TÜBİTAK

Sarmal Yapılı Biyomoleküllerin Dinamik Özellikleri Ve Dolaşık Geometriden Kaynaklı Ölçeklenme Davranışı

Program Kodu: 1001

Proje No: 114F348

Proje Yürütücüsü:

Doç. Dr. Alkan KABAKÇIOĞLU

Araştırmacı:

Doç. Dr. Mehmet Sayar

AĞUSTOS 2018

İSTANBUL

ÖNSÖZ

DNA ve RNA gibi hücrenin hayat döngüsünde temel işlevlere sahip uzun molekülerin dinamik davranışı sahip oldukları doğal sarmal yapı nedeniyle henüz iyi anlaşılamamıştır. Bu projede, DNA ve RNA moleküllerinin sarmal geometrisi ile dinamik davranışı arasındaki ilişkinin benzetişim yöntemleriyle araştırılabilmesi için yeni bir kaba ölçekli model geliştirilmiştir. Daha sonra bu model yardımı ile DNA/RNA'da eşlenik zincirleri bir arada tutan hidrojen bağlarının kırılma dinamiği ve bu şekilde oluşan çift fazlı yapının doğal sarmal yapıyla etkileşimden kaynaklanan dinamik etkiler araştırmıştır. Yürütücünün TÜBİTAK destekli geçmiş bir projesi (110T618) kapsamında gerçekleştirilen kuramsal çalışmalar, burgu(twist) ve bükülme(writhe) davranışlarının erime fiziği üzerindeki önemi hakkında yeni tezler ortaya koymuştu. Bu proje, denge özellikleri hakkındaki bu geçmiş çalışmaların dinamik özelliklerin araştırılması doğrultusunda uzantısı olarak görülebilir.

Projenin zaman içinde ortaya çıkan ağırlıklı inceleme alanı ve ana çıktısını oluşturan bilimsel soru, RNA saç tokası (hairpin) yapılarının katlanma sürelerinin molekül uzunluğu ile nasıl değiştiğidir. Yakın zamanda saç tokası yapılı DNA/RNA moleküllerinde kuvvet etkisiyle 10-100 mikrosaniyeler mertebesinde erime süreleri FRET (Förster resonance energy transfer) çalışmaları ile ölçülmüş, optik tuzaklar kullanılarak yapılan benzer deneyler ise daha kısa ve geometriden bağımsız açılma/kapanma sürelerine işaret etmiştir. Bu projede literatürde yer alan kuramların sarmal etkileri dikkate almadıkları için eksik oldukları açık biçimde ortaya koyulmuş, geliştirilen model ile yapılan moleküler dinamik çalışmalarının sonuçları yeni bir fenomenolojik kuram ile desteklenmiştir. Projenin bu sonuçları Physical Review Letters (PRL) dergisinde yayımlanmıştır.

Rapor edilen çalışmalar Koç Üniversitesi Fizik Bölümü'nde yürütülmüş ve TÜBİTAK tarafından 114F348 numaralı 1001 projesi kapsamında desteklenmiştir.

TÜBİTAK

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ i

İÇİNDEKİLER ii

TABLO LİSTESİ iii

ŞEKİL LİSTESİ iv

ÖZET vi

ABSTRACT vii

1. GİRİŞ 1

2. LİTERATÜR ÖZETİ 2

3. YÖNTEM 5

3.1 Model Kurulumu 6

3.1.1 Etkileşim potansiyellerinin seçimi 7

3.1.2 Potansiyel parametrelerin belirlenmesi 9

3.2 Moleküler dinamik benzetimleri 10

3.3 Sıcaklık altında erime davranışı 10

3.3.1 Dizilim etkilerinin modele eklenmesi 14

4. BULGULAR 16

4.1 Halka DNA yapısında erime davranışının gözlenmesi 16

4.1.1 Halka DNA erimesinde dizilime bağlı etkiler 19

4.2 Saç tokası DNA/RNA yapılarında katlanma dinamiği 21

4.2.1 RNA katlanmasında yeni bir dinamik rejimin gözlenmesi 21

4.2.2 Burgusuz katlanma dinamiğindeki üstel davranışın belirlenmesi 23

4.2.3 Gözlemlerle uyumlu kuramsal bir model 25

4.3 Saç tokası DNA/RNA yapılarında erime dinamiği 28

4.4 Kompleks DNA/RNA yapılarında katlanma dinamiği 30

5. SONUÇ VE TARTIŞMA 31

KAYNAKLAR 33

TÜBİTAK

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. DNA modelinde kullanılan etkileşim potansiyelleri ve parametreleri 9

TÜBİTAK

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1. DNA'nın bağlı durumdaki çift sarmal (ÇS) ve bağları kırılmış tek sicim (TS) bölgelerinin tasviri. 3
Şekil 2. Bağlı durumdaki ÇS-DNA'nın (dsDNA), uçlarına sarım yönünde etki eden tork altında gösterdiği iki yapısal değişiklik: burgu (overtwist) ve büküm (writhe). 4
Şekil 3. Kaba ölçekli DNA modelinde kullanılan etkileşimler. 6
Şekil 4. Kırılabilir hidrojen bağlarını modelleyen sicimler arası bağ potansiyeli. 7
Şekil 5. Uçları serbest, 614 baz çifti uzunluğundaki model DNA zincirinin erime sıcaklığı üstünde erime aşamaları burgulu (sol) ve burgusuz (sağ) modeller için ayrı ayrı verilmiştir. Erime sıcaklığı erime oranının (y ekseni) 0.5 olduğu nokta olarak tanımlanır. Yatay eksen sıcaklık (rastgele birimlerde), düşey eksen ise ayrılan baz çiftlerinin toplama oranıdır. 11
Şekil 6. Burgulu ve burgusuz modellerin erime davranışında gözlenen farkı üzerine termodinamik bir argüman. Burada sağ sütun burgulu, sol sütun burgusuz modeli ifade etmektedir. 12
Şekil 7. Uçları serbest, 614 baz çifti uzunluğundaki model DNA zincirinin erime sıcaklığı üstünde erime aşamaları. 13
Şekil 8. L=100, 200, 400 için erime sıcaklığında erime bölgelerinin boy dağılımı. Grafikteki doğrunun eğimi -2.04'tür. İki eksen de 10 tabanında logaritmik seçilmiştir. 14
Şekil 9. Erime eğrilerinin dizilimdeki A(T)/G(C) oranı ile değişimi. Her veri noktası 10 farklı ve rastgele seçilen dizilimden elde edilmiştir. 14
Şekil 10. Seçilen dizilimin Unified Santa-Lucia algoritması (sağ) ve modelimiz (sol) ile hesaplanmış erime eğrisi. 15
Şekil 11. Şekil 10'daki erime eğrilerinin yatay sıcaklık eksenine göre türevleri. 16
Şekil 12. Erime sıcaklığının üzerinde, plazmid model DNA'nın, çember bir yapıdan başlayarak ilerleyen zamanlarda seçilmiş tipik örnekleri. Karakteristik dallı yapı ve erime kabarcıklarının dalların uçlarında lokalize olduğu görülüyor. 17
Şekil 13. Erime sıcaklığının altında (sol) ve üzerinde (sağ), plazmid model DNA için bağlı olmayan bölgelerdeki burgunun toplam burguya oranı (y ekseni) erimiş bölgelerin toplam DNA miktarına oranı (x ekseni) ile karşılaştırılmıştır. 18
Şekil 14. Erime sıcaklığının altında (siyah) ve üzerinde (kırmızı) hesaplanan dolanma sayısı değerleri. 18

Şekil 15. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilime sahip bir halka DNA için baz çiftleri arasındaki mesafenin zaman içinde değişim kimografı ($T/Tm = 1.66$, Tm erime sıcaklığıdır). 19
Şekil 16. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilimde bir halka DNA için yüksek sıcaklıkta ($T/Tm = 1.66$) eşlenik çiftlerin ayrılık süreleri olasılık dağılımı. 20
Şekil 17. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilime sahip bir halka DNA için baz çiftleri arasındaki mesafenin zaman içinde değişim kimografı ($T/Tm = 1.1$). 20
Şekil 18. Katlanma süresinin DNA uzunluğu ile değişimi. 22
Şekil 19. Katlanma sırasında oluştuğu varsayılan RNA geometrisi (Fredericks vd., 2014). ..23
Şekil 20. $\alpha \simeq 2\nu$ hipotezini sınamak için kullanılan (a) 2 boyutlu “merdiven” DNA modeli ve (b) “hayalet” DNA modellerinde katlanma davranışı. Ayrıca sağ iç grafikte normal ve hayalet sarmal modeller için sistemin merkez aksı etrafında toplam dönme miktarının zamanla değişimi verilmiştir. 24
Şekil 21. Burgulu ve burgusuz modellerde dupleks bölgesi dönme yarıçapının dupleks uzunluğuyla değişimi. 26
Şekil 22. Burgulu modelde dupleksin dengeye gelme süreci ile sınırlı katlanma hızı için bir model. 26
Şekil 23. $T = 1.1\ Tm$ için kısmen erimiş bir saç tokası yapısı. 28
Şekil 24. $T = 1.1\ Tm$ için tamamen bağlı bir saç tokasının erime davranışı. Düşey eksen kopmuş hidrojen bağlarının sayısı, yatay eksen zamandır. 29
Şekil 26. Y geometrisine sahip bir DNA/RNA molekülü modeli. Molekülün “merkez”i okla gösterilmiştir. 30
Şekil 27. Y geometrisindeki DNA/RNA modelinin katlanma dinamiği. Düşey eksen toplam bağlı baz çifti sayısıdır. 31

ÖZET

DNA ve RNA hücre biyokimyasında son derece önemli rol oynayan moleküllerdir. Bunun yanı sıra DNA son zamanlarda nanoteknolojik uygulamalarda, özellikle kendiliğinden bir araya gelen nano-yapıların tasarımında, sıklıkla kullanılan bir yapı malzemesidir. Bu moleküllerin sıcaklık altında erime ve birleşmesinin altında yatan fiziksel süreçlerin anlaşılması bu nedenle önemli olduğu gibi, bu çalışmada da görüleceği üzere son derece ilginç bir fiziksel problemdir. Daha da ilginç olan, yarım aşırı aşkın süredir DNA yapısı ve fiziği çalışılmış olsa da, polimer fiziğinin temel ilgi alanlarından biri olan bu sistem hakkında hala yeni kuramsal modellere ihtiyaç duyulmasıdır.

Bu projede amacımız DNA'nın (ve katlanmış RNA'nın) 1953'ten bu yana çok iyi bilinen sarmal yapısının hidrojen bağlarının oluşması veya kırılması ile ortaya çıkan erime/katlanma dinamiği üzerindeki rolünün ortaya koyulmasıdır. Bu amaçla odaklandığımız sistemler, sarmal yapının yol açtığı dolaşıklığın topolojik bir değişmez olduğu halka DNA (plasmid) yapıları, kendi üzerine katlanan palindromik RNA (saç tokası) yapıları ve daha kompleks ikincil yapıya sahip dallı polimer geometrisine sahip RNA'lardır. Bu sistemlerin denge ve denge dışı dinamik özelliklerinin araştırılabilmesi için projede yeni bir kaba ölçekli DNA/RNA modeli geliştirilmiş, bu modelin fiziksel açıdan uygunluğu sınanmış, daha sonra yukarıdaki DNA/RNA geometrilerinde sarmal yapının etkileri moleküler dinamik benzetimleri ve bu benzetimlerin sonuçlarına dayanan kuramsal modeller kullanılarak araştırılmıştır.

Bu araştırmalar sonrasında, temel polimer fiziği çerçevesinde özgün bulgulara ulaşılmıştır. Örneğin, plazmid DNA yapılarında erime bölgelerinin denge dışı tuzak durumlarında kinetik olarak hapsoldukları gözlenmiştir. RNA saç tokası yapılarında daha önce hiç rapor edilmemiş yeni bir dinamik rejimin varlığı gösterilmiş, ayrıca katlanma süresinin RNA uzunluğuna bağlılığı hakkında sarmal yapının etkilerinden esinlenerek yeni bir kuramsal model üretilmiştir. Daha kompleks, dallı RNA yapılarında da katlanma dinamiği ilk kez çalışılmıştır. Bulgularımızın bazıları fizik literatürünün en saygın dergilerinden Physical Review Letters'da yayımlanmıştır.

Anahtar kelimeler: Nükleik asit, DNA, RNA, moleküler dinamik, sarmal yapı, burgu

ABSTRACT

DNA and RNA play an indispensable role in cell biochemistry. DNA has also recently become a popular building block for nanotechnological applications, especially for designing self-assembling nanostructures. Therefore, it is important to understand the physical processes which underlie the melting and folding of such molecules under temperature – a problem which, as hopefully demonstrated here, is also interesting from a theoretical perspective. Even more interesting is that, despite half a century of research, there is still need for new theoretical models and insights in this field of central interest to polymer physics.

Our goal in this project is to elucidate the role of helicity in DNA/RNA duplexes (known since 1953) in melting/folding dynamics of the molecule, which is governed by the making and braking of the interstrand hydrogen bonds. To this end, we focus on several geometries including, circular DNA (plasmid) structure where the helical geometry entails a topologically preserved entanglement, palindromic RNA (hairpin) structures, and more complex RNA secondary structures with branches. In order to investigate the equilibrium and out-of-equilibrium dynamical aspects of these systems, we developed a coarse-grained DNA model, verified its adequacy, and used it to perform molecular dynamics simulations and to construct theoretical models which unveil the role of helicity in their folding/melting dynamics.

Our investigations resulted in novel contributions to basic polymer physics. For example, we observed that plasmid DNA structures often melt into out-of-equilibrium kinetic traps. We found a new dynamical regime in RNA hairpin folding process and, fueled by our observations, developed a novel theoretical model explaining the dependence of folding time on polymer length. We made preliminary observations on the folding dynamics of more complex RNA secondary structures, first to our knowledge. Some of our findings got published in Physical Review Letters, one of the most prestigious scientific journals in physics.

Keywords: Nucleic acid, DNA, RNA, molecular dynamics, helical structure, twist

1. GİRİŞ

Nükleik asitlerin biyolojinin sınırlarını aşıp teknolojik uygulamalarda bir araç olmaya başladığı bu dönemde, yapısal ve dinamik özellikleri arasındaki ilişkinin daha iyi anlaşılmasına yönelik çalışmalara ihtiyaç var. Bu alanda son yıllar içinde saygın dergilerde yapılmış ve bir sonraki bölümde özetlenen çalışmalar konunun güncelliğini vurgular niteliktedir. Sarmal yapılı biyopolimerlerin dinamiği deneysel ve kuramsal yöntemlerle aktif olarak araştırılıyor. Bu projede sarmal yapının DNA/RNA yapılarındaki hidrojen bağlarının kırılması/oluşması ile gerçekleşen erime/katlanma dinamiği üzerine etkisi incelenmiştir. Özellikle, halka DNA, saç tokası yapısı ve daha kompleks, dallı RNA yapılar üzerinde sarmal geometriden kaynaklanan dinamik etkiler odağa alınmıştır.

2. bölümde verilen literatür özetinde bu alandaki bazı geçmiş çalışmalar sunularak proje araştırma konusunun bağlamı ortaya koyulmuştur. Geliştirdiğimiz DNA modeli ve kullandığımız moleküler dinamik benzetim yönteminin detayları 3. bölümde açıklanmıştır. Elde ettiğimiz bilimsel bulgular 4. bölümde, çalıştığımız her fiziksel sistem için ayrı alt başlıklarda detaylandırılmıştır.

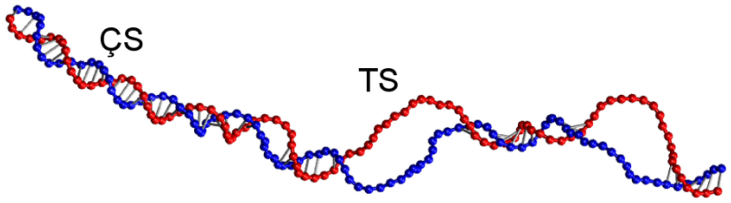
2. LİTERATÜR ÖZETİ

Hücre düzeyinde gerçekleşen yaşamsal fonksiyonların pek çoğu DNA, RNA ve proteinler gibi hem monomer dizilimleri (birincil yapı), hem de dizilime bağlı olan veya olmayan geometrileri (ikincil yapı ve daha üst yapısal hiyerarşiler) nedeniyle farklı işlevler üstlenen ve birbirleriyle sıklıkla etkileşim içinde olan moleküller aracılığıyla gerçekleşir (Alberts vd., 1994). Bunlardan DNA ve RNA molekülleri, birincil yapıları nedeniyle yakın geçmişe kadar sadece bilgi depolayan ve taşıyan yapılar olarak algılanmışlardır. Ancak, bir süredir üç boyutlu yapılarının da fonksiyonlarında belirleyici öneme sahip olduğu anlaşıldı (Orozco vd., 1996; Wolffe, 1998; Rana vd., 2007; Montange vd., 2008; Liu vd., 2009; Fogg vd., 2012). Bu gözlem yeni araştırma alanlarının ortaya çıkmasına neden oldu. Örneğin, RNA katlanması problemi (Tinoco ve Bustamante, 1999; Cruz vd., 2012) ve bir alt dalı olarak pseudo-düğüm araştırmaları (Rivas ve Eddy, 1999; Staple vd., 2005), son birkaç yılda geliştirilen deneylerin yolunu açtığı nükleer DNA katlanması problemi (Dekker vd., 2013; Naumova vd., 2013; Nagano vd., 2013), DNA sekanslama teknolojileri geliştirmeye yönelik olarak nano-gözeneklerden DNA aktarma çalışmaları (Kantor ve Kardar, 2004; Storm vd., 2005; Branton vd. 2008; Zwolak vd., 2008; Schneider vd., 2010), proteinlerin DNA üzerinde süperdifüzyonu (Halford ve Marko, 2004; Wang vd., 2006), vb.

Son yirmi yılda, biyomoleküllerin tek tek manipülasyonuna olanak tanıyan yeni metotların geliştirilmesi sayesinde dinamik davranışları da mikro-ölçekte deneysel olarak gözlenebilir oldu (Wang vd., 1997; Bustamante vd., 2003, Roy vd., 2008). Bu sayede artık, küçük ölçeklerde termodinamik yasalarının ihtiyaç duyduğu (ve istatistiksel fizikte son zamanların en önemli gelişmelerinden olan) kuramsal yenilikler (Crooks, 1999) deneylerle desteklenebiliyor (Collin vd., 2005), protein ve RNA yapılarının kararlılıkları uçlarından çekilmeye gösterdikleri direncin ölçülmesi ile inceleniyor (Libhardt vd., 2001; Hummer ve Szabo 2005) ve DNA zincirlerinin kuvvet ve tork altındaki davranışlarından elastik parametreleri ölçülebiliyor (Smith vd; 1992; 1996). Son olarak, nükleik asitlerin birbirleriyle son derece seçici bağlanma yeteneği, iki ve üç boyutlu kendinden bir araya gelen biyolojik nano-yapıların tasarımında bir çığır açtı (Winfree vd., 1999; Douglas vd., 2009; Tørring vd., 2011).

Özetle, bu moleküller kalıtım ve protein sentezinde bilgi taşıyıcı rollerinin yanı sıra, hücre dışı biyofizik araştırma ve uygulamalarında da temel odaklar haline geldiler.

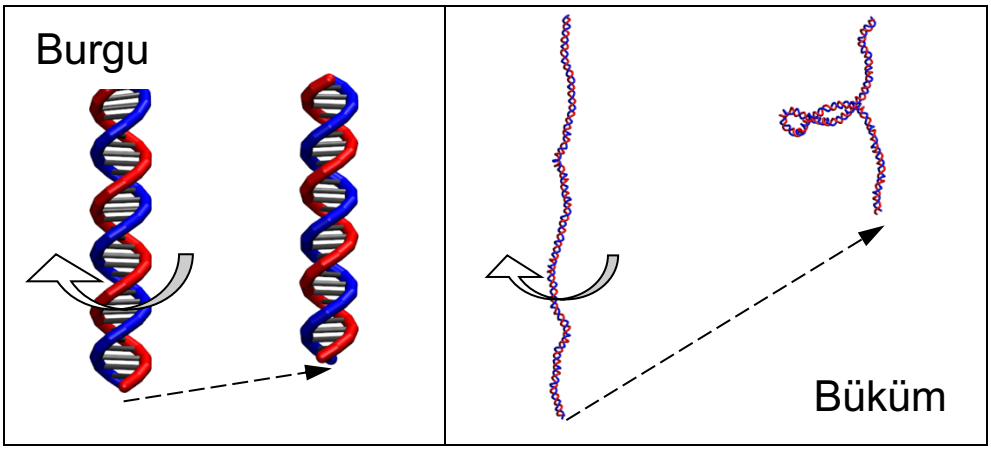
DNA'nın çiftli sarmal yapısı (Watson ve Crick, 1953), keşfinden bu yana en karakteristik ve yaygın bilinen yapısal özelliği olagelmiştir. Yaygın olarak kullanılagelen kuramsal DNA modellerinde (Poland vd Scheraga, 1966; Wartell ve Benight, 1985; Peyrard ve Bishop, 1989; Kafri vd., 2000) ve özellikle sıcaklığın etkisiyle erime davranışının denge özellikleri ve erime eğrilerinin öngörülmesine yönelik çalışmalarda (Wartell ve Benight, 1985; Hofacker ,2003; Dimitrov ve Zuker, 2004) bu özelliğinin büyük oranda ihmal edilmiş olması (Peyrard-Bishop modeli dışında) bu yüzden şaşırtıcı bulunabilir. DNA erime sıcaklığına yakın sıcaklıklarda hidrojen bağlarıyla bağlı çift sarmal (İng., dsDNA) ve bağların koptuğu daha esnek yapılı ve serbest enerjiye entropi katkısı yüksek tek sicim (İng., ssDNA) bölgelerine ayrılır. Eşleşmemiş DNA parçalarının oluşturduğu erime bölgelerinin entropisi karşılıklı iki TS birbiri etrafında dolanmadığı zaman en yüksektir (van Rensburg, 1993; Blossey ve Carlon, 2003). Bu nedenle, ayrılmadan önce taşıdıkları burgunun bir kısmı, yanlardaki daha az oynak çift sarmal (dupleks) bölgelerine aktarılarak zamanla DNA uçlarından dışlanır. Sonuç olarak, sarmal geometrinin yerel geometrik parametreler dışında sistemin denge özelliklerini değiştirmeyip temelde denge dışı dinamik davranışına etki etmesi beklenir. Nitekim, bu tür modeller kullanılarak elde edilen termal denge erime eğrileri (sıcaklığın fonksiyonu olarak, kopan baz çiftlerinin sayısının toplam sayıya oranı) deneysel verilerle uyum gösterir (Smith ve Finzi, 1992; Dimitrov ve Zuker 2004).



Şekil 1. DNA'nın bağlı durumdaki çift sarmal (ÇS) ve bağları kırılmış tek sicim (TS) bölgelerinin tasviri.

2000'li yıllar içinde sarmal yapının DNA fiziği üzerindeki etkileri de daha dikkatle incelenmeye başlandı. Öncelikle DNA merkez aksının doğrusal olduğunu varsayan burgusuz ve bükümsüz Poland-Scheraga (PS) modeline burgu etkilerinin eklenmesiyle, DNA uçlarının sabitlenmesi durumunda veya dairesel topolojiye sahip plazmid DNA zincirlerinde erime davranışının radikal biçimde farklı olabileceği gözlendi (Rudnick ve Bruinsma, 2002; Garel vd., 2003). Yürütücünün yakın tarihte tamamlanmış TÜBİTAK-1001 destekli çalışmaları bu literatüre katkı sağlamış ve PS modelinde büküm etkilerini de dikkate alacak şekilde bir adım ileriye taşımıştır (Kabakçıoğlu vd., 2009; Sayar vd., 2010; Kabakçıoğlu vd., 2010; Kabakçıoğlu vd., 2012; Bar vd., 2012). Bu çalışmaların sonucunda, burgu ve büküm etkilerinin plazmid DNA'nın denge

özelliklerinin, özellikle erime faz geçişinin hangi dereceden olduğunun anlaşılmasında kilit önem taşıdığı gösterildi. Bu projede, dengeye ulaşmak için gereken zamanın DNA uzunluğu ile nasıl ölçeklendiği ve sarmal geometriye nasıl bağlı olduğu sorusuna yanıt aranmıştır.



Şekil 2. Bağlı durumdaki ÇS-DNA'nın (dsDNA), uçlarına sarım yönünde etki eden tork altında gösterdiği iki yapısal değişiklik: burgu (overtwist) ve büküm (writhe).

Sarmal yapılı moleküllerin dinamiği ile ilgili son zamanda yapılmış çalışmalar zengin bir fizik içerdiği gibi, hücre içi bazı süreçlerin (örneğin RNA sentezi ve protein-DNA etkileşimlerinin) DNA'nın dinamik karakteri ile doğrudan ilişkili olduğu da biliniyor (Madden vd., 1995; Staple vd., 2005; Fogg vd., 2012). DNA üzerindeki bir baz çiftinin zaman içinde birleşip ayrılması, FCS (fluorescence correlation spectroscopy) ile deneysel olarak gözlenebiliyor (Altan-Bonnet vd., 2003; Shusterman, 2004). Burulmuş saç tokası (hairpin) yapısına sahip kısa nükleik asitler üzerinde optik tuzaklarla yapılan deneyler ile mikrosaniye ölçeğinde katlanma zamanları (Lee vd., 2007; Neupane vd., 2012) ve katlanma ve açılma arasında FRET yardımıyla milisaniye ölçeğinde bekleme süreleri gözlendi (Tsukanov vd., 2013). Yine, bir süre önce Science dergisinde yayımlanan bir makalede (van Loenhout, 2012), bir ucu sabitlenmiş, diğer ucu ise hem kuvvet hem tork altında olan bir DNA'nin zamana bağlı olarak kendine dolanma (supercoiling) davranışının deneysel olarak gözlendiği rapor edildi.

Literatürdeki DNA benzetim modelleri uygulandıkları problemin ihtiyaçlarına göre şekillendikleri için (Hyeon ve Thirumalai, 2011), doğru sarmal yapı, erime davranışının gözlenebilmesi ve uzun moleküllerin incelenebilmesine imkan verecek kadar basit olması gibi bu araştırmada gerek duyulan özelliklerin hepsini birden barındıran bir modeli kendimiz kurguladık. Sarmal yapılı moleküllerin dinamiği üzerine kuramsal araştırmalar başlarda iki

zincirin birbiri etrafında dolanmasını dikkate almadılar (örneğin: Hwa vd., 2003). 2009'da yayımlanan bir çalışmada sarmal dolaşıklığın uzun molekülerde farklı dinamik rejimler doğurduğu savunuldu (Fogedby ve Metzler, 2007; Baiesi ve Livi, 2009). Başka bir grup, bir polimerin etrafına sarılı olduğu doğrusal bir çubuktan termal salınımlar sonucu ayrılmasını (bir tür erime problemi) ve ilgili karakteristik zamanın polimer boyu ile ölçeklenme davranışını benzetim metotları ile inceledi (Walter vd., 2013).

siRNA, miRNA gibi kısa RNA moleküllerinin transkripsiyon ve katlanması canlılarda hücre içi sinyal iletimi, gen ifadesi, virüslere karşı savunma gibi pek çok biyokimyasal sürecin tetiklenmesinde rol oynar (Zhuang vd., 2000; Noller 2005; Pan vd., 2006; Solomatin vd., 2010). Bu sistemlerin dinamiğine olan ilgi son zamanlarda geliştirilen ve bu molekülleri hem uzay hem de zamanda yüksek çözünürlükte incelemeye imkan veren ileri görüntüleme teknikleri nedeniyle artmıştır ([Rouskin vd., 2014; Solem ve Laederach, 2015; Ritchie ve Woodside, 2015). Deneyler ve benzetim çalışmalarına göre, RNA'nın katlanma süresini belirleyen sürecin ortadaki birkaç baz çiftinin bağlandığı başlangıçtaki çekirdek oluşumu aşamasıdır (Zhang ve Chen, 2002; Jung ve Van Orden, 2006; Ma vd., 2007; Jung vd., 2008; Ansari vd., 2001). Buna rağmen çekirdek oluştuktan sonra molekülün geri kalanın katlanması için geçen sürenin ölçümü ve kuramsal olarak modellenmesi, "transition-path-time" diye bilinen konformasyonlar arası geçiş zamanı üzerine var olan literatüre katkısı ve altta yatan difüzyon dışı (anomalous) dinamik özellikler nedeniyle yakın zamanda ilgi odağı olmuştur (Ferrantini ve Carlon, 2011; Frederickx vd., 2014; Sakaue vd., 2017). Ancak bu difüzyon dışı dinamik rejimin ortaya çıkmasında sarmal yapının etkisi dikkate alınmadı. Bu raporda sunulan araştırma sonuçları, literatürdeki bu boşluğun kuramsal açıdan önemli bir eksiklik olduğunu ortaya koymuştur. Sarmal etkilerinin dikkate alınmadığı durumda sistem boyu ile farklı ölçeklenen bir dinamiğin varlığını gösteren proje bulgularımız Physical Review Letters dergisinde yayımlanmıştır (Li ve Kabakçıoğlu, 2018).

3. YÖNTEM

Projede izlenen yöntem, model geliştirme çalışmaları, moleküler dinamik benzetimi detayları ve bulguların analizi alt başlıkları altında sunulmuştur. Model geliştirme çalışmaları başlığı altında etkileşim potansiyellerinin tanımlanması ve uygulanması, moleküler dinamik benzetimleri başlığı altında DNA erime davranışının gözlenmesi ve diğer DNA dinamiği

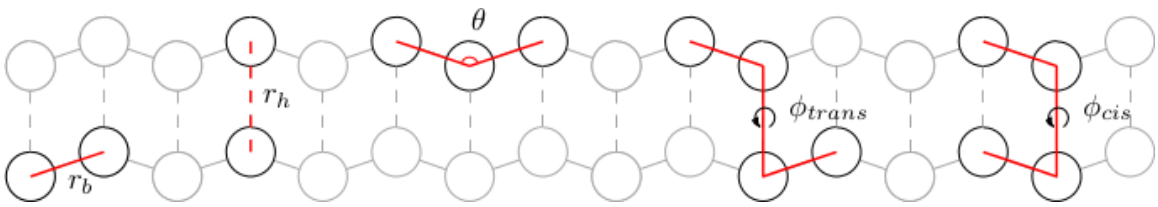
zaman serilerinin elde edilmesi, analiz başlığı altında ise zaman serilerinden ilgilendiğimiz fiziksel özelliklere ve ilişkilere ulaşma aşamaları açıklanmıştır.

3.1 Model Kurulumu

DNA erime/katlanma dinamiğinde sistem boyu ile ölçeklenme davranışını araştırmak için sarmal yapının yeterince esnek olduğu uzunluklarda çalışmak gerekiyor. Bir polimerin dinamik dengeye gelme süresinin polimer uzunluğu ile ilişkisi $\tau \sim L^z$ ile verilir. Burada z dinamik üstelinin hidrodinamik etkiler dikkate alındığında (Zimm rejimi) $z = 3$, alınmadığında ise (Rouse rejimi) $z = 1 + 2\nu \simeq 2.2$ olduğu bilinmektedir. Yani, dinamik özelliklerin gözlenmesi için gereken CPU zamanı uzunluk artışından oldukça güçlü biçimde etkilenir. Bu nedenle, kullanacağımız modelin hızlı dinamik benzetimine imkan verecek basitlikte olması gerekiyor. Modelin sağlaması gereken temel kısıtlar,

- tek sicim ve çift sarmal yapılar arasında belirgin bir esneklik farkı olması (böylece sıcaklık artışında tek sicim bölgelerinin entropi katkısının erimeyi tetiklemesi),
- sarmal etkilerin araştırılması için çift sarmal yapının burgusunun parametrik olarak değiştirilebilmesi,
- sicimler arasındaki (eşlenik baz çiftlerini bağlayan) etkileşim potansiyellerinin kırılabilir olmasıdır.

Bu koşulları sağlayan minimal etkileşim kümesi aşağıda verilmiştir:



Şekil 3. Kaba ölçekli DNA modelinde kullanılan etkileşimler.

Şekil 3'te gösterilen etkileşimler soldan sağa:

- TS (ssDNA) yapısını bir arada tutan ve denge uzunluğu r_b ile verilen kırılmaz harmonik bağ,
- ÇS (dsDNA) yapıyı bir arada tutan ve karşılıklı baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarını temsil eden, r_h denge uzunluğu ile verilen kırılabilir bağ,

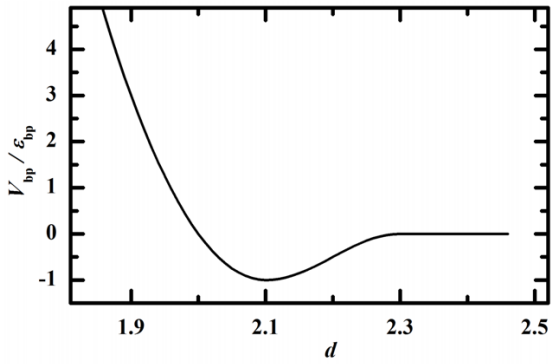
- TS ve ÇS bölgelerinin süreğenlik uzunluğunu belirleyen ve denge değeri (θ) sarmal yapının geometrisi ile uyumlu seçilecek olan TS boyunca açısal potansiyel,
- ÇS yapıya sarmal geometriyi kazandıran ve varlığı ortasındaki kırılabilir bağa koşullu olan, denge değerleri ϕ_{trans} ve ϕ_{cis} ile verilen dihedral açı potansiyelleridir.

3.1.1 Etkileşim potansiyellerinin seçimi

DNA tek-sicimlerinin her birini bir arada tutan sicim-içi bağlar kovalent bağlar olduğu için ilgilendiğimiz sıcaklık ve kuvvet rejiminde kırılmazlar. Bu nedenle bu bağları basit bir harmonik potansiyel ile modelledik:

$$\mathrm{V(r)} = \frac{1}{2}\,\mathrm{K_b}\,(\mathrm{r}-\mathrm{r_b})^2$$

Kullandığımız modeli literatürdeki modellerden ayıran en önemli farklardan biri karşılıklı (sicimler arası) bağların kırılabilir yapıda olmasıdır. Burada bir açıdan Poland-Scheraga (Poland ve Scheraga, 1966) yaklaşımının Peyrard-Bishop (Peyrard ve Bishop, 1989) modeline üstünlüğünü çalışmamıza yansıtmaya çalıştık. Peyrard-Bishop modeli sarmal yapılı bir DNA modeli olmakla birlikte karşılıklı bazlar arasındaki etkileşim bazlar arasındaki mesafenin analitik bir fonksiyonu olarak verilir ve hiçbir mesafede sıfır değildir. Oysa gerçekçi bir modelde hidrojen bağlarının belli bir mesafeden sonra kopması beklenir. Bağın olduğu ve olmadığı rejimler arasındaki geçişte bağ potansiyelinin ve türevinin sürekli olması sağlanmalıdır. Aksi durum bazlar üzerine etki eden kuvvetlerde yapay sıçramalara neden olur. Bunu sağlamak için, baz çiftlerini bir arada tutan hidrojen bağlarına karşılık gelen sicimler arası etkileşim potansiyelini Şekil 4'te gösterildiği gibi seçtik.



Şekil 4. Kırılabilir hidrojen bağlarını modelleyen sicimler arası bağ potansiyeli.

Bu potansiyelin matematiksel ifadesi de aşağıdaki gibidir:

$$V_{bp}(d) = \begin{cases} K_{bp}\,(d - r_h)^2 - \epsilon_{bp}\,, & d < d_0 \\ -0.5\,\epsilon_{bp}\,\left[1 + \cos\left(\frac{d - d_0}{0.2}\pi\right)\right], & d_0 \le d < d_{\max} \\ 0, & d \ge d_{max} \end{cases}$$

Bu fonksiyonel yapı bize denge bağ uzunluğunun altında harmonik, üstünde ise maksimum bir uzunluktan sonra sıfırlanan ve bu kırılma noktasında türevi sürekli bir potansiyel verir. Şekil 3'te verilen açı potansiyellerinin de bağ kırılması sonucu ilgili baz çifti için sıfırlanması gerekir. Bu nedenle, bu potansiyellerde de ilgili bağ uzunluğu aralığında yukarıdaki cos() potansiyel terimi bir çarpan olarak bulunmalıdır. Sonuç olarak tek sicim yapısının esnekliğini belirleyen sicim-içi potansiyeli

$$V_a(\theta, d) = \begin{cases} K_a\,[\cos(\theta) - \cos(\theta_0)]^2 - \epsilon_a, & d < d_0 \\ [K_a\,[\cos(\theta) - \cos(\theta_0)]^2 - \epsilon_a]\;\times 0.5\,\epsilon_{bp}\,\left[1 + \cos\left(\frac{d - d_0}{0.2}\pi\right)\right], & d_0 \le d < d_{\max} \\ 0\,, & d \ge d_{max} \end{cases}$$

olarak seçilmiştir. Son olarak, Şekil 2'de önerilen cis ve trans dihedral etkileşimleri yerine yukarıdaki potansiyeli iki yöndeki trans dihedral açılara uygulamaya karar verdik. Bu seçim geometri üzerinde aynı derecede kısıtlayıcı ve daha ekonomik bir model tanımına olanak verdi. Böylece yukarıdakine benzer şekilde ikinci ve son (dihedral) açı potansiyelini aşağıdaki şekilde kullandık:

$$\mathrm{V_{dih}}(\phi, \mathrm{d}) = \begin{cases} \mathrm{K_{dih}}\,[1 - \cos(\phi - \phi_0)]\; - \epsilon_{\mathrm{dih}}, & \mathrm{d} < \mathrm{d_0} \\ [\mathrm{K_{dih}}\,[1 - \cos(\phi - \phi_0)]\; - \epsilon_{\mathrm{dih}}]\;\times 0.5\,\epsilon_{\mathrm{bp}}\,\left[1 + \cos\left(\frac{\mathrm{d} - \mathrm{d_0}}{0.2}\pi\right)\right], & \mathrm{d_0} \le \mathrm{d} < \mathrm{d_{max}} \\ 0\,, & \mathrm{d} \ge \mathrm{d_{max}} \end{cases}$$

Bu seçimle, bağların kopma noktasına geldiği durumda, açı potansiyellerinde fiziksel olmayan sonuçlara yol açacak bir süreksizlik olmaması garanti altına alınmış oldu. Bunun karşılığında, hareket denklemlerinin moleküler dinamik adımlarında kullanılması için kuvvetleri belirleme aşaması CPU yükü açısından benzetimlerin en çok zaman harcadığı basamak oldu. Ek bir not olarak, aşağıda karşılaştırdığımız sarmal ve sarmal olmayan DNA benzeri yapılar arasındaki tek fark dihedral açı potansiyelindeki denge açısı ϕ_0'ın değeridir. Ayrıca bu potansiyellerin parametrelerini her baz çifti için ayrı ayrı belirleyerek farklı dizilimlerin modellenmesi de mümkündür. Bu özgürlük, proje çalışmalarının bazı aşamalarında kullanılmıştır.

Yukarıdakilere ek olarak, DNA zincirinin bir bütün olarak fiziksel bir polimer gibi davranmasını sağlamak amacıyla komşu olmayan baz birimlerinin de aynı hacimde bulunmalarına engel olacak 'dışlama' potansiyelleri de modele eklenmiştir. Bu etkileşimler de harmonik potansiyeller olarak modellenmiştir:

$$V_{exc}(r) = \frac{1}{2} K_b (r - r_{exc})^2, \;\; r < r_{exc}$$

Modelde elektrostatik etkileşimler ve hidrodinamik etkiler dikkate alınmamıştır. Elektrostatik etkilerin yokluğu uzun zaman alan süreçlerde ve solüsyon içinde perdeleme etkisi yaratan pozitif yüklü iyonların varlığında kabul edilebilir bir varsayımdır (Smiatek, 2009). Hidrodinamik etkilerin ihmali Rouse rejimi olarak bilinir ve bu fiziksel sisteme uygunluğuna dair literatürde çok sayıda çalışma vardır (Manghi ve Destainville, 2016).

3.1.2 Potansiyel parametrelerin belirlenmesi

Yukarıdaki etkileşim potansiyellerinin parametreleri sistemin bütün fiziksel özelliklerini belirler. Örneğin, K_b kendi üzerine kıvrılan DNA bölgelerinin birbirlerine ne kadar yaklaşabileceklerini, θ_0 tekli (hidrojen bağları kırılmış) DNA sicim bölgelerinin esnekliğini, ϕ_0 DNA sarmal yapısının burulma periyodunu, ϵ_{bp} (diğer parametrelere de bağlı olarak) DNA'nın erime sıcaklığını belirleyen ana parametrelerdir. Öte yandan, fiziksel özellikler ile potansiyel parametreleri arasındaki ilişki göründüğünden daha karışıktır (örneğin, yukarıdaki açı parametreleri dolaylı olarak bağlı çift sarmal yapının esnekliğini de belirledikleri için dolaylı olarak erime sıcaklığına da etkide bulunurlar). Bu nedenle farklı kombinasyonların denenmesi ve elde edilen modelin fiziksel yapısı, dinamiği, erime davranışı gibi özelliklerin sınanmasından sonra uygun bulunan parametre değerlerinde karar kılınmıştır. Bu değerler Tablo 1'de DNA benzeri sarmal yapı ve karşılaştırma amacıyla burgusu olmayan alternatif "merdiven" modeli için sunulmuştur. Görüldüğü gibi, modeller arasındaki tek fark açı potansiyellerindedir.

Tablo 1. DNA modelinde kullanılan etkileşim potansiyelleri ve parametreleri

	K_b	r_b	K_{bp}	ϵ_{bp}	K_a	θ_0	ϵ_a	K_{dih}	ϕ_0	ϵ_{dih}	m	d_0	d_{max}	r_{exc}
Sarmal DNA	200	1.0	100	1.0	5.0	1.39	0.1	1.0	1.83	0.1	1.0	2.14	2.34	1.95

Merdiven DNA	200	1.0	100	1.0	5.0	$\pi/2$	0.1	1.0	π	0.1	1.0	2.14	2.34	1.95

3.2 Moleküler dinamik benzetimleri

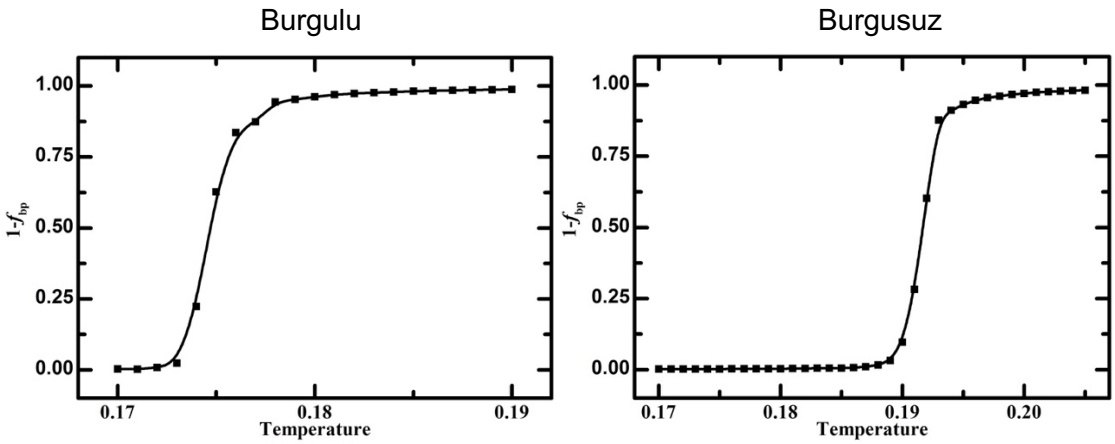
Moleküler dinamik benzetimlerini Langevin termostatı kullanılarak NVT (sabit parçacık sayısı, sabit hacim, sabit sıcaklık) koşullarında yaptık. Newton hareket denklemlerinden koordinatların zaman serilerini "velocity-verlet" algoritması ile elde ettik. Her adımda yukarıda verilen potansiyellerin türevinden hesapladığımız deterministik kuvvetlere sıcaklık değeri ile uyumlu bir 'Wiener' terimi ekleyerek benzetimlerin sabit sıcaklığa karşılık gelmesini sağladık. Bütün benzetimlerde zamanı doğal birimi olan $\mathrm{t_0} = \mathrm{b_0}\sqrt{\mathrm{m}/\epsilon_{\mathrm{bp}}}$ cinsinden ölçtük ve bir zaman birimini $10^4\mathrm{t_0}$ olarak seçtik. Benzetimlerin hızlı çalışabilmesi için hesaplama platformu olarak C dili kullanıldı. Veriler farklı kopyaların 100'ler mertebesinde çekirdekte paralel koşturulması ile, uzun DNA zincirleri için bir aya varan sürelerde toplandı. Bu çalışmalarda Koç Üniversitesi'nin yüksek erişimli hesaplama alt yapısına katılan ve proje desteği ile alınan sunucular kullanıldı. Koç Üniversitesi'nin bilgi işlem birimine hesaplamaların sorunsuz tamamlanmasına verdikleri destek için teşekkür ederiz.

Her moleküler dinamik adımından sonra bütün baz çiftleri arasındaki etkileşim kuvvetlerini hesaplamak son derece pahalı olduğu için bu amaçla sık kullanılan bir yöntem olan "komşu listesi" oluşturma ve güncelleme metodunu bu probleme adapte ettik. Bu yöntemde, her baz bir önceki güncellemeden sonra kendisini verilen bir eşik mesafeden daha yakın olan diğer bazların listesini aklında tutar ve sadece bunlar ile arasındaki etkileşim potansiyelini hesaplar. Bu eşik mesafesi, tipik olarak bir sonraki komşu listesi güncellemesine kadar radar dışında kalan bir bazın listeyi tutan baz ile etkileşmesine imkan vermeyecek kadar büyük bir değer olacak şekilde, 'dışlama' yarıçapı cinsinden $3\mathrm{r_{exc}}$ olarak alındı. Komşu listesi metoduna rağmen, bu "uzun mesafe" etkileşimlerin kuvvetlere katkısını hesaplamak benzetimlerin hızını belirleyen darboğazdır.

3.3 Sıcaklık altında erime davranışı

Model DNA yapısının sağlamasını beklediğimiz temel davranış özelliklerinin başta geleni beklenen erime ve katlanma fiziğinin gözlenebilmesidir. Aşağıda erime davranışının çizgisel (uçları açık) ve dairesel (plazmid) DNA yapıları için özellikleri belirlenmiştir.

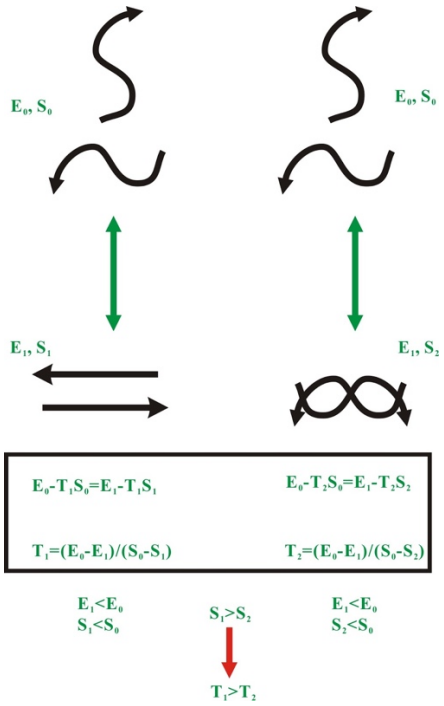
Elimizdeki modelin sıcaklığa bağlı erime/katlanma eğrileri farklı sıcaklıklarda yapılan çoklu benzetimlerin ortalamaları alınarak elde edilen tekli sicim bölgelerinin oranlarından elde edilmiştir. Şekil 5'te bu erime eğrileri burgu içeren ve içermeyen 100 baz çiftli modeller için ayrı ayı gösterilmiştir. Bütün erime eğrilerinde sıcaklık ekseni kT/ϵ_{bp} birimsiz değeri cinsinden ifade edilmiştir.



Şekil 5. Uçları serbest, 614 baz çifti uzunluğundaki model DNA zincirinin erime sıcaklığı üstünde erime aşamaları burgulu (sol) ve burgusuz (sağ) modeller için ayrı ayrı verilmiştir. Erime sıcaklığı erime oranının (y ekseni) 0.5 olduğu nokta olarak tanımlanır. Yatay eksen sıcaklık (rastgele birimlerde), düşey eksen ise ayrılan baz çiftlerinin toplama oranıdır.

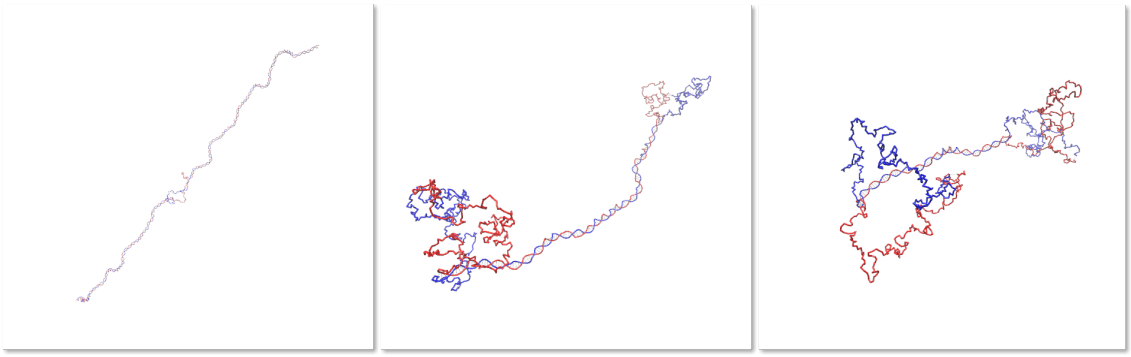
Burgusuz DNA modeli aynı enerji parametrelerine rağmen burgulu modelden daha yüksek sıcaklıkta erimektedir. İlk bakışta şaşırtıcı görünen bu sonuç - sarmal yapının dolaşıklığı nedeniyle daha zor ayrılması beklenebilir - iki gözlem ile açıklanabilir. Birincisi, burgulu yapının dolaşık geometrisi erime davranışının dinamiğinin daha yavaş olmasına neden olacaktır (bkz. sonraki bölüm), ancak bu termodinamik özelliklerinde de benzer bir eğilim olacağı anlamına gelmez. İkinci olarak, bu iki model arasındaki erime davranışı farkını Şekil 6'daki termodinamik model yardımıyla anlayabiliriz. Bu şematik gösterimde E ve S sırasıyla iç enerji ve entropiyi, T ise sıcaklığı ifade etmektedir. Sağda burgulu, solda ise burgusuz modelin erime/katlanma davranışı betimlenmiştir. Özetle, erime sonrası iki sistemin (enerji parametreleri aynı olduğu için) hem toplam iç enerjisi hem de entropisi eşittir, dolayısıyla serbest enerjileri de aynıdır. Ancak bağlı (katlanmış) yapıda yine enerjileri eşit olsa da entropileri farklılık gösterir. Bunun nedeni burgulu yapının izotropik sertliğine rağmen burgusuz modelin bir kolay bir de zor büküldüğü iki farklı eksene sahip olmasıdır. Sonuç

olarak burgulu modelin daha düşük sıcaklıkta erimesi entropisinin benzer koşullarda burgusuz modelinkinden daha yüksek olduğuna işaret etmektedir.



Şekil 6. Burgulu ve burgusuz modellerin erime davranışında gözlenen farkı üzerine termodinamik bir argüman. Burada sağ sütun burgulu, sol sütun burgusuz modeli ifade etmektedir.

Şekil 7'de uçları serbest bir model DNA zincirinin erime sıcaklığı civarındaki bir benzetiminin ilerleyen aşamalarından elde edilmiş anlık görüntüler verilmiştir. Bu şekillerde iki sicim farklı renklerde gösterilmiş, kırılmamış hidrojen bağları işaretlenmiştir. Makroskopik erime bölgelerinin varlığı rahatlıkla gözlenebilmektedir. Başta rastlantısal olarak ortada bir erime kabarcığı açılmış olsa da, kuramsal modellerden beklendiği üzere erimenin uçlardan başladığı (entropi avantajı nedeniyle) açıkça görülmektedir. Bu çalışmada zincirlerin birbirinden tamamen ayrılmasına engel olmak için iki uçtaki bazlar birbirlerine kopmaz biçimde bağlanmışlardır.



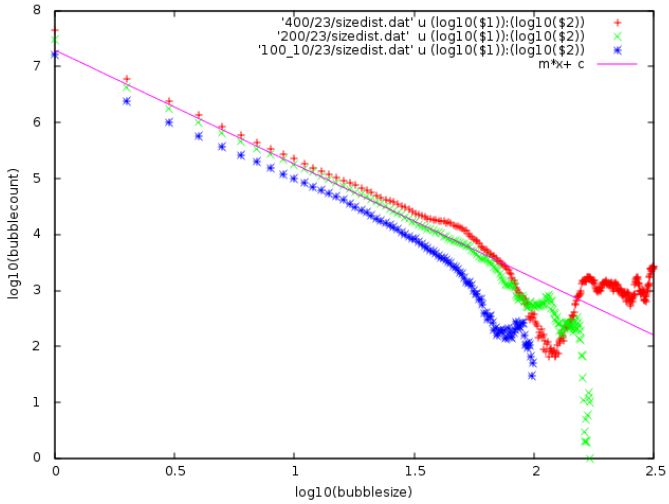
Şekil 7. Uçları serbest, 614 baz çifti uzunluğundaki model DNA zincirinin erime sıcaklığı üstünde erime aşamaları.

Bu gözlemler modelimizin ve moleküler dinamik benzetimlerimizin fiziksel açıdan beklenen davranışı gösterdiğine işaret etmektedir. Son olarak, daha hassas bir sınama için, polimer fiziğin DNA erimesi için ön gördüğü erime bölgeleri büyüklük dağılımını elde edip etmediğimizi sorguladık. Poland-Scheraga DNA modeli üzerindeki geçmiş çalışmalardan bilindiği üzere (Duplantier, 1986; Kafri vd., 2000), kritik erime sıcaklığında sistemdeki erime bögelerinin denge uzunluklarının olasılık dağılımı

$$\mathrm{p}(\ell) \sim \ell^{-\mathrm{c}}, \quad \mathrm{c} \simeq 2.12$$

ile verilir. Poland-Scheraga modeline benzer - yani sarmal olmayan – “merdiven” DNA modeli ile bu olasılık dağılımını bir histogram olarak elde ettik. Başlangıç aşamasında L=100, 200, ve 400 boylarındaki modeller için elde ettiğimiz sonuçlar Şekil 8’te verilmiştir. Log-log eksenleri ile verilmiş histogramın başlangıç bölgesinde gözlediğimiz eğim kuramsal beklenti ile uyumludur. Kuyruk kısmındaki dalgalanmalar kullandığımız DNA uzunluklarının sonlu olması nedeniyle kaçınılmaz olan yetersiz örnekleme etkileridir.

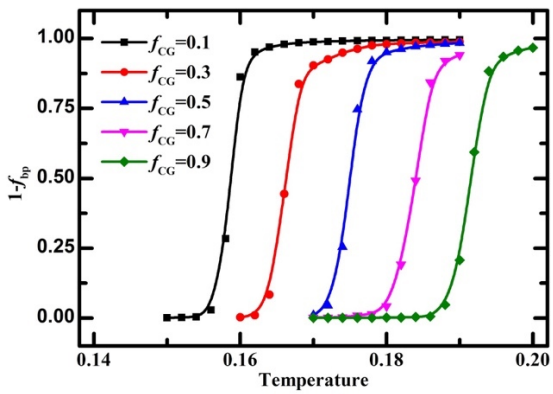
Sonuç olarak projenin ilk aşamasında, 1000 nükleotid veya daha fazlasını içeren uzunluklarda DNA zincirlerinin denge özelliklerini araştırmamıza imkan veren, sıcaklığa bağlı olarak erime/katlanma davranışını rahatlıkla gözlemleyebildiğimiz bir benzetim modeli oluşturduk ve modelimizin fiziksel açıdan beklenen davranış özellikleri gösterdiğini gözlemledik.



Şekil 8. L=100, 200, 400 için erime sıcaklığında erime bölgelerinin boy dağılımı. Grafikteki doğrunun eğimi -2.04'tür. İki eksen de 10 tabanında logaritmik seçilmiştir.

3.3.1 Dizilim etkilerinin modele eklenmesi

Çalışmalarımızda çoğunlukla yukarıdaki modeli kullanacak olsak da, DNA araştırmalarının çoğuna elde edilen bulgular nükleotid dizilimine bağlıdır. Bu nedenle kurguladığımız modeli dizilim etkilerini de gözlememize izin verecek şekilde genişletmekte yarar vardır. Bu eklemeyi en basit olarak bağ enerjileri düzeyinde yapabiliriz. Bağlanma enerjisi olarak kullandığımız ϵ_{bp} parametresinin değerini 1.0 yerine A-T çiftleri için 0.85, G-C çiftleri için 1.15 seçtiğimizde elde ettiğimiz erime eğrilerinin A(T)/C(G) oranı ile beklenen değişimi gösterdiğini Şekil 9'da verilen erime eğrileri ile teyit ettik.



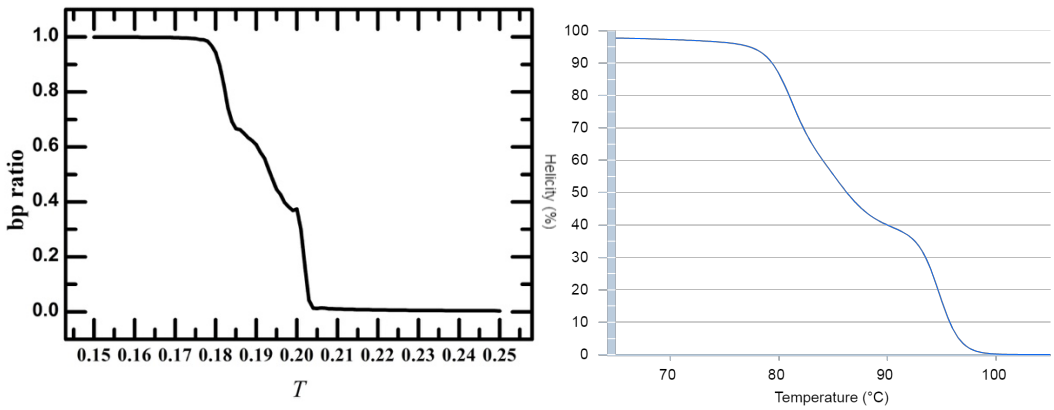
Şekil 9. Erime eğrilerinin dizilimdeki A(T)/G(C) oranı ile değişimi. Her veri noktası 10 farklı ve rastgele seçilen dizilimden elde edilmiştir.

Erime sıcaklığında gözlenen değişim gerçek DNA moleküllerinin dizilim farkına göre erime sıcaklıklarındaki değişim ile (%20-30) benzer mertebededir. Kullandığımız enerji parametreleri de AT ve GC çiftleri arasındaki hidrojen bağı farkından kaynaklı bağlanma enerjisi farkını yansıtır nitelikte olduğu için bu sonuçlar genel olarak deneysel verilerle tutarlı görünmektedir.

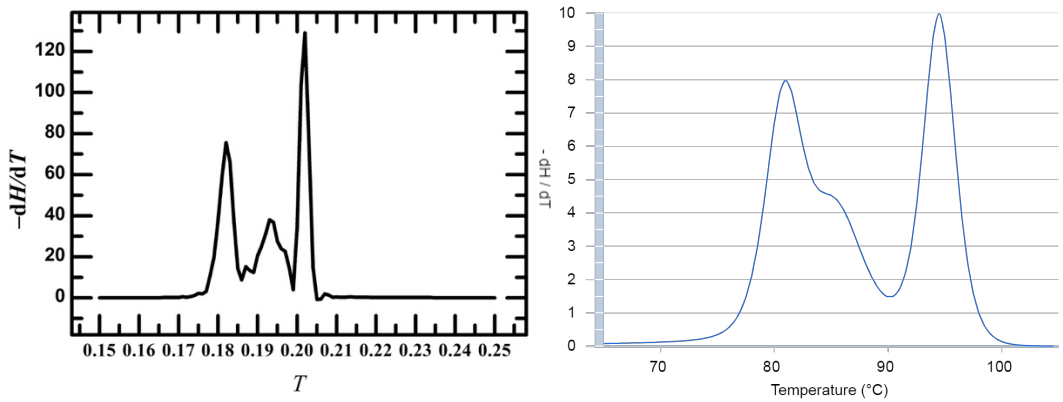
Sadece A(T)/C(G) kompozisyonuna değil, dizilimin kendisine de bağlı olarak değişen erime eğrilerini ne ölçüde üretebildiğimize de baktık. Bu, ilgilendiğimiz bilimsel araştırma problemleri ile doğrudan ilişkili olmasa da, modelimizin ne ölçüde gerçekçi olduğuna dair bir fikir vermesi açısından ilgi çekicidir. Bu amaçla, A(T) yoğunluğu DNA boyunca değişiklik gösteren aşağıdaki dizilimi örnek olarak seçtik (modelimiz A-T (G-C) ve T-A (C-G) çiftleri arasında fark gözetmediği için dizilimi sadece A ve C bazları cinsinden ifade ettik).

cacacacacacccacaaaaaaaaaaaaaaaaaaaaccccccccaccaccccccccccccccccccccccccaaaaaacacaacaacaacaaacacacaca

Bu dizilimin erime eğrisini açık bir sunucu (https://www.dna.utah.edu/umelt/ump.php) üzerinde Unified Santa-Lucia algoritması ile elde ettik ve modelimizin sonucu ile karşılaştırdık (Şekil 10-11). Çok daha kapsamlı (ve analitik olarak hesaplandığı için çok daha hızlı) olan bu erime eğrisi öngörü algoritması ile aynı sonucu elde etmesek de, iki durumda da Şekil 11'de verilen türev eğrilerinde daha açık gözlenen iki basamaklı erime davranışının elde edilmiş olması modelimize dizilim farklarını gerçekçi biçimde yansıtabildiğimizi göstermektedir.



Şekil 10. Seçilen dizilimin Unified Santa-Lucia algoritması (sağ) ve modelimiz (sol) ile hesaplanmış erime eğrisi. Modelin yatay ekseninde sıcaklık bağ enerjisi birimindedir.



Şekil 11. Şekil 10'daki erime eğrilerinin yatay sıcaklık eksenine göre türevleri.

Bundan sonraki bölümlerde elimizdeki DNA modelini kullanarak bu proje araştırmasında ilgilendiğimiz bilimsel sorulara yanıt arayacağız. Bu soruların odağı, erime ve katlanma dinamiğinde burgu etkilerinin ortaya çıkarılmasıdır.

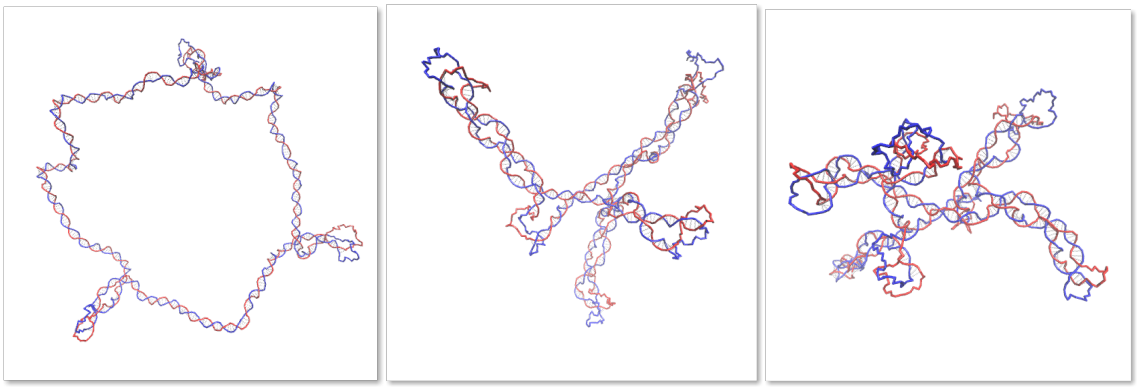
4. BULGULAR

4.1 Halka DNA yapısında erime davranışının gözlenmesi

Başlangıç koşulu olarak merkez eğrisi daire biçiminde olan bir DNA modeli ile başladığımızda, sicim-içi bağlar kırılmadığı için, sistemdeki dolanma miktarı topolojik bir değişmez haline gelir. Bu durumda termal erime davranışının radikal biçimde değişmesi beklenir. Bu konuda geçmiş kuramsal araştırmalarımız (Kabakçıoğlu vd., 2012; Bar vd., 2012) *denge durumunda* makro boyutta bir erime kabarcığının kritik sıcaklıkta ortaya çıkıp artan sıcaklıkla büyümesi gerektiğini gösterdi.

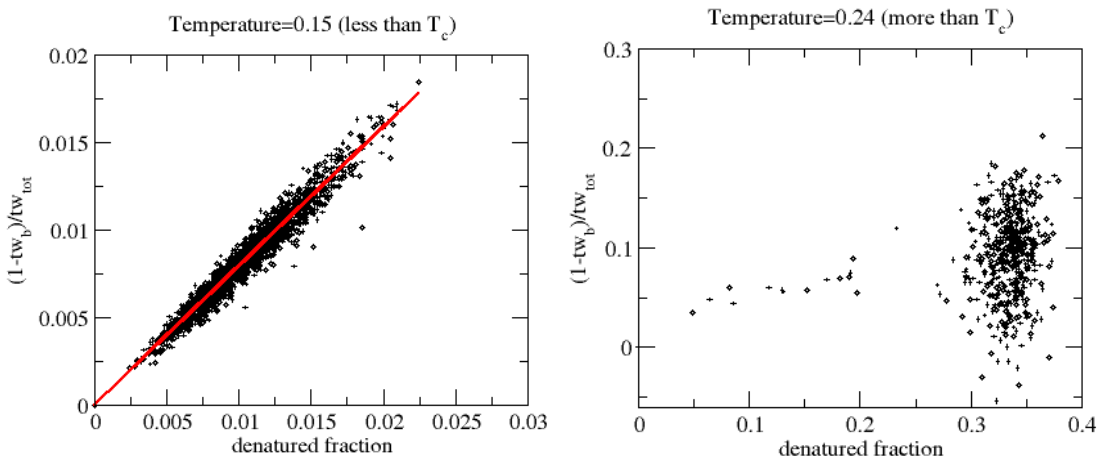
Ancak Şekil 12'de gösterilen benzetim sonuçlarının farklı bir senaryo ortaya koyduğunu gözlemledik. Erime kabarcıklarından dışlanan dolanma sayısı (linking number), DNA'nın bükümlenmesine neden oluyor ve sistem bir ağaçsı (branched) veya yıldız (star) polimer yapısına ulaşıp bu lokal serbest enerji minimumu etrafında salınıyor. Ek olarak, kuramsal çalışmalarda varsayıldığı gibi, erime kabarcıklarının büküm (supercoil) bölgelerinden ayrık olmadıklarını, aksine erimenin ağırlıklı olarak bükümlerin keskin dönüş yaptığı tepe noktalarında gerçekleştiğini gördük. Benzer bir gözlem Ard Louis ve araştırma grubu (Oxford)

tarafından uçarından burulan çizgisel bir DNA'nın incelendiği geçmiş bir çalışmada da yapılmıştır (Matek vd., 2015).



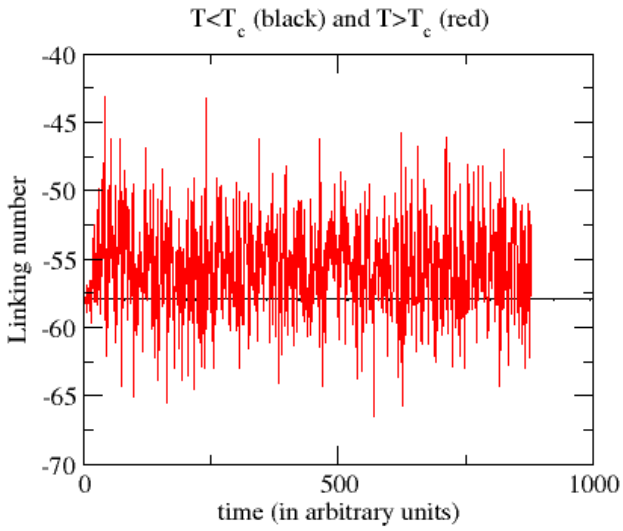
Şekil 12. Erime sıcaklığının üzerinde, plazmid model DNA'nın, çember bir yapıdan başlayarak ilerleyen zamanlarda seçilmiş tipik örnekleri. Karakteristik dallı yapı ve erime kabarcıklarının dalların uçlarında lokalize olduğu görülüyor.

Bu veriler, yürütücünün geçmiş çalışmalarını ışığında, denge varsayımı altında gözlenmesi beklenen makroskopik erime bölgesinin hızla soğutulan sistemlerde görülemeyebileceğini ortaya koyuyor. Sistemde farklı erime kabarcıklarının aynı anda ortaya çıkması, beraberinde bükümlerin doğmasına neden olup bu erime bölgelerinin DNA boyunca difüzyon yapıp birleşmesine ve bu sayede gelişen bir denge dağılımının oluşmasına engel olmaktadır. Erime kabarcıklarının bükümlerin uç noktalarında lokalize olması sistem üzerinde kinetik bir tuzak etkisi yaratır. Dizilim etkilerinin tartışıldığı ileriki bölümde bu kinetik tuzak etkisinin erime sıcaklığı yakınındaki sıcaklıklarda azaldığı gözlenmiştir.



Şekil 13. Erime sıcaklığının altında (sol) ve üzerinde (sağ), plazmid model DNA için bağlı olmayan bölgelerdeki burgunun toplam burguya oranı (y ekseni) erimiş bölgelerin toplam DNA miktarına oranı (x ekseni) ile karşılaştırılmıştır.

Burgu ve bükümün erime ile ilişkisini incelemek için ise ilk aşamada bağlı (erimemiş) bölgelerdeki burguyu ölçtük ve toplam burgu miktarına oranını erimiş bölgelerin toplam uzunluğa oranıyla karşılaştırdık. Düşük ve yüksek sıcaklıklarda bu ilişki Şekil 13'te gösterilmiştir. Görüldüğü üzere, yüksek sıcaklıkta, iki nicelik arasındaki doğrusal ilişki kaybolmaktadır. Bu durumun daha önce belirtilen ve toplam dolanma sayısı hesabının altındaki varsayımın yüksek sıcaklıkta geçerli olmamasından kaynaklıdır Sistemdeki toplam dolanım sayısını DNA merkez cizgisi üzerinde Biot-Savart kanununda yola çıkarak ve iki sicimin yakın oldukları varsayımına dayanarak dolanım sayısını "twist" ve "writhe" integralleri üzerinden hesapladığımızda (Fuller, 1971; White, 1969; Sayar vd., 2010) elde ettiğimiz sonuçlar Şekil 14'te gösterilmiştir.

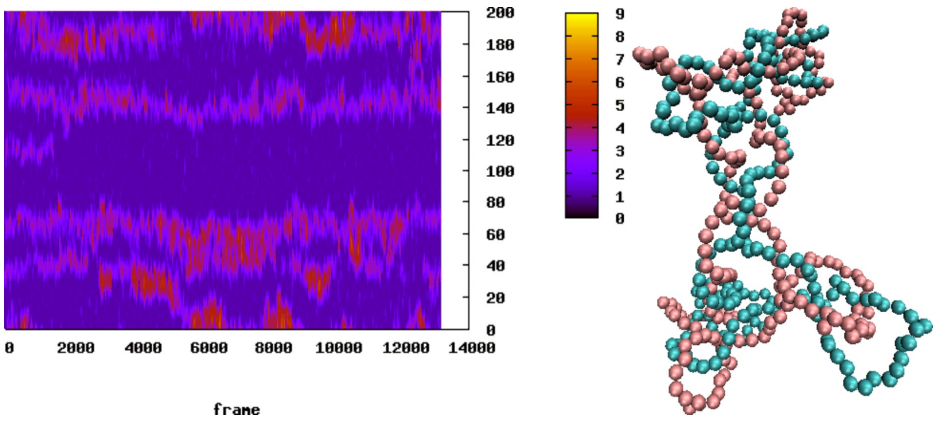


Şekil 14. Erime sıcaklığının altında (siyah) ve üzerinde (kırmızı) hesaplanan dolanma sayısı değerleri.

Bu değerin her zaman sabit olması gerekiyor, ancak yüksek sıcaklıkta elde ettiğimiz değerler bu beklentiyle uyumlu değildir. Bu tutarsızlık, Şekil 13'te gözlediğimiz farklılığın hesaplamalarda kullanılan varsayımın geçersizleşmesinden kaynaklı olduğunu destekler niteliktedir.

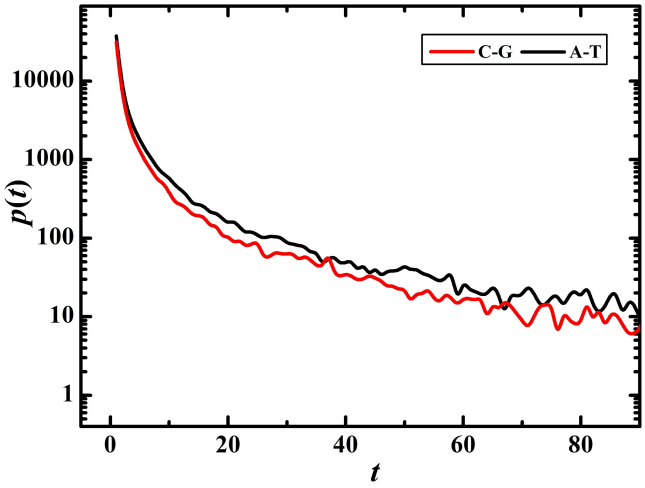
4.1.1 Halka DNA erimesinde dizilime bağlı etkiler

Erime dinamiğinde dizilime bağlı etkilerin olup olmadığı biyolojik açıdan da önemli olabilecek bir sorudur. Örneğin, DNA'ya bağlanan bazı proteinlerin erime ile tetiklenen büküm bölgelerine bağlanmayı tercih ettikleri tahmin ediliyor. Bu nedenle, dinamik bir nicelik olarak erime sırasında kopan eşlenik baz çiftlerinin ayrı kalma sürelerine ve bunun dizilime bağlılığına odaklandık. Şekil 15'te görüldüğü üzere, rastgele bir dizilimde bile eriyen bölgeler saç örgüsü (supercoil) yapılarının uçlarında stabilize oldukları için çok uzun bir süre (genellikle bütün benzetim boyunca) varlıklarını devam ettirebilmektedirler. Şekilde bağlı çiftler mor renkle, ayrık çiftler ise aralarındaki mesafe arttıkça kırmızıya kayan renklerle gösterilmiştir. Sistemde kabaca 4 tane saç örgüsü yapısı şeklinde dal vardır. 'Supercoil' olarak adlandırılan bu yapılar, halka DNA'da erime sonucu açılan bölgelerin bağlı bölgeler üzerinde yarattığı dönme etkisi sonucu oluşmuşlardır.



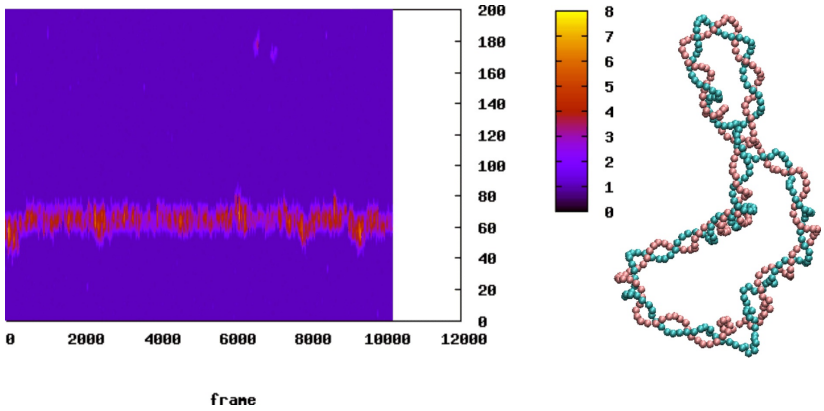
Şekil 15. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilime sahip bir halka DNA için baz çiftleri arasındaki mesafenin zaman içinde değişim kimografı ($T/T_m = 1.66$, T_m erime sıcaklığıdır).

Şekil 15'te verilen yapı için A/T ve G/C çiftlerinin ayrı kalma sürelerinin olasılık dağılımlarını da hesapladık. Burada beklentimiz, saç örgüsü yapılarının uçlarında stabilize olan erime kabarcıklarının bu dağılımda şişman bir kuyruk olarak, özellikle A/T için kendini göstermesi idi. Aşağıda Şekil 16 ile verilen dağılımda böyle bir bulguya rastlamadık. Bunun nedeni erime kabarcıklarının uzun zaman içinde aynı lokal bölgede yaşamalarına rağmen bu bölge içinde açılıp kapanmaları ve difüzyon ile sağa-sola taşınmaları olabilir.



Şekil 16. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilimde bir halka DNA için yüksek sıcaklıkta ($T/T_m = 1.66$) eşlenik çiftlerin ayrılık süreleri olasılık dağılımı.

Diğer yandan, sıcaklığı düşürecek olursak ($T/T_m = 1.1$) bu sefer aynı dizilim için bir tek erime kabarcığının çok daha stabil olarak varlığını sürdürdüğünü gözlemledik (Şekil 17). Bu şaşırtıcı gözlem, erime sıcaklığının yakınında dizilimde AT/GC oranının arttığı bölgelerin molekülün 3 boyutlu şekli ve erime bölgelerinin belirlenmesinde daha etkin bir rol oynadığına işaret ediyor olabilir. Bu durumda bütün DNA yapısı bir tek saç örgüsü şeklindedir.



Şekil 17. 200 baz çifti uzunluğunda rastgele dizilime sahip bir halka DNA için baz çiftleri arasındaki mesafenin zaman içinde değişim kimografı ($T/T_m = 1.1$).

Halka DNA ve daha kompleks RNA yapılarında erime bölgelerinin saç örgüsü yapıları üzerinden kararlılığının artması, gen regülasyon süreçleri üzerinde önemli sonuçları olabilecek bir olgudur. Halka DNA üzerine bu gözlemlerimiz proje araştırmalarımızın henüz yayımlanmamış sonuçlarıdır. Projenin gidişi içinde, araştırmamızın ikinci aşamasını oluşturan saç tokası katlanma/erime davranışı üzerine daha öncelikli olarak eğilmeyi gerekli gördük. Bu

konuda elde ettiğimiz ilginç bulgular aşağıdaki bölümde ayrıntılandırılmıştır. Bu bulguların bir kısmı yakın zamanda Physical Review Letters dergisinde yayımlanmıştır.

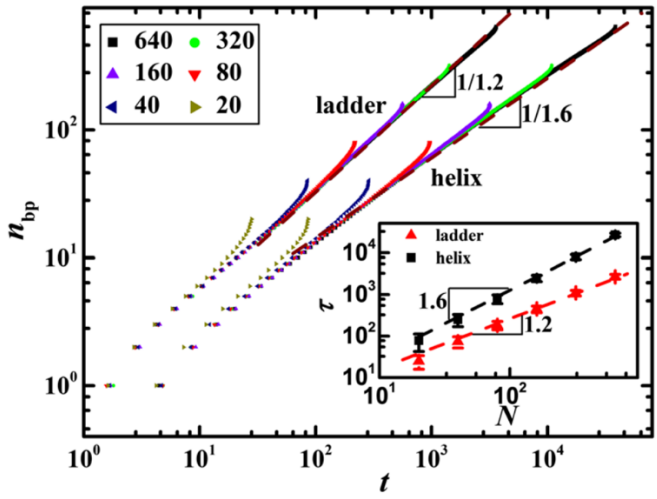
4.2 Saç tokası DNA/RNA yapılarında katlanma dinamiği

DNA/RNA saç tokası katlanması, palindromik (bir yarısı diğerinin eşleniği olan) DNA/RNA moleküllerinin sıcaklık veya kuvvet etkisi altında ayrık durumdan bağlı duruma geçmesidir. Kullandığımız yaklaşım DNA ve RNA arasında bir fark gözetmediği için bundan sonrası için elimizde bir RNA modeli olduğunu varsayacağız. Dinamiğin gözlenmesi için kullanılabilecek doğal değişken (reaction coordinate) $n(t)$ ile göstereceğimiz bağlı baz çifti sayısıdır.

Açık konfigürasyondan başlayarak katlanma dinamiğini incelerken ilk birkaç baz çiftinin bağlanması ile katlanmayı tetikleyen çekirdek yapının oluşmasının stokastik bir süreç olduğu ve katlanma süresinde büyük değişimlere yol açabileceğini literatürden bildiğimiz gibi biz de benzetimlerimizle teyit ettik. Bu çekirdek oluşum (nucleation) süresini denklemden çıkarmak için ileriki benzetimlerimizi saç tokası yapısının ilk 4 baz çiftini halihazırda bağlı tutarak başlattık. Daha sonra başlangıç durumlarını yüksek sıcaklıkta dengeye getirdik ve sıcaklığı erime sıcaklığının yaklaşık %10 altında (Kelvin ölçeğiyle) bir değere sabitleyerek Langevin dinamiği yardımıyla sistemin zaman içinde katlanma sürecini, yani $n(t)$ 'yi gözledik.

4.2.1 RNA katlanmasında yeni bir dinamik rejimin gözlenmesi

Şekil 18'de yatay eksen zamanı, düşey eksen ise bağlanmış baz çifti sayısını göstermektedir. Farklı uzunluktaki burgulu ve burgusuz model RNA'lar için en az 100 kopya üzerinden alınmış averaj değerler her uzunluk için farklı renkte gösterilmiştir. Bütün baz çiftleri bağlandığında katlanmanın tamamlanmış olduğunu varsayarak başlangıçtan itibaren geçen toplam sürenin boy ile değişimi de ayrıca içteki grafikte verilmiştir. Elde ettiğimiz verilerin log-log grafiğinde doğrusal olması katlanma zamanının uzunlukla üstel olarak değiştiğine işaret etmektedir. Bu üstel değerlerin anlaşılması ilgilendiğimiz ana sorudur. Bu arada, Şekil 18'de verilen analiz, bundan önce aynı amaçla gerçekleştirilen en son moleküler dinamik analizinden (Fredericks vd., 2014) 10 kat veya daha uzun RNA modelleri kullanılarak üretilmiştir.



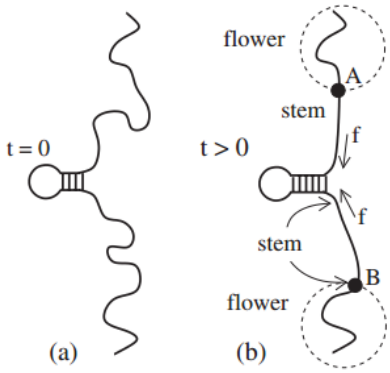
Şekil 18. Katlanma süresinin DNA uzunluğu ile değişimi.

RNA katlanma davranışının en eski kuramsal modellerinden olan fermuar (zipper) modeli, sistemin her aşamada dengede olduğunu varsayarak, bağlı ve bağsız durumların serbest enerji farkı ile ilişkilendirilen balistik bir dinamik öngürür. Bu durumda N uzunluğunda bir RNA'nın toplam katlanma zamanı için $\tau(N) \sim N$, ya da Şekil 18'deki eğimlerin bire eşit olmasını bekleriz. Ancak, deneysel veriler (Neupane vd., 2012) bu ilişkinin daha genel olarak $\tau(N) \sim N^{\alpha}$ ve $\alpha \simeq 1.6$ olduğuna işaret etmektedir (Frederickx vd., 2014). Aynı makalede, buradaki 1.6 değerinin $(1+\nu)$ olması gerektiği ($\nu = \frac{3}{d+2}$ Flory üsteli olarak bilinir) ileri sürülmüştür.

Frederickx ve arkadaşlarının $\alpha = 1 + \nu$ iddiası için öne sürdükleri açıklama aşağıdaki gibidir: Şekil 19'da gösterilen ve tek-sicim (single strand) bölgeleri denge dışı durumdadır ve iki fazdan oluşan "stem-flower" yapısına sahiptir. Özetle, hidrojen bağları oluşurken tek-sicim bölgesinin Y-çatalına yakın kısmı çekilerek gerilir (stem). Geri kalan tek sicim bölgeleri (flower) henüz katlanma dinamiğinden etkilenmediği için serbest, denge durumunda bir polimer olarak düşünülebilir. Gerilen bölgenin hareketinin sabit kuvvet altında ve sürtünmeli ortamda Langevin denklemi ile verildiğini varsayarsak

$$\gamma(n)\,\dot{n} = f$$

sabit f ve $\gamma(n) \simeq n^{\nu}$ ile çözülebilir. Bu çözüm bize uzunluğa bağlı olarak $\alpha = 1 + \nu$ ile ölçeklenen bir katlanma süresi verir.



Şekil 19. Katlanma sırasında oluştuğu varsayılan RNA geometrisi (Fredericks vd., 2014).

Benzetim verilerimizin analizleri sonucunda yukarıdaki "sap" bölgesinin varlığını özgün bir analiz ile teyit ettik. Diğer yandan, yukarıdaki argümanın ilginç yanı, bağlı bölgelerin burgu yapısının dinamik davranış üzerinde hiçbir etkisi olmadığını varsaymasıdır. Bu varsayımın geçerliliğini sınamak bu projede geliştirdiğimiz burgulu ve burgusuz DNA modellerinin oluşturulmasındaki ana motivasyon idi. Nitekim, Şekil 18'de elde ettiğimiz farklı eğimler, $\alpha \simeq 1.6\,(burgulu)\ ve\ \alpha \simeq 1.2\,(burgusuz)$, burgunun RNA katlanma dinamiğinde önemli bir rol oynadığını gösteriyor. Burgu yokluğunda Şekil 19'da verilen argüman hala geçerli olmasına rağmen gözlenen üstelin değerinin farklı olması, iki modeldeki katlanma davranışlarının farklı mekanizmalar içeren ayrı dinamik rejimler olduğuna işaret etmektedir. Araştırmamızın sonraki aşamalarındaki amacımız bu rejimlerin daha iyi anlaşılması oldu.

4.2.2 Burgusuz katlanma dinamiğindeki üstel davranışın belirlenmesi

"Merdiven" modelinde gözlediğimiz $\alpha \simeq 1.2$ değeri bu üstelin $\alpha = 2\nu$ şeklinde yazılıp yazılamayacağı sorusunu akla getiriyor. Bu hipotezi sınamak için α değerinin farklı olduğu model sistemlerde aynı analizi yapmak gerekir. Bunun en kolay iki yolu:

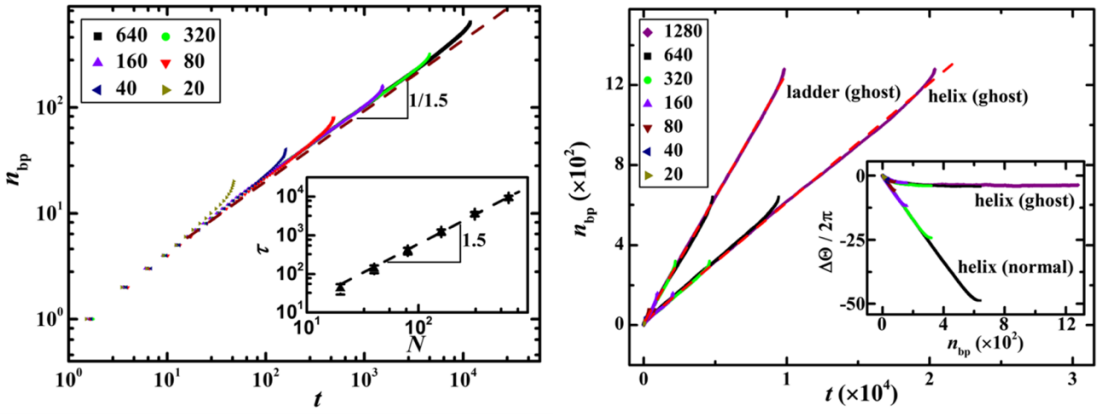
1. RNA katlanma benzetimlerini 2 boyuta taşımak,
2. "Hayalet" modeller üzerinde aynı analizi tekrarlamaktır.

Birinci seçenekte sistem bir düzlem üzerine sınırlandırılır. Bu boyutta Flory üsteli $\nu = \frac{3}{d+2} = 0.75$ ile verildiği için eğer hipotezimiz doğru ise merdiven modelinde gözleyeceğimiz katlanma davranışı bize $\alpha = 2\nu = 1.5$ vermelidir.

İkinci seçenekte modelimizin açı ve bağ potansiyellerini değiştirmeden, sadece "dışlama" potansiyel V_{exc} sıfırlanır. Bu değişikliğin etkisi, DNA yapısının kıvrıldığı durumlarda kendini kesmesine ve içinden geçmesine izin vermektir. Sonuç olarak, polimer fiziği perspektifiyle,

DNA polimerinin konfigürasyonları 3 boyutta bir rastsal yürüyüşünkine eşdeğer olmalıdır. Rastsal yürüyüşler için Flory üsteli her boyutta $\nu \simeq 0.5$ ile verilir, yani bu değişiklik sonrasında beklentimiz $\alpha \simeq 1.0$ olacaktır. Şekil 20 her iki durumda elde ettiğimiz katlanma davranışını göstermektedir. Beklediğimiz üstel davranış her iki durumda da son derece açık olarak gözlenmektedir.

(a) 2 boyutta "merdiven" modeli (b) "hayalet" DNA modelleri



Şekil 20. $\alpha \simeq 2\nu$ hipotezini sınamak için kullanılan (a) 2 boyutlu "merdiven" DNA modeli ve (b) "hayalet" DNA modellerinde katlanma davranışı. Ayrıca sağ iç grafikte normal ve hayalet sarmal modeller için sistemin merkez aksı etrafında toplam dönme miktarının zamanla değişimi verilmiştir.

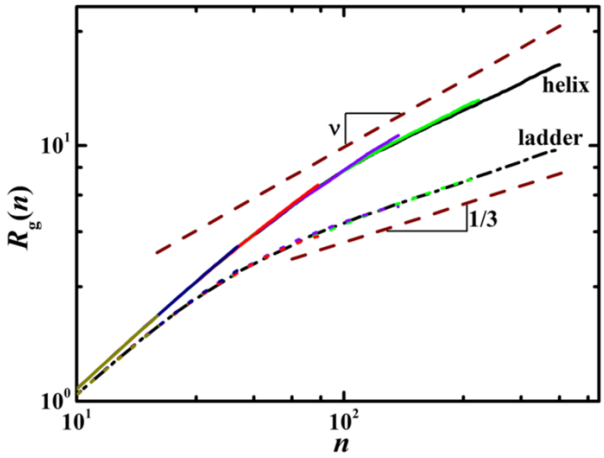
Diğer yandan, dikkat çeken ve beklenmedik bir bulgu, "hayalet" senaryolarında sadece merdiven modelinin değil burgulu sistemin de balistik ($\alpha \simeq 1.0$) katlanma dinamiği sergilemesidir. Oysa geçmiş kuramların ve 3 boyuttaki gözlemlerimizin ışığında beklentimiz $\alpha \simeq 1 + \nu = 1.5$ idi. Bu gözlemi sarmal etkilerle ilişkilendirebilmek için Şekil 20b'de normal ve hayalet sarmal DNA modelleri için katlanma süresince bağlı çift sarmal yapının merkez aksı etrafında dönme miktarını da gösterdik. Bu niceliği hesaplamak için bağlı baz çiftlerinin orta noktalarından geçen merkez aks eğrisini oluşturduk. Daha sonra her bağın orta noktası merkezli lokal bir koordinat sistemi seçip, eksenlerinden birini bağ doğrultusunda, bir diğerini de merkez aks eğrisinin teğeti doğrultusunda sabitledik. Ardışık zamanlarda elde ettiğimiz koordinat sistemlerinin birbirlerine göre dönme miktarlarını hesaplayıp bütün bağlar üzerinden ortalamasını alarak sistemin toplam dönme miktarını bulduk. Sonuç olarak, hayalet modelde bağlı bölgelerin pratik olarak hiç dönmediğini görüyoruz. Bu gözlem, bize hayalet modelin esasen burgusuz bir model gibi davrandığını gösteriyor ve gözlediğimiz α değerinin burgu etkileriyle belirlendiğine işaret ediyor.

4.2.3 Gözlemlerle uyumlu kuramsal bir model

Şimdiye kadarki gözlemlerimiz burgulu ve burgusuz modellerde katlanma zamanının uzunluğa farklı biçimlerde bağlı olduğunu gösteriyor. Farklı Flory üsteline sahip rejimlerde yaptığımız benzetimlerle katlanma süresinin burgulu modelde $n(t) \sim t^{1/(1+\nu)}$, burgusuz modelde ise $n(t) \sim t^{1/2\nu}$ şeklinde ölçeklendiğini bulduk. Bu gözlemler, daha önce de vurgulandığı üzere, sistemin denge dışı dinamiğine işaret ediyor.

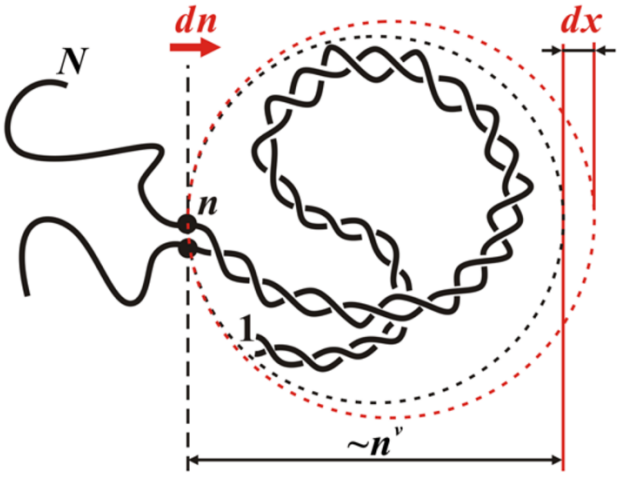
Burgunun DNA katlanma/erime dinamiği üzerindeki olası etkisi, son bağlantı noktasındaki çatal (Y-fork) noktasında her bağın oluşumu sırasında sistem üzerine etki eden tork ile açıklanabilir. Bağ oluşumu dihedral açı potansiyelleri nedeniyle bağlı çift sarmal ve bağsız tek sicim bölgeleri üzerinde rotasyonel bir stres yaratır. Bu stres tek sicim bölgeleri üzerinde çok daha az etkilidir, zira burada oldukça esnek olan iki kolu çatal noktasından etki eden bir tork ile birbiri etrafında döndürmek fiziksel olarak zordur. Bu nedenle her bağ oluşumu esasen dupleks yapının kendi ekseni etrafında dönmesine neden olur. Nitekim, Şekil 20b'de dönme açısının normal burgulu model için zamanla arttığı görülmektedir. Bu rotasyonun olmadığı hayalet modelde ise katlanma süresi burgusuz bir model gibi ölçeklenmektedir. Şu halde, sözkonusu rotasyonel hareket ile gözlenen ölçeklenme davranışı arasında bir ilişki kurulmalıdır.

Bu yönde bize yol gösterecek bir başka gözlem, bağlı dupleks bölgesinin katlanma süresi boyunca dönme yarıçapı, Şekil 21'de verilmiştir. Burgulu ve burgusuz modeller arasındaki fark iki dönme yarıçapının dupleks uzunluğu ile olan ilişkisinde net olarak görülebilir. Burgulu modelde dupleksin gösterdiği ölçeklenme dengedeki bir polimer için beklenen $R_g \sim n^{\nu}$ bağıntısına yakınken, burgusuz modelde hacmi dolduran yoğun bir polimere karşılık gelen $R_g \sim n^{1/d}$ ilişkisi gözlenmektedir. (Kısa uzunluklarda görülen doğrusal ilişki sistem boyunun ısrar mesafesi (persistence length) mertebesinde olmasından kaynaklıdır.) Buradan, burgulu modelde bağlı dupleks bölgesinin ardışık iki bağlanma olayı arasında dengeye gelecek zamana sahip olduğunu, ya da bağlanma için dupleksin dengeye gelmesinin bir gerek koşul olduğunu söyleyebiliriz. Burgusuz modelde ise bağlanmanın dupleks dinamiğinden bağımsız olarak gerçekleştiği düşünülebilir. Ancak her iki durumda da tek sicim bölgelerinin yukarıda bahsi geçen "sap-çiçek" (stem-flower) geometrisi nedeniyle denge dışı olduğunu vurgulamak gerekir.



Şekil 21. Burgulu ve burgusuz modellerde dupleks bölgesi dönme yarıçapının dupleks uzunluğuyla değişimi.

Şu durumda, burgu etkisini bağlı bölgenin dengeye gelme süresi ile ilişkilendirmek gerekir. Bu ilişkiyi basit bir Langevin dinamiği modeli ile tasvir edebiliriz. Şekil 22'de verilen bu model, her bağlanma olayı sonrasında dupleksin bir birim uzaması sonucu genleştiğini ve bu sırada sürtünmeye karşı sabit kuvvet altında sabit bir hızla hareket ettiğini varsayıyor.



Şekil 22. Burgulu modelde dupleksin dengeye gelme süreci ile sınırlı katlanma hızı için bir model.

Bu hareket bir Langevin denklemi ile aşağıdaki gibi tasvir edebiliriz:

$$\eta(n)\frac{dx}{dt} \sim f$$

Yukarıda $\eta(n)$ sürtünme katsayısıdır ve Rouse rejiminde monomer sayısı ile orantılıdır. Toplam yer değiştirmeyi

$$\mathrm{dx} = (\mathrm{n} + \mathrm{dn})^{\nu} - \mathrm{n}^{\nu} \sim \mathrm{n}^{\nu}\mathrm{dn}$$

şeklinde ifade edersek yukarıdaki hareket denklemi bize katlanma süresi için

$$\mathrm{n}\,\mathrm{n}^{\nu}\mathrm{dn} \sim \mathrm{dt} \;\Rightarrow\; \mathrm{t(n)} \sim \mathrm{n}^{1+\nu}$$

bağıntısını verir. Bu derivasyon Frederickx ve Carlon tarafından sunulan (Frederickx, R. ve Carlon, E., 2014) açıklamaya bir alternatif getirir ve - öncekinin tersine - sarmal geometrinin olmadığı (dolayısıyla dupleksin de denge dışı kaldığı) durumda farklı bir dinamik rejimin varlığı ile tutarlıdır.

Son olarak, merdiven modelinde gözlediğimiz yeni üstel için bir modele ihtiyacımız var. Bu modeli uzun aramalar sonrasında polimer translokasyon literatüründe karşımıza çıkan bir argümanı kullanarak oluşturduk. 2ν üstelini veren dinamik bir model hala yok, ancak aşağıdaki fenomenolojik model bize bu sistemde gözlenebilecek en hızlı katlanma dinamiğinin $\alpha = 2\nu$ ile verildiğini söylüyor:

Denge konumunda bir başlangıç durumu için çekirdek noktasından başlayarak sayıldığında n'inci baz çiftinin başlangıç uzaklıkları n^{ν} ile verilir. Şu halde, bu baz çiftinin başlangıç anındaki konumlarına $\vec{r}(s)$ ve $\overrightarrow{r'}(s)$ dersek, bağlandıkları ana kadar geçen sürede birbirlerine ortalama yaklaşma hızları

$$v(s) \sim \frac{\left|\vec{r}(s) - \overrightarrow{r'}(s)\right|}{s^{\alpha}} \sim s^{\nu-\alpha}$$

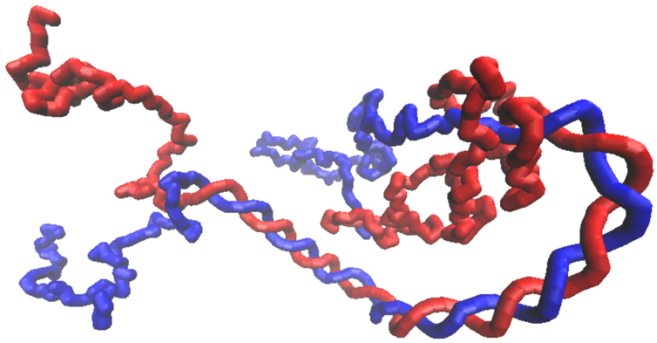
olarak ifade edilebilir. Langevin rejiminde bu hız, sürtünmeye karşı uygulanması gereken kuvvet ile orantılıdır. Şu halde, sürtünmeye karşı yapılması gereken toplam işi E_f ile ifade edersek, bu iş toplamda N tane bağın oluşmasından açığa çıkan enerjiden daha fazla olamaz. Bu eşitsizlik bize aşağıda gösterildiği gibi, beklediğimiz üstel eşitsizliğini verir.

$$E_f \sim \int_0^N v(s)s^{\nu}\, ds \sim N^{2\nu-\alpha+1} \;\leq\; N \;\Rightarrow\; \alpha \geq 2\nu.$$

Gözlediğimiz merdivem modeli katlanma benzetimlerinde dupleks bölgesinin denge dışı olması, yukarıdaki hız sınırına bu sistemde ulaşılmış olması ile tutarlıdır.

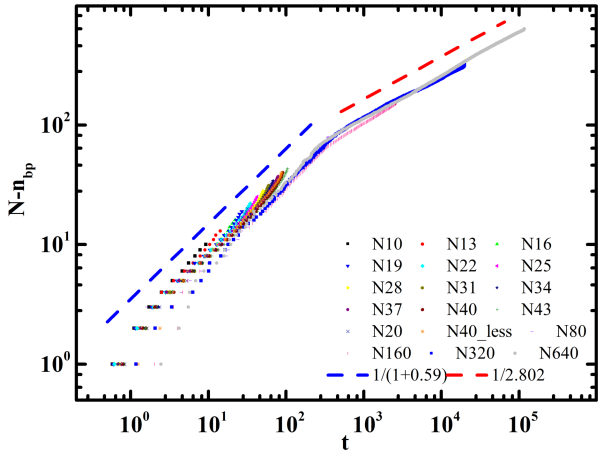
4.3 Saç tokası DNA/RNA yapılarında erime dinamiği

Katlanma dinamiği yukarıda detaylandırılan saç tokası yapılarında erime sıcaklığının üzerine çıkılırsa bu sefer ters sürecin, yani erimenin, gözlenmesi beklenir. Ancak naif beklentinin aksine, bu iki süreç birbirinin simetriği olarak gerçekleşmez. Bunun nedeni Şekil 23'ten anlaşılabilir. Burada bağlı durumda iken sıcaklığın $T = 1.1\,T_m$ değerine çıkarıldığı durumda açılmaya başlayan bir saç tokası yapısı görülmektedir. Katlanma dinamiğinin tersine, açılmanın iki uçtan birden başladığı gözlenebilir. Bu sistemde burgu etkisi nettir. Zira, erimenin devam edebilmesi için tek sicim bölgelerinden en azından birinin kendi etrafında dönerek burgunun sistemden atılmasını sağlaması gerekir.



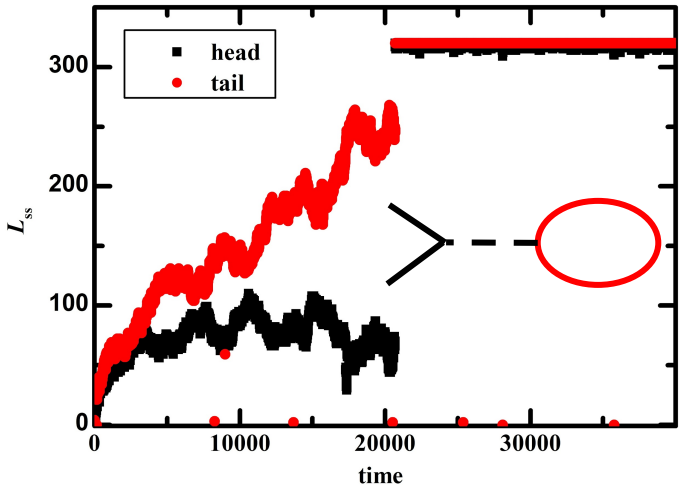
Şekil 23. $T = 1.1\,T_m$ için kısmen erimiş bir saç tokası yapısı.

Bu durumda kırılan hidrojen bağlarının zamanla değişimi ise Şekil 24'te verilmiştir. Yukarıda açıklanan burgu kaynaklı darboğaz nedeniyle yeterince uzun yapılarda erimenin katlanmaya oranla çok daha yavaş ilerlediği görülmektedir. Erken zamanlarda (veya kısa moleküller için) erime hızı katlanma hızı ile aynıdır. Bu durumda açılmanın esasen bir uçta dominant olduğu düşünülebilir, zira baskın uçtaki Y-çatalının ürettiği tork diğer ucun kapanmasına yol açacaktır. Ancak yeterince uzun bir molekül için iki uç arasındaki haberleşmenin erime hızına yetişememesi durumunda denge durumu ile iki ucun birden erimiş olduğu yarı-kararlı duruma arasında oldukça büyük bir serbest enerji bariyeri oluşur.



Şekil 24. $T = 1.1\,T_m$ için tamamen bağlı bir saç tokasının erime davranışı. Düşey eksen kopmuş hidrojen bağlarının sayısı, yatay eksen zamandır.

Sonuç olarak ortaya çıkan erime dinamiğinde gözlenen $\alpha \simeq 2.8$ üstelini açıklamak için araştırmalarımız devam ediyor. Bu değerin yaklaşık olarak $(1 + 3\nu)$ olması dikkat çekicidir, ancak bu tahmini sınayabileceğimiz farklı modellere ihtiyaç vardır. Geliştirilmesi gereken kuramsal modelin aynı zamanda iki rejim arasındaki geçiş noktasını (100 baz çifti civarında) da açıklaması gerekir.



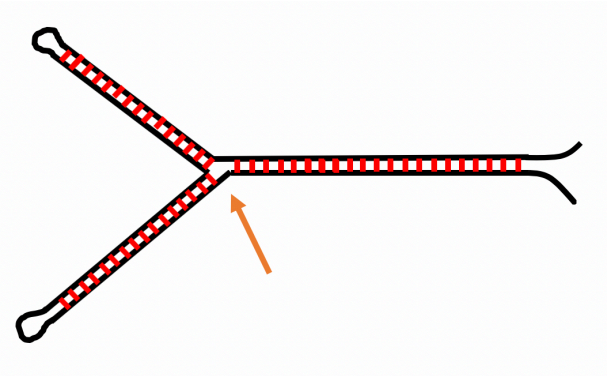
Şekil 25. Burgulu saç tokası DNA modeli için erime süresi içinde iki uçta ayrılmış baz çifti sayısının (düşey eksen) zamana bağlı değişimleri. Kırmızı eğri saç tokası yapısının kapalı ucuna, siyah eğri ise açık ucuna karşılık gelmektedir. Polimerin geometrisi sağda şematik olarak betimlenmiştir.

Erime dinamiği ile ilgili ve belki kuramsal bir model oluşturmaya yardımcı olabilecek ilginç bir gözlem, iki uçtan gerçekleşen erime miktarını zamanın fonksiyonu olarak incelediğimizde

karşılaştığımız ‘nefes alma’ davranışıdır. Şekil 25’te görülen bu davranış eriyen sistemde iki uç arasında bir etkileşim ve erime bölgelerinin büyüklükleri arasında negatif bir korelasyon olduğunu gösteriyor. Bu salınımların sıklığı sistemde iki uç arasında burgu etkilerinden kaynaklı etkileşimin hızı hakkında bize bilgi verebilir. Bildiğimiz kadarı ile literatürde bu davranış şimdiye kadar rapor edilmemiştir. Bu bulguları kuramsal bir temele oturtma ve yayına hazırlama amacıyla çalışmalarımız devam etmektedir.

4.4 Kompleks DNA/RNA yapılarında katlanma dinamiği

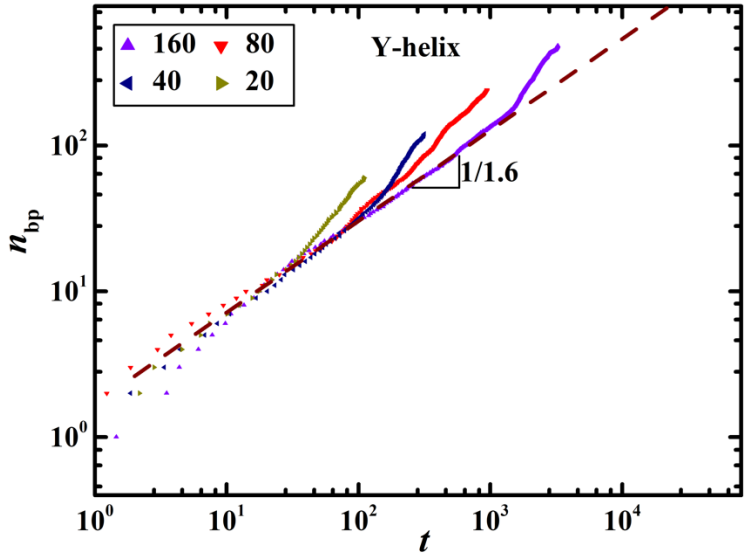
Yukarıdaki bulgular sarmal yapının DNA/RNA geometrisi ile olan etkilişimini ve dinamik erime/katlanma davranışı üzerindeki radikal etkisini açık olarak ortaya koymaktadır. Daha kompleks ikincil yapılarda (örneğin uzun mRNA yapıları için) ne tür bir dinamik süreç gözlenebileceği hakkında fikir edinmek için projenin son aşamasında Y geometrisine katlanan bir DNA yapısı kurguladık (Şekil 26). Bu tür dallı yapılara tRNA ve mRNA gibi uzun RNA moleküllerinde sıklıkla rastlanır.



Şekil 26. Y geometrisine sahip bir DNA/RNA molekülü modeli. Molekülün “merkez”i okla gösterilmiştir.

Bu yapıda katlanma dinamiğinin saç tokası modelinden farklı olarak değişik dinamik rejimler içerdiği görülmektedir (Şekil 27). Şekl 26’da okla gösterilen merkez bölgeden başlayan katlanma önce yavaş ilerler, zira kendi ekseni etrafında hızla dönebilecek kompakt bir uç yoktur. Ancak daha sonra kapalı uçlardan (Y’nin “kulak”larından) başlayan ikincil dupleks yapıların eş zamanlı olarak büyümesi katlanmanın hızlanmasına neden olur. Son olarak,

merkez ve uçlar arasında sıkışan erime bölgelerinin yok olması için büyük ölçekli rotasyonel bir hareket gerektiğinden tekrar yavaş bir rejiminin ortaya çıktığı gözlenmektedir. Daha uzun zincirler üzerinde yapacağımız ileriki araştırmalarda bu son rejimin PRL makalemizde bir açıklamasını sunduğumuz $\alpha \simeq 1.6$ rejiminden farklı bir üstel ile davranması olasılığı yüksektir. Zira dupleks bölgelerinin merkez aks etrafında dönerek sistemdeki burgu miktarı değişimini sağlamaları merkezden uzanan iki dupleksli yapı için mümkün değildir. Çizdiğimiz bu resim Şekil 27'deki verilerin yorumlanması ve benzetimlerin incelenmesi sonucu ulaştığımız fiziksel bir modeldir, ancak sonuçların daha iyi anlaşılabilmesi için çalışmalarımız devam ediyor.



Şekil 27. Y geometrisindeki DNA/RNA modelinin katlanma dinamiği. Düşey eksen toplam bağlı baz çifti sayısıdır.

5. SONUÇ VE TARTIŞMA

Proje araştırmalarımıza başladığımızda, geçmişte çalıştığımız analitik modellerden edindiğimiz ve sarmal geometrinin dengedeki DNA molekülleri için sadece belli sınır koşullarında önemli olduğuna dair bulgularımız vardı. Ancak bu ve benzeri biyomoleküllerin dinamik özellikleri ile sarmal yapı arasındaki etkileşiminin doğasına dair kesin bir bilgimiz yoktu. Prensip olarak, uçları rotasyonel olarak serbest olan uzun moleküllerde burgunun uçlardaki rotasyon ile oldukça hızlı olarak sisteme girip çıkabilmesi beklenebilir. Bu nedenle, denge özellikleri bakımından serbest uçlu DNA'larda molekülün doğal sarmal yapısının önemli olmadığı düşünülebilir. Elbette bunu biyokimyasal süreçler çerçevesinde

söyleyemeyiz, zira pek çok DNA bağlayan molekül, burgulu yapıdaki girintileri tanıyacak biçimde evrimleşmiştir. Ayrıca, burgu etkilerinin transkripsiyon ve hücre bölünmesi sırasındaki kopyalanma aşamalarında oldukça önemli olduğu bilinmektedir.

Diğer yandan, DNA ve RNA moleküllerinin dinamik özellikleri dikkate alındığında, özellikle saç tokası yapılarının katlanma ve erime veya halka DNA yapılarında yüksek sıcaklık altında erime gibi süreçlerde (termofilik bakteriler bağlamında önemi açık bir problem), kırılan bağlarla birlikte açılan erime kabarcıklarının üzerlerinde taşıdıkları burguyu komşu bölgelere ihraç etme eğiliminde olacakları, bu durumun da dinamik süreç üzerinde önemli etkileri olacağı düşünülebilir. Öte yandan, bu etkilerin nihayetinde bütün süreci sabit bir oranda uzatması da pekala mümkündür.

Yaptığımız araştırmalar, ilgilendiğimiz bütün geometrilerde dolanma etkilerinin dinamik davranış üzerinde nicelikten çok niteliksel değişime yol açan etkileri olduğunu göstermiştir. Örneğin, plazmid yapılarda burgunun denge durumuna erişimi çoğu zaman imkansız hale getirdiğini gözledik. RNA saç tokası yapılardan ise şimdiye kadar çalışılmamış uzunluklarda gerçekleştirdiğimiz moleküler dinamik benzetimleri sonucu literatürdeki bazı bulguların doğruluğunu teyit ederken, bu bulgulara açıklamak üzere kurulan fiziksel modelin yetersiz olduğunu vurguladık. Burgu etkilerini dikkate alan yeni bir model önererek, bu model ile sadece eski gözlemleri değil, burgu yokluğunda varlığını gösterdiğimiz yeni bir dinamik rejimin davranışını da kısmen aydınlatan argümanlar ürettik. Sonuçlarımızın bir kısmı Physical Review Letters dergisinde yayımlandı ve diğer sonuçlarımızı da önümüzdeki aylarda yayına hazırlamış olmayı umuyoruz.

Gelecek yıllarda burgu ve DNA yapısı üzerine çalışmalarımızı sürdürmeyi hedefliyoruz. Bu alanda ileriye dönük önerilerimizden biri, öncelikle çekirdek içi DNA organizasyonu üzerine son zamanlarda elde edilen önemli deneysel bulgular (Hi-C deneyleri gibi) ve bu alandaki yeni kuramsal ilerlemeleri (örn., Dekker vd., 2013) burgu etkilerini dikkate alacak şekilde yorumlamak ve genişletmektir. Bir diğer olası yön, benzetim araştırmalarında gözlenen temel bulguları kontrollü sistemler üzerinde deneysel çalışmalar ile teyit etmek olabilir. Ayrıca, son on yıl içinde hız kazanarak gelişen DNA tabanlı nanoteknoloji (kendinden bir araya gelen yapılar) çalışmalarında burgu etkilerinin ortaya koyulması da ilginç bir araştırma konusu olabilir.

KAYNAKLAR

Alberts, B. vd. 1994. “Molecular Biology of the Cell”, New York: Garland Science.

Altan-Bonnet, G., Libchaber, A., Krichevsky, O. 2003. “Bubble Dynamics in Double-Stranded DNA”, Physical Review Letters, 90, 138101.

Ansari, A., Kuznetsov, S.V., Shen, Y. 2011. “A Kinetic Zipper Model with Intrachain Interactions Applied to Nucleic Acid Hairpin Folding Kinetics”, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 98, 7771.

Baiesi, M. ve Livi, R. 2009. “Multiple timescales in a model for DNA denaturation Dynamics”, Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical, 42(8), 082003.

Bar, A., Kabakçıoğlu, A., Mukamel, D. 2012. “Denaturation of circular DNA: Supercoils and overtwist”, Physical Review E, 86(6), 061904.

Blossey, R. ve Carlon, E. 2003. “Reparametrizing the loop entropy weights: Effect on DNA melting curves”, Physical Review E, 68(6) 061911.

Branton, D. vd. 2008. “The potential and challenges of nanopore sequencing”, Nature Biotechnology, 26(10), 1146-1153.

Bustamante, C., Bryant, Z., Smith, S.B. 2003. “Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics”, Nature, 421, 423-427.

Collin D. vd. 2005. “Verification of the Crooks fluctuation theorem and recovery of RNA folding free energies”, Nature, 437, 231-234.

Crooks, G.E. 1999. “Entropy production fluctuation theorem and the nonequilibrium work relation for free energy differences”, Physical Review E, 60(3), 2721.

Cruz, J.A. vd. 2012. “RNA-Puzzles: A CASP-like evaluation of RNA three-dimensional structure prediction”, Rna , 18(4), 610-625.

Dekker, J., Marti-Renom, M.A., Mirny, L.A. 2013. “Exploring the three-dimensional organization of genomes: interpreting chromatin interaction data”, Nature Reviews Genetics, 14(6), 390-403.

Douglas, S.M. vd. 2009. “Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes”, Nature, 459, 414-418.

Duplantier, B. 1986. “Polymer Network of fixed topology: renormalization, exact critical exponent γ in two dimensions, and d=4-ε”, Physical Review Letters, 57, 941.

Ferrantini, A. ve Carlon, E. 2011. “Anomalous zipping dynamics and forced polymer translocation”, J. Stat. Mech., P02020.

Fogedby, H.C. ve Metzler, R. 2007. “DNA Bubble Dynamics as a Quantum Coulomb Problem”, Physical Review Letters 98, 70601.

Fogg, J.M. vd. 2012. “Bullied no more: when and how DNA shoves proteins around”, Quarterly Reviews of Biophysics , 45(3), 257-299.

Frederickx, R. ve Carlon, E. 2014. “Anomalous dynamics of DNA hairpin folding”, Physical Review Letters, 112(19), 198102.

Frederickx, R., in’t Veld, T., Carlon, E. 2014. “Anomalous Dynamics of DNA Hairpin Folding”, Phys. Rev. Lett. 112, 198102.

Fuller, F.B. 1971. “The Writhing Number of a Space Curve”, Proceedings of the National Academy of Sciences USA 68, 815.

Garel, T., Orland, H., Yeramian, E. 2004. “Generalized Poland-Scheraga model for supercoiled DNA”, arXiv:q-bio.BM/0407036.

Halford, S.E. ve Marko, J.F. 2004. “How do site-specific DNA-binding proteins find their targets?”, Nucleic Acids Research, 32(10), 3040-3052.

Hofacker, I.L. 2003. “Vienna RNA secondary structure server”, Nucleic Acids Research, 31(13), 3429-3431.

Hummer, G. ve Szabo, A. 2005. “Free energy surfaces from single-molecule force spectroscopy”, Accounts of Chemical Research, 38(7), 504-513.

Hwa, T. vd. 2003. “Localization of denaturation bubbles in random DNA sequences”, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 4411.

Hyeon, C. ve Thirumalai, D. 2011. “Capturing the essence of folding and functions of biomolecules using coarse-grained models”, Nature Communications, 2, 487.

Jung, J. vd. 2008. “Probing the complete folding trajectory of a DNA hairpin using dual beam fluorescence fluctuation spectroscopy”, J. Phys. Chem. B 112, 127.

Jung, J. ve Van Orden, A. 2006. “Probing the Complete Folding Trajectory of a DNA Hairpin Using Dual Beam Fluorescence Fluctuation Spectroscopy”, J. Am. Chem. Soc. 128, 1240.

Kabakçıoğlu, A. Orlandini, E., Mukamel, D. 2010. “New results on the melting thermodynamics of a circular DNA chain”, Physica A: Statistical Mechanics and its Applications, 389(15), 3002-3006.

Kabakçıoğlu, A., Bar, A., Mukamel, D. 2012. “Macroscopic loop formation in circular DNA denaturation”, Physical Review E, 85(5), 051919.

Kabakçıoğlu, A., Orlandini, E., Mukamel, D. 2009. “Supercoil formation in DNA denaturation”, Physical Review E, 80(1), 010903.

Kafri, Y., Mukamel, D., Peliti, L. 2000. “Why is the DNA denaturation transition first order?”, Physical Review Letters, 85, 4988.

Kantor, Y. ve Kardar, M. 2004. “Anomalous dynamics of forced translocation”, Physical Review E, 69(2), 021806.

Lee, T-H. vd. 2007. “Measuring the folding transition time of single RNA molecules”, Biophysical Journal, 92(9), 3275-3283.

Liu, Z., Deibler, R.W., Chan, H.S., Zechiedrich, L. 2009. “The why and how of DNA unlinking”, Nucleic Acids Research , 37, 661–671.

Ma, H. vd. 2007. “DNA folding and melting observed in real time redefine the energy landscape”, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 104, 712.

Madden, K.R., Stewart, L., Champoux, J.J. 1995. “Preferential binding of human topoisomerase I to superhelical DNA”, EMBO Journal, 14, 5399.

Manghi, M. ve Destainville, N. 2016. “Physics of base-pairing dynamics in DNA “, Phys. Rep. 631, 1.

Matek, C. vd., 2015. “Plectoneme tip bubbles: Coupled denaturation and writhing”, Scientific Reports 5, 7655.

Montange, R.K., Batey, R.T. 2008. “Riboswitches: emerging themes in RNA structure and function”, Annu. Rev. Biophys., 37, 117-133.

Nagano, T. vd. 2013. “Single-cell Hi-C reveals cell-to-cell variability in chromosome structure”, Nature, 502, 59-64.

Naumova, N. vd. 2013. “Organization of the mitotic chromosome”, Science, 342, 948-953.

Neupane, K. vd. 2012. “Transition path times for nucleic acid folding determined from energy-landscape analysis of single-molecule trajectories”, Physical Review Letters, 109(6), 068102.

Noller, H.F. 2005. “RNA structure: Reading the ribosome”, Science 309, 1508.

Orozco, B.M. ve Hanley-Bowdoin, L. 1996. “A DNA structure is required for geminivirus replication origin function”, Journal of virology, 70(1), 148-158.

Pan, T. ve Sosnick, T. 2006. “RNA folding during transcription”, Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct. 35, 161.

Peyrard, M. ve Bishop, A.R. 1989. “Statistical mechanics of a nonlinear model for DNA denaturation”, Physical Review Letters. 62, 2755.

Poland, D. ve Scheraga, H.A. 1966. “Phase transitions in one dimension and helix-coil transition in polyamino acids”, Journal of Chemical Physics, 45, 1456 (1966); 45, 1464.

Rana, T.M. 2007. “Illuminating the silence: understanding the structure and function of small RNAs”, Nature Reviews Molecular Cell Biology , 8(1), 23-36.

Ritchie, D.B. ve Woodside, M.T. 2015. “Probing the structural dynamics of proteins and nucleic acids with optical tweezers”, Curr. Opin. Struct. Biol. 34, 43.

Rivas, E. ve Eddy, S.R. 1999. “A dynamic programming algorithm for RNA structure prediction including pseudoknots”, Journal of Molecular Biology, 285(5), 2053-2068.

Rouskin, R. vd. 2014. “Genome-wide probing of RNA structure reveals active unfolding of mRNA structures in vivo”, Nature (London) 505, 701.

Roy, R., Hohng, S., Ha, T. 2008. “A practical guide to single-molecule FRET”, Nature Methods, 5(6), 507-516.

Rudnick, J. ve Bruinsma, R. 2002. “Effects of torsional strain on thermal denaturation of DNA”, Physical Review E, 65, 030902(R).

Sakaue, T. vd. 2017. “Non-Markovian dynamics of reaction coordinate in polymer folding”, Soft Matter 13, 3174.

Sayar, M., Avşaroğlu, B., Kabakçıoğlu, A. 2010. “Twist-writhe partitioning in a coarse-grained DNA minicircle model”, Physical Review E, 81(4), 041916.

Schneider, G.F. vd. 2010. “DNA translocation through graphene nanopores”, Nano Letters, 10(8), 3163-3167.

Shusterman, R., Alon, S., Gavrinyov, T., Krichevsky, O. 2004. “Monomer Dynamics in Double- and Single-Stranded DNA Polymers”, Physical Review Letters, 92, 48303.

Smiatek, J. 2009. “Mesoscopic simulations of electrohydrodynamic phenomena”, Doktora tezi. Bielefeld Univ., Almanya (2009).

Smith, S. B., Finzi, L., Bustamante, C. 1992. “Direct mechanical measurements of the elasticity of single DNA molecules by using magnetic beads”, Science, 258, 1122.

Smith, S.B., Cui, Y., Bustamante, C. 1996. “Overstretching B-DNA: the elastic response of individual double-stranded and single-stranded DNA molecules”, Science, 271, 795-799.

Solem, A. ve Laederach, A. 2015. “RNA folding: A clear path to RNA catalysis”, Nat. Chem. Biol. 11, 906.

Solomatin, S.V., Greenfeld, M., Chu, S., Herschlag, D. 2010. “Multiple native states reveal persistent ruggedness of an RNA folding landscape”, Nature (London) 463, 681.

Staple, D.W. ve Butcher, S.E. 2005. "Pseudoknots: RNA structures with diverse functions", PLoS biology, e213.

Storm, A.J. vd. 2005. “Fast DNA translocation through a solid-state nanopore”, Nano Letters, 5(7), 1193-1197.

Tinoco Jr, I. ve Bustamante, C. 1999. “How RNA folds”, Journal of Molecular Biology, 293(2), 271-281.

Tørring, T. vd. 2011. “DNA origami: a quantum leap for self-assembly of complex structures”, Chemical Society Reviews, 40(12), 5636-5646.

Tsukanov, R. vd. 2013. “Conformational Dynamics of DNA Hairpins at Millisecond Resolution Obtained from Analysis of Single-Molecule FRET Histograms”, The Journal of Physical Chemistry B, 117(50), 16105-16109.

van Loenhout, M.T.J., de Grunt, M.V., Dekker, C. 2012. “Dynamics of DNA supercoils”, Science, 338, 94-97.

van Rensburg, E.J.J. vd. 1993. “The writhe of a self-avoiding polygon”, Journal of Physics A: Mathematical and General, 26(19) L981.

Walter J.-C. vd. 2013. “Unwinding relaxation dynamics of polymers”, Physical Review Letters, 110(6), 068301.

Wang, M.D. vd. 1997. “Stretching DNA with optical tweezers”, Biophysical Journal, 72(3), 1335-1346.

Wang, Y.M., Austin, R.H., Cox, E.C. 2006. “Single molecule measurements of repressor protein 1D diffusion on DNA”, Physical Review Letters, 97(4), 048302.

Wartell, R.M. ve Benight, A.S. 1985. “Denaturation of heterogeneous DNA”, Physics Reports, 126, 67.

Watson, J.D. ve Crick, F.H.C. 1953. “Molecular structure of nucleic acids”, Nature, 171(4356), 737-738.

White, J.H. 1969. “Self-linking and the Gauss integral in higher dimensions”, American Journal of Mathematics 91, 693.

Winfree, E. vd. 1998. “Design and self-assembly of two-dimensional DNA crystals”, Nature, 394, 539-544.

Wolffe, A. (Editör). 1998. “Chromatin: structure and function”. Academic Press.

Zhang, W. ve Chen, S.-J. 2002. “RNA hairpin-folding kinetics”, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 99, 1931.

Zhuang, X. vd. 2000. “A single-molecule study of RNA catalysis and folding”, Science 288, 2048.

Zwolak, M. ve Di Ventra, M. 2008. “Colloquium: Physical approaches to DNA sequencing and detection”, Reviews of Modern Physics, 80(1), 141.

TÜBİTAK
PROJE ÖZET BİLGİ FORMU

Proje Yürütücüsü:	Doç. Dr. ALKAN KABAKÇIOĞLU
Proje No:	114F348
Proje Başlığı:	Sarmal Yapılı Biyomoleküllerin Dinamik Özellikleri Ve Dolaşık Geometriden Kaynaklı Ölçeklenme Davranışı
Proje Türü:	1001 - Araştırma
Proje Süresi:	36
Araştırmacılar:	
Danışmanlar:	
Projenin Yürütüldüğü Kuruluş ve Adresi:	KOÇ Ü. FEN F. FİZİK B.
Projenin Başlangıç ve Bitiş Tarihleri:	01/08/2015 - 01/08/2018
Onaylanan Bütçe:	367052.0
Harcanan Bütçe:	293437.22
Öz:	DNA ve RNA hücre biyokimyasında son derece önemli rol oynayan moleküllerdir. Bunun yanı sıra DNA son zamanlarda nanoteknolojik uygulamalarda, özellikle kendiliğinden bir araya gelen nano-yapıların tasarımında, sıklıkla kullanılan bir yapı malzemesidir. Bu moleküllerin sıcaklık altında erime ve birleşmesinin altında yatan fiziksel süreçlerin anlaşılması bu nedenle önemli olduğu gibi, bu çalışmada da görüleceği üzere son derece ilginç bir fiziksel problemdir. Daha da ilginç olan, yarım aşırı aşkın süredir DNA yapısı ve fiziği çalışılmış olsa da, polimer fiziğinin temel ilgi alanlarından biri olan bu sistem hakkında hala yeni kuramsal modellere ihtiyaç duyulmasıdır. Bu projede amacımız DNA'nın (ve katlanmış RNA'nın) 1953'ten bu yana çok iyi bilinen sarmal yapısının hidrojen bağlarının oluşması veya kırılması ile ortaya çıkan erime/katlanma dinamiği üzerindeki rolünün ortaya koyulmasıdır. Bu amaçla odaklandığımız sistemler, sarmal yapının yol açtığı dolaşıklığın topolojik bir değişmez olduğu halka DNA (plasmid) yapıları, kendi üzerine katlanan palindromik RNA (saç tokası) yapıları ve daha kompleks ikincil yapıya sahip dallı polimer geometrisine sahip RNA'lardır. Bu sistemlerin denge ve denge dışı dinamik özelliklerinin araştırılabilmesi için projede yeni bir kaba ölçekli DNA/RNA modeli geliştirilmiş, bu modelin fiziksel açıdan uygunluğu sınanmış, daha sonra yukarıdaki DNA/RNA geometrilerinde sarmal yapının etkileri moleküler dinamik benzetimleri ve bu benzetimlerin sonuçlarına dayanan kuramsal modeller kullanılarak araştırılmıştır. Bu araştırmalar sonrasında, temel polimer fiziği çerçevesinde özgün bulgulara ulaşılmıştır. Örneğin, plazmid DNA yapılarında erime bölgelerinin denge dışı tuzak durumlarında kinetik olarak hapsoldukları gözlenmiştir. RNA saç tokası yapılarında daha önce hiç rapor edilmemiş yeni bir dinamik rejimin varlığı gösterilmiş, ayrıca katlanma süresinin RNA uzunluğuna bağlılığı hakkında sarmal yapının etkilerinden esinlenerek yeni bir kuramsal model üretilmiştir. Daha kompleks, dallı RNA yapılarında da katlanma dinamiği ilk kez çalışılmıştır. Bulgularımızın bazıları fizik literatürünün en saygın dergilerinden Physical Review Letters'da yayımlanmıştır.
Anahtar Kelimeler:	Nükleik asit, DNA, RNA, moleküler dinamik, sarmal yapı, burgu
Fikri Ürün Bildirim Formu Sunuldu Mu?:	Evet
Projeden Yapılan Yayınlar:	1- Role of Helicity in DNA Hairpin Folding Dynamics (Makale - İndeksli Makale),

TÜBİTAK