere pürinler (A ve G), pirimidinlerden (C,T,U) daha fazla yük taşımında rol almaktadır (Berlin vd., 2001). Bu nedenle, elektronik yapı analizleri için temsilci yapılar ayrıca pürinler arasındaki toplam mesafe üzerinden karşılaştırılarak (en uzun, en kısa ve ortalama) seçilmiştir. Burada elektronların bir uçtan diğer uca kadar olan mesafede en çok pürinleri tercih etme olasılığından yola çıkarak, bu yol pürin yolu olarak adlandırılmış ve tezin bundan sonraki kısmında bu şekilde bahsedilecektir.



Şekil 2.3: *E. coli* O157:H7 Shiga zehrini üreten 15 baz çifti uzunluğundaki kısımda Pürin yolunun şematik gösterimi.

Pürin yolunun şematik gösterimi Şekil 2.3'te verilmiş ve bu şekilde pürinler pembe ile belirtilmiştir. Pürin yolu hesaplanırken her bir pürin üzerindeki pirimidin halkalarının merkezlerinin koordinatları MD simülasyon çıktılarından tcl yazım dili kullanılarak bulunmuş (EK 3) ve merkezler arasındaki mesafe vektörel olarak, tek bir simülasyon çıktısı olan 25 bin yapının her biri için hesaplanmıştır. Daha sonra pürinler arasındaki mesafelerin hepsi toplanarak pürin yolu uzunluğu elde edilmiş ve uzunluğa göre dağılım histogramları oluşturulmuştur.

2.2 Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT)

Nano ölçekli sistemlerin elektriksel özelliklerini araştırmak ve anlamak için Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT), fizik, kimya veya malzeme biliminde, sıkça kullanılan bir kuantum mekaniksel hesaplama yöntemidir. Kuantum mekaniğinde bir atomun veya molekülün elektronlarının pozisyonlarını ve enerjilerini bulmak için Schrödinger denkleminin (Denklem 2.10) çözülmesi gerekmektedir (Parr ve Yang, 1989). Burada \hat{H} Hamiltonyen, E toplam enerjidir. \hat{H} 'nin açılımı Denklem 2.11'de verilmiştir. Bu denklemdaki ilk terim kinetik enerjiyi, ikinci terim potansiyel enerjiyi, üçüncü terim ise elektron – elektron etkileşim enerjisini tanımlamaktadır.

$$\hat{H}|\Psi\rangle = E|\Psi\rangle \quad (2.10)$$

$$\hat{H} = \left[\sum_i^N \left(-\frac{\hbar}{2m_i} \nabla_i^2 \right) + \sum_i^N V(\vec{r}_i) + \sum_{i<j}^N \left(\vec{r}_i, \vec{r}_j \right) \right] \quad (2.11)$$

Çok fazla elektrona sahip sistemler için bu denklemin analitik çözümü bulunmamaktadır. Sayısal çözümü ise teoride mümkün görünmesine rağmen, günümüz teknolojisi (bilgisayar hızı ve hafızası) ile pratikte mümkün değildir. DFT yöntemi, birkaç elektrondan daha fazla elektrona sahip sistemler için geliştirilmiş, hiçbir malzeme özelliğine dair parametreye ihtiyaç duymadan, Schrödinger denkleminin çözümüne yaklaşma yöntemidir.

DFT hesaplamaları yapılırken, elektron yoğunluğu kullanılır. Bu sayede hesaplama sırasında gerekli boyut düşürülmüş olur ve DFT'nin görece büyük sistemlere uygulanmasına olanak verilir. Burada yoğunluğun tanımlanması için sisteme mümkün olduğunca düşük bir hesaplama maliyetine sahip temel fonksiyonlar seçilmektedir. Farklı tip baz fonksiyonları bulunur, bunlardan bazıları Gaussian, Slater, polinom, düzlem dalga tipindeki fonksiyonlardır (Davidson ve Feller, 1986). Bunlardan Gaussian tipi fonksiyonlar kimyasal hesaplarda en çok kullanılanlardan biridir.

DFT yöntemi ile atomların veya moleküllerin elektronik yapısı, sistemin elektronlarına etki eden bir potansiyel, v , ile hesaplanır. Bu potansiyel, v_{ext} ve v_{eff} olmak üzere, sırasıyla sistemin yapısı ve element kompozisyonu tarafından belirlenen dış potansiyellerin ve elektronlar arasındaki etkileşimleri temsil eden etkin potansiyelin toplamıdır (Parr ve Yang, 1989). Buradan, Kohn-Sham denklemleri

olarak da bilinen bir tek elektronlu Schrödinger benzeri denklemler kümesi kullanılarak, n elektronlu bir sistemin elektriksel özellikler hesaplanabilmektedir (Parr ve Yang, 1989). Burada Kohn-Sham denklemleri kendi kendine tutarlı (self-consistent) bir şekilde çözülmektedir. Genel prosedür olarak, öncelikle elektron yoğunluğu tahmini yapılır ve V_{eff} hesaplanır ve Kohn-Sham orbitalleri elde edilir. Bu orbitaller kullanılarak tekrar bir yoğunluk hesabı yapılır ve bu süreç yakınsama sağlanana kadar devam eder. Son olarak sistemin toplam enerjisi ve son elektron yoğunluğu hesaplanır. Kohn-Sham denklemlerinde sadece bir terimin ne olduğu bilinmemektedir. Bu terim değiştirme korelasyonu (exchange-correlation) olarak adlandırılır ve elektron-elektron etkileşiminin klasik olmayan yönlerini, sistemin gerçek kinetik enerjisini içermektedir (Gritsenko, Schipper ve Baerends, 1997). Değiştirme korelasyonunun bilinmemesi nedeniyle çeşitli yaklaşımlar yapılmaktadır ve bu terim için hesaplanmış birçok korelasyon fonksiyonu bulunmaktadır. DFT hesaplamaları yapılırken herhangi bir sistem için kendisine en uygununun seçilmesi gerekir. Aynı MD simülasyonlarında olduğu gibi, sistem için en uygun parametrenin seçilmesi hesapların doğruluğunu ve güvenilirliğini artırmaktadır.

Bu tez kapsamında, DFT hesaplamaları yapılırken Gaussian 09 (Frisch vd., 2009) programı kullanılmıştır. Değişim korelasyonu olarak B3LYP ve temel fonksiyon için de 6-31g(d,p) parametreleri kullanılmıştır. Literatürde B3LYP nükleobazların iyonizasyon potansiyellerini hem ana hesaplama yöntemi olarak (Close ve Ohman, 2008; Cauet, Valiev ve Weare, 2010) hem de farklı metotlarla karşılaştırılmada (Russo, Toscano ve Grand, 2000; Cauët, Dehareng ve Liévin, 2006) kullanılmıştır. Yapılan bu hesaplamalarda B3LYP/6-31g(d,p)'nin gerçekleştirilen deneylerle uyumlu sonuçlar verdiği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra, CCSD ve MP2 gibi daha detaylı ve aynı zamanda uzun süren hesaplama yöntemleri B3LYP/6-31g(d,p)'ye göre daha doğru sonuçlar verebilir, ancak bu tez çalışmasında yapılan hesaplamaların asıl amacı farklı yapılardaki elektriksel özelliklerin karşılaştırılması olduğu için, sistemin büyüklüğü de göz önüne alındığında (~1000 atom), B3LYP/6-31g(d,p) hem hesaplama süresi hem de doğruluk arasında bir denge sağlamaktadır ve bu nedenle bu parametrelerin kullanılması tercih edilmiştir.

DFT hesaplamaları yapılırken, Na^+ iyonları yerine sisteme -28 yükü verilmiştir. Bu yük DNA:RNA hibritleri üzerindeki toplam yükü belirtmektedir.

DFT hesaplamalarında, elektronların kendileriyle etkileşimlerini (self-interaction) tanımlayan yoğunluk fonksiyonellerinden kaynaklanan hatalar (self-interaction error) ortaya çıkar. Bu hatalar nedeni ile biyomoleküllerin özellikle vakum ortamında elektronik yapılarının hesaplamasında bant boşluklarının hesaplanamadığı ve giderek bant boşluk enerjisinin değerinin sıfıra yaklaşması nedeniyle yakınsama (convergence) problemi olduğu gösterilmiştir (Rudberg, 2012). Bu problemi çözebilmek için ya su moleküllerinin de DFT hesabına katılması (explicit) ya da dolaylı (implicit) solüsyon ortamında bu hesapların yapılmasının gerekli olduğu gösterilmiştir (Rudberg, 2012). Bu tez çalışmasında, DFT hesaplamaları için dolaylı solüsyon yöntemlerinden polarize süreklilik yöntemlerinden IEFPCM (Integral Equation Formalism Polarizable Continuum Model) kullanılmıştır (Frisch vd., 2009).

2.3 Elektron Taşınım Hesapları

Elektron taşınımının anlaşılması ve modellenmesi güncel ve önemli problemlerden bir tanesidir. Bu amaçla geliştirilen teoriler incelendiğinde Boltzmann taşınım teorisi, sürüklenme-difüzyon modelleri ve kuantum taşınım yaklaşımlarının ön plana çıktığı görülmektedir (Datta, 2005; Patterson ve Bailey, 2010; (Selberherr, 1984)). Boltzmann taşınım teorisi ve sürüklenme-difüzyon modelleri daha çok katılar içerisindeki elektron/fonon taşınımlarının anlaşılmasında kullanılır. Bu teorilerde kullanılan denklemler hem elektron tünelleme olayını içermemekte hem de moleküller arasındaki iletimi (difüzyon katsayısının moleküle de bağlı olması ve tam olarak bilinmemesi nedeni ile) açıklayamamaktadır. DNA, RNA gibi nükleik asit tabanlı moleküllerde, elektronlar tünelleme yolu ile de iletilebilir (Berlin vd., 2001) ve bu moleküllerin taşınım modellerinde kullanılan difüzyon katsayılarının değerleri tam olarak hesaplanamamaktadır. Bu nedenlerle, hem Boltzmann taşınım teorisinin hem de sürüklenme-difüzyon denklemlerinin kullanılması nükleik asitlerdeki elektron taşınımını anlamak için yeterli olmamaktadır. Aşağıda daha detaylı bir şekilde anlatıldığı şekilde, kuantum taşınım yaklaşımları elektronların atom ve moleküller üzerindeki geçebilme olasılıklarını kullanır ve bu nedenle elektron tünelleme olayının da hesaplara dahil edilmesini sağlar. Kuantum taşınım yaklaşımları, bu özellikleri nedeni ile, tez kapsamında yapılan taşınım hesaplamalarında kullanılmıştır.

Elektronik bir cihazın boyutu nanometre skalasına küçültüldüğünde, her bir atomun hatta elektronun sistem içerisindeki iletkenliğe olan katkısı daha önemli bir hale

gelmeye başlar. Örneğin, makroskopik bir sistemde cihaz ve elektrot arasındaki bağlantı ihmal edilebilirken, nano boyuta inildiğinde bu bağlantı cihazın iletkenliğinin belirlenmesinde önemli bir role sahiptir. Bu nedenle nano boyutta bir sistemin modellenebilmesi için Ohm yasası geçerli değildir ve yeni modelleme yöntemlerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu anandaki başarılı yaklaşımlardan bir tanesi Landauer-Buttiker formülasyonudur (Qi vd., 2013). Bu teoride cihazın iletkenliği elektronun bir bağlantı noktasından diğerine geçebilme olasılığı üzerinden hesaplanır (Mehrez ve Anantram, 2005). Hesaplamalara, moleküllerin bulunduğu ortamın da elektron taşınımını etkileyeceği düşünülerek, kuantum eşevresizlik (decoherence) etkisi eklenmiştir. Daha önce Kubar ve Elstner tarafından hibrit QM/MM çalışmaları yapılarak çevrenin yük taşınımına etkisi incelenmiştir (Kubar ve Elstner, 2008). Zilly, Ujsaghy ve Wolf tarafından yük taşınımında kendileri tarafından istatistiksel eşevresizlik modeli geliştirilmiştir (Zilly, Ujsaghy ve Wolf, 2010). Anantram ve grubu tarafından geliştirilen modelde ise eşevresizlik sisteme öz enerji olarak verilmektedir. Buna benzer bir yaklaşım basitleştirilmiş Hamiltonyen modeli ile Li ve Yan tarafından da kullanılmıştır (Li ve Yan, 2001). Anantram ve grubunun geliştirdiği model, DFT ile tüm molekül için hesaplanan Hamiltonyeni kullandığı için literatürde bulunan diğer modellere göre doğruluğunun daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Qi vd., 2013).

Genel olarak molekül boyutundaki cihazlar üzerinden geçen akım Denklem 2.12'de (Qi vd., 2013) gösterildiği gibidir.

$$I = \frac{2q}{h} \int_{-\infty}^{+\infty} T(E) [f(E - \mu_L) - f(E - \mu_R)] dE \quad (2.12)$$

Bu denklemden, q elektronun yükü, h Planck sabiti, $T(E)$ E enerjisine sahip bir elektronun bir bağlantı ucundan diğerine geçebilme olasılığı, $f(E - \mu_{L(R)})$ E enerjisine sahip bir elektronun sağ ve sol elektrotlardaki dağılımını tanımlayan fermi fonksiyonudur. Buradaki fermi fonksiyonunun k_B Boltzmann sabiti ve T sıcaklık ile tanımı Denklem 2.13'te verilmiştir.

$$f(E - \mu_{L(R)}) = \frac{1}{\exp\left(\frac{E - \mu_{L(R)}}{k_B T}\right) + 1} \quad (2.13)$$

DFT hesapları tamamlandıktan sonra elektron taşınım hesapları için gerekli olan Hamiltonyen H_0 ve örtüşme (overlap) S_0 matrisleri elde edilmiştir. Löwdin transformasyonu aşağıdaki denklemde gösterildiği şekilde kullanılmış ve H_0 ortogonalleştirilerek ortogonal Hamiltonyen H matrisi elde edilmiştir.

$$H = S_0^{-\frac{1}{2}} H_0 S_0^{-\frac{1}{2}} \quad (2.14)$$

Burada, H 'nin diyagonal elemanları, her atomik orbitaldeki enerji seviyelerini, diyagonal olmayan elemanları ise farklı atomik orbitaller arasındaki bağlantıyı temsil etmektedir. Molekül üzerindeki elektron iletimi, bu matris elde edildikten sonra Green fonksiyonu yöntemi ile hesaplanmaktadır. Molekülün ortam ile olan etkileşiminin etkisi ise Buttiker formülasyonu (D'Amato ve Pastawski, 1990; Qi vd., 2013) kullanılarak sisteme dahil edilmiştir. Green fonksiyonu Denklem 2.15'deki gösterildiği gibi çözülmektedir. Bu denklemde E enerji seviyesi, H Denklem 2.14'te tanımlanan ortogonal Hamiltonyen matrisi, $\Sigma_{L(R)}$ elektronların molekülün bir ucundan girip diğer ucundan çıktığı sol (sağ) bağlantı noktalarının enerjisidir. Σ_B ise molekül ve Buttiker uçları arasındaki bağlantıyı temsil eden enerjidir.

$$\left[E - (H + \Sigma_L + \Sigma_R + \Sigma_B) \right] G^r = I \quad (2.15)$$

Bağlantı noktalarındaki enerji $\Sigma_{L(R)} = -\frac{i}{2} \Gamma_{L(R)}$ olarak tanımlanır ve burada i sanal birimdir ve $\Gamma_{L(R)} = 600$ meV olarak alınmıştır. Buttiker uçları enerjisi

$$\Sigma_B = \sum_i -\frac{i}{2} \Gamma_i$$

olarak tanımlanır ve buradaki Γ_i i 'inci uç ile sistem arasındaki bağlantıyı temsil etmektedir ve $\Gamma_i = 10$ meV olarak alınmıştır. Buttiker uçları sisteme her bir baz çiftinden (şeker kısmı ile beraber) ve her bir atomun kendisinden olmak üzere iki farklı şekilde sunulmuştur. Elektronlar, elektron-fonon etkileşimleri ve oda sıcaklığındaki cihazlarda yaygın olarak görülen ortamın elektriksel etkisi nedeniyle elastik olmayan saçılmalara maruz kalabilir. Bu da sistemdeki kuantum etkilerin azalmasına neden olur. Elektron taşınımı modellenirken Buttiker uçları kullanılarak sisteme bu etki verilmiştir. Burada, Buttiker etkilerinin, hem tek tek atomlar üzerinden hem de tek tek bazlar üzerinden verilmesi durumları ayrı ayrı incelenmiştir. Her i 'inci uçtaki akım aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır.

$$I_i = \frac{2q}{h} \sum_{j=1}^N T_{ij} (\mu_i - \mu_j), \quad i = 1, 2, 3, \dots, N \quad (2.16)$$

Burada $T_{ij} = \Gamma_i G^r \Gamma_j G^a$ i 'inci ve j 'inci uçlar arasındaki elektron geçişi olasılığı ve $G^a = (G^r)^\dagger$ gelişmiş Green fonksiyonudur.

İki Buttiker ucu arasındaki net akım sıfır olduğu varsayılarak aşağıdaki denklem elde edilmiştir.

$$\mu_i - \mu_L = \left(\sum_{j=1}^{N_b} W_{ij}^{-1} T_{jR} \right) (\mu_R - \mu_L), \quad i = 1, 2, 3, \dots, N_b \quad (2.17)$$

Burada W_{ij}^{-1} , $W_{ij} = (1 - R_{ii})\delta_{ij} - T_{ij}(1 - \delta_{ij})$ 'nin tersi, $R_{ii} = 1 - \sum_{i \neq j}^N T_{ij}$ i 'inci uçtaki yansımaya olasılığını temsil etmektedir.

Molekülün sağ ve sol elektrota bağlantı noktalarında akım sıfır değildir ve Denklem 2.18 ile hesaplanmaktadır.

$$I_L = \frac{2q}{h} T_{eff} (\mu_L - \mu_R) \quad (2.18)$$

Denklem 2.16 ve 2.18 ile etkin elektron geçişi denklemi elde edilmektedir ve aşağıda gösterildiği gibidir.

$$T_{eff} = T_{LR} + \sum_{i=1}^{N_b} \sum_{j=1}^{N_b} T_{Li} W_{ij}^{-1} T_{jR} \quad (2.19)$$

Denklem 2.19'da T_{LR} sol ve sağ elektrotlar arasındaki eşvrelili elektron geçişini temsil etmektedir. İkinci terim ise Buttiker uçları ile verilen eşvresizlik terimidir. Denklem 2.18'den sapma olmaması durumundaki iletkenlik yaklaşık olarak $G = T_{eff} G_0$ 'dir ve

buradaki kuantum iletkenlik, G_0 , $G_0 = \frac{2q^2}{h} = 7.748 \times 10^{-5}$ S 'dir.

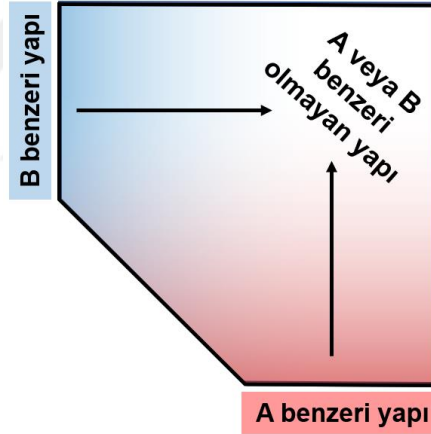
Elektron taşınım hesabıyla ilgili daha detaylı bilgiler M. P. Anantram ve grubunun çalışmalarında ayrıntılı olarak bulunabilir (Anantram, M. P. ve Datta, S., 1995; Svizhenko, A. ve Anantram, M. P., 2003; Mehrez, H. ve Anantram, M. P., 2005; Anantram, M. P., Lundstrom, M. S. ve Nikonov, D., 2008; Qi, J. vd., 2013).

2.4 Analiz Yöntemleri

Moleküler dinamik, DFT ve elektron taşınım hesaplarından elde edilen sonuçlar birçok yöntemle analiz edilmiştir. Bu kısımda, yapılan analizlerden kısaca bahsedilmiş ve hangi amaçla yapıldığına değinilmiştir. Bu yöntemler kullanılarak sonuçlar bir sonraki bölümde analiz edilmiş ve yorumlanmıştır.

İlk olarak, moleküler dinamik simülasyonlarından elde edilen 25 bin adet yapının incelemesi yapılmıştır. Burada mutasyonun yapı üzerindeki etkileri hakkında bilgi toplamak hedeflenmiştir.

Dizilimler üzerindeki baz değişimlerinin yapı üzerindeki etkilerinin anlaşılması için öncelikli olarak referans A ve B formundaki hibrit yapılarına göre aşağıdaki faz diyagramları elde edilmiştir. Bu diyagramlarda A formuna yakın alanlar kırmızı, B formuna yakın alanlar ise mavi ile belirtilmiştir. Beyaz alan yapının ne A ne de B olduğunu söylerken, sol alt taraftaki kesilmiş parça da A ve B yapısının aynı anda olamayacağını temsil etmektedir.



Şekil 2.4: Yapıların A veya B formu benzerliklerini gösteren diyagram.

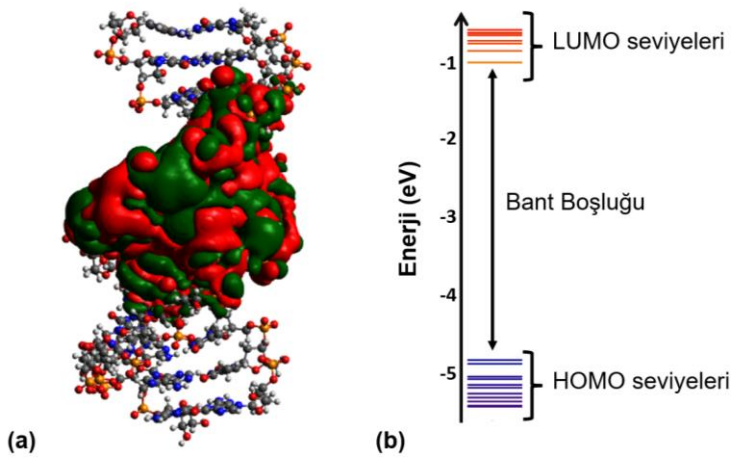
Burada noktalar diyagram üzerinde ne kadar çok dağılmışsa o kadar çok farklı konformasyonun bulunduğu yani sistemin kararsızlığı hakkında bilgi vermektedir.

Mutasyonlarının yapı üzerindeki etkilerini daha iyi anlamak için DNA ve RNA zincirleri arasındaki (iki baz çifti arasında) hidrojen (H) bağlarının sayısına bakılmıştır. H bağı yapabilen her iki atom arasındaki mesafe 3.1 Å veya bu değerden küçükse, bu iki atom arasında H bağı olduğu kabul edilmiştir. Buna göre her iki karşılıklı baz çifti arasındaki H bağı sayısı VMD programı kullanılarak her bir zaman dilimi için hesaplanmış ve birleştirilerek aşağıdaki şema elde edilmiştir. Bu şema ile 50 ns boyunca DNA:RNA hibrit yapısının kararlılığı incelenmiştir.



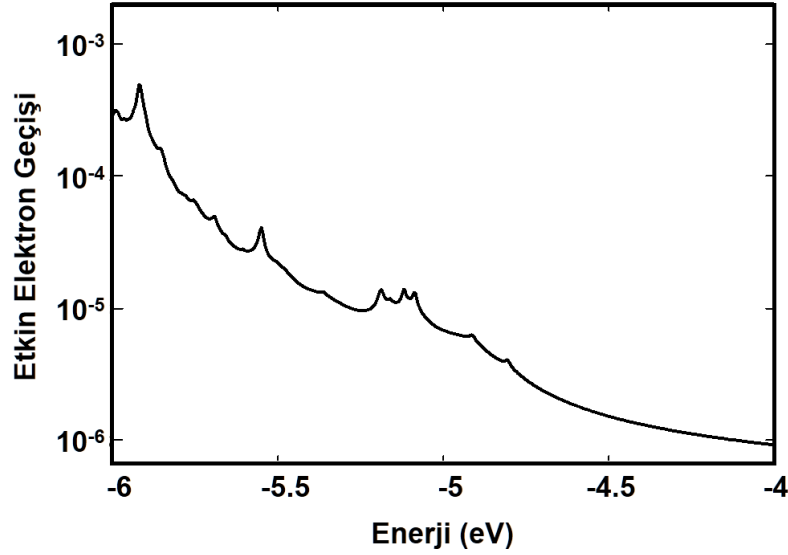
Şekil 2.5: Karşılıklı baz çiftleri arasındaki H bağı sayısını gösteren örnek şema. (Mor: 0, Turkuaz: 1, Yeşil: 2, Kırmızı: 3).

DFT sonucunda ise başlıca iki veri elde edilmektedir. İlki belirli bir enerji seviyesindeki moleküler orbitalin üç boyutlu gösterimidir (Şekil 2.6a). Burada önemli olan molekül üzerinde bu dağılımın nasıl olduğudur. İkincisi enerji seviyelerinin dağılımı (bant yapısı) ve bant boşluğu hesabıdır. En yüksek dolu orbital (Highest Occupied Molecular Orbital, HOMO) ve en düşük dolu olmayan orbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital, LUMO) arasındaki fark bant boşluğu olarak kabul edilir. Teorik olarak bant boşluğu ne kadar düşükse elektriksel iletim o kadar kolay olmaktadır.



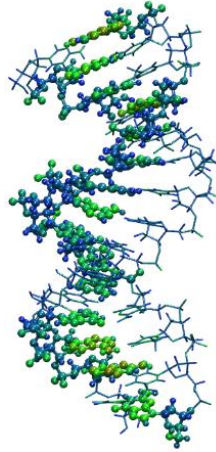
Şekil 2.6: (a) Moleküler orbitallerin molekül üzerindeki üç boyutlu yapısının ve (b) enerji seviyelerinin gösterimi.

Elektron taşınım hesaplarının sonucunda, etkin elektron geçişi (T_{eff}) – enerji grafikleri elde edilmektedir. Örnek olarak Şekil 2.7’de böyle bir grafik verilmiştir. Üç farklı yapının elektriksel özelliklerinin incelendiği bu grafiklerde fermi enerji değerlerinin bilinmesi durumunda bu enerji değerine karşılık gelen etkin elektron geçişi değerleri elde edilebilmektedir.



Şekil 2.7: Etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği örnek gösterimi.

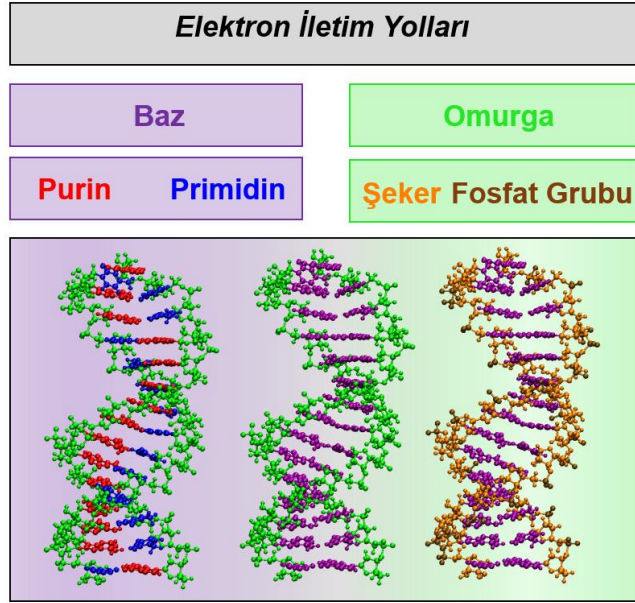
Elektron taşınım hesapları sonucunda yukarıdaki grafikten farklı olarak, elektronların durum yoğunluğu da hesaplanmaktadır. Bu tez kapsamında, hesaplanan durum yoğunluklarının (DoS) molekül üzerinde gösterimi de yapılmıştır (Şekil 2.8). Her bir atom için hesaplanan DoS değerleri, tel yazım dili kullanılarak her bir atoma karşılık gelecek şekilde (Buttiker ucu hesaplamalarına göre) VMD programı yardımıyla görüntülenmiştir. Böylece hangi atomların veya bazların iletkenlik üzerinde daha çok etkisi olduğu gözlemlenebilmektedir.



Şekil 2.8: Molekül üzerinde DoS gösterimi.

Burada, yapı üzerindeki atomlar iki farklı şekilde gösterilmiştir. Bunlardan top ve silindirik şeklinde gösterilen kısım pürin yolunu temsil etmektedir. Çizgi ile gösterilen kısım ise pirimidinlerin bulunduğu kısımdır. Renkler DoS değerlerini vermekte olup yeşil ve tonlarında bu değer yüksek iken, mavi ve tonlarında bu değer düşüktür.

Buradan yola çıkarak, DoS değerleri elektron iletim yollarını belirlemek için de kullanılmıştır. Bunun için Şekil 2.9’da gösterildiği gibi DNA:RNA hibrit yapısının olası elektron iletim yolları belirlenmiştir.



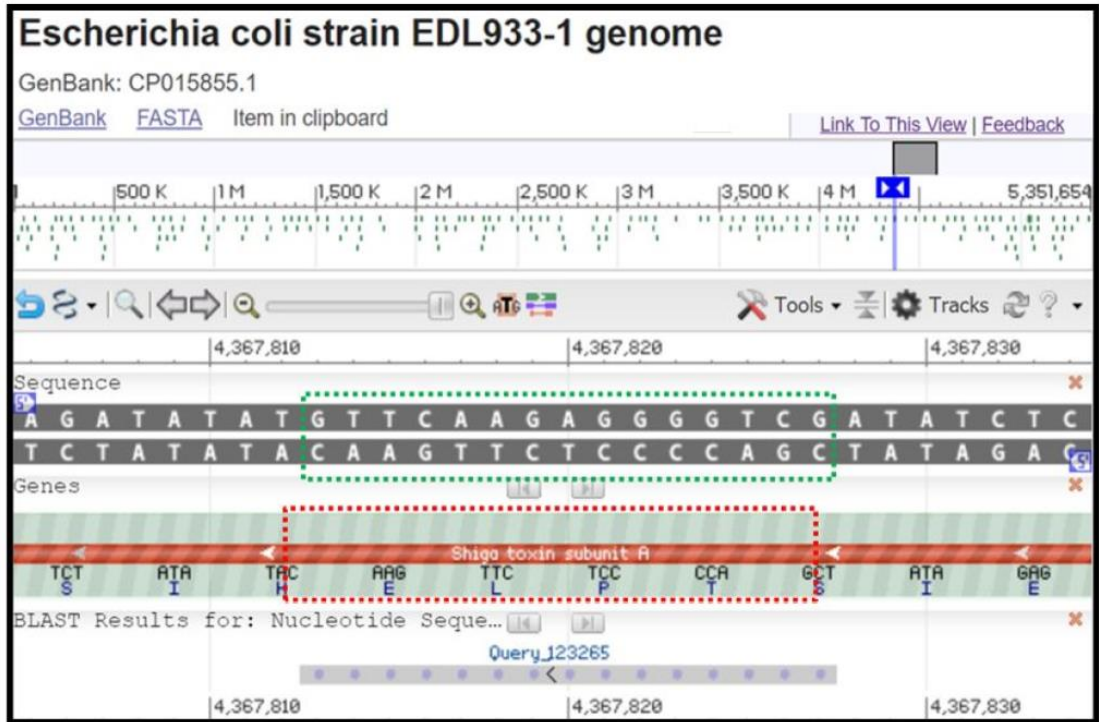
Şekil 2.9: DNA:RNA hibrit yapısında olası elektron iletim yolları.

Yukarıda gösterildiği gibi belirlenen elektron iletim yollarındaki atomların DoS değerleri kendi aralarında toplanmış ve toplam DoS değerine bölünerek herhangi bir enerji seviyesinde ne kadar etkili olduğu incelenmiştir.

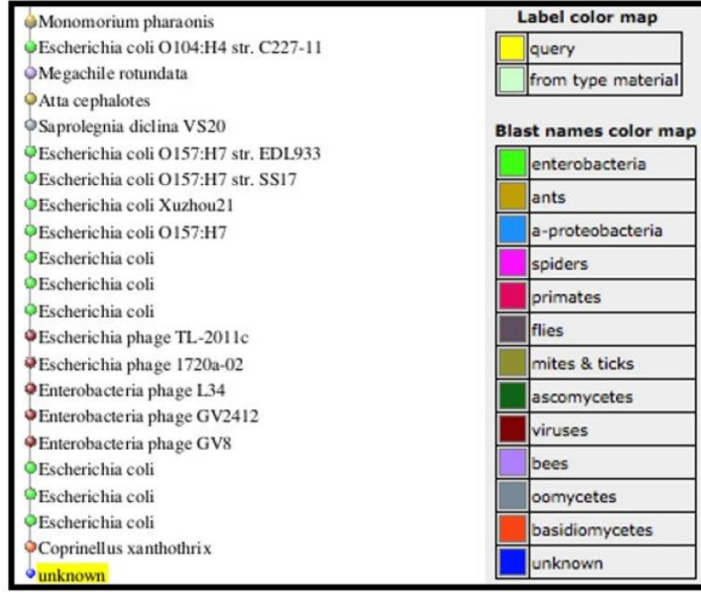
3 BULGULAR VE TARTIŞMALAR

Bu tez kapsamında kullanılan deneysel çalışmalar California Davis Üniversitesi'nden Doç. Dr. Josh Hihath ve grubu tarafından gerçekleştirilmiştir. Sensör platformu için hedeflenen RNA dizilimlerinin iletkenliğini araştırmak amacıyla SMBJ yöntemi ile çeşitli deneyler yapılmıştır. Çalışmalarda *E. coli* bakterisinin spesifik suşlarının ayırt edilmesine odaklanılmıştır.

Öncelikli olarak *E. coli* bakterilerinin, Shiga toksini salgılanmasından sorumlu mesajcı RNA (mRNA) bölgeleri hedeflenmiştir. Bu kısmın kesin olarak Shiga zehri kodladığı (Şekil 3.1) ve ilgisiz türlerden gelme olasılığının düşük olduğu (Şekil 3.2) BLASTn 2.6.1+ (Altschul vd., 1997) kullanarak doğrulanmıştır.



Şekil 3.1: *E. coli* O157:H7'nin 15 baz çiftinden oluşan 5'-CGACCCCUCUUGAAC-3' dizisinin Shiga zehri alt birim A'da ifade edildiğini gösteren BLASTn 2.6.1+ (Altschul vd., 1997) sonucu (Li, Y. vd., 2018).



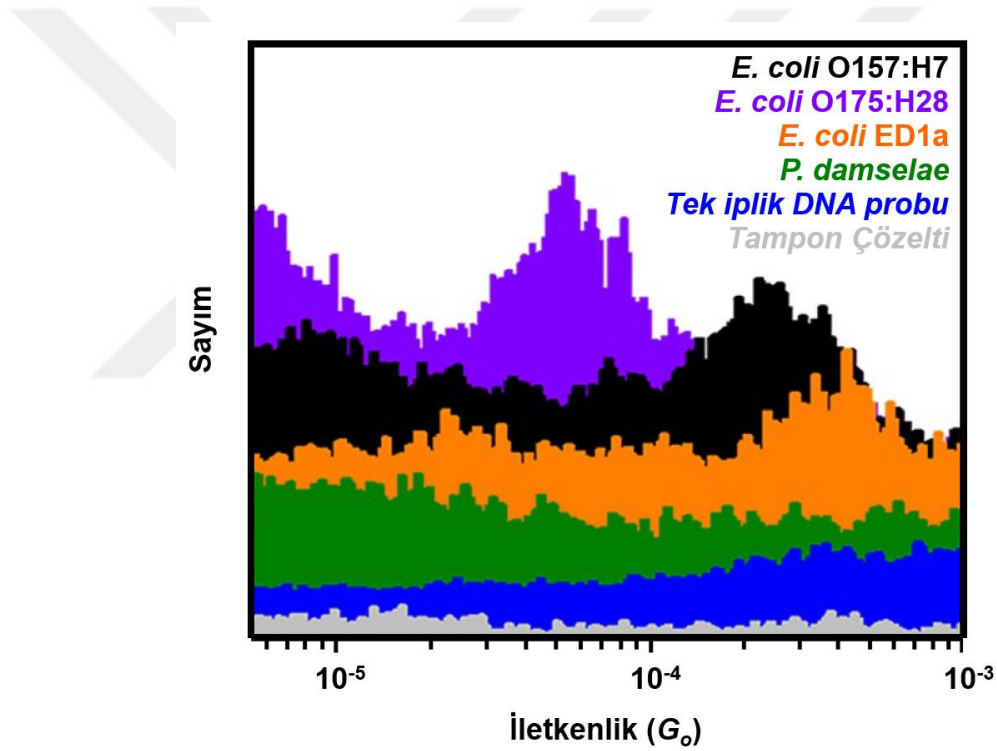
Şekil 3.2: İncelenen dizinin görüldüğü diğer türlerin adları (Li, Y. vd., 2018).

Şekil 3.2, hedef RNA diziliminin sadece *E. coli*'de değil, aynı zamanda birkaç böcek türünde (*Monomorium pharaonis*, *Megachile rotundata* ve *Atta cephalotes*), mantarlarda (*Saprolegnia diclina* ve *Coprinellus xanthothrix*) ve Shiga zehri üreten bazı bakteriyofajlarda da olduğunu göstermektedir. Bu türler ile Shiga zehri üreten *E. coli* O157:H7 yapısının karışma olasılığı düşük olduğundan deneylerde kullanılan hedef RNA'nın sadece Shiga toksini üreten *E. coli* suşlarını içerdiği gösterilmiştir.

Yapılan SMBJ deneyleriyle, 15 baz çiftinden oluşan mRNA diziliminin, tamamlayıcı bir DNA probuna bağlı durumdaki iletkenlikleri ölçülmüştür. İletkenlik deneyleri sırasında altın elektrot ile yüzeyden 5000 iletkenlik ölçümü alınmakta ve alınan bu ölçümlerin iletkenliklerine göre histogramları (iletkenlik-sayım grafikleri) çıkarılmaktadır (Şekil 3.3). Deneylerde kullanılan mRNA molekülleri ve tiyollenmiş-DNA probu Biosynthesis firması tarafından sentezlenmiştir. Ölçüm tekniğinin seçiciliğinin belirlenebilmesi için, aynı DNA probuna bağlanabilecek ve O157:H7 diziliminden sadece bir adet bazla farklılaşan üç tane daha mRNA dizilimlerinden (*E. coli* O175:H28, *E. coli* ED1a ve *Photobacterium damsela*) de ölçümler alınmıştır. Deneyin kontrollü olarak yapılabilmesi için hiçbir hedefin bulunmadığı (gri histogram) tampon çözelti ve sadece tek iplikli DNA probunun bulunduğu (mavi histogram) çözeltilerden de ölçümler alınmıştır. Bu şekildeki her bir histogram için aynı sayıda ölçüm yapılmış olup, daha rahat inceleme için her bir histogram grafikte yukarıya doğru kaydırılmıştır.

Deneysel sonuçlara göre *E. coli* ED1a'nın $4 \times 10^{-4} G_0$, *E. coli* O157:H7'nin $1.5 \times 10^{-4} G_0$ ve *E. coli* O175:H28'in $4 \times 10^{-5} G_0$ iletkenlik değerlerine sahip olduğu bulunmuştur. *P. damsela*'nın ise ölçülebilir bir iletkenlik değerine sahip olmadığı belirlenmiştir. Bu sonuçlara göre her bir DNA:RNA hibriti için farklı histogram dağılımı alınmış ve böylece iletkenlik ölçümünün tek bir baz değişimine bile duyarlı olduğu görülmüştür. Burada verilen iletkenlik değerleri, kuantum iletkenlik G_0 cinsinden verilmiş olup kuantize olmuş elektriksel iletkenliği tanımlayan kuantum iletkenliği değeri Denklem 3.1'de verilmiştir.

$$G_0 = \frac{2e^2}{h} = 7.748 \times 10^{-5} \text{ S} \quad (3.1)$$



Şekil 3.3: SMBJ ölçümleri sonucunda farklı suşlar için elde edilen iletkenlik verileri (Li, Y. vd., 2018).

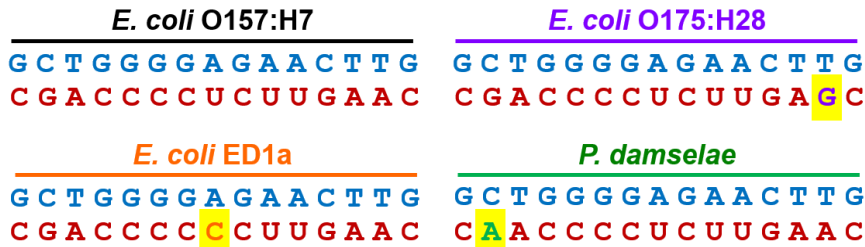
Tek bir baz değişiminin iletkenlik değerlerini birbirinden ayırt edilebilecek derecede etkilemesi konu ile ilgili literatürde bulunan az sayıdaki çalışma ile açıklanamamaktadır: Örneğin, Seidel ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmaya (Seidel, Schulz ve Sauer, 1996) göre G baz yoğunluğunun artması durumunda iletkenliğin artması beklenirken deneyler O157:H7'ye göre daha fazla G bazı içeren O175:H28'nin iletkenliğinin daha düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca, aynı çalışmada A-C baz uyumsuzluğunun bulunduğu dizilimlerde iletkenliğin düştüğü

raporlanmıştır; deney sonuçları A-C baz uyumsuzluğunun bulunduğu ED1a'da iletkenliğin arttığını gösterirken aynı baz uyumsuzluğuna sahip *P. damsela*e diziliminde ise iletkenliğin ölçülemeyecek kadar düştüğünü göstermektedir. Tüm bu sonuçlar, iletkenlik değerlerinin bazlara bağlı basitleştirilmiş kurallar ile tahmin edilemeyeceğini göstermektedir.

Moleküler iletkenlikteki değişimin nedenlerini araştırmak için bu tez kapsamında daha önce de belirtildiği şekilde kuantum mekaniksel taşınım hesaplamaları yapılmıştır. DNA:RNA hibritleri modellenirken deneysel çalışmalar sırasında kullanılan iki altın elektrot ve hibritlerin bu elektrotlara bağlanmasını sağlayan bağlayıcı tiyol molekülleri ihmal edilmiştir. Bunun ana nedenleri özellikle altın elektrotların modellenmesinde karşılaşılan problemlerdir: Öncelikle altın atomlarının biyolojik sistemlerle etkileşim potansiyelleri (kuvvet alanları) ve buna ek olarak nano boyutlu altın elektrotların yapısal davranışları (kristal yapı, yüzey atomlarının davranışı (reconstruction), Au-S bağ yapısının doğası) tam olarak bilinmemektedir. İkinci neden ise hesaplama sürelerinde ortaya çıkacak büyük artışlardır. Hem MD hem de özellikle QM hesaplamalarında Au atomlarının sisteme dahil edilmesi sistemi hesaplanamaz boyutlara çıkarmaktadır. Bu nedenlerle, mutasyonların yapıya etkisinin araştırıldığı bu tezde, Au elektrotlar ve bağlayıcı tiyol moleküllerinin etkileri ihmal edilmiştir.

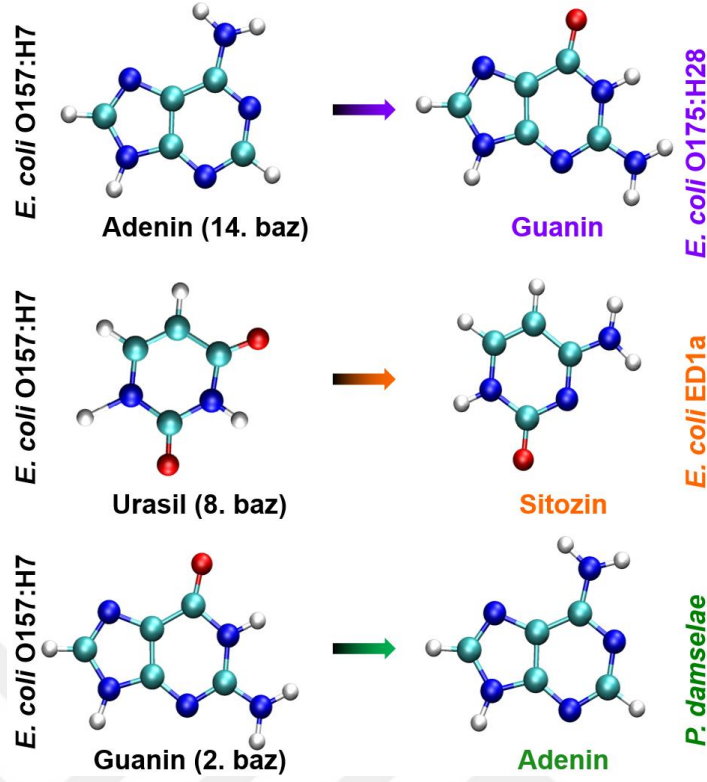
3.1 Kimyasal Değişimin Elektriksel Özelliklere Etkisi

İlk olarak O157:H7 dizilimi üzerinde belirtilen noktalarda baz değişimleri (mutasyonları) gerçekleştirilerek Şekil 3.4'te gösterildiği gibi dört farklı DNA:RNA hibrit yapısı Nucleic Acid Builder (NAB) (Url-1) kullanılarak oluşturulmuştur.



Şekil 3.4: Dizilimler üzerinde mutasyonların yerlerinin gösterimi.

Değişen bazların kimyasal yapıları Şekil 3.5'te detaylı bir şekilde sunulmuştur.



Şekil 3.5: Yapılar üzerindeki tek baz değişimlerinin kaçınıcı bazda olduğu ve kimyasal formülleri (Karbon atomları turkuaz, azotlar mavi, oksijenler kırmızı ve hidrojenler beyaz renk ile gösterilmiştir).

Oluşturulan bu dört yapı üzerinde, öncelikli olarak baz değişimlerinin sistemin moleküler yapısına etki etmediği varsıyalarak elektriksel özellikler incelenmiştir. Bu ilk aşamada, sadece kimyasal olarak baz değişimleri gerçekleştiğinde elektriksel özelliklerin nasıl etkilendiği araştırılmıştır.

Gaussian 09 (Frisch vd., 2009) programı kullanılarak DNA:RNA hibritleri üzerindeki elektron yoğunlukları yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) ile hesaplanmıştır. DFT hesaplamaları için kullanılan parametreler seçilmeden önce çeşitli optimizasyon çalışmaları yapılmış ve hesaplama süresi ve doğruluk arasında optimal parametreler belirlenmiştir. B3LYP değişim korelasyonunun literatürde nükleik asitler için sıkça kullanıldığı görülmüş (Wesolowski vd., 2001; Qin vd., 2010; Marino vd., 2012; Zhen, J. vd., 2017) ve bu değişim korelasyonu kullanılarak baz kümeleri hakkında çalışmalar yapılmıştır. Farklı baz kümelerine göre bant boşluğu ve hesaplama sürelerinin analizleri yapılarak B3LYP/6-31g(d,p) parametrelerinin kullanılmasına karar verilmiştir. Vakum içerisinde B3LYP/6-31g(d,p) parametreleri kullanılarak çeşitli baz çifti sayılarından oluşan denemeler yürütülmüştür. Şekil 3.6'da gösterildiği üzere bant

boşluğu değerinin vakumda hızlı bir şekilde düşerek sıfıra yaklaştığı ve yakınsama problemleri nedeni ile hesaplama süresinin de büyük oranda arttığı gözlemlenmiştir.

Çizelge 3.1: Vakum altında DFT hesaplamaların sistemin boyutuna göre bant boşluğunun değişimi gerektirdiği hesap süreleri

Baz Çifti Sayısı	Bant Boşluğu (eV)	Hesap Süresi
2	4.040	30 dk
3	3.412	30 dk
4	2.702	1 saat 10 dk
5	2.394	1 saat 40 dk
7	1.239	3 saat 10 dk
9	0.699	31 saat 30 dk
10	0.077	41 saat 20 dk

15 baz çiftinden oluşan DNA:RNA hibritlerinin HOMO-LUMO boşluğunun kaybolmasından dolayı vakum altında DFT hesaplamalarında sonuçlar yakınsayamamıştır. Dolayısıyla, teorik model ve yöntem bölümünde de anlatıldığı üzere dolaylı (implicit) solüsyon ortamında DFT hesaplamaları gerçekleştirilmiştir.

3.1.1 Bant yapısı ve moleküler orbital analizi

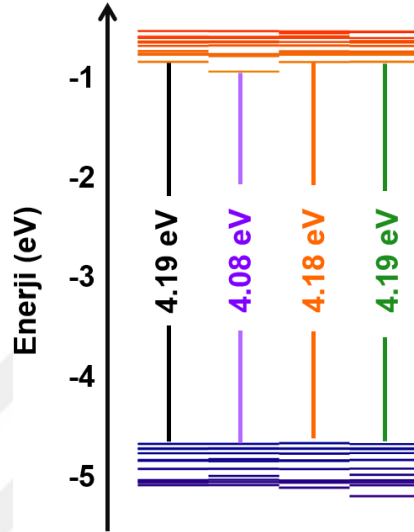
E. coli O157:H7, O175:H28, ED1a ve *P. damsela*e dizilimlerinin NAB web sitesi kullanarak oluşturulan moleküler yapıları üzerinde yukarıda bahsedilen parametreler ile solüsyon ortamında DFT hesapları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bant boşluğu değerleri ve enerji bant yapıları Şekil 3.6'da gösterilmiştir.

Şekil 3.6'da verilen elektronik bant yapısının elde edilmesi için gerçekleştirilen hesaplamalar 32 GB RAM ve 12 çekirdeğe sahip bir bilgisayarda tek bir yapı için yaklaşık olarak 3 – 4 gün sürmüştür. Her bir dizilimin kendi bant yapısını çıkartabilmek için yaklaşık olarak 10 GB veri saklanmıştır. Hesaplama sırasında ise program tarafından 100 – 200 GB geçici dosyalar oluşturulduğundan her bir yapının hesabı için 1 – 2 TB gibi yüksek saklama alanına sahip sabit diskler kullanılmıştır.

Bant yapıları incelenirken önemli olan konular elektronun HOMO enerji seviyesinden LUMO enerji seviyesine geçişinde rol oynayan bant boşluğu değeri, elektronların enerji düzeyleri arasında hareket kabiliyetini etkileyen enerji seviyelerinin (enerji bakımından) yakınlığı ve HOMO enerji seviyesinin olabildiğince Fermi enerji seviyesine yakın enerji değerlerine sahip olmasıdır. Şekil 3.6'da LUMO'dan

LUMO+10'a ve HOMO'dan HOMO-10'a kadar gösterilen enerji bant diyagramı verilmiştir. HOMO ve LUMO değerleri kullanılarak O157:H7 diziliminin bant boşluğu değeri 4.19 eV, O175:H28'in 4.08 eV, ED1a'nın 4.18 eV ve *P. damsela*'nin 4.19 eV olarak bulunmuştur.

E. coli O157:H7 *E. coli* ED1a
E. coli O175:H28 *P. damsela*

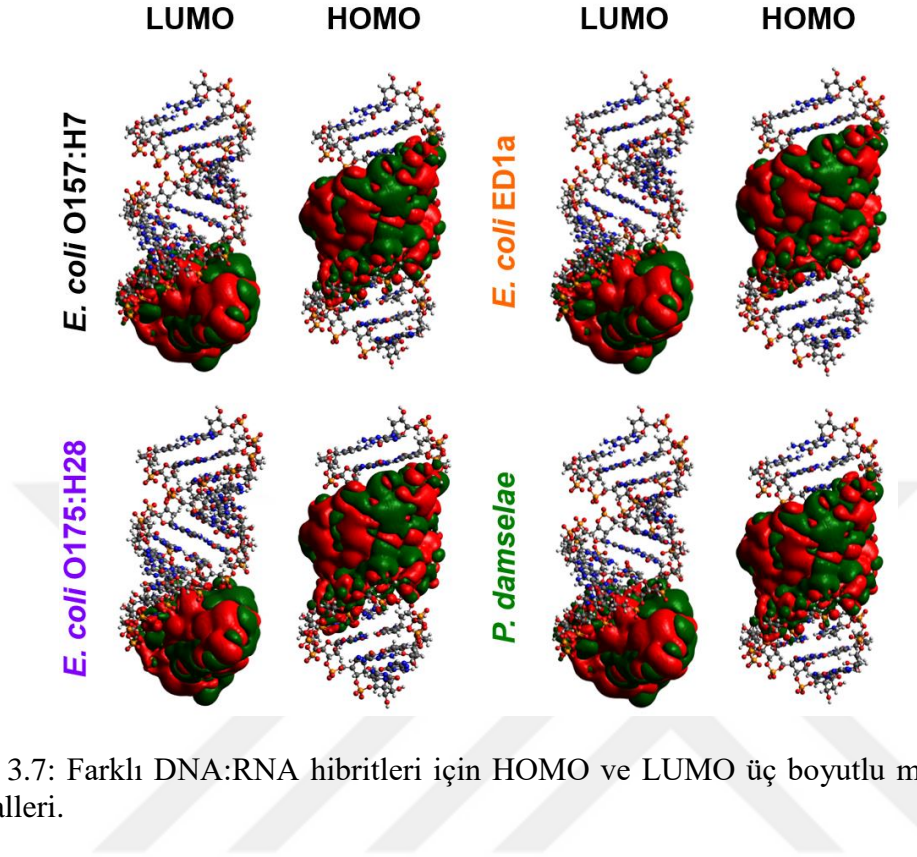


Şekil 3.6: Yalnızca kimyasal baz farklılıkları bulunan NAB web sitesi kullanılarak üretilen yapıların bant yapıları (moleküler dinamik uygulanmamış halleri).

Yapıların bant boşlukları incelendiğinde, O157:H7'ye göre O175:H28 ve ED1a dizilimlerinde bant boşluğu değerlerinin neredeyse aynı oldukları görülmüştür. Bunun yanında, O157:H7 hibritine göre diğer hibritlerin bant yapıları karşılaştırıldığında O175:H28 yapısının LUMO enerji seviyesinin düştüğü diğer yapılarda ise büyük bir değişim olmadığı gözlemlenmiştir. Bu yapıların HOMO enerji seviyeleri incelendiğinde ise tek bir bazın kimyasal değişiminden dolayı ayırt edilebilir bir farklılık gözlemlenmemiştir.

Sadece kimyasal değişikliğe sahip dört dizilim için HOMO ve LUMO orbitallerinin molekül üzerinde incelemesi yapılmıştır. Elektronun valans banttardan iletkenlik bandına geçişinde önemli olan HOMO ve LUMO enerji seviyelerindeki moleküler orbitallerin yapı üzerinde kapladığı üç boyutlu alan ne kadar genişse, elektronların molekülün farklı bölgelerine dağılma olasılıkları da o kadar artmaktadır. Şekil 3.7'de her bir yapı için moleküler orbitallerinin HOMO ve LUMO'daki görüntüleri verilmiştir. DFT

hesaplamaları sonucunda, sadece kimyasal baz farkına sahip hibritler için HOMO ve LUMO moleküler orbitallerinin benzer çıktığı gözlemlenmiştir.



Şekil 3.7: Farklı DNA:RNA hibritleri için HOMO ve LUMO üç boyutlu moleküler orbitalleri.

3.1.2 Elektron taşınım analizi

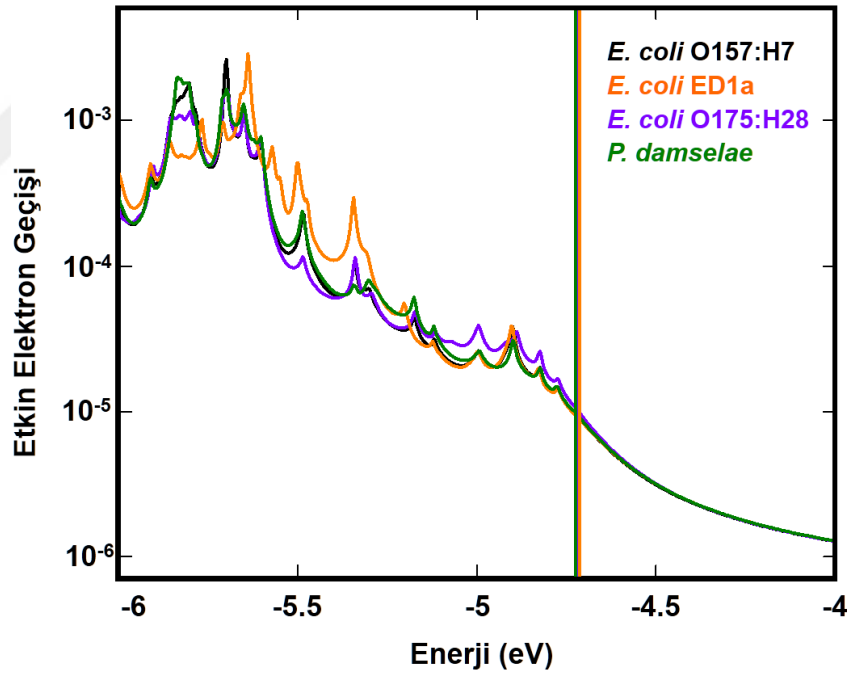
Elektriksel özellikler hakkında daha detaylı bilgi edinmek için elektronların hibrit yapıları üzerinden iletim olasılıkları hesaplanmıştır. Bu hesaplamalarda elektron iletiminde büyük önem taşıyan Fermi enerji seviyesinin bilinmesi gerekmektedir. Ancak, üzerinde çalıştığımız sistemlerin Fermi enerji değerleri bilinmemektedir. Bu nedenle hesaplamalar sadece tek bir Fermi enerji değeri için değil literatürde gözlenen belirli bir aralıktaki tüm Fermi enerjileri için ayrı ayrı yapılmıştır. Fermi enerjileri için belirlenen bu aralık oligonükleotitlerde boşluk taşınımının elektron taşınımına göre daha etkin olduğu göz önüne alınarak HOMO enerji seviyelerine yakın seçilmiştir.

Etkin elektron geçişi hesaplamaları için Prof. Anantram tarafından geliştirilen Green fonksiyonu yaklaşımı kullanılan teorik bir model uygulanmıştır (Qi vd., 2013). 2010'lardan bu yana geliştirilmeye devam edilen bu modelde kuantum etkileri altında nano boyutlu elektronik araçların modellenmesi yapılabilmektedir. Şu ana kadar bu model ile farklı konformasyonlarda neden DNA'nın elektriksel iletkenliğinin değiştiği

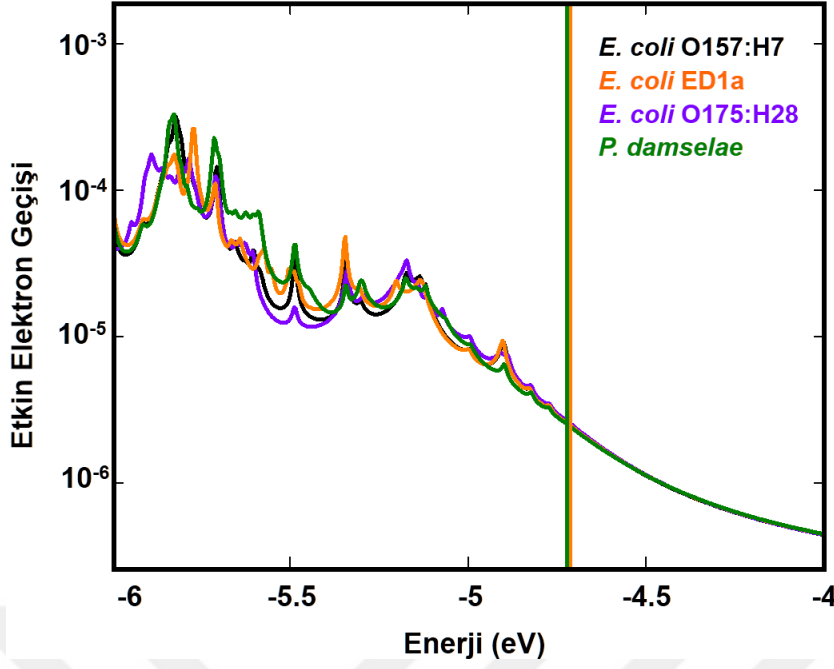
(Artes vd., 2015), DNA:RNA hibritlerinin nasıl çift iplikli DNA sarmalından daha iyi bir iletken olduğu (Li vd., 2016) gibi deneysel sonuçlar açıklanabilmiştir.

Sadece kimyasal baz değişimine sahip dört dizilim için etkin elektron geçişi – enerji grafikleri teorik model ve metot bölümünde bahsedilen iki ana hesaplama yöntemi ile oluşturulmuştur (Şekil 3.8). Yapılan etkin elektron geçişi hesaplamalarında, Fermi enerji seviyelerinin tüm DNA:RNA hibritleri için HOMO-LUMO aralığı arasında ve HOMO enerji seviyesine daha yakın olduğu varsayılmıştır. Bu nedenle -6 eV ve -4 eV arasındaki enerji değerleri için hesaplamalar gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.8 ve 3.9’da verilen grafiklerde, elde edilen etkin elektron geçişi değerleri T_{eff} (Denklem 2.19) farklı Fermi enerji seviyelerine göre gösterilmiştir. Şekil üzerinde gösterilen düz çizgiler her bir yapının HOMO değerini ifade etmektedir. Fermi enerjisinin -5 eV’den büyük olduğu durumlarda her iki hesaplama yönteminde de dört yapının elektron geçiş değerlerinin çok yakın olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.8: NAB web sitesinden elde edilen her bir yapı için hesaplanan etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği ($\Sigma_B = 10$ meV ; Buttiker uçları bazlarda).



Şekil 3.9: NAB web sitesinden elde edilen her bir yapı için hesaplanan etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği ($\Sigma_B = 10$ meV ; Buttiker uçları atomlarda).

Bu dört yapı için değişen tek şey yalnızca bir baz olup DNA:RNA hibrit yapısının geri kalan kısımları yapısal olarak tamamen aynıdır. Bu sonuçlar doğrultusunda kimyasal olarak tek bir baz değişiminin elektriksel özellikleri ölçülebilir bir şekilde değiştirmedeği bulunmuştur. Her bir dizilim için deneysel olarak farklı iletkenlik değerlerinin ölçülmesinin sebebinin değişen bazların kimyasal özelliklerinden ziyade yapı üzerinde gerçekleşen değişimler olduğu düşünülmüştür ve bunun üzerine moleküler dinamik simülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

3.2 Mutasyonun DNA:RNA Hibrit Yapılarına Etkisi

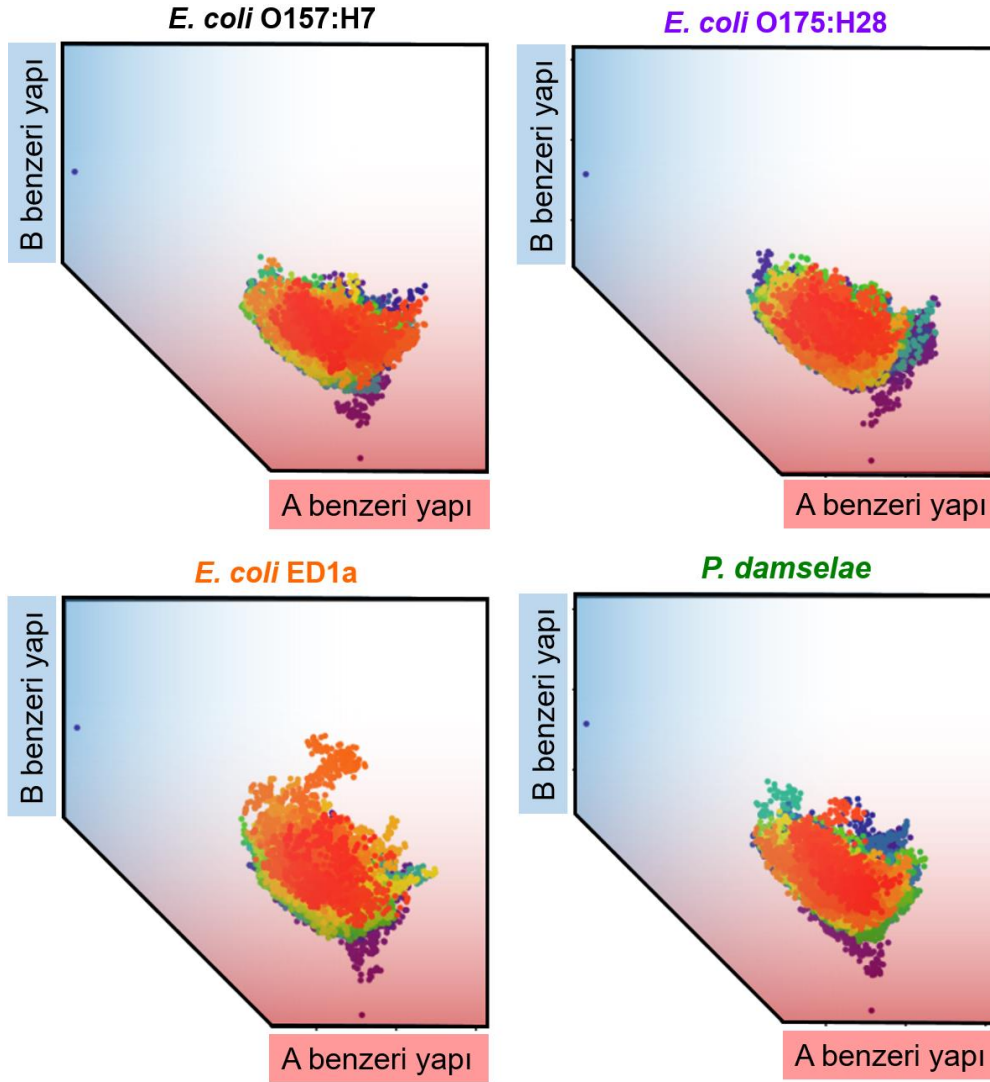
Doğadaki her molekül atomik seviyede hareket halindedir. Bu nedenle mutasyona uğramış yapıların üç boyutlu geometrilerinin birebir aynı kalması neredeyse imkansızdır. Farklı atomlar ile moleküllerin toplam enerjisi değişeceğinden, sistem yeni hali için enerjisini küçültme ihtiyacı içerisinde olacaktır. Mutasyonların yapı üzerindeki etkileri moleküler dinamik hesaplamaları kullanılarak incelenmiştir. Böylece belirli bir zaman içerisinde sistemdeki baz değişikliğinin tüm DNA:RNA molekülü üzerindeki etkisi gözlemlenebilmiştir. Bunun için 50 ns boyunca su ortamında MD simülasyonları gerçekleştirilmiştir.

MD simülasyonlarında, Newton denklemlerinin çözümünde, her bir atom için diğer tüm atomların (van der waals ve elektrostatik) etkilerinin hesaplanması gerektiği için hesaplama süresi atom sayısının karesiyle orantılı olarak artmaktadır. Bu tez çalışmasında, 15 baz çiftinden oluşan DNA:RNA hibrit molekülleri sekizyüzlü (octahedron) periyodik bir kutu içerisinde su molekülleri ile çevrelenmiştir (bkz. Bölüm 2.1.3). Yaklaşık yirmi bin atomdan oluşan bu sistemlerin 50 ns simülasyonları, 32GB RAM'e sahip 12 çekirdekli masaüstü bilgisayarlarda yaklaşık olarak 25 günde tamamlanmıştır. Simülasyonda 2 ps aralıklarda data saklanmış böylece sabit disk içerisinde daha az yer kaplaması hedeflenmiştir. Sadece bir yapı için 50 ns simülasyon sonucunun saklanabilmesi için gerekli alan yaklaşık olarak 20 GB'tır.

3.2.1 Moleküler yapı ve kararlılık analizi

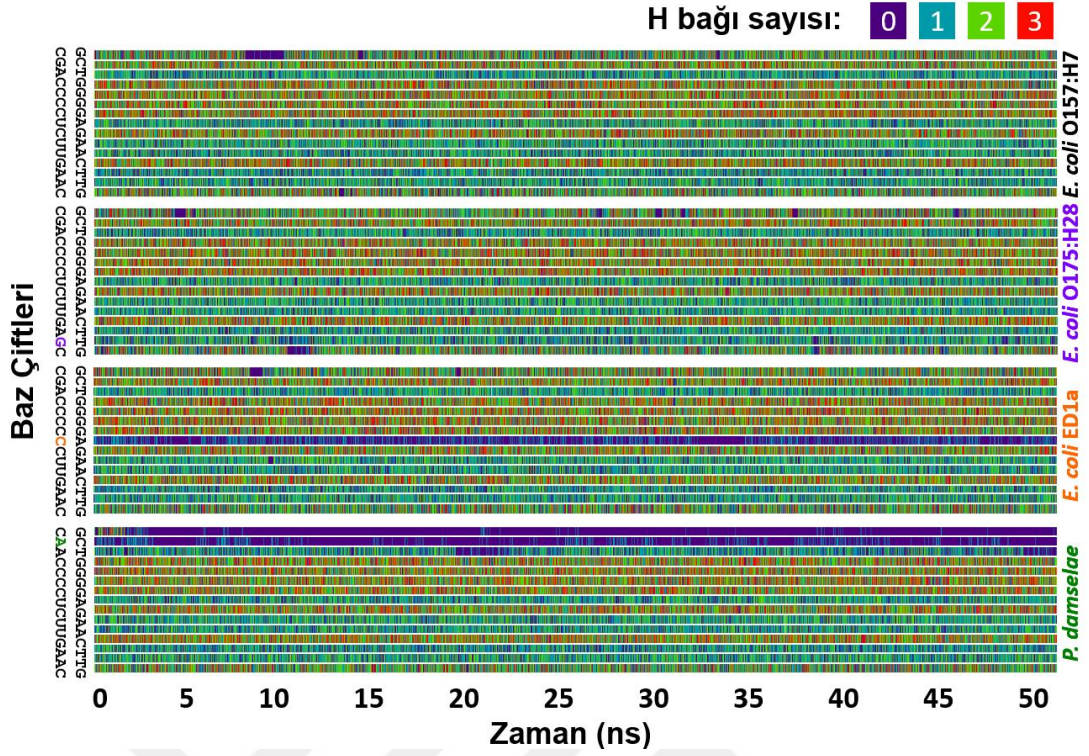
O157:H7, O175:H28, ED1a ve *P. damsela* dizilimleri için gerçekleştirilen 50 ns uzunluğundaki simülasyon sırasında 2 ps aralıklarla konformasyonlar kayıt edilmiş ve sonuçta 25 bin adet konformasyon elde edilmiştir. O175:H28, ED1a ve *P. damsela* dizilimlerinin konformasyonlarının zamanla değişim sonuçları mutasyona uğramamış dizilim olan O157:H7 ile karşılaştırılmıştır ve yapısal farklılıklar analiz edilmiştir.

Öncelikle teorik model ve yöntem bölümünde anlatıldığı gibi, yapısal değişimlerin incelenmesi için her bir dizilimin standart A ve B formları oluşturulmuş ve bu iki form baz alınarak hibrit yapıların simülasyon sırasındaki yapısal değişimleri analiz edilmiştir. Bu analizlerde MD simülasyonlarından alınan tüm yapıların standart A ve B formlarına göre RMSD değerleri kullanılmıştır. Şekil 3.10'da referans A ve B formundaki yapılar ile MD simülasyonlarında elde edilen her bir konformasyonun karşılaştırılması sunulmuştur. Bu grafiklerde her bir nokta simülasyondaki bir zaman ve o zamandaki konformasyonu temsil etmektedir. Bu grafikler ile yapının A ve B konformasyonlarından en çok hangisine benzediği bulunabileceği gibi bu iki konformasyon arasındaki hareketi de yapıların kararlılıkları hakkında bilgi vermektedir. Her bir hibrit yapısı A formuna B formundan daha yakındır. Mutasyonun bulunmadığı *E. coli* O157:H7 hibritine göre *E. coli* O175:H28 benzer bir hareket sergilerken, *E. coli* ED1a ve *P.damselea* hibritlerinin daha dağınık bir hareket sergilediği gözlemlenmiştir. *P.damselea* yapısı için bazı zaman dilimlerinde yapının ne A ne de B formuna benzemediği görülmüş ve bu kısımda diğer yapılara oranla daha fazla sayıda farklı konformasyonların bulunduğu gözlenmiştir.



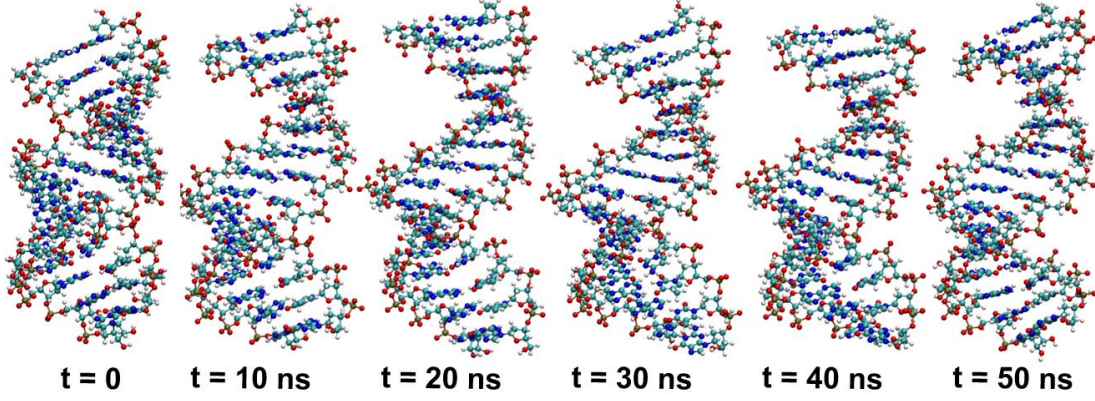
Şekil 3.10: Hibrit yapılarının MD simülasyonlarında elde edilen konformasyonlarının A ve B formunda referans yapılaraya göre karşılaştırılması (her bir nokta bir konformasyonu, renkler ise zamanı temsil etmektedir).

Yapıların kararlılıkları hakkında daha iyi bir analiz yapabilmek için her bir yapı içerisindeki DNA sarmalı ile RNA sarmalı arasındaki hidrojen bağları hesaplanmıştır. Bir DNA:RNA sarmalının yapısal kararlılığı ortamda bulunan iyonlara, su molekülü miktarına ya da üzerine uygulanan çekme veya itme kuvvetlerine yüksek oranda bağlı olsa da iki sarmalı bir arada tutabilen, baz çiftleri arasında oluşan hidrojen bağlarıdır. Bu nedenle, dizilim üzerinde oluşturulan baz uyumsuzluklarının hibrit yapısına olan etkisinin buradan rahatlıkla gözlemlenebileceği düşünülmüştür. 50 ns boyunca kaydedilen her bir yapının karşılıklı baz çiftleri arasındaki hidrojen bağ sayıları bulunup (bkz. Bölüm 2.4) her bir DNA:RNA hibritleşmesi için aşağıdaki şema (Şekil 3.11) elde edilmiştir.

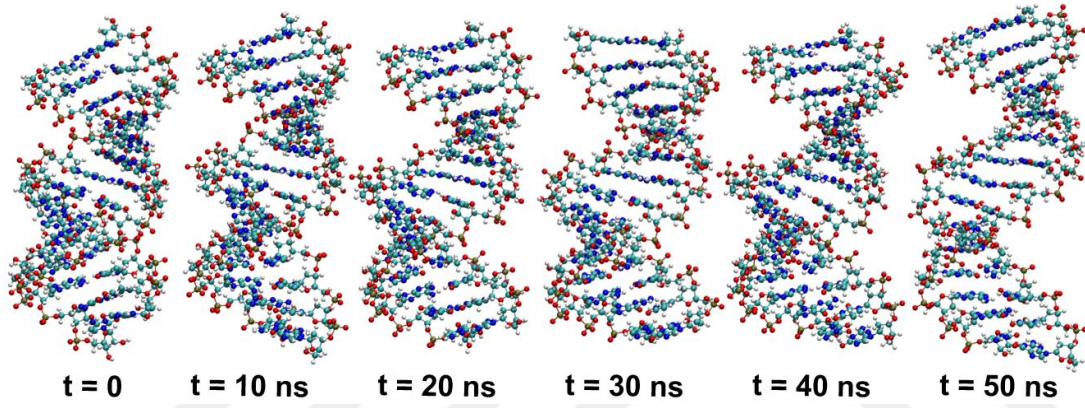


Şekil 3.11: Her bir yapı için karşılıklı iki baz çifti arasındaki hidrojen bağı sayılarının zamana göre değişimi (Li, Y. vd., 2018).

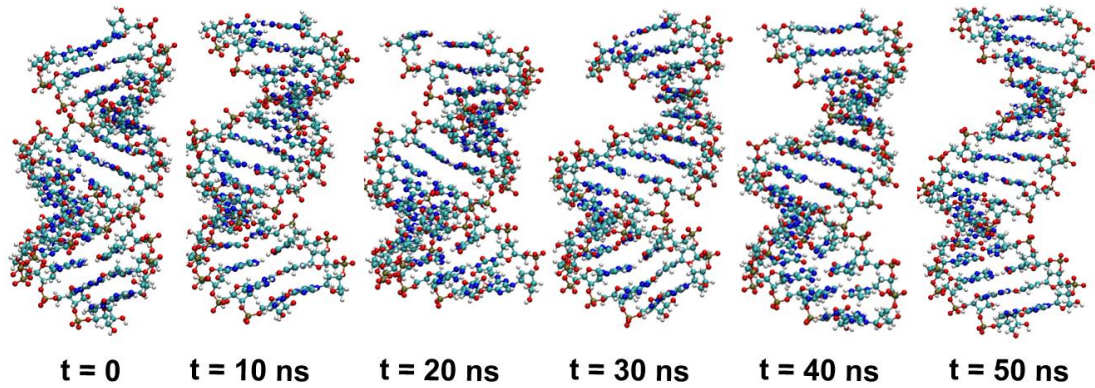
Bu şema incelendiğinde, O157:H7 ve O175:H28 dizileri için, A-T baz çiftinin beklenildiği gibi G-C baz çiftinden daha az hidrojen bağına sahip olduğu görülmektedir. Bunun dışında belirgin bir eğilime rastlanmamıştır. Bu durum, bahsedilen dizilimlerde zayıf bağlanma noktaları olmadığını ve O175:H28 için G-T baz çiftinin oluşabileceğini göstermektedir. Öte yandan, ED1a yapısında A-C uyumsuzluğunun 50 ns boyunca kararlı hidrojen bağı oluşturamaması burada zayıf bir etkileşim olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bu uyumsuzluktan dolayı komşu baz çiftlerini etkilenmediği saptanmıştır. Şekil 3.11'den de görülebileceği üzere tek bir baz değişimi en çok *P. damsela* hibritleşmesini etkilemiştir. Bu yapının hem mutasyona uğrayan baz çiftinde hem de komşu baz çiftlerindeki hidrojen bağları kopmuş ve 50 ns boyunca neredeyse tekrar kurulamamıştır. Aşağıda Şekil 3.12, 3.13, 3.14 ve 3.15'te belirli zaman aralıklarında her bir hibrit için kaydedilmiş konformasyonlar sunulmuş ve ait oldukları zaman dilimleri belirtilmiştir.



Şekil 3.12: *E. coli* O157:H7 diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.



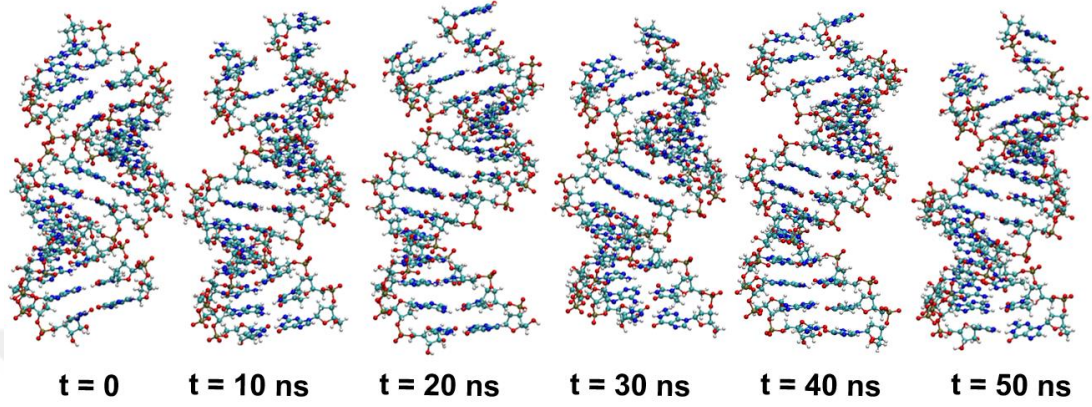
Şekil 3.13: *E. coli* O175:H28 diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.



Şekil 3.14: *E. coli* ED1a diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.

Yukarıda ayrı ayrı gösterilen hibritler için 50 ns boyunca hibritleşmenin korunduğu ve iki sarmalın bir arada durduğu görülmektedir. O175:H28 ile ED1a hibritlerindeki mutasyonların yapıların sarmal olarak kalmasını etkilemediği gözlemlenmiştir. Ancak *P. damsela*e için bu durum farklıdır (Şekil 3.15). Hidrojen bağları analizlerinden de

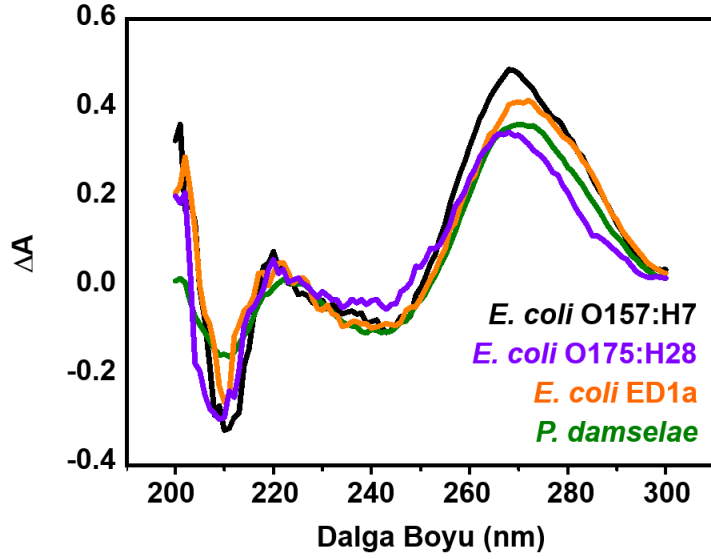
görüldüğü gibi, *P. damselae* hibritinde simülasyonun erken safhalarından itibaren üst kısımlardaki baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları kopmuştur. Bu hibrit için üç boyutlu yapılar incelendiğinde, hibritin uçlardan açıldığı gözlemlenmiştir. 50 ns sonucunda elde edilen aşağıdaki konformasyonlarda da görüldüğü gibi başlangıç konformasyonu hariç, zincirler üst kısımlardan açılmıştır.



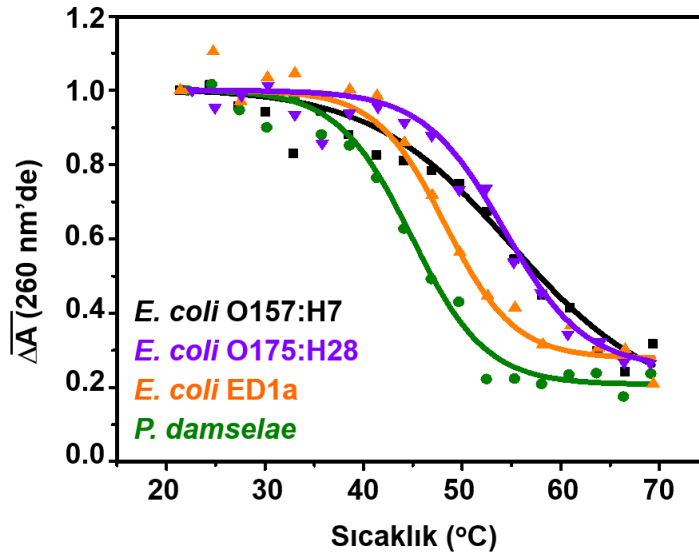
Şekil 3.15: *P.Damsela* diziliminin 50 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonlarından bazıları ve ait oldukları zaman dilimleri.

P. damselae hibridinin üst ucundan açılması yapının eridiğini göstermektedir. California Davis Üniversitesi'nde yürütülen deneysel çalışmalarda *P. damselae* yapısından elektriksel iletkenlik ölçülememesinin sebebinin bu durum olduğu düşünülmektedir. Bu sonuçlar üzerine, UC Davis'teki Hihath Grubunca deneysel olarak erime sıcaklıkları ölçülmüş ve dairesel dikroizm (circular dichroism, CD) yöntemi kullanılarak aşağıdaki veriler elde edilmiştir. Şekil 3.16 ve 3.17'de bu veriler her bir dizilim için sunulmuştur.

Şekil 3.16'da oda sıcaklığında dört hibritin CD spektrumlarını gösterilmiştir. Burada tüm hibritler için 270 nm civarında pozitif pikler, 210 nm civarında ise negatif pikler gözlemlenmiştir. CD sonuçlarında bu pikler A-formuna benzer konfigürasyonları temsil etmektedir (Lesnik ve Freier, 1995). Ancak, 270 nm civarında bazı pik pozisyonlarındaki değişimler hibritlerdeki heliks yapısının farklılaştığını göstermektedir (Kypr vd., 2009). Bunun yanında 210 nm'deki negatif pikler incelendiğinde *P. damselae* hibridinin diğerlerine göre daha az negatif bir pikinin olması hibritteki yapısal bozuklukları işaret ettiği düşünülmektedir. Bu sonuç MD simülasyonlarında elde edilen bilgilerle de uyumaktadır.



Şekil 3.16: CD spektrum sonucu elde edilen dalga boyu - Δ soğurma grafiği (Li, Y. vd., 2018).



Şekil 3.17: CD ölçümlerinden 260 nm'de normalize edilmiş diferansiyel soğurma kullanılarak elde edilen erime sıcaklıkları değerleri (Li, Y. vd., 2018).

Dört hibrit için erime sıcaklıklarının değerleri elde edilerek stabiliteleri hakkında bilgi edinme hedeflenmiştir. Şekil 3.17'de de görüldüğü gibi, moleküler modelleme sonuçlarına uygun olarak *P. damsela*'nın erime sıcaklığı diğerlerine göre daha düşüktür bu da yapının diğerlerine göre daha kararsız olduğunun göstergesi olarak düşünülmektedir.

3.2.2 Temsilci yapı seçimi

Yukarıda bahsedilen yapısal farklılıkların elektriksel özellikler üzerindeki etkilerini anlamak için 50 ns moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilmiş ve oluşan 25 bin konformasyon içerisinde temsilci yapılar seçilerek DFT hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. Temsilci yapılar seçilirken öncelikli tüm yapıların birbirleri ile olan yapısal değişimleri RMSD olarak hesaplanmış, bu değerler ve kümeleme algoritması kullanılarak yapılar gruplandırılmıştır. 25 bin yapıdan kendi içerisinde birbirleri arasında en çok 1.75 Å RMSD değerine sahip olanlar bir grup içerisinde toplanmış ve bu gruplardan en fazla yapıya sahip ilk 15'i incelenmiştir. Aşağıdaki tabloda (Tablo 3.1) her bir grubun toplam molekül sayısı sunulmuştur. Sayılar her bir yapı için büyükten küçüğe doğru renklendirilmiştir. Burada “-” ile gösterilen kısım grupsuz kategorisini yani hiç bir gruba belirtilen eşik RMSD değerinden daha yakın olmayan konformasyonları temsil etmektedir.

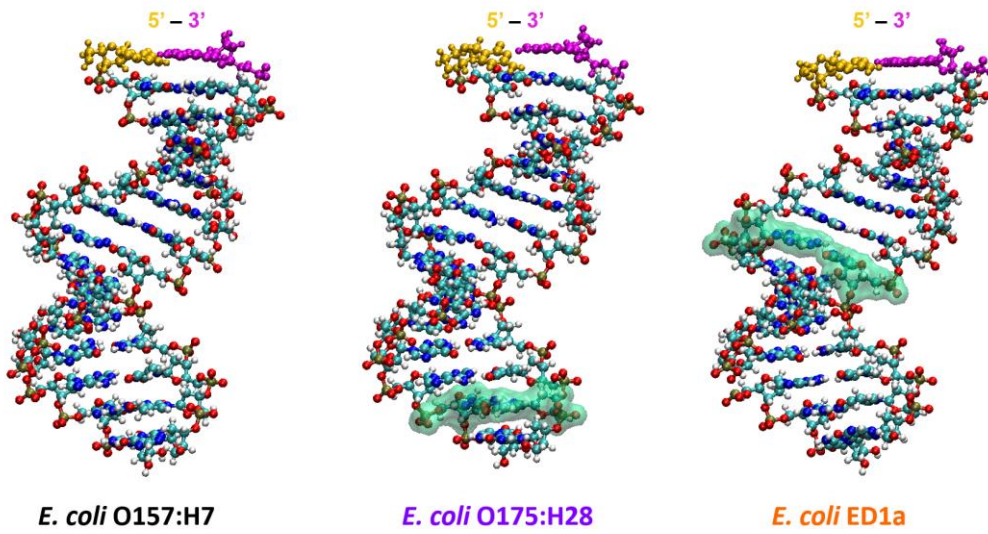
O157:H7 diziliminin birinci grubunda diğer hibritlerin birinci gruplarına göre daha çok yapı olması diğerlerine oranla daha kararlı olduğunu göstermektedir.

Çizelge 3.2: Gruplandırma sonucu elde edilen gruplardaki konformasyon sayıları.

GRUP	E.coli O157:H7	E.coli O175:H28	E.coli ED1a	P.damselae
1	12703	11217	11050	7101
2	3826	3109	2908	2367
3	1580	1632	2200	1521
4	998	1587	1568	1180
5	938	880	1135	1099
6	643	752	810	792
7	508	664	510	586
8	426	530	497	502
9	334	508	407	483
10	274	498	349	419
11	262	370	298	356
12	217	270	255	343
13	203	267	225	333
14	178	226	183	326
15	159	201	162	320
-	1751	2289	2443	7272

P.damsalae dizilimi incelendiğinde herhangi bir gruba girmeyen yapı sayısının birinci gruptan daha çok olduğu gözlemlenmiştir. Burada yapının kararsız olması ve bu nedenle birbirine benzeyen yapı sayısının az çıkması beklenildiği gibidir. Bu mutasyonun zaman içerisinde hibritin uçlarında açılmaya neden olarak birbirlerinden farklı yapısal konformasyonların oluşmasına yol açtığı sonucu çıkarılabilir.

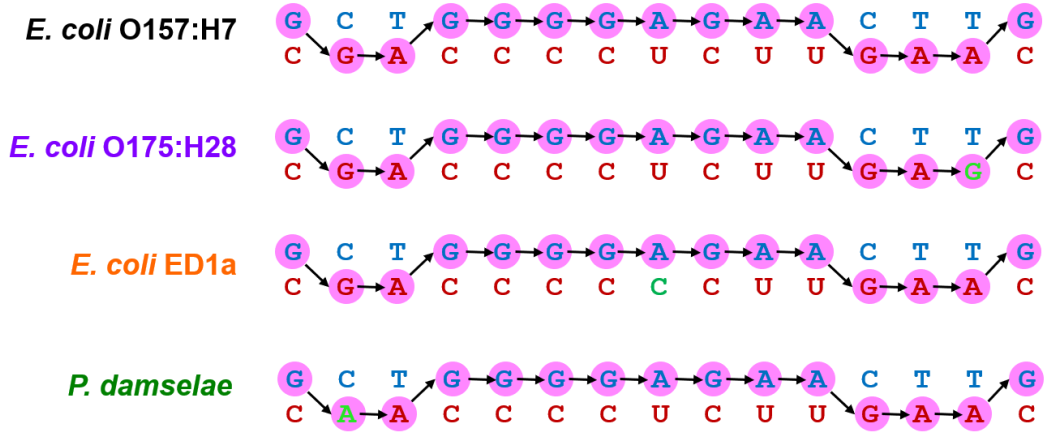
DFT hesaplarında kullanılmak üzere en çok konformasyona sahip birinci gruplar içerisinde, RMSD karşılaştırılmaları yapılarak, o grubu temsil edecek, gruptaki diğer konformasyonlarla aralarında minimum RMSD değerine sahip olan yapılar seçilmiştir. Bu yapılara grupların merkez yapısı denilmiştir. Deneyle ve MD simülasyonları *P. damsela*e yapısının hem kararsız hem de erimeye mağruz kaldığını gösterdiğinden DFT hesaplarında bu yapının analizleri yapılmamıştır. DFT hesaplamaları için kullanılacak olan diğer hibritler için temsilci merkez yapılar Şekil 3.18’de gösterilmiştir. Şekilde O175:H28 ve ED1a yapıları için baz uyumsuzlukları yeşil renk ile belirginleştirilmiştir.



Şekil 3.18: Aralarında sadece bir baz fark bulunan DNA:RNA hibrit dizilimleri ve baz uyumsuzluklarının gösterimi (yeşil kısımlar).

Daha önce literatür kısmında da bahsedildiği gibi pürinlerin (A ve G) elektron taşınımına pirimidinlerden (C, T ve U) daha çok katkı sağladığı düşünülmektedir (Berlin vd., 2001). Baz değişimleri nedeniyle gerçekleşen konformasyon değişikliklerinin pürinler arasındaki elektron taşınımını etkileyeceği beklenmektedir. Bu nedenle elektriksel özelliklerin pürinler arasındaki mesafeden nasıl etkilendiğini anlamak için her bir hibrit dizilimi üzerinde pürinlerin merkezleri arasındaki mesafeler hesaplanmış ve her bir konformasyon için toplam pürin yolu uzunlukları elde edilmiştir.

Pürin yolunun her bir hibrit dizilimi üzerinde şematik gösterimi Şekil 3.19’da sunulmuştur. O157:H7 ve ED1a yapılarında pürin yolu birebir aynı iken, O175:H28 ve *P. damsela*e yapılarında mutasyonlar pürin yolu üzerinde olduğu görülmektedir.



Şekil 3.19: Farklı dizilimler için pürin yolu gösterimi.

50 ns'lik simülasyon boyunca pürinler arasındaki kısmi uzunlukların zamana göre değişimi incelenmiş ve ortalama kısmi uzunlukları hesaplanmıştır (Şekil 3.20). Kısmi pürin uzunluklarının ortalamaları incelendiğinde, her dört hibrit için de pürinler karşılıklı sarmallarda ise (DNA'dan RNA'ya ya da RNA'dan DNA'ya şeklinde belirtilen yollar), beklenildiği gibi aralarındaki mesafe artmıştır (Şekil 3.20'deki 1, 3, 11 ve 14. aralıklar).

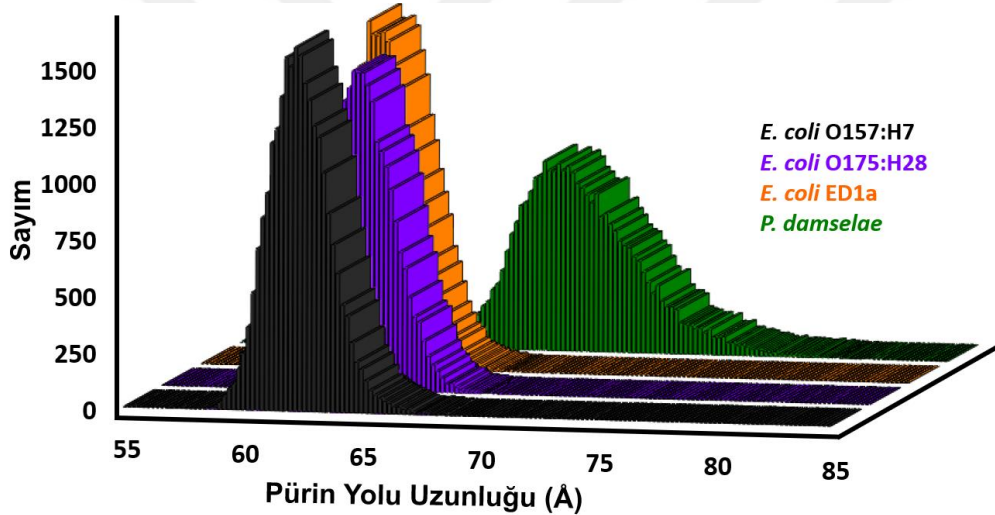
	<i>E. coli</i> O157:H7	<i>E. coli</i> O175:H28	<i>E. coli</i> ED1a	<i>P. damsela</i>	
1	4.049	4.042	4.000	10.255	DNA'dan RNA'ya
2	4.016	4.010	4.004	4.389	RNA
3	6.555	6.623	6.621	6.734	RNA'dan DNA'ya
4	4.221	4.283	4.283	4.295	DNA
5	4.242	4.276	4.246	4.239	DNA
6	4.264	4.250	4.263	4.226	DNA
7	4.174	4.163	4.365	4.180	DNA
8	4.041	4.034	3.871	4.057	DNA
9	4.189	4.198	4.188	4.190	DNA
10	3.964	3.954	3.980	3.974	DNA
11	3.869	3.934	3.862	3.868	DNA'dan RNA'ya
12	4.147	4.113	4.140	4.142	RNA
13	4.107	4.581	4.097	4.101	RNA
14	6.620	6.880	6.630	6.592	RNA'dan DNA'ya

Şekil 3.20: Kısmi pürin uzunluklarının zamana göre ortalama değerleri.

Ayrıca, ED1a dizilimi ile O157:H7 diziliminin birbirine yakın değerlerde ortalamaları olduğu ve O175:H28 diziliminde pürinler arasındaki mesafelerin diğer iki dizilime göre özellikle altın elektrota yakın olacak onüçüncü ve ondördüncü pürinler arasında

daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. Bu sonucun deneysel olarak yapılan elektriksel iletkenlik ölçümlerinde elde edilen sonuçlarında O157:H7 yapısı ile ED1a yapısının daha yakın iletkenlik değerlerine sahip olmasının nedenlerinden biri olduğu düşünülmektedir.

Pürin yolu hesaplamaları ile her bir yapı için toplam pürin yolu uzunlukları elde edilmiş ve Şekil 3.21’de verilen histogram oluşturulmuştur. Histogramlar birbirleri ile karşılaştırıldığında, yine *P.damsalea*’nın diğer üç yapıdan farklı davrandığı gözlemlenmiştir. Pürin uzunlukları değişiminin diğer dizilimlere göre yayılmış olması, simülasyon boyunca bu yapının daha çok hareket serbestisine sahip olduğunu ve yapının daha kararsız olduğunu göstermektedir. Geri kalan yapılar arasında karşılaştırılma yapıldığında ise, O157:H7, O175:H28 ve ED1a yapılarının pürin yolu histogramlarının benzer olduğu dikkat çekmektedir.

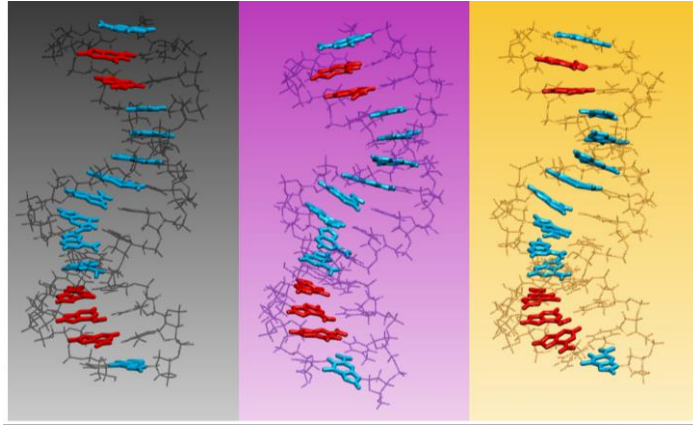


Şekil 3.21: Pürin yolu uzunluklarını gösteren histogramlar (Li, Y. vd., 2018).

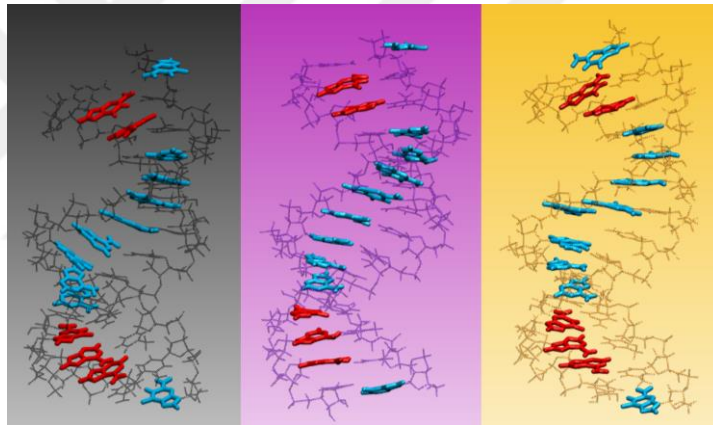
Histogramlar kullanılarak seçilen en kısa, en uzun ve ortalama pürin yoluna sahip yapılar ile kümeleme sonucunda elde edilen birinci grupların merkez yapıları DFT hesaplamaları için kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

Moleküler dinamik çalışmaları sonucunda *P. damsela* hibritinin yapısında açılmalar (erime) gözlenmiştir. Buna ek olarak, deneysel olarak yapılan ölçümlerde *P. damsela*’nın iletkenliğinin ölçülemeyecek kadar düşük olduğu belirlenmiştir. Bu nedenlerden dolayı, DFT hesaplarında *P. damsela* hibriti dışındaki *E. coli* O157:H7, O175:H28 ve ED1a hibritlerinin temsilci merkez yapıları ile pürin yolu sonucunda elde edilen en kısa, en uzun ve ortalama uzunluklara sahip konformasyonları kullanılmıştır (Şekil 3.22, Şekil 3.23 ve Şekil 3.24).

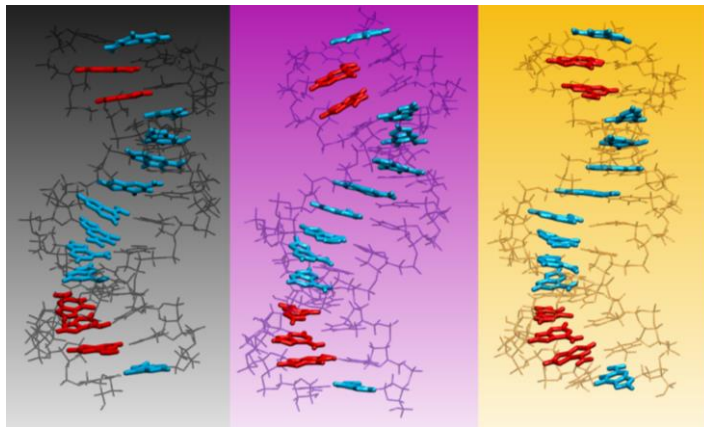
Aşağıda DFT hesaplamaları için bulunan en kısa, en uzun ve ortalama yapıların konformasyonları verilmiştir. Şekiller incelendiğinde pürin yolu uzunluğunun değişimi ile konformasyon üzerinde belirgin değişiklikler olduğu görülmektedir.



Şekil 3.22: Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) en kısa olduğu zamanki hibrit yapılarının konformasyonları.



Şekil 3.23: Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) en uzun olduğu zamanki hibrit yapılarının konformasyonları.



Şekil 3.24: Pürin yolunun (daha büyük gösterilen bazlar pürinleri ifade etmektedir) ortalama uzunluklarına sahip hibrit yapılarının konformasyonları.

En kısa pürin yoluna sahip konformasyonlarda pürinlerin daha düzgün bir şekilde alt alta geldiği ve en uzun pürin yoluna sahip yapılarda ise mesafelerin artmasından dolayı bozulmalar olduğu gözlemlenmiştir.

3.3 Mutasyonların DNA:RNA Hibritlerinin Elektriksel Özelliklerine Etkisi

DFT hesaplamaları yukarıda bahsedilen iki farklı temsilci yapı ve iki farklı kontrol yapı için gerçekleştirilmiş ve her bir yapının elektriksel özellikleri incelenmiştir. Tezin bu kısmından itibaren seçilen temsilci yapılardan moleküler yapı temsilcisi CTC (Center of the Top Cluster) ve pürin yolu uzunluğu temsilcisi MPPW (Mean Purine Pathway) olarak adlandırılmıştır. Bu her iki yapı da hem zaman içerisinde moleküler yapının en çok bulunduğu (CTC) hem de ortalama pürin yolu uzaklığına (MPPW) sahip olduğu konformasyonları temsil etmektedir. Buna ek olarak, kontrol amaçlı iki farklı yapı daha seçilmiştir: En kısa pürin yoluna sahip yapı SPPW (Shortest Purine Pathway) ve en uzun pürin yoluna sahip yapı LPPW (Longest Purine Pathway).

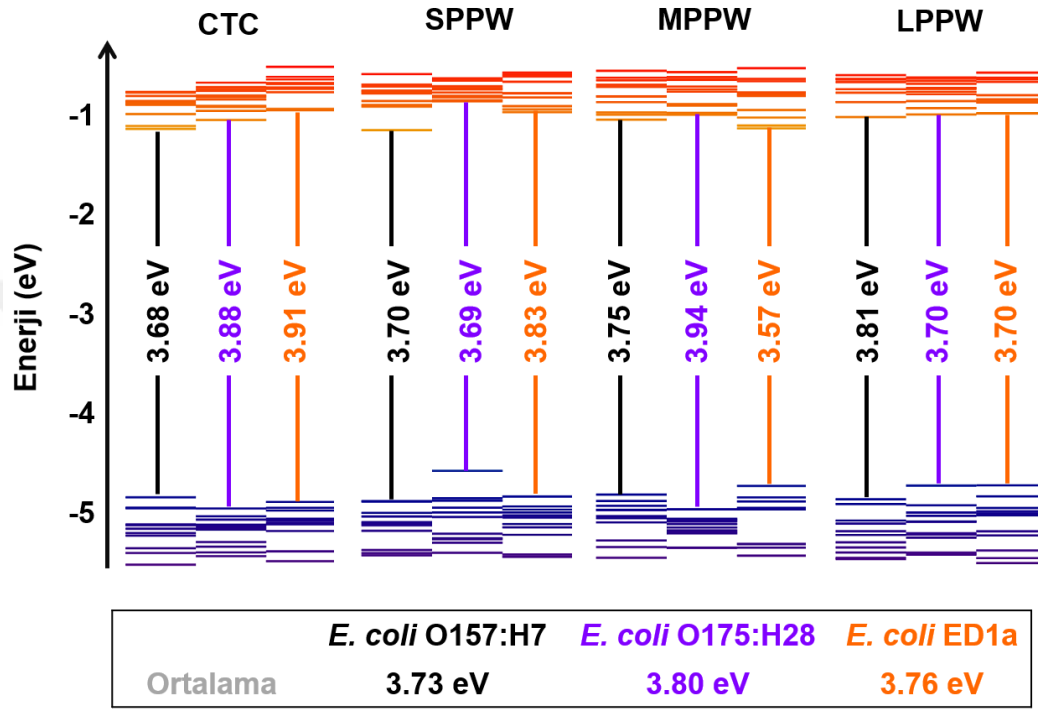
3.3.1 Bant yapısı ve moleküler orbital analizi

DFT hesaplamaları sonucunda CTC, SPPW, MPPW ve LPPW konformasyonlarının bant yapıları ve bant boşluğu değerleri hesaplanmıştır bu veriler aşağıda sunulmuştur (Şekil 3.25). Burada öncelikli olarak, hibrit yapılarının konformasyon değişimi ile bant boşluğu değerlerinin değiştiği gözlemlenmiştir. Ayrıca hibritler arasında tek bir baz farklılaşması olmasına rağmen aynı bant boşluğu değerlerine sahip olmadıkları görülmüştür.

Bant boşluklarının yanı sıra, moleküler orbital enerji seviyelerinin de nasıl bir araya geldiği ve ne kadar sık bir bant oluşturduğu da iletkenlik için önemlidir. Bu nedenle DFT hesapları sonucunda elektron bant yapıları da incelenmiştir. Elektron iletimi ilk olarak HOMO ve çevresindeki seviyelerden LUMO ve çevresindeki seviyelere geçerek gerçekleşecektir. Bu nedenle yukarıdaki diyagram dolu ve boş enerji seviyelerinden yalnızca ilk on tanesi alınarak çizilmiştir. Diyagramdaki renkler enerji seviyelerinin değerine göre değişmektedir. Bu aynı zamanda dolu ve boş orbitallerin de daha rahat ayırt edilebilmesi için yapılmıştır. Turuncu çizgiler boş orbitalleri, mor çizgiler ise dolu orbitalleri temsil etmektedir.

Bu enerji bantları şeması incelendiğinde, farklı konformasyonların elektronik bant yapılarını etkilediği açıkça görülmektedir. Dolayısıyla ile seçilen konformasyonun

sistemi doğru temsil edip etmediği önem kazanmaktadır. Bu nedenle, CTC ve MPPW olmak üzere iki farklı temsilci yapı, yani zaman içerisinde molekülün yapısal ve pürin uzaklığı cinsinden en fazla yakınsadığı moleküler yapılar, kullanılmıştır. Temsilci yapıların sistemi yeterince temsil edebildiği varsayıldığında aralarındaki farklara dizilimlerdeki mutasyonların sebep olabileceği düşünülmektedir.

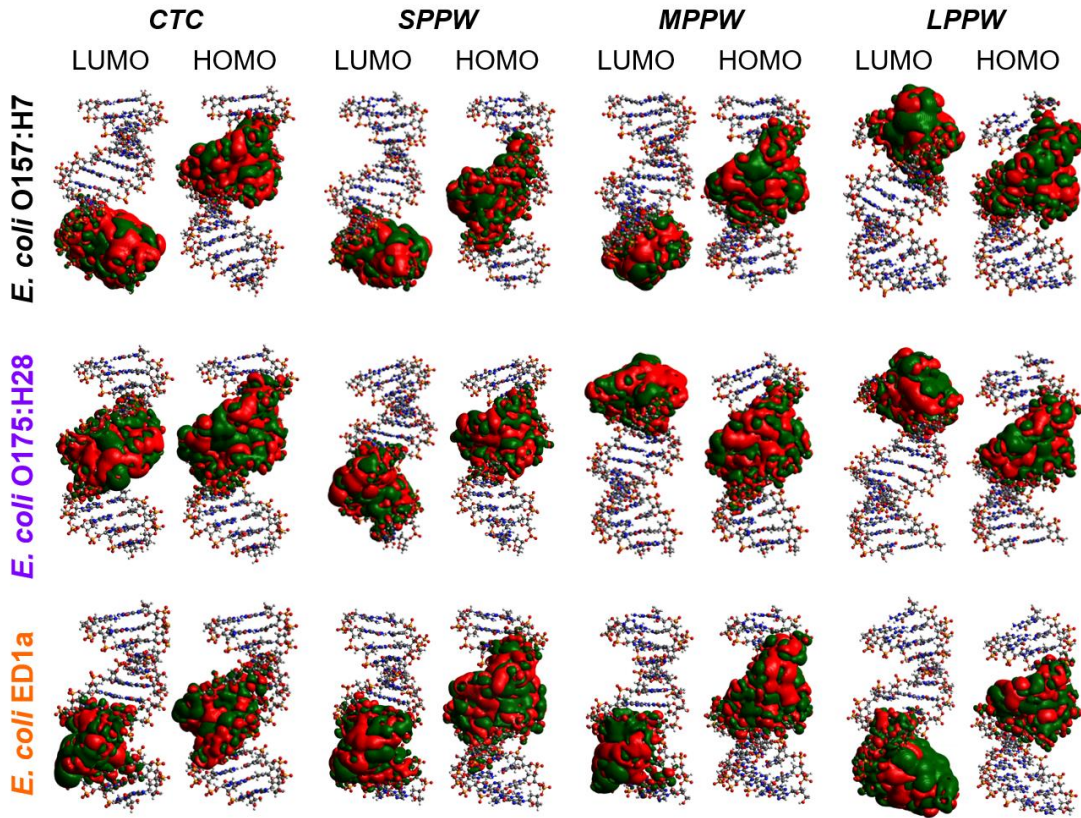


Şekil 3.25: Farklı konformasyonlardaki hibrit yapılarının DFT ile hesaplanan bant boşluğu değerleri ve bant yapılarının gösterimi.

Buradan konformasyonlara göre elektronik bant yapılarının ve bant boşluğu değerlerinin değiştiği açık bir şekilde görülmektedir. Deneysel verilerde gözlenen mekanizmaları anlamak için daha detaylı bir inceleme yapılmış ve bant yapılarının yanında her bir dizilimin farklı konformasyonları için HOMO – LUMO orbitalleri molekül üzerinde çizdirilerek incelenmiştir. Elektronlar molekül üzerinde ne kadar fazla dağılım gösterirlerse elektron transferinin de o kadar daha kolay olması beklenir. Bunun için hibritlerin moleküler orbitallerinin yapı üzerinde kapladığı alanlar incelenmiştir. Eğer orbitaller molekülün bir ucundan diğerine kadar yapıyı tamamen kaplıyorsa burada iletimin daha çok olması beklenmektedir. Elektron iletimi sırasında HOMO ve LUMO enerji seviyeleri etkin role sahip olduklarından aşağıdaki görsel (Şekil 3.26) hazırlanırken sadece HOMO ve LUMO moleküler orbitalleri üzerine yoğunlaştırılmıştır.

Her bir konformasyon grubu kendi aralarında karşılaştırıldıklarında, hibrit yapılarının SPPW konformasyonlarında HOMO moleküler orbitallerinin LPPW konformasyonlara göre moleküller üzerindeki dağılımının daha fazla olduğu gözlemlenmiştir. LPPW konforasyonlarındaki hibrit yapılar üzerinde moleküler orbitallerin belirli bir alanda lokalize olduğu ve molekül üzerinde dağılımının daha kısıtlı olduğu görülmektedir.

Bilindiği gibi HOMO ve LUMO enerji seviyelerinin hem enerji olarak hem de molekül üzerindeki yoğunlaştığı pozisyon olarak birbirlerine yakın olması durumunda elektronun birinden diğerine atlama olasılığı artacaktır. Bu nedenle HOMO ve LUMO moleküler orbitallerinin birbirlerini tamamlayıcı şekilde molekül üzerinde bulunmalarının elektron iletimini kolaylaştırması beklenmektedir.



Şekil 3.26: Farklı konformasyonlar için moleküler orbitallerin gösterimi.

Yukarıda verilen moleküler orbitallere bakıldığında ise, özellikle ED1a yapısının SPPW ve MPPW konformasyonlarında bu HOMO-LUMO dağılımı belirgin bir şekilde görülmektedir. Bu da deneysel olarak elde edilen en iyi iletkenlik değerinin bu yapıda çıkmasının bir nedeni olarak gösterilebilir.

Şu ana kadar yapılan incelemelerde mutasyonun dizilim üzerindeki yerine göre farklı konformasyonlar oluşabileceği ve dizilimlerin kendi içerisinde yapısal değişikliklere uğrayabildiği gösterilmiş ve bunların elektronik bant yapıları, bant boşluk değerlerini ve moleküler orbitallerin dağılımını farklı şekilde etkilediği sonucuna varılmıştır.

3.3.2 Elektron taşınım analizi

Şu ana kadar yapılan analizler sonucunda moleküllerin elektriksel özellikleri hakkında yol gösterici veriler elde edilmiştir. Yapısal farklılıkların yük taşınımı üzerindeki etkilerini daha iyi anlayabilmek için Green fonksiyonu yöntemini kullanılarak etkin elektron geçişi ve durum yoğunluğu hesaplamaları yapılmıştır. Bu hesaplamalar yapılırken Prof. M. P. Anantram (UW, Seattle) ve araştırma grubu tarafından organik moleküller için geliştirilen ve geliştirilmeye devam edilen nano boyutta elektron taşınımı modeli kullanılmıştır ve bununla ilgili gerekli bilgiler teorik model ve yöntem bölümünde bahsedilmiştir.

Elektron taşınım hesaplamaları için gerekli Hamiltonyen ve örtüşme matrisleri DFT hesaplamaları sonucunda elde edilmiştir. Hamiltonyen ve örtüşme matrislerinin elde edilmesinin ardından, etkin elektron geçişi hesaplamaları gerçekleştirilmiştir. DFT hesaplamalarında elde edilen matrislerin satır ve sütun sayıları sistem içerisinde kullanılan baz setine göre hesaplanan toplam orbital sayıdır. Kullandığımız 6-31g(d,p) baz kümesinde P 19; C, O ve N 15; H ise 5 orbital ile tanımlanmıştır. Her bir hibrit yapısı yaklaşık 1000 atomdan oluştuğu için DFT ile hesaplanan bu matrislerin satır ve sütun sayıları 13000'leri bulmaktadır.

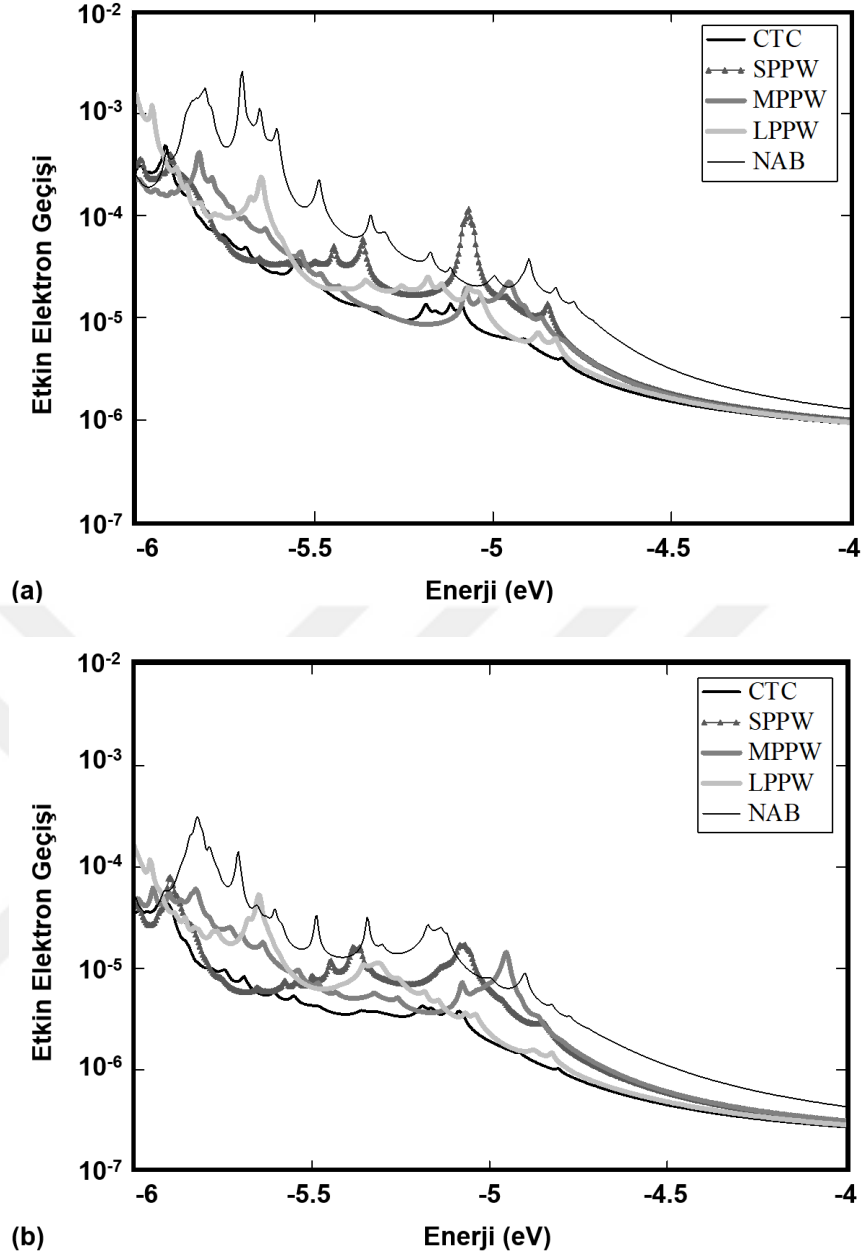
Etkin elektron geçişi hesaplamaları belirlenen her bir konformasyon için (CTC, SPPW, MPPW ve LPPW) tamamlandıktan sonra, ilk olarak konformasyon değişiminin her bir dizilim üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Seçilen temsilci yapılarının yanında, NAB web sitesinden oluşturulan ve dizilimler arasında sadece kimyasal değişimin olduğu yapıların da etkin elektron geçişi sonuçları bu konformasyonlar ile karşılaştırılmıştır. Burada amaç hibritlerin olası en yüksek bazlar arası H bond sayısına ve bazların birbirlerine göre düzgün (paralel) sıralandığı geometriye sahip halleri (NAB) ile MD simülasyonları sonucunda bulunan konformasyonlarını karşılaştırarak etkin elektron geçişinin konformasyonla nasıl değiştiği hakkında bilgi edinmektir.

Daha önce de belirtildiği üzere, Fermi enerjisinin yeri kesin olarak bilinemediğinden ve deneysel olarak belirlenmesi zor olduğundan, etkin elektron geçişi hesaplamaları sadece tek bir Fermi değeri için değil, -6 eV -4 eV aralığı 0.004 eV'lik adımlarla taranarak yapılmıştır. Bu aralık literatürde başka DNA RNA sistemleri için elde edilen Fermi enerji değerleri kullanılarak belirlenmiştir (Berlin, Burin ve Ratner, 2000). DNA, RNA gibi oligonükleotitlerde boşluklar üzerinden yük taşınımının gerçekleştiği düşünülmektedir (Olofsson ve Larsson, 2001). Bundan dolayı Fermi seviyelerinin tüm DNA:RNA hibritleri için bant boşluğu arasında ve yapıların HOMO enerji seviyesine daha yakın olduğu düşünülerek analizler gerçekleştirilmiştir ve elektron geçişleri karşılaştırmaları için her bir yapının HOMO enerji seviyesinden yukarıda olduğu bilinen -5 eV ve -4 eV aralığına yoğunlaştırılmıştır.

Aşağıda, ilk olarak hibridleştiği DNA probu ile baz uyumsuzluğu olmayan *E. coli* O157:H7 dizilimi için hesaplanan etkin elektron geçişi – enerji grafikleri sunulmuştur. Daha sonra benzer grafikler tek bir baz uyumsuzluğuna sahip O175:H28 ve ED1a dizilimleri için de gösterilmiştir.

Şekil 3.27'de baz uyumsuzluğu olmayan DNA:RNA hibrit dizilimi için etkin elektron geçişi grafiği görülmektedir. Şekil 3.27 a'daki grafik hibrit yapısı üzerinde yapılan hesaplamada her bir baza Buttiker uçlarının verildiği Şekil 3.27 b'deki ise her bir atoma Buttiker uçlarının verildiği durumda elde edilen sonuçlardır. İki farklı hesaplama yönteminde de benzer eğilimler gözlenmiştir: NAB web sitesinden oluşturulan yapı teorik geometriye sahip olarak üretildiğinden burada etkin elektron geçişinin diğer konformasyonlara göre yüksek çıkması beklenen bir sonuçtur.

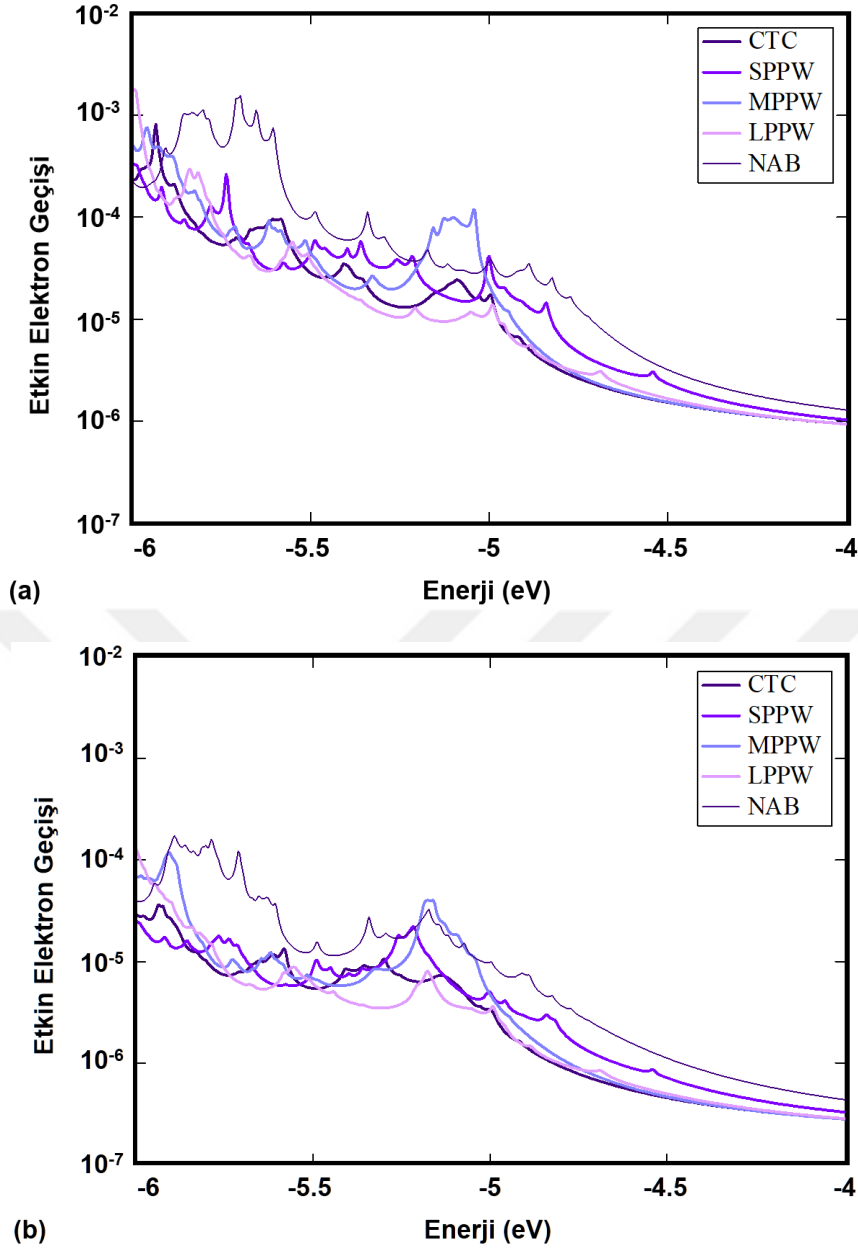
CTC konformasyonu daha önce grüplama sonuçlarında da bahsedildiği gibi MD simülasyonlarında en çok karşılaşılan yani molekülün zaman içerisinde en uzun süreli yakınsadığı konformasyonu temsil etmektedir. Aşağıdaki etkin elektron geçişi grafiklerinden de görüleceği üzere O157:H7 hibritinde CTC ve LPPW konformasyonlarının elektron geçiş olasılıklarının MPPW ve SPPW konformasyonlarına göre düşük çıktığı görülmektedir. Bunun sebebinin pürinler arasında artan mesafeler olduğu düşünülmektedir. Bu sonuç yukarıda bahsedilen pürin yolu ve etkin elektron geçişi hipotezine uygundur. Pürinler arasındaki mesafe arttıkça, elektron geçebilme ihtimali elektronların bir bazdan diğerine atlaması (hopping) zorlaşacağından azalmaktadır.



Şekil 3.27: *E. coli* O157:H7 yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

Şekil 3.28'de GT baz uyumsuzluğuna sahip DNA:RNA hibrit dizilimi için etkin elektron geçişi grafiği (a) her bir baza (b) her bir atoma olmak üzere Buttiker uçlarının verildiği durumda elde edilen sonuçları göstermektedir.

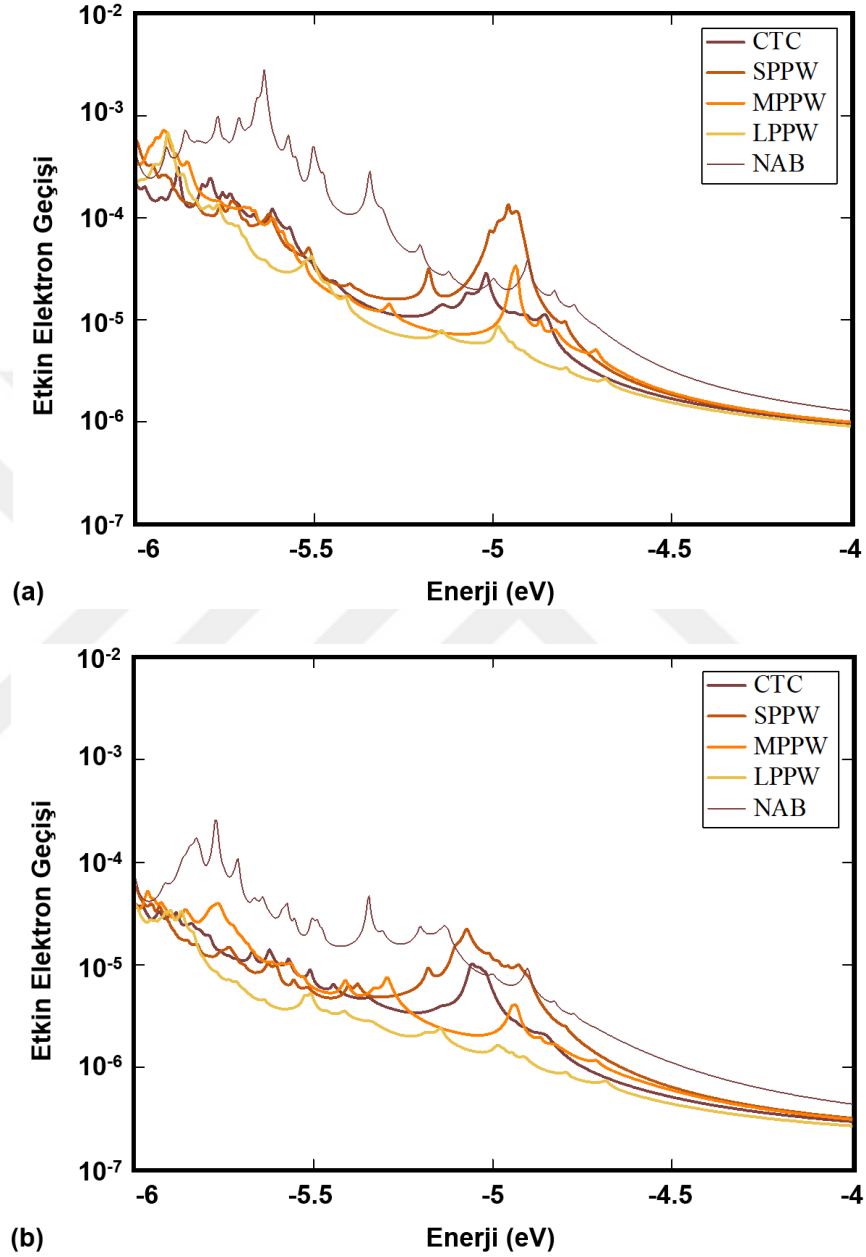
Bu dizilim için de O157:H7 yapısında olduğu gibi MD simülasyonu sonucunda elde edilen konformasyonların etkin elektron geçişi değerleri NAB web sitesi kullanılarak oluşturulan geometriye sahip konformasyondan daha düşük çıkmıştır.



Şekil 3.28: *E. coli* O175:H28 yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

O175:H28 dizilimi için SPPW konformasyonunun elektron geçiş değerleri diğer konformasyonlara göre daha yüksek çıkmıştır ve CTC, LPPW ve MPPW konformasyonlarının etkin elektron geçişi değerleri -5 eV ve -4 eV aralığında neredeyse aynı çıkmıştır. Bu dizilim için farklı konformasyonların birbirlerine yakın etkin elektron geçişi değerlerine sahip olması, ilk kısımda değinilen, deneysel olarak elde edilmiş, iletkenlik histogramındaki (Şekil 3.3) büyük yoğunluğun (mor histogram) belirli bir iletkenlik değerinde diğer yapılara oranla daha yüksek sayım sayısına sahip iletkenlik sonucu elde edilmesi ile ilgili olabileceği düşünülmektedir.

ED1a dizilimi için çıkarılan etkin elektron geçişi grafikleri incelendiğinde (Şekil 3.29), LPPW konformasyonunun diğerlerine göre düşük olduğu dikkat çekmektedir. CTC konformasyonunun 50 ns'lik zaman diliminde en çok rastlanan yapıları temsil ettiği göz önünde bulundurulduğunda



Şekil 3.29: *E. coli* ED1a yapısı için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

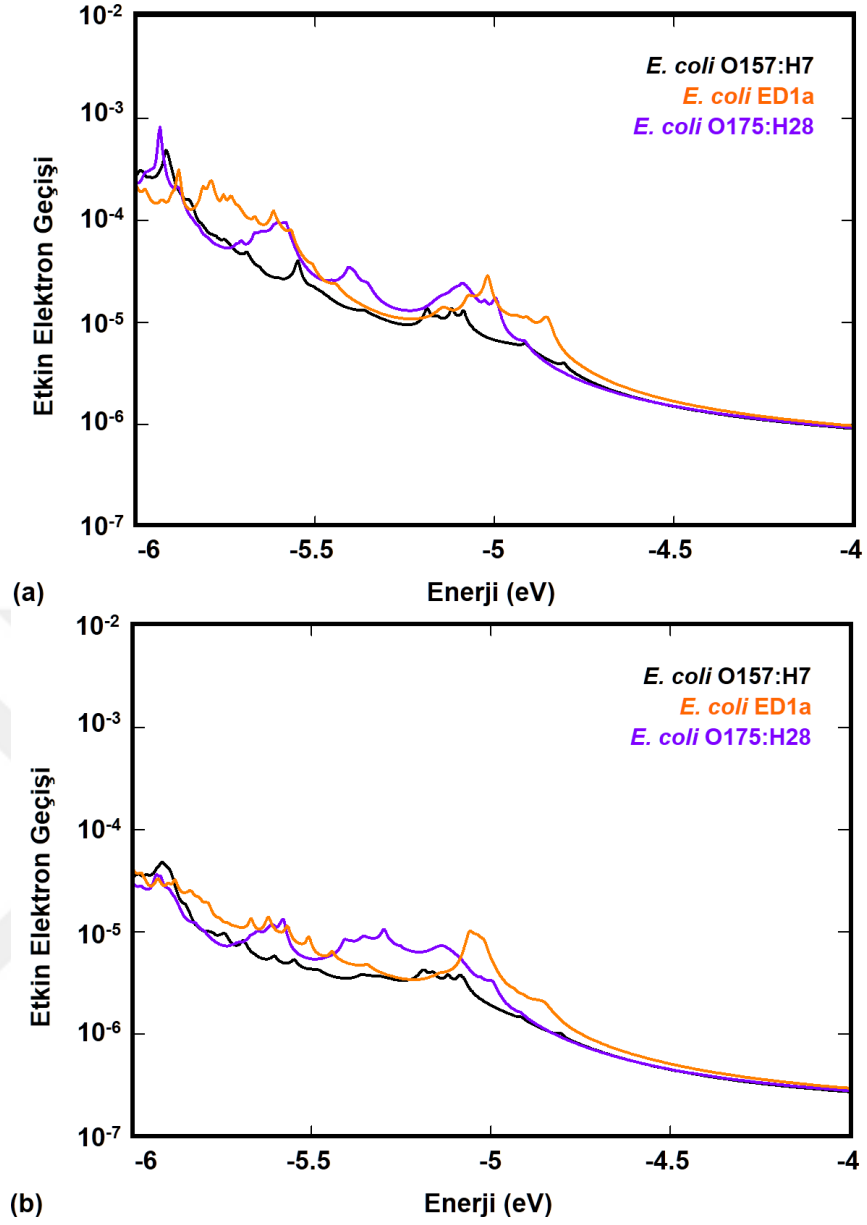
ED1a yapısında pürinler arasındaki uzaklığın zamanın büyük bir kısmında LPPW kadar artmadığı yorumu yapılabilir. Bu da deneysel sonuçlarda elde ED1a'nın iletkenliğinin diğerlerine göre daha yüksek çıkmasının nedenlerinden biri olabilir.

Sonuç olarak, her biri sadece bir baz değişiminden dolayı farklı bir dizilime sahip üç yapı için yukarıda konformasyon değişiminin elektriksel özellikler için ne kadar etkili olduğu görölmektedir. Özellikle NAB web sitesinden elde edilen geometriye sahip yapıların gerçekte karşılaşıma olasılığının çok küçük olması nedeniyle, bu yapılar kullanılarak yapılacak analizlerin doğru sonuç vermeyeceği bulunmuştur. 50 ns zaman dilimi içerisinde ise yapıların geometrik olarak değişmesi sonucunda elektriksel özelliklerin de ölçülebilir derecelerde değiştii sonucuna varılmıştır.

Konformasyon değişiminin elektriksel özellikleri etkilediği sonucu elde edildikten sonra *E. coli* O157:H7, O175:H28 ve ED1a yapıları arasındaki iletkenlik farklarının analizi için farklı konformasyonlardaki (CTC, SPPW, MPPW ve LPPW) yapılar kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. Bu bölümde bu karşılaştırmalardan bahsedilecektir.

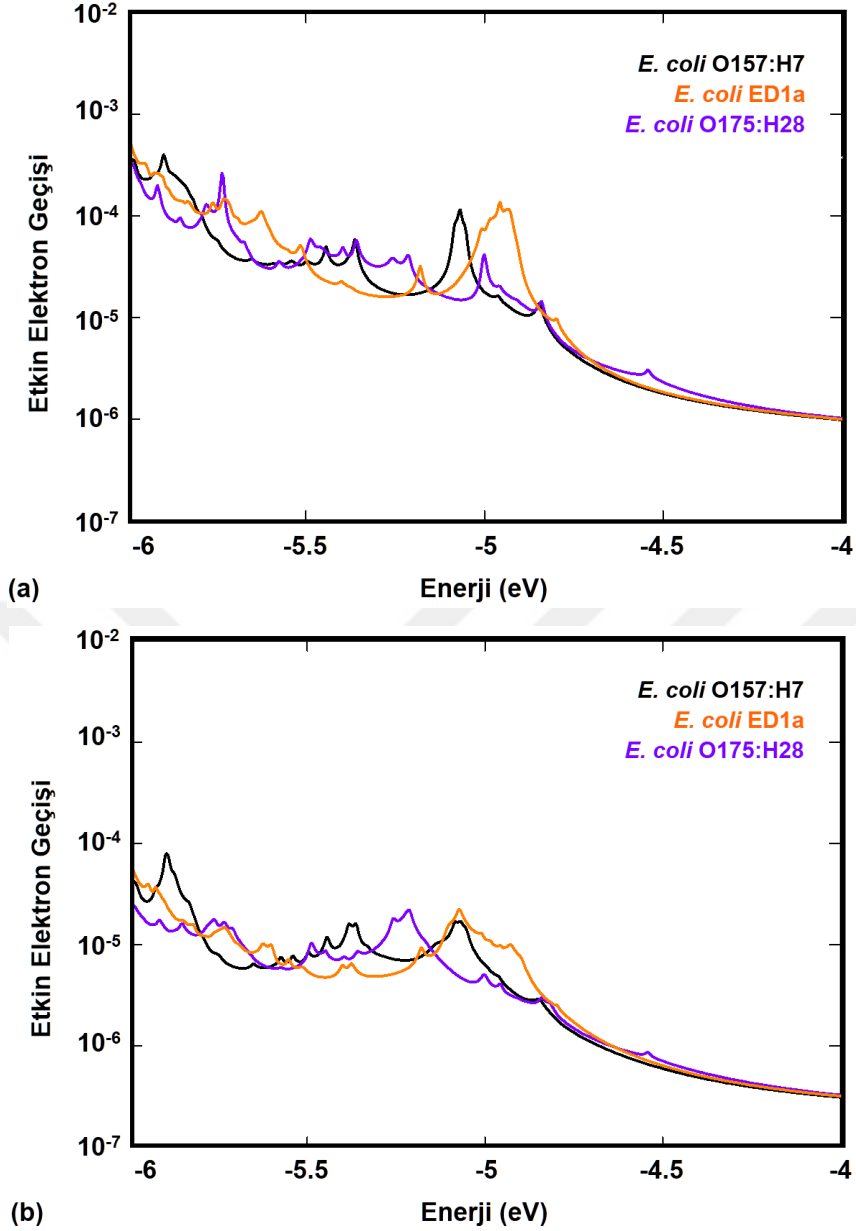
CTC yapıları tüm dizilimler için tek bir grafik halinde, iki farklı yaklaşım (baz ve atom Buttiker uçları yöntemleri) sonucu elde edilen veriler Şekil 3.30'da sunulmuştur. Fermi enerjisinin -5 eV ile -4 eV arasında olduğu varsayıldığı durumlar için elektron geçiş olasılıklarına bakıldığında CTC ED1a yapısının her iki hesaplama için de bu aralıkta etkin elektron geçişi olasılığının diğerlerine göre daha yüksek olduğu görölmektedir. CTC O157:H7 ve CTC O175:H28 yapılarının ise birbirlerine çok yakın geçiş olasılıklarına sahip oldukları görölmüştür.

Moleküler yapı temsilcilerinin (CTC'ler) deneysel olarak en çok karşılaşılan konformasyonlar olduğu ve dolayısı ile iletkenlik histogramlarında gözlemlenen pik pozisyonlarına karşılık geldikleri varsayılmıştır. Bu durumda bu varsayımın ED1a hibritinin iletkenlik değerinin diğerlerinden daha yüksek olmasını açıklayabildiği ancak O157:H7 ve O175:H28 hibritleri arasındaki farkın bu varsayım ile belirlenmediği görölmüştür. Bu durumda yapısal olarak seçilen tek bir temsilcinin iletkenlik eğilimleri hakkında bir fikir vermesine rağmen göreceli sıralama yapmada eksik kaldığı gözlenmiştir. Bunun nedeni moleküler yapıların tek bir temsilci yapı ile betimlenemeyecek kadar karmaşık olması olabilir; bu durumda da kümeleme algoritmalarından elde edilen diğer yapısal grupların temsilcilerinin de seçilerek analiz edilmesi ve analizlerin toplu olarak değerlendirilmesi ile bu problem çözülebileceği düşünölmektedir.



Şekil 3.30: CTC konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

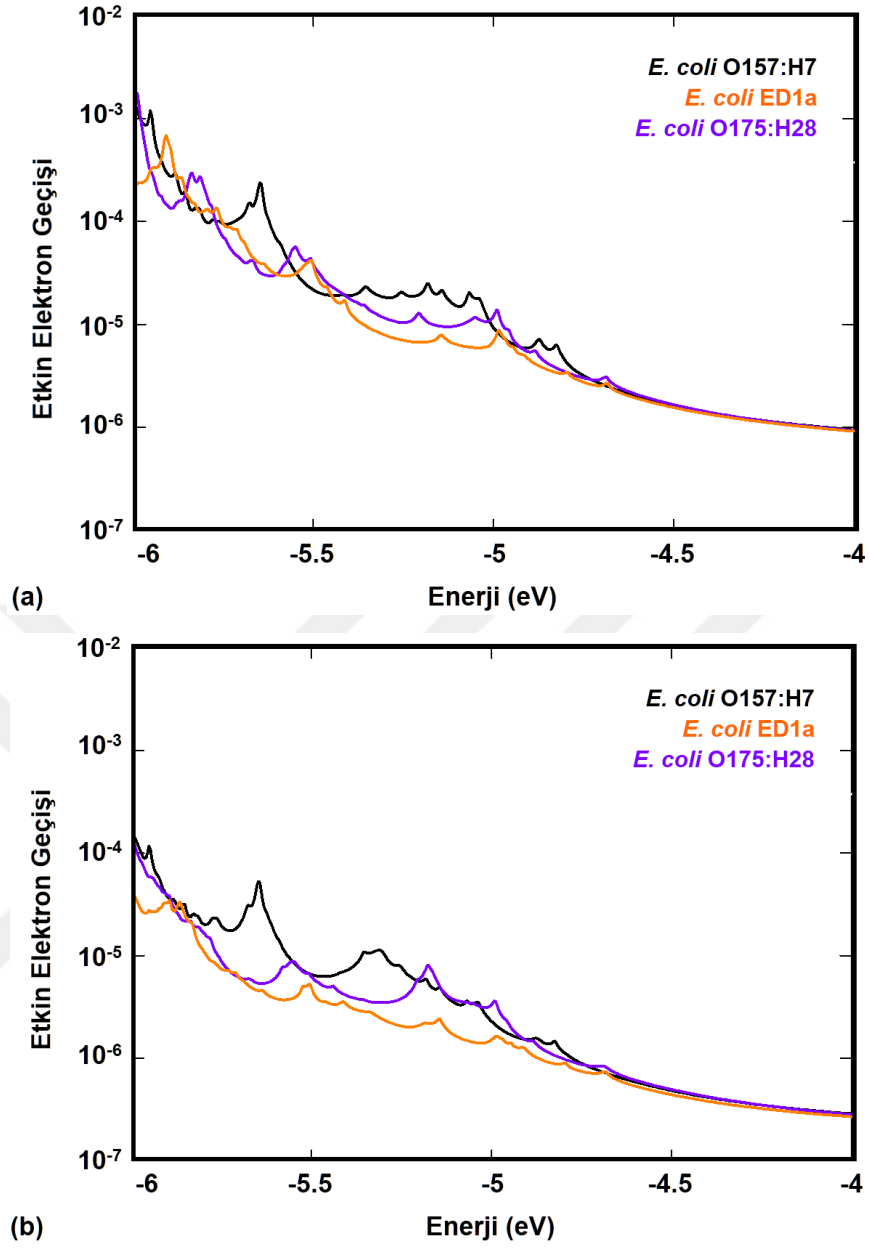
Pürin yolu uzunluğunun en kısa olduğu SPPW kontrol konformasyonları için karşılaştırma grafiği Şekil 3.31’de sunulmuştur.



Şekil 3.31: SPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

Temsilci CTC'lerin etkin elektron geçişi değerlerinde görülen farklar SPPW konformasyonlarından hesaplanan değerlerde görülmemektedir. ED1a dizilimi eğer Fermi enerjisi -5 eV ise diğer dizilimlerden daha yüksek elektronik geçiş değerlerine sahiptir. -5 eV'den daha büyük enerji değerlerinde ise üç dizilimin de elektron geçiş değerleri birbirlerine çok yakındır.

Pürin yolu uzunluğunun en uzun olduğu LPPW kontrol konformasyonları için karşılaştırma grafiği de Şekil 3.32'de sunulmuştur.

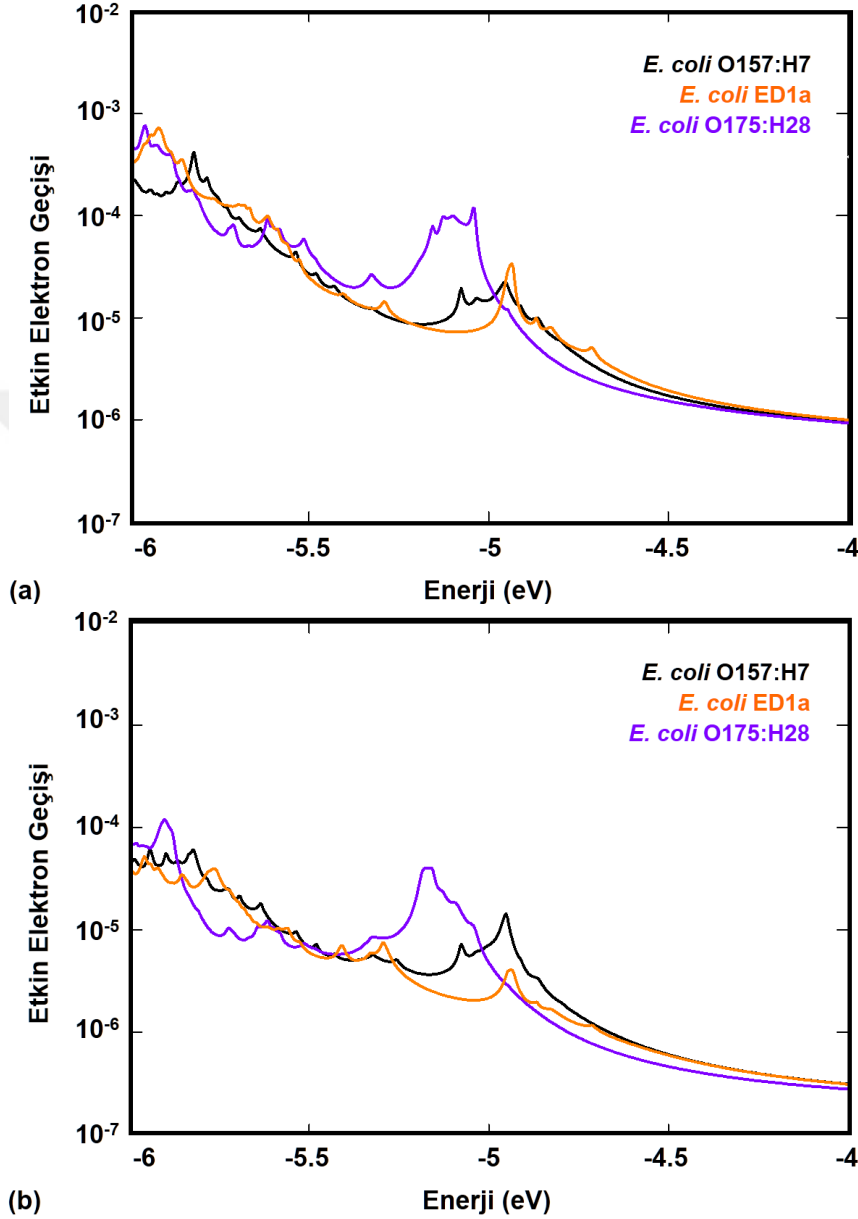


Şekil 3.32 : LPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

Bu durumda da etkin elektron geçişi değerlerinin deneysel sonuçlarla uyuşmadığı ve deneysel sonuçlarda gözlenen farkları belirleyemediği görülmüştür. Her iki kontrol yapısı da (SPPW ve LPPW) pürin yolu uzunluğu histogramlarındaki en kısa ve en uzun anlara denk gelmektedirler. Bu nedenle her iki yapıda zaman içerisinde çok kısa bir an için var olmaktadır ve SMBJ deneylerinde yapılan 5000 civarında ölçüm içerisinde olma olasılıkları çok düşüktür.

Son olarak, Pürin yolu uzunluğu temsilcilerinin (MPPW'ler) deneysel olarak en çok karşılaşılan konformasyonlar olduğu ve dolayısı ile iletkenlik histogramlarında

gözlemlenen pik pozisyonlarına karşılık geldikleri varsayımı ile MPPW konformasyonların etkin elektron geçişleri hesaplanmış ve karşılaştırmaları aşağıda gösterilmiştir (Şekil 3.33).



Şekil 3.33: MPPW konformasyonları için etkin elektron geçişi (T_{eff}) - enerji grafiği, $\Sigma_B = 10$ meV ; (a) Buttiker uçları bazlarda, (b) Buttiker uçları atomlarda.

MPPW konformasyonları ile elde edilen etkin elektron geçişi değerleri deneylerde gözlenen eğilimler ile büyük oranda benzerlikler içermektedir. O175:H28 dizilimi diğer dizilimler ile karşılaştırıldığında -5 eV ile -4 eV aralığında her iki hesaplama yöntemine göre de daha düşük etkin elektron geçişi değerlerine sahiptir. ED1a dizilimi bazlara göre yapılan hesaplamada en iyi etkin elektron geçişi sonuçları gösterirken,

atomlara göre yapılan hesaplamada ikinci sıradadır. Baz uyumsuzluğu olmayan O157:H7 dizilimi için ise bu durum tam tersidir.

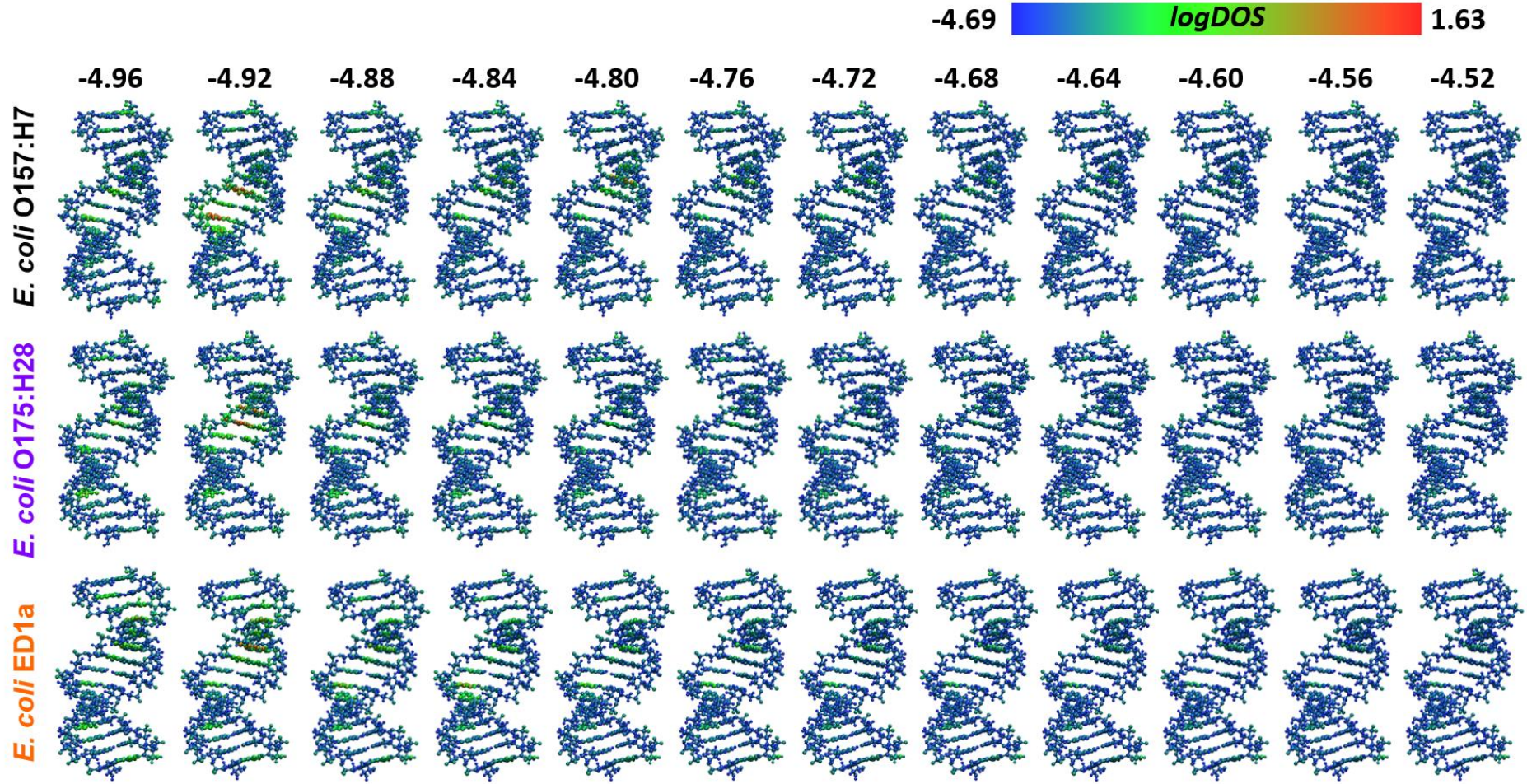
Tez kapsamında yapılan karşılaştırmalar sonucunda, sistem içerisinde anlık da olsa karşılaşılabilecek farklı konformasyonlardan dolayı elektriksel iletkenliğin değişebileceği sonucu çıkartılmıştır. Şu ana kadar anlatılan sonuçlarda deney sırasında birden fazla konformasyon oluşabileceği gösterilmiş ve bu konformasyonlardan dolayı farklı iletkenlik sıralamaları elde edilebileceği sunulmuştur. Yapılan analizlerde deneylerle olan örtüşmeleri göz önüne alındığında sistemin en iyi pürin yolu uzunluklarının temsil edebildiği görülmüştür. Bu veri literatürde pürin yoluna verilen önem ile de uyuşmaktadır.

3.3.3 Durum yoğunluğu analizi

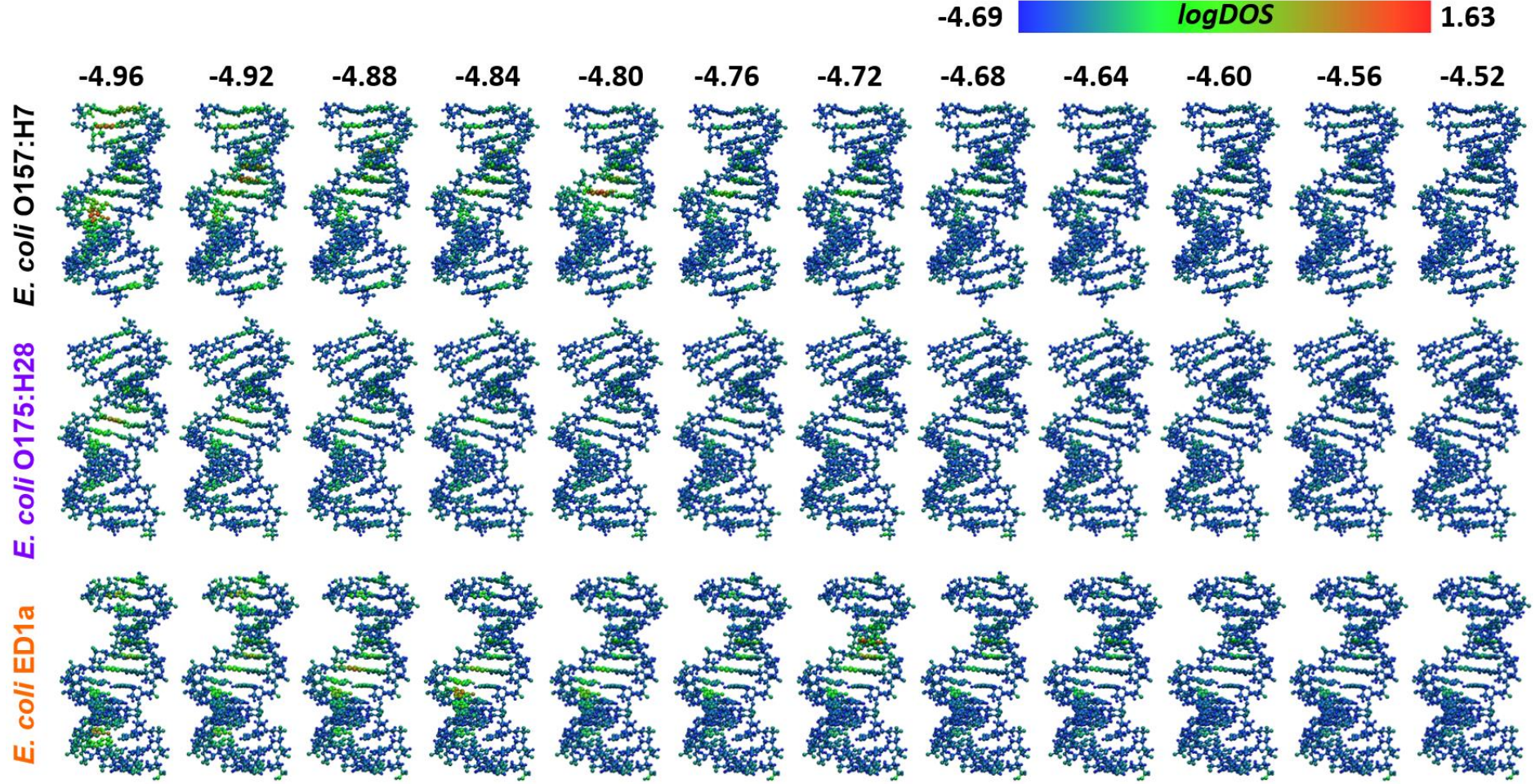
Molekül üzerinde elektronların en çok hangi atom ya da atomlarda yoğunlaştığını anlamak için Fermi enerji aralığı -5 ile -4 eV arasında olduğu varsayılarak durum yoğunlukları (DoS) hesaplanmıştır. SPPW ve LPPW konformasyonlarına küçük bir zaman aralığında rastlandığından, bu hesaplamalar yapılırken CTC ve MPPW temsilci konformasyonlarına yoğunlaşmıştır.

Her bir atom üzerindeki durum yoğunluğu, elektronların molekül üzerinde en çok hangi atomlarda bulunacağını göstermektedir. Bu analiz sonucunda elektronların yoğunlaştığı bölgeler bulunup, elektron iletimi sırasında büyük olasılıkla bulunacakları yerler elde edilmiştir. Şekil 3.34 ve 3.35'te de görüleceği üzere elektronlar hibrit yapılarının omurgaları yerine bazları üzerinde yoğunlaşmıştır. Daha da dikkatli bakıldığında, beklenildiği üzere elektronların pürinler üzerinde yoğunlaştığı görülmektedir. Bu sonuç literatürde de bahsedilen pürinlerin elektron taşınımında daha etkili olduğu durumu da doğrulamaktadır. Durum yoğunluğu analizleri sonucunda ED1a yapısında elektronların molekül üzerinde dağılımlarının daha homojen olduğu ve diğer yapılara göre aynı enerji seviyesinde elektronların daha çok bu hibritte bulunduğu görülmüştür. Bu da deneysel olarak yapılan elektrik akımı ölçümlerinde elde edilen veriler ile uyumludur.

Durum yoğunluğu hesaplamalarında görsel olarak pürinlerin elektron iletiminde elektronlar tarafından tercih edilen kısımlar olduğu görülmesi üzerine molekül üzerinde elektronların hangi yoldan ilerlediğini bulmak adına elektron iletim yolu analizleri gerçekleştirilmiştir.

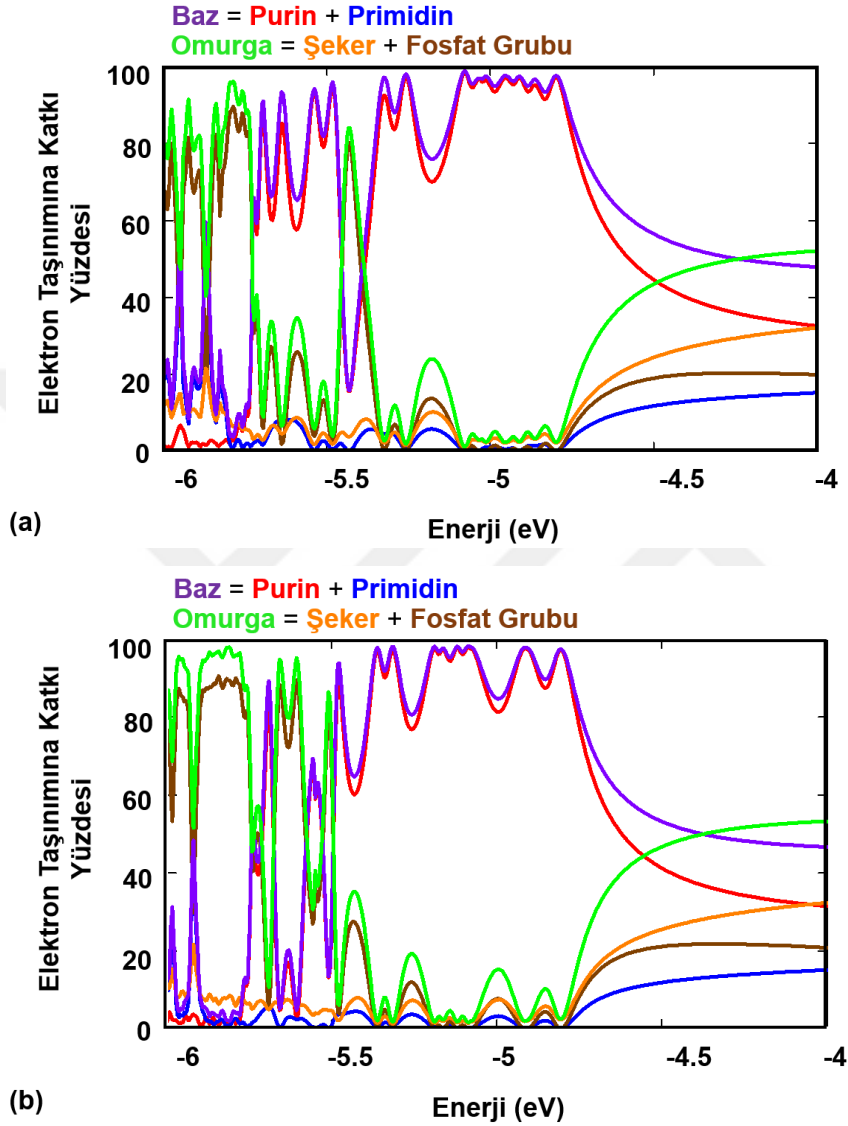


Şekil 3.34: CTC konformasyonları için durum yoğunluklarının gösterimi.



Şekil 3.35: MPPW Konformasyonları için durum yoğunluklarının gösterimi.

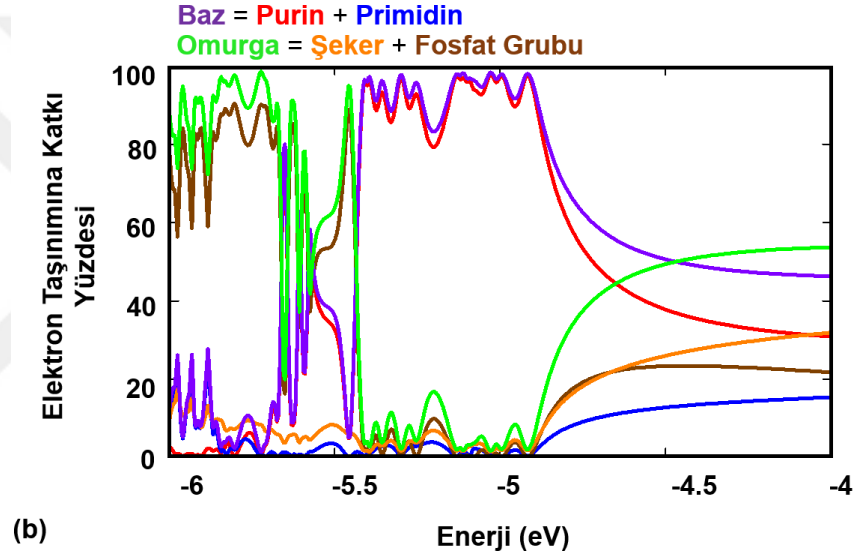
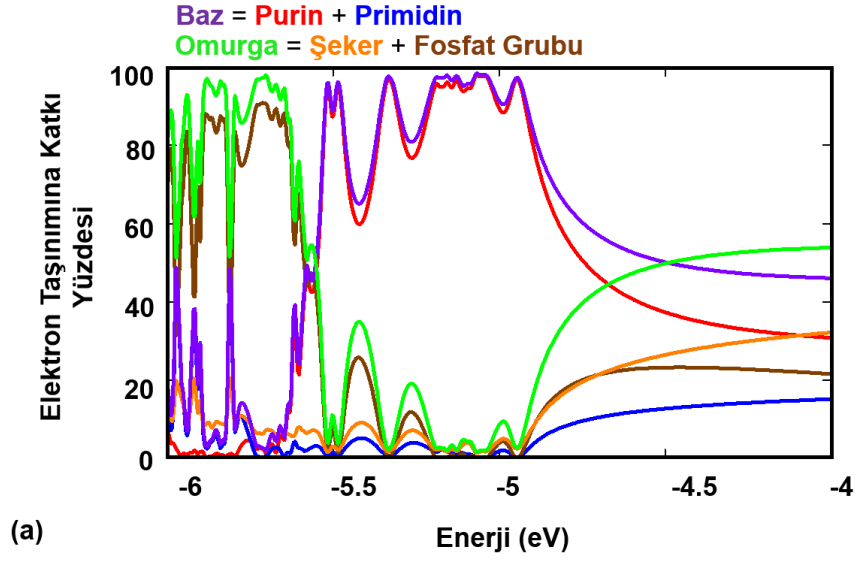
Elektron iletim yolu analizleri ile CTC ve MPPW konformasyonları için farklı Fermi enerji seviyeleri için durum yoğunluklarının belirli yollardaki yüzdeleri elde edilmiştir ve aşağıdaki karşılaştırma grafikleri oluşturulmuştur. Öncelikli olarak baz uyumsuzluğu olmayan hibrit üzerinde incelemeler yapılmıştır (Şekil 3.36).



Şekil 3.36: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşıma yolları: *E. coli* O157:H7 (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu

O157:H7 yapısında MPPW konformasyonunda -5 ve -5.5 eV arası ile yaklaşık -5.4 ile -4 arasında pürinlerin elektron taşınımına etkisinin diğer yollardan daha fazla olduğu görülmektedir. CTC konformasyonu için ise -5.5 eV ile -4 eV aralığında pürinlerin etkisinin yüksek olduğu bulunmuştur.

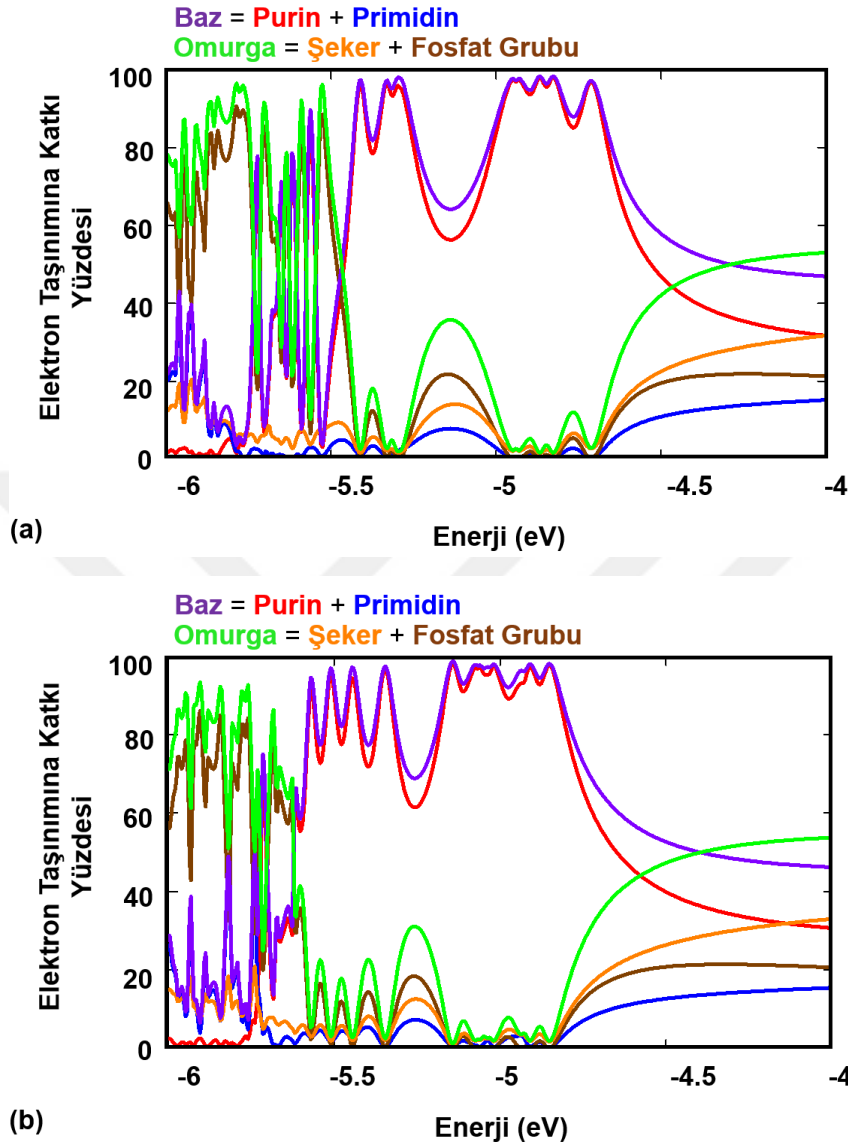
Aşağıda baz uyumsuzluğuna sahip O175:H28 hibrit yapısı için yapılan elektron iletim yolu hesaplamalarının sonuçları sunulmuştur (Şekil 3.37).



Şekil 3.37: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşınım yolları: *E. coli* O175:H28 (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu.

O175:H28 yapısı MPPW konformasyonu için -5.5 ve -4 eV arasında pürinlerin elektron taşımına etkisinin diğer yollardan daha fazla olduğu görülmektedir. O157:H7 hibriti ile karşılaştırıldığında pürin etkisinin azaldığı görülmektedir. Elektron geçiş hesaplamalarında da MPPW konformasyonlarına bakıldığında O175:H28'in O157:H7'den daha düşük değerlere sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeni olarak moleküldeki pürinlerin etkisinin mutasyon sonucunda değişmesi gösterilebilir. O175:H28 CTC konformasyonu için ise -5.5 eV ile -4 eV aralığında pürinlerin etkisinin yüksek olduğu gözlemlenmiştir. O157:H7 ile karşılaştırıldığında CTC pürin etkisinin yüksek olduğu ve elektron taşınım hesaplamalarında mutasyona sahip O175:H28'in daha yüksek etkin elektron geçişi değerlerine sahip olduğu görülmüştür.

Bu eğilimin diğer hibrit yapısı için de geçerli olup olmadığı araştırılmış ve sonuçları Şekil 3.38’de sunulmuştur.



Şekil 3.38: Hibrit moleküllerinin farklı enerji seviyelerinde etkili olan elektron taşınım yolları: *E. coli* ED1a (a) MPPW konformasyonu ve (b) CTC konformasyonu.

ED1a hibrit yapısı için yine pürinlerin etkisinin diğer yollara göre fazla olduğu görülmüştür. Ayrıca bu hibrit için diğer yapılarından farklı olarak, -6 ile -5.5 eV aralığında hem MPPW hem de CTC konformasyonlarında elektron iletiminde hibrit omurgasının ve bazlarının sırayla etkili olduğu gözlemlenmiştir. Bu özelliğinden dolayı ED1a hibritinin elektronlar için diğer yapılardan daha kolay bir iletim sağlayacağı ve bunun da deneysel olarak diğer yapılardan daha yüksek iletkenlik değerine sahip olmasının nedenlerinden biri olabileceği düşünülmektedir.

4 SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, UC Davis ve UW'den araştırmacılarla yapılan ortak çalışmalarda genetik maddenin iletkenlik ölçümleri ile ayırt edilip edilemeyeceği araştırılmıştır. Bunun için UC Davis'te deneysel çalışmalar yürütülmüş ve dört farklı bakteri türünün tek molekül düzeyinde iletkenlik ölçümleriyle aralarında sadece bir baz farklılığı (genetik madde üzerinde olabilecek en küçük değişiklik) olsa bile ayırt edilebileceği gösterilmiştir. İletkenlikte meydana gelen değişimlerin fiziksel nedenlerinin anlaşılabilmesi için, bu tez kapsamında çeşitli teori ve modelleme çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Prob DNA ile hedef RNA'dan oluşan DNA:RNA hibrit yapıları moleküler dinamik hesaplamaları kullanılarak modellenmiş ve geliştirilen algoritmalarla, mutasyonlar nedeni ile moleküler yapılar üzerinde meydana gelen değişiklikler incelenmiştir. DFT yöntemi ile mutasyonlar sonucu oluşan yapısal değişikliklerin elektriksel özellikleri nasıl etkilendiği araştırılmıştır. UW çalışma grubunca geliştirilen teorik model kullanılarak elektron taşınım hesaplamaları yapılmıştır.

Sonuç olarak; elektriksel iletkenlikte gözlenen farkların değişen bazların, sadece bölgesel etkilerinden değil, genetik madde üzerindeki toplam moleküler yapıda neden oldukları değişimlerinden kaynaklandığı bulunmuştur. Baz değişikliklerinin, DNA:RNA hibrit yapısını bir arada tutan karşılıklı iplikler arasındaki hidrojen bağlarını etkiledikleri gözlenmiş ve bunun DNA:RNA yapısının kararlılığına etkilerinin hem değişen baza (mutasyonun tipine) hem de değişimin dizilim üzerindeki konumuna bağlı olduğu gösterilmiştir. Buna ek olarak, moleküler dinamik çalışmalarından elde edilen aynı hibrit molekülün farklı konformasyonlar için elektriksel özelliklerin değişebileceği belirlenmiştir. Bu değişikliklerin detaylandırılması ile, literatürde de belirtildiği gibi, pürinlerin elektron taşınımına pirimidinlerden daha çok katkı sağladığı gözlenmiş ve ayrıca pürinler arasındaki uzaklıkların elektriksel özellikler üzerinde büyük etkisi olduğu bulunmuştur: Pürinler arasındaki mesafelerin artması durumunda iletkenliğin düştüğü gösterilmiştir. DFT ve taşınım çalışmalarından elde edilen elektron durum yoğunluklarının yapı üzerindeki

dağılımları incelenerek elektronların molekül üzerinde izlediği yollar belirlenmiştir: Elektronların iletim sırasında DNA:RNA hibritlerinin omurgaları (şeker ve fosfat grubu) yerine, bazlar üzerinden iletilme olasılığının daha yüksek olduğu gözlenmiştir.

Genetik madde üzerinde gerçekleşebilecek olası en küçük tek bir baz değişiminin bile ayırt edilebildiği bu yöntem ile günümüz teknolojilerinde genetik madde analizleri için ihtiyaç duyulan pahalı ve zahmetli hücre kültürleri ile dizilim çoğaltma adımlarına ihtiyaç ortadan kaldırılabilecektir. Sonuç olarak, bu tekniğin çeşitli bakteri, virüs gibi patojenler ile kanserli hücrelerin belirlenmesinde kullanılacak biyosensörlerin tasarlanması ve geliştirilmesinde öncü bir rol alarak, insan ve toplum sağlığına katkı sağlaması beklenmektedir.

Bu çalışma ileride geliştirilerek, patojenler ve hastalıklar için hedef RNA bölgelerinin belirlenmesi ve bu hedeflere uygun DNA problemlerinin tasarlanması gerekmektedir. Daha sonrada, test sonuçlarının doğru ve hızlı değerlendirilebilmesi için, olası hibritlerin iletkenlik ölçümleri yapılarak x-ışınları kataloğu (ICDD) benzeri veri bankalarının oluşturulması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Adessi, C., Walch, S., ve Anantram, M. P.,** (2003). Influence of counter-ion-induced disorder in DNA conduction, *Phys. Rev. B*, 67, 081405.
- Altschul, S. F. vd.,** (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs, *Nucleic Acids Res.*, Vol. 25, Sf. 3389-3402.
- Anantram, M. P. ve Datta, S.,** (1995). Effect of phase breaking on the ac response of mesoscopic systems, *Phys. Rev. B.*, Vol. 51, 12, 7632.
- Anantram, M. P., Lundstrom, M. S. Ve Nikonov, D. E.,** (2008). Modeling of nanoscale devices. *Proceedings of the IEEE*, Vol. 96, 9.
- Artes, J. M. vd.,** (2015). Conformational gating of DNA conductance. *Nat. Commun.* 6, 8870.
- Bartlett, J. M. S.; Stirling, D.** (2003). A short history of the polymerase chain reaction, *Methods Mol. Biol.*, 226, Sf. 3-6.
- Berlin, Y. A. vd.** (2001). Charge hopping in DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 104, Sf. 260-268.
- Berlin, Y. A., Burin, A. L. ve Ratner, M. A.,** (2000). DNA as molecular wire, *Superlattices and Microstructures*, 4, Sf. 241-252.
- Berney H. vd.,** (2000) DNA diagnostic biosensor development, characterization and performance. *Sens Actuators B* 68, Sf. 100-108.
- Bixon, M. vd.,** (1999). Long-range charge hopping in DNA, *PNAS*, 96 (21) 11713.
- Braun vd.,** (1998). DNA-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire, *Nature*, 391, Sf. 775-778.
- Brown, T. and Brown, T. (Jr),** Nucleic Acids Book (online), *AtdBio Ltd.*, U.K. Adres: <https://www.atdbio.com/nucleic-acids-book/>
- Cai, L., Tabata, H., ve Kawai, T.,** (2000). Electrical transport through 60 base pairs of poly(dG)-poly(dC) DNA molecules, *Appl. Phys. Lett.*, 77, 3105.
- Campbell C.N. vd.,** (2002). Enzyme amplified amperometric sandwich test for RNA and DNA, *Anal. Chem.*, 74, Sf. 158-162.
- Case, D. A. vd.,** (2016). Computer code AMBER 2016, *University of California*, Adres: <http://ambermd.org/>

- Castro, V. E.**, (2002). Why so many clustering algorithms: a position paper, *SIGKDD Explor. Newsl.*, Vol. 4(1), Sf. 65-75.
- Cauët, E., Dehareng, D. ve Liévin, J.**, (2006). Ab initio study of the ionization of the DNA bases: ionization potentials and excited states of the cations, *J. Phys. Chem. A*, 110, 9200-9211.
- Cauët, E., Valiev, M. ve Weare, J. H.**, (2010). Vertical ionization potentials of nucleobases in a fully solvated DNA environment, *J. Phys. Chem. B*, 114, 5886-5894.
- Chattopadhyay, B. ve Mukherjee, M.**, (2011). Molecular dynamics study and electronic structure evolution of a DNA duplex d(CCCGATCGGG)₂, *J. Phys. Chem. B*, 115, 1760-1766.
- Cheatham, T. E. ve Kollman, P. A.** (1997a). Insight into the stabilization of A-DNA by specific ion association: Spontaneous B-DNA to A-DNA transitions observed in molecular dynamics simulations of d[ACCCGCGGGT]₂ in the presence of hexaamminecobalt(III). *Structure*, 5, Sf. 1297-1311.
- Cheatham, T. E. ve Kollman, P. A.** (1997b). Molecular dynamics simulations highlight the structural differences among DNA:DNA, RNA:RNA, and DNA:RNA hybrid duplexes, *J. Am. Chem. Soc.*, 119 (21), Sf. 4805.
- Cheatham, T. E. vd.**, (1998). Molecular dynamics and continuum solvent studies of the stability of polyG-polyC and polyA-polyT DNA duplexes in solution. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 16, Sf. 265-280.
- Clancy, S.** (2008) RNA Functions. *Nature Education* 1(1):102.
- Close, D. M. ve Ohman, K. T.**, (2008). Ionization energies of the nucleotides, *J. Phys. Chem. A*, 112, 11207–11212.
- D'Amato, J. L. ve Pastawski, H. M.**, (1990). Conductance of a disordered linear chain including inelastic scattering events, *Phys. Rev. B*, 41, 7411.
- Dans, P. vd.**, (2017). How accurate are accurate force-fields for B-DNA?, *Nucleic Acids Research*, Vol. 45 (7), Sf.4217-4230.
- Darden, T., York, D. ve Pedersen, L.**, (1998). Particle mesh Ewald: an N-log(N) method for Ewald sums in large systems, *J. Chem. Phys.* Vol. 98, 10089.
- Datta, S.**, (2005). Quantum transport: atom to transistor, *Cambridge University Press*.
- Davidson, E. R. ve Feller, D.**, (1986). Basis set selection for molecular calculations, *Chem. Rev.*, 86 (4), Sf. 681-696.
- Dickson, C. J. vd.**, (2014). Lipid14: The amber lipid force field, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 10 (2), Sf. 865-879.
- Eddy, S.**, (2001). Non-coding RNA genes and the modern RNA world. *Nature Reviews Genetics* 2, Sf. 919-929.

- Erdem A. vd.,** (2000). Novel hybridization indicator methylene blue for the electrochemical detection of short DNA sequence related to Hepatitis B Virus, *Anal. Chim. Acta.*, 423, 139-149.
- Fink, H. W., Schonenberger, C.,** (1999). Electrical conduction through DNA molecules, *Nature*, 398, 407-410.
- Frisch, M. J. vd.,** (2009). *Computer code Gaussian 09*, Revision D.1.
- Gillespie, D.,** (1968). The formation and detection of DNA-RNA hybrids. *Methods in Enzymology Nucleic Acids*, Part B, 641-668.
- Gritsenko, O. V., Schipper, P. R. T. ve Baerends, E. J.,** (1997). Exchange and correlation energy in density functional theory: Comparison of accurate density functional theory quantities with traditional Hartree-Fock based ones and generalized gradient approximations for the molecules Li₂, N₂, F₂, *J. Chem. Phys.*, 107, 5007.
- Gunsteren, W. F. ve Berendsen, H. J. C.,** (1987). Groningen molecular simulation (GROMOS) library manual, *BIOMOS b.v.*, Groningen.
- Gutierrez, R., Mandal, S. ve Cuniberti, G.,** (2005). Quantum transport through a DNA wire in a dissipative environment, *Nano Lett.*, Vol. 5, No.6, Sf. 1093-1097.
- Gutierrez, R. vd.,** (2009). Charge transport through biomolecular wires in a solvent: Bridging molecular dynamics and model hamiltonian approaches, *Phys. Chem. Lett.*, 102, 208102.
- Guvench, O. ve MacKerell A. D. Jr.,** (2008). Comparison of protein force fields for molecular dynamics simulations, *Methods Mol Biol.*, 443, Sf. 63-88.
- Hihath, J. vd.,** (2005). Study of single-nucleotide polymorphisms by means of electrical conductance measurements. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 102, 16979-16983.
- Humphrey, W., Dalke, A. ve Schulten, K.,** (1996). VMD-Visual Molecular Dynamics, *J. Molec. Graphics*, Vol. 14, Sf. 33-38.
- Ivani, I. vd.,** (2016). Parmbsc1: a refined force field for DNA simulations, *Nat. Methods*, Vol. 13, Sf. 55-58.
- Johannes, L. ve Römer, W.,** (2010). Shiga toxins from cell biology to biomedical applications. *Nat. Rev. Microbiol.*, Vol. 8, Sf. 105-116.
- Jorgensen, W. L. vd.,** (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* Vol. 79, Sf. 926-935.
- Kavita V.,** (2017). DNA Biosensors-A Review, *J. Bioengineer & Biomedical Sci.*, 7:2.

- Kratochvílová I. vd.,** (2013). Charge transfer through DNA/DNA duplexes and DNA/RNA hybrids: complex theoretical and experimental studies. *Biophys. Chem.*, 180-181:127-34.
- Kubar, T. ve Elstner, M.,** (2008). What governs the charge transfer in dna? the role of dna conformation and environment, *J. Phys. Chem. B*, Vol. 112 (29), Sf. 8788-8798.
- Kypr, J. vd.,** (2009). Circular dichroism and conformational polymorphism of DNA, *Nucleic Acids Res.*, Vol. 37, Sf. 1713-1725.
- Lesnik, E. A. ve Freier, S. M.,** (1995). Relative thermodynamic stability of DNA, RNA, and DNA:RNA hybrid duplexes: relationship with base composition and structure, *Biochemistry*, Vol. 34, Sf. 10807-10815.
- Li, Y. vd.,** (2016). Comparing charge transport in oligonucleotides: RNA:DNA hybrids and DNA duplexes, *J. Phys. Chem. Lett.*, 7, 1888-1894.
- Li, Y. vd.,** (2018). Detection and identification of genetic material via single-molecule conductance, *Nature Nano.*, 13, 1167-1173.
- Li, X. Ve Yan, Y.,** (2001). Electrical transport through individual DNA molecules, *Appl. Phys. Lett.*, Vol. 79, Sf. 2190.
- Macia, E., Triozon, F. ve Roche, S.,** (2016). Contact-dependent effects and tunneling currents in DNA molecules *Phys. Rev. B*, 71, 113106.
- MacKerell A.D. Jr., Banavali N., Foloppe N.,** (2001). Development and current status of the CHARMM force field for nucleic acids, *Biopolymers*, 56 (4), Sf. 257-265.
- Mallajosyula, S. S. vd.,** (2008). Sequence dependent electron transport in wet DNA: Ab initio and molecular dynamics studies. *Phys. Rev. Lett.*, 101, 176805.
- Malyshev, A. V.,** (2007). DNA double helices for single molecule electronics, *Phys. Rev. Lett.*, 98, 096801.
- Marino, T. vd.,** (2012). Theoretical investigation on DNA/RNA base pairs mediated by copper, silver, and gold cations, *Dalton Trans.*, 41(6), Sf. 1816-1823.
- Martin, M.,** (2006). Comparison of the AMBER, CHARMM, COMPASS, GROMOS, OPLS, TraPPE and UFF force fields for prediction of vapor-liquid coexistence curves and liquid densities, *Fluid Phase Equilibria*, Vol. 248(1), Sf. 50-55.
- Meggers, E., Michel-Beyerle, M. E. ve Giese, B.,** (1998). Sequence dependent long range hole transport in DNA, *J. Am. Chem. Soc.*, 120, 12950.
- Mehrez, H. ve Anantram, M. P.,** (2005). Interbase electronic coupling for transport through DNA, *Physical Review B*, Vol. 71, 11, 115405.

- Mccammon, J. A., Gelin, B. R. and Karplus, M.,** (1977). Dynamics of folded proteins. *Nature*, 267, Sf. 585-590.
- Miertuš, S., Scrocco, E. ve Tomasi, J.,** (1981). Electrostatic interaction of a solute with a continuum. A direct utilization of ab initio molecular potentials for the prevision of solvent effects, *Chem. Phys.*, Vol. 55, Sf. 117-129.
- Millan K.M. ve Mikkelsen S.R.,** (1993). Sequence selection biosensor for DNA based on electro active hybridization indicators, *Anal. Chem.*, Vol. 65, Sf. 2317-2324.
- NIH.,** (2009). Understanding Genetics: A New York, Mid-Atlantic Guide for Patients and Health Professionals. *Washington (DC): Genetic Alliance*, Adres: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK115563/>
- O'Brien, A. D. vd.,** (1984). Shiga-like toxin-converting phages from Escherichia coli strains that cause hemorrhagic colitis or infantile diarrhea. *Science*, Vol. 226, Sf. 694-696.
- Olofsson, J. ve Larsson, S.,** (2001). Electron hole transport in DNA, *J. Phys. Chem. B*, Vol. 105 (42), Sf. 10398-10406.
- Parr, R. G. ve Yang, W.** (1989). Density-Functional Theory of Atoms and Molecules, *Oxford University Press*, New York.
- Perez, A., Luque, J. ve Orozco, M.,** (2012). Frontiers in molecular Dynamics simulations of DNA, *Accounts Of Chemical Research*, Vol. 45, No. 2, Sf. 196-205.
- Perez, A. vd.,** (2007). Refinement of the AMBER force field for nucleic acids: improving the description of alpha/gamma conformers, *Biophys. J.*, Vol. 92, Sf. 3817-3829.
- Patterson, J. ve Bailey, B.,** (2010). Solid-State Physics, *Springer-Verlag Berlin*.
- Porath, D. vd.,** (2000). Direct measurement of electrical transport through DNA molecules, *Nature*, 403, Sf. 635-639.
- Prabhakar N. vd.,** (2007). DNA entrapped polypyrrole-polyvinyl sulfonate film for application to electrochemical biosensor, *Anal. Biochem.*, 366, Sf. 71-79.
- Qi, J., Edirisinghe, N., Rabbani, M. G. ve Anantram, M. P.,** (2013). Unified model for conductance through DNA with the Landauer-Büttiker formalism, *Phys. Rev. B*, 87, 085404.
- Qin, M. vd.,** (2010). Density functional theory study on the interaction between guanine-cytosine base pair and formamide, *Indian J. Chem.*, Vol. 49A, Sf. 1332-1338.
- Reed, M. A., vd.,** (1997). Conductance of a molecular junction, *Science*, 278, Sf. 252-254.

- Risser, S. M., Beratan, D. N. ve Meade, T. J.,** (1993). Electron transfer in DNA: predictions of exponential growth and decay of coupling with donor-acceptor distance, *J. Am. Chem. Soc.*, 115, 6, Sf. 2508-2510.
- Rudberg, E.** (2012). Difficulties in applying pure Kohn-Sham density functional theory electronic structure methods to protein molecules, *J. Phys. Condens. Matter.*, 24, 072202.
- Russo, N., Toscano, M. ve Grand, A.,** (2000). Theoretical determination of electron affinity and ionization potential of DNA and RNA bases, *J. Comput. Chem.*, Vol. 21, Sf. 1243-1250.
- Ryckaert, J. P., Ciccotti, G. ve Beÿrendsen, H.J.C.,** (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes, *J. Comput. Phys.*, Vol. 23, Sf. 327-341.
- Schochetman, Gerald; Ou, Chin-Yih; Jones, Wanda K.,** (1988). Polymerase Chain Reaction. *The Journal of Infectious Diseases*, 158 (6): 1154-1157.
- Seidel, C. A. M., Schulz, A. ve Sauer, M. H. M.,** (1996). Nucleobase-specific quenching of fluorescent dyes. 1. Nucleobase one-electron redox potentials and their correlation with static and dynamic quenching efficiencies. *J. Phys. Chem.* 100, Sf. 5541-5553.
- Selberherr, S.,** (1984). Analysis and simulation of semiconductor devices, *Springer-Verlag Wien*.
- Sergei Y. vd.,** (2004). Ion motions in molecular dynamics simulations on DNA, *PNAS*, 101(41), Sf. 14771-14775.
- Sharma, K., Sehgal, N. ve Kumar, A.,** (2003). Biomolecules for development of biosensors and their application, *Curr Appl Phys*, 3, Sf. 307-316.
- Shaw, Nicholas N. Arya, Dev P.,** (2008). Recognition of the unique structure of DNA:RNA hybrids, *Biochimie; Elsevier*, Vol. 90, Sf. 1026-1039.
- Smith M. D. vd.,** (2015). Force-field induced bias in the structure of A β 21-30: A Comparison of OPLS, AMBER, CHARMM, and GROMOS force fields, *J. Chem. Inf. Model*, Vol. 55, 12, Sf. 2587-2595.
- Storm, A. vd.,** (2001). Insulating behavior for DNA molecules between nanoelectrodes at the 100 nm length scale, *Appl. Phys. Lett.*, 79, 3881-3883.
- Svizhenko, A. Ve Anantram, M. P.,** (2003). Role of scattering nanotransistors, *IEEE Tran. on Elec. Devices*, Vol. 50, 6.
- Touchon, M. vd.,** (2009). Organised genome dynamics in the Escherichia coli species results in highly diverse adaptive paths. *PLoS Genet.* 5, e1000344.
- Ussery, D. W.,** (2002). DNA structure: A-, B- and Z-DNA helix families, *Encyclopedia Of Life Sciences; John Wiley & Sons, Ltd: Chichester, U.K.*

- Várnai, P. ve Zakrzewska, K.,** (2004). DNA and its counterions: a molecular dynamics study, *Nucleic Acids Research*, Vol. 32(14), Sf. 4269-4280.
- Verlet, L.,** (1967). Computer "Experiments" on classical fluids. I. thermodynamical properties of lennard-jones molecules, *Phys. Rev.* 159, 98.
- Wesolowski, S. vd.,** (2001). Electron affinities of the DNA and RNA bases, *J. Am. Chem. Soc.*, 123. 4023-4028.
- Xiang, L. vd.,** (2015). Intermediate tunnelling-hopping regime in DNA charge transport. *Nat. Chem.*, 7, 221–226.
- Xu, B. ve Tao, N. J.,** (2003). Measurement of single-molecule resistance by repeated formation of molecular junctions. *Science*, 301, Sf. 1221–1223.
- Xu, B. Q. vd.,** (2004). Direct conductance measurement of single DNA molecules in aqueous solution, *Nano Lett.*, 4(6), Sf. 1105–1108.
- Yoo, K. H., vd.,** (2001). Electrical conduction through poly(dA)-poly(dT) and poly(dG)-poly(dC) DNA molecules, *Phys. Rev. Lett.*, 87, 198102.
- Zhen, J. vd.,** (2017). Cooperativity effect involving drug–DNA/RNA intermolecular interaction: A B3LYP-D3 and MP2 theoretical investigation on ketoprofen···cytosine···H₂O system, *J. Bio. Str. and Dyn.*, 1-60.
- Zhou, Y. H., Zhang, X. P., ve Ebright, R. H.,** (1991). Random mutagenesis of gene-sized DNA molecules by use of PCR with Taq DNA polymerase. *Nucleic acids research*, 19 (21), 6052.
- Zgarbova, M. vd.,** (2011). Refinement of the Cornell *et al.* nucleic acids force field based on reference quantum chemical calculations of glycosidic torsion profiles, *J. Chem. Theory. Comput.*, 7, 2886–2902.
- Zilly, M., Ujsághy, O. ve Wolf, D. E.,** (2010). Conductance of DNA molecules: Effects of decoherence and bonding, *Phys. Rev. B.*, Vol. 82, 125125.
- Url-1** <<http://structure.usc.edu/make-na/server.html>> alındığı tarih: Ağustos, Eylül, Ekim 2017.

EKLER

EK 1: A DNA – B DNA Dönüşüm Analiz Kodu

EK 2: RMSD Temsilci Yapıların Bulunması Kodu

EK 3: Pürin Yolu Uzunluğu Hesaplama Kodu



EK 1

```
AorB(RMSD_A,RMSD_B,referans) := | n ← rows(A) - 3
                                | M0,0 ← 0
                                | M0,1 ← referans
                                | M0,2 ← 0
                                | M1,0 ← referans
                                | M1,1 ← 0
                                | M1,2 ← 0
                                | for i ∈ 2..n - 1
                                |   | Mi,1 ← RMSD_Ai-2
                                |   | Mi,0 ← RMSD_Bi-2
                                |   | Mi,2 ←  $\frac{i}{100}$ 
                                | M
```

EK 2

```
import numpy as np

RMSD_matrix = np.loadtxt("RMSD_matrix.dat")
m = matrix.shape[0]

b=15
for i in range(b):
    cluster = np.loadtxt("COLORID{}".format(i), dtype=int)
    n = cluster.shape[0]
    new_mat = np.zeros((matrix.shape[0], matrix.shape[1]))
    new_mat2 = np.zeros((matrix.shape[0], matrix.shape[1]))
    toplam = {}

    for k in range(int(n)):
        for j in range(int(m)):
            if j==cluster[k]:
                new_mat[:, j] = RMSD_matrix[:, j]

    for k in range(int(n)):
        for i in range(int(m)):
            if i==cluster[k]:
                new_mat2[i,:] = new_mat[i,:]

    thesum = new_mat2.sum(axis=1, dtype=float)

    thesumwozeros = thesum[thesum != 0]
    min_value = thesumwozeros.min()

    for i in range(int(m)):
        if thesum[i]==min_value:
            index = i

print(index)
```

EK 3

```
proc bc_DNA {}
{

set outfile1 [open X_mut_ring_c_DNA w]

set sel1 [atomselect top "resid 30 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel2 [atomselect top "resid 29 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel3 [atomselect top "resid 28 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel4 [atomselect top "resid 27 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel5 [atomselect top "resid 26 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel6 [atomselect top "resid 25 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel7 [atomselect top "resid 24 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel8 [atomselect top "resid 23 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel9 [atomselect top "resid 22 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel10 [atomselect top "resid 21 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel11 [atomselect top "resid 20 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel12 [atomselect top "resid 19 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel13 [atomselect top "resid 18 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel14 [atomselect top "resid 17 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]
set sel15 [atomselect top "resid 16 and name C2 C4 C5 C6 N1 N3"]

set nf [molinfo top get numframes]
#####
# Loop over all frames.
#####

for {set i 0} {$i < $nf } {incr i}
{
  puts "frame $i of $nf"
  $sel1 frame $i
  $sel2 frame $i
  $sel3 frame $i
  $sel4 frame $i
  $sel5 frame $i
  $sel6 frame $i
  $sel7 frame $i
  $sel8 frame $i
  $sel9 frame $i
  $sel10 frame $i
  $sel11 frame $i
  $sel12 frame $i
  $sel13 frame $i
  $sel14 frame $i
  $sel15 frame $i

  set com1 [measure center $sel1 weight mass]
  set com2 [measure center $sel2 weight mass]
```

```
set com3 [measure center $sel3 weight mass]
set com4 [measure center $sel4 weight mass]
set com5 [measure center $sel5 weight mass]
set com6 [measure center $sel6 weight mass]
set com7 [measure center $sel7 weight mass]
set com8 [measure center $sel8 weight mass]
set com9 [measure center $sel9 weight mass]
set com10 [measure center $sel10 weight mass]
set com11 [measure center $sel11 weight mass]
set com12 [measure center $sel12 weight mass]
set com13 [measure center $sel13 weight mass]
set com14 [measure center $sel14 weight mass]
set com15 [measure center $sel15 weight mass]
puts $outfile1 "$i $com1 $com2 $com3 $com4 $com5 $com6 $com7 $com8 $com9
$com10 $com11 $com12 $com13 $com14 $com15"
}
close $outfile1
}
```

ÖZ GEÇMİŞ

Ad-Soyad : Büşra Demir
Uyruğu : T.C.
Doğum Tarihi ve Yeri : 31.03.1994, İzmir
E-posta : bdemir09@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU:

Yüksek Lisans: 2018, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mikro ve Nanoteknoloji (Tam Burslu, 3,86/4,00)

Lisans: 2017, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Mühendisliği (Tam Burslu, 3,64/4,00)

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Yer	Görevler
2018	Ankara	Evrensel Koleji Proje Şenliği Gönüllü Juri
2017 – 2018	Ankara	Tam Burslu Yüksek Lisans Öğrencisi

Yıl	Yer	Ödüller
2018	Safranbolu	12. CPC Konferansı Öğrenci Posterleri Birinciliği
2017	Ankara	TOBB ETÜ MBN Bitirme Projeleri Birinciliği
2013 – 2017	Ankara	Türk Eğitim Vakfı Yurtiçi Lisans Bursu
2013 – 2017	Ankara	TOBB ETÜ Lisans Tam Bursu

YABANCI DİL: İngilizce (Çok İyi), Fransızca (Orta), Almanca (Başlangıç)

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- Li, Y., Artés, J. M., **Demir, B.**, Gokce, S., Mohammad, H.M., Alangari, M., Anantram, M. P., Oren, E. E. ve Hihath, J., (2018). Detection and identification of genetic material via single-molecule conductance, *Nature Nanotechnology*, 13, 1167 - 1173.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Demir, B.**, Gokce, S., Mohammad, H. M., Patil, S. R., Li, Y., Artés, J. M., Hihath, J., Anantram, M. P. ve Oren, E. E., Effect of solvent on the molecular structure and electrical conductivity of DNA. MRS 2018 Fall Meeting, Symposium BM03: Multiscale modeling of soft materials and interfaces, Boston, MA, USA, November 25 - 30, 2018.
- Gokce, S., **Demir, B.**, Mohammad, H. M., Patil, S. R., Anantram, M. P. ve Oren, E. E., Effect of environment on DNA's structure and electrical conductivity. 12th Chemical Physics Congress, Safranbolu, Karabuk, Turkey, October 13, 2018.
- Patil, S. R., **Demir, B.**, Gokce, S., Oren, E. E., Qi, J. ve Anantram, M. P., Role of non-covalent interactions on charge transport. 2017 Physical Electronics Conference, Portland, Oregon, June 27 - 29, 2017.
- **Demir, B.**, Qi, J., Gokce, S., Oren, E. E. ve Anantram, M. P. Environmental effects on DNA backbone and conductance. IMRC 2016, Symposium A2: Bionanodesign, Cancun, Mexico, August 14 - 19, 2016.
- Anantram, M.P., Qi, J. ve **Demir, B.**, Electron transport in DNA connected to metal contacts: Computational experiments. IMRC 2016, Symposium A2: Bionanodesign, Cancun, Mexico, August 14 - 19, 2016.
- Candas, E., Gokce, G., **Demir, B.**, Demirel, G. ve Oren, E. E., Modeling of morphological versatility in Self-Assembly of Val-Ala and Ala-Val Dipeptides. MRS 2015 Fall Meeting, Symposium WW: Modelling and theory driven design of soft materials, Boston, MA, USA, November 29 - December 04, 2015.