HESAPLAMALI KİMYA DESTEKLİ ANTİ-İNFLUENZA NÖRAMİNİDAZ İLAÇ TASARIMI

MURAT KURT

HAZİRAN 2022

DİYARBAKIR

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HESAPLAMALI KİMYA DESTEKLİ ANTİ-İNFLUENZA NÖRAMİNİDAZ İLAÇ TASARIMI

MURAT KURT

DİCLE ÜNİVERSİTESİ LİSANSÜSTÜ EĞİTİM-ÖĞRETİM VE SINAV YÖNETMELİĞİNİN BİR PARÇASI OLARAK
KİMYA ANA BİLİM DALINDA
DOKTORA TEZİ
OLARAK HAZIRLANMIŞTIR

HAZİRAN 2022

DİYARBAKIR

HESAPLAMALI KİMYA DESTEKLİ
ANTİ-İNFLUENZA NÖRAMİNİDAZ İLAÇ TASARIMI

Murat KURT tarafından Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin bir parçası olarak hazırlanan bu çalışma, aşağıda bilgileri yazılı jüri üyeleri tarafından değerlendirilerek **Kimya Ana Bilim Dalı**'nda **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neslihan Dalkılıç _____
Müdür, **Fen Bilimleri Enstitüsü**

Prof. Dr. Necmettin Pirinççioğlu _____
Danışman, **Kimya Bölümü,**
Dicle Üniversitesi

Doç. Dr. Selami Ercan _____
İkinci Danışman, **Kimya Bölümü,**
Batman Üniversitesi

Sınav Jürisi:

Prof. Dr. Vildan Adar Gürsoy **(*)** _____
Kimya Bölümü, Hacettepe Üniversitesi

Prof. Dr. Necmettin Pirinççioğlu**(**)** _____
Kimya Bölümü, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Ebru İnce Bostancı _____
Biyoloji Bölümü, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Göksel Kızıl _____
Kimya Bölümü, Dicle Üniversitesi

Prof. Dr. Nadir Demirel _____
Kimya Bölümü, Kırşehir Ahi Evran Üniversitesi

ONAY

Savunma Tarihi: 16/06/2022

(*) Sınav Jürisi kısmının birinci satırına Jüri Başkanının bilgilerini yazınız.
(**) Sınav Jürisi kısmının ikinci satırına Tez Danışmanının bilgilerini yazınız.

Anneme, kardeşlerime, eşime, çocuklarıma ve babama ithaf olunur.

Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırlanan bu tez çalışmasında yer alan tüm bilgilerin akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak elde edildiğini ve sunulduğunu beyan ederim. Ayrıca, bahse konu bu kural ve ilkelerin gerektirdiği üzere, bu çalışmada özgün olmayan tüm bilimsel içerikleri kurallara uygun biçimde alıntılayıp kaynak gösterdiğimi beyan ederim. Beyanımla çelişen herhangi bir delil bulunduğu takdirde tüm sorumluluğu üstleneceğimi kabul ederim.

Ad, Soyad: Murat KURT

İmza:

TEŞEKKÜR

Öncelikle danışmanlarım Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU ve Doç. Dr. Selami ERCAN'a çalışmanın fikir aşamasından, planlama, programları kullanma, oluşan teknik sorunları düzeltme, sonuçları değerlendirme ve tez taslağındaki yanlışları düzeltme konularına kadar gösterdikleri destek, yardım ve sabırdan dolayı teşekkür eder, benimle bilgilerini ve kaynaklarını paylaştıkları için kendilerine şükranlarımı sunarım. Jüri üyelerime de bu tezin daha nitelikli bir hale gelmesi için yaptıkları eleştiri ve önerileri için teşekkür ederim.

Bu araştırmada yer alan nümerik hesaplamaların bir kısmı TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'nde (TRUBA Kaynaklarında) gerçekleştirilmiştir. TRUBA görevlileri ve çalışanlarına teşekkür ederim.

Kendilerine ayırmam gereken zamanı bu tezi yazmaya ayırdığım için yeteri kadar zaman ayıramadığım ve özür borçlu olduğum kardeşlerime, eşime, anneme, çocuklarıma ve babama özürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR v
İÇİNDEKİLER vi
ŞEKİLLER LİSTESİ ix
TABLOLAR LİSTESİ xxxii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ xxxiv
ÖZET xxxvi
ABSTRACT xxxvii
1. GİRİŞ 1
1.1. Yapı tabanlı ilaç tasarımı (SBDD): Doğrudan yaklaşım 5
1.1.1. Bağlanma yeri tahmini 6
1.1.2. Dock ve skorlama 6
1.2. Ligand tabanlı ilaç tasarımı (LBDD): Dolaylı yaklaşım 7
1.2.1. Nicel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR) 7
1.2.2. Farmakofor 7
1.3. Sanal tarama (VS-Virtual Screening) 7
1.4. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Katkısıyla Bulunan İlaçlar 8
1.5. Mikroorganizmalar 10
1.6. İnfluenza 12
1.6.1. İnfluenza virüsleri 14
1.6.2. Yapı, özellikler ve alt tip adlandırılması 14
1.6.3. İnfluenza A virusü 16
1.6.4. Çoğalma (Replikasyon) 17
1.6.5. Epidemik ve pandemik yayılma 19
1.6.6. İnfluenza virüslerinin konak özgüllüğü 22
1.6.7. Tedavi 24

1.6.8. Mevcut Tedavilerin Yetersizlikleri ve Nedenleri 25
1.7. Tezin Amacı 25
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR 27
2.1. Nöraminidaz ve Viral Nöraminidazın Alt Türleri 28
2.2. Viral Nöraminidazın Yapısı 29
2.3. Nöraminidazın Fonksiyonel Aktivitesi 32
2.3.1. Mekanizma 32
2.4. Nöraminidaz İnhibitörleri 33
2.5. Antinöraminidaz İnhibitör Araştırmaları 35
2.5.1. Pre-1983 ve NA yapısı tayini 35
2.5.2. 1983 sonrası ve NA yapı tayini: Birinci nesil ilaçlar 36
2.5.3. 1983 Sonrası ve NA yapı tayini: İkinci nesil ilaçlar 37
2.6. İnfluenza Virüslerinin Evrimi ve Mutasyonları 38
2.7. Nöraminidaz İnhibisyon Direnci 40
3. MATERYAL VE METOT 43
3.1. Materyal 43
3.2. Metot 44
3.2.1. Reseptörlerin seçilmesi ve hazırlanması 45
3.2.2. Ligand seçimi ve tasarımı 48
3.2.2.1. Sanal tarama ile bulunan ligandlar 48
3.2.2.2. De Novo dizayn ile oluşturulan ligandlar 51
3.2.2.3. Rasyonel dizayn ile tasarlanan ligandlar 52
3.2.3. Ligand yerleştirme (dock) çalışmaları 52
3.2.4. Reseptörlerin moleküler dinamik için hazırlanması 53
4. BULGULAR VE TARTIŞMA 55
4.1. Nöraminidaz Alt Tiplerinin Karşılaştırılması 55
4.1.1. Seçilen Proteinlerin Katalitik Bölgelerinin Karşılaştırılması 57

4.2. Moleküler Yerleştirme İşlemleri 60
4.2.1. Yöntemin Validasyonu 60
4.2.2. Moleküler Yerleştirme İşlemleri 63
4.3. Moleküler Dinamik Hesaplamaları 68
4.3.1. Reseptörlerin MD Hesaplamaları 68
4.3.2. Komplekslerin MD Hesaplamaları 76
4.4. MM-PB(GB)/SA Hesaplamaları 220
4.4.1. Ligandların Bağlanma Serbest Enerjileri Bulguları 220
4.5. Tartışma 224
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 235
KAYNAKLAR 237
EKLER 247
ÖZGEÇMİŞ 265

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1.1 İlaç keşfi aşamaları ve CADD'ın bu aşamalardaki yeri (Şenkuytu 2013'den değiştirilerek) 2
Şekil 1.2 İlaç keşfi aşamalarında CADD kullanımı ((Kore vd., 2012)'den değiştirilerek). 4
Şekil 1.3 Bilgisayar destekli ilaç tasarımı için temsili iş akışı ((Macalino vd., 2015)'ten tercüme edilmiştir.) 5
Şekil 1.4 Grip virüsünün elektron mikroskopisi (Yüzey çıkıntıları hemagglutatin ve nöraminidaz glikoproteinleridir) (Credits: Rob Ruigrok/ UVHCI. Erişim tarihi: 27.12.2017). 15
Şekil 1.5 İnfluenza virüsünün yapısı (www.virology.ws/influenza-virion.jpg'den değiştirilerek) 16
Şekil 1.6 İnfluenza virüsünün çoğalması (YK Times 2007, https://commons.wikimedia.org/wiki/ File: Virus_Replication.svg) 18
Şekil 1.7 İnfluenza virüslerinde antijenik sürüklenme (drift) ve antijenik değişme (şift) (Us, 2010). 21
Şekil 1.8 İnfluenza A virüs alt tiplerinin konak dağılımı ((Us, 2010), www.nanocid.com'dan alınmıştır.). 22
Şekil 1.9 Sialik asit ve galaktoz moleküllerinin bağlanması 23
Şekil 1.10 İnfluenza Avirüslerinin konak özgüllüğü ((Us, 2010), http://www.nature.com/nrmicro/journal /v4/n11/images/nrmicro1530-f2.jpg). 23
Şekil 2.1 Nöraminidazın etki bölgesi (www.virology.ws Index of /wp-content/uploads/2009/05) 28
Şekil 2.2 Nöraminidaz yapısı ve filogenisi (Kramer vd., 2018) 29
Şekil 2.3 İnfluenza virüs sialidaz enzimatik mekanizması (von Itzstein, 2007). 33
Şekil 2.4 Viral nöraminidaz inhibitörleri 34
Şekil 2.5 Antinöraminidaz dizaynının kronolojik şeması (Wade, 1997) 36
Şekil 2.6 NA-Neu5Ac kompleksi kristal yapısı 37
Şekil 2.7 İnfluenza A ve B nöraminidaz (NA) genlerinin filogenisi (Xu vd., 2012). 40
Şekil 3.1 Kullanılan metaryal ve metodun özet şeması 44
Şekil 3.2 Seçilen reseptörlerin pdb dosyaları. 45
Şekil 3.3 Seçilen reseptör zincirlerinin görüntüsü 46

Şekil 3.4 WT proteinlerden MT reseptörler elde edilirken uygulanan nokta mutasyonlar 48
Şekil 3.5 ZINC veri tabanında NA geni üzerinden arama yapma görüntüsü..... 49
Şekil 4.1 Kullanılan proteinlerin filogenetik sınıflandırılması 55
Şekil 4.2 Seçilen proteinlerin amino asit dizilimlerinin karşılaştırılması 56
Şekil 4.3 Seçilen proteinlerin aktif yörelerinin şekilleri ve bilgileri..... 59
Şekil 4.4 2HU4 proteini içinde kristallenmiş oseltamivir karboksilat (OSC) ligandının (mor) Dock6 ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,399 Å) 60
Şekil 4.5 4B7R proteini içinde kristallenmiş oseltamivir karboksilat ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,865 Å) 60
Şekil 4.6 4GZQ proteini içinde kristallenmiş sialik asit (SIA) ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,912 Å)..... 61
Şekil 4.7 3TIA proteini içinde kristallenmiş laninamivir (LNV) ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=1,124 Å) 61
Şekil 4.8 Kristal ve dock edilmiş yapılarda ligandların proteinlerle etkileşimlerin 2D görüntüleri 62
Şekil 4.9 Sadece in vitro, sadece in vivo ve ZINC predictions altkümelerinden seçilmiş ligandların dock skorları grafiği 64
Şekil 4.10 $2HU4_{WT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları 65
Şekil 4.11 $2HU4_{MT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları 66
Şekil 4.12 $4B7R_{WT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları 66
Şekil 4.13 $4B7R_{MT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları 67
Şekil 4.14 $4B7R_{WT}$ proteini V1 çapası (sol), $4B7R_{MT}$ proteini V1 çapası (sağ) (Gösterilen ligand zanamivirdir). 67

Şekil 4.15 $2HU4_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 69
Şekil 4.16 $4B7R_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 69
Şekil 4.17 $3TIA_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 69
Şekil 4.18 $4GZQ_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 70
Şekil 4.19 $2HU4_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.021 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir) 70
Şekil 4.20 $4B7R_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0.919 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir) 71
Şekil 4.21 $3TIA_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0.941 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir) 71
Şekil 4.22 $4GZQ_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.027 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir) 72
Şekil 4.23 $2HU4_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 73
Şekil 4.24 $4B7R_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 73
Şekil 4.25 $3TIA_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 73
Şekil 4.26 $4GZQ_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 74

Şekil 4.27 $2HU4_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,076 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir).. 74
Şekil 4.28 $4B7R_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,019 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir).. 75
Şekil 4.29 $3TIA_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,971 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir).. 75
Şekil 4.30 $4GZQ_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,016 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir).. 76
Şekil 4.31 $2HU4_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi..... 77
Şekil 4.32 $4B7R_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi..... 77
Şekil 4.33 $4GZQ_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi..... 78
Şekil 4.34 $3TIA_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 78
Şekil 4.35 $2HU4_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.041 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 79
Şekil 4.36 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri..... 80
Şekil 4.37 $4B7R_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,201 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 81
Şekil 4.38 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 81

Şekil 4.39 $4GZQ_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,133 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 82
Şekil 4.40 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 83
Şekil 4.41 $3TIA_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,221 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 84
Şekil 4.42 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 84
Şekil 4.43 $2HU4_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 86
Şekil 4.44 $4B7R_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 86
Şekil 4.45 $4GZQ_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 86
Şekil 4.46 $3TIA_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 86
Şekil 4.47 $2HU4_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.065 Å) Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 87
Şekil 4.48 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 88
Şekil 4.49 $4B7R_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.180 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 89
Şekil 4.50 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 90

Şekil 4.51 $4GZQ_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.147 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 91
Şekil 4.52 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 92
Şekil 4.53 $3TIA_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.024 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 92
Şekil 4.54 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri 93
Şekil 4.55 $2HU4_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 94
Şekil 4.56 $4B7R_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 94
Şekil 4.57 $4GZQ_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 95
Şekil 4.58 $3TIA_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 95
Şekil 4.59 $2HU4_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,885 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 96
Şekil 4.60 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 97
Şekil 4.61 $4B7R_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,216 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 98
Şekil 4.62 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 98

Şekil 4.63 $4GZQ_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,240 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 99
Şekil 4.64 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 100
Şekil 4.65 $3TIA_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,105 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 101
Şekil 4.66 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 101
Şekil 4.67 $2HU4_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 102
Şekil 4.68 $4B7R_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 103
Şekil 4.69 $4GZQ_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 103
Şekil 4.70 $3TIA_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 103
Şekil 4.71 $2HU4_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,043 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 104
Şekil 4.72 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 105
Şekil 4.73 $4B7R_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,253 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 106
Şekil 4.74 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 106

Şekil 4.75 $4GZQ_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,210 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 107
Şekil 4.76 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 108
Şekil 4.77 $3TIA_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,096 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 109
Şekil 4.78 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri 109
Şekil 4.79 $2HU4_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 110
Şekil 4.80 $4B7R_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 111
Şekil 4.81 $4GZQ_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 111
Şekil 4.82 $3TIA_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 111
Şekil 4.83 $2HU4_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,119 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 112
Şekil 4.84 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 113
Şekil 4.85 $4B7R_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,205 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 114
Şekil 4.86 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 114

Şekil 4.87 $4GZQ_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 115
Şekil 4.88 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 116
Şekil 4.89 $3TIA_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,243 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 117
Şekil 4.90 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 117
Şekil 4.91 $2HU4_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi. 118
Şekil 4.92 $4B7R_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 119
Şekil 4.93 $4GZQ_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 119
Şekil 4.94 $3TIA_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 119
Şekil 4.95 $2HU4_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,871 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 120
Şekil 4.96 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 121
Şekil 4.97 $4B7R_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,199 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 122
Şekil 4.98 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 122

Şekil 4.99 $4GZQ_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,126 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 123
Şekil 4.100 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 124
Şekil 4.101 $3TIA_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,098 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 125
Şekil 4.102 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri 125
Şekil 4.103 $2HU4_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi. 126
Şekil 4.104 $4B7R_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi. 127
Şekil 4.105 $4GZQ_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 127
Şekil 4.106 $3TIA_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 127
Şekil 4.107 $2HU4_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,077 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 128
Şekil 4.108 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 129
Şekil 4.109 $4B7R_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,201 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 130
Şekil 4.110 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 130

Şekil 4.111 $4GZQ_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,203 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 131
Şekil 4.112 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 132
Şekil 4.113 $3TIA_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,136 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 133
Şekil 4.114 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri..... 133
Şekil 4.115 $2HU4_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 134
Şekil 4.116 $4B7R_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 135
Şekil 4.117 $4GZQ_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 135
Şekil 4.118 $3TIA_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi..... 135
Şekil 4.119 $2HU4_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,954 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 136
Şekil 4.120 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri..... 137
Şekil 4.121 $4B7R_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,157 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)..... 138
Şekil 4.122 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 138

Şekil 4.123 $4GZQ_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,223 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 139
Şekil 4.124 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 140
Şekil 4.125 $3TIA_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,151 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 141
Şekil 4.126 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri 141
Şekil 4.127 $2HU4_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 142
Şekil 4.128 $4B7R_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi. 142
Şekil 4.129 $4GZQ_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 143
Şekil 4.130 $3TIA_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 143
Şekil 4.131 2HU4WT proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,252 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 144
Şekil 4.132 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 144
Şekil 4.133 $4B7R_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,182 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 145
Şekil 4.134 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 146

Şekil 4.135 $4GZQ_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,360 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 147
Şekil 4.136 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 147
Şekil 4.137 $3TIA_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,181 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 148
Şekil 4.138 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 149
Şekil 4.139 $2HU4_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 150
Şekil 4.140 $4B7R_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 150
Şekil 4.141 $4GZQ_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 150
Şekil 4.142 $3TIA_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 150
Şekil 4.143 $2HU4_{MT}$ proteinine F01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,110 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 151
Şekil 4.144 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 152
Şekil 4.145 $4B7R_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,182 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 153
Şekil 4.146 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 153

Şekil 4.147 $4GZQ_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,250 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 154
Şekil 4.148 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 155
Şekil 4.149 $3TIA_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,194 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 156
Şekil 4.150 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri 156
Şekil 4.151 $2HU4_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 157
Şekil 4.152 $4B7R_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 157
Şekil 4.153 $4GZQ_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 158
Şekil 4.154 $3TIA_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 158
Şekil 4.155 $2HU4_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,951 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 159
Şekil 4.156 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 159
Şekil 4.157 $4B7R_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,173 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 160
Şekil 4.158 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 161

Şekil 4.159 $4GZQ_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,203 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 162
Şekil 4.160 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 162
Şekil 4.161 $3TIA_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,240 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 163
Şekil 4.162 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 164
Şekil 4.163 $2HU4_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 165
Şekil 4.164 $4B7R_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 165
Şekil 4.165 $4GZQ_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 165
Şekil 4.166 $3TIA_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 165
Şekil 4.167 $2HU4_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1.085 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 166
Şekil 4.168 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 167
Şekil 4.169 $4B7R_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,176 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 168
Şekil 4.170 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 169

Şekil 4.171 $4GZQ_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,275 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 170
Şekil 4.172 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 170
Şekil 4.173 $3TIA_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,293 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 171
Şekil 4.174 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri 172
Şekil 4.175 $2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 173
Şekil 4.176 $4B7R_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 173
Şekil 4.177 $4GZQ_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 173
Şekil 4.178 $3TIA_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 173
Şekil 4.179 $2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,968 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 174
Şekil 4.180 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 175
Şekil 4.181 $4B7R_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,130 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 176
Şekil 4.182 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 177

Şekil 4.183 $4GZQ_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,118 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 178
Şekil 4.184 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 178
Şekil 4.185 $3TIA_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 179
Şekil 4.186 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 180
Şekil 4.187 $2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 181
Şekil 4.188 $4B7R_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 181
Şekil 4.189 $4GZQ_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 181
Şekil 4.190 $3TIA_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 181
Şekil 4.191 $2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,138 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 182
Şekil 4.192 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 183
Şekil 4.193 $4B7R_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,258 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir 184
Şekil 4.194 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 184

Şekil 4.195 $4GZQ_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,272 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 185
Şekil 4.196 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 186
Şekil 4.197 $3TIA_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,306 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 187
Şekil 4.198 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri 187
Şekil 4.199 $2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 188
Şekil 4.200 $4B7R_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 188
Şekil 4.201 $4GZQ_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 189
Şekil 4.202 $3TIA_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 189
Şekil 4.203 $2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,981 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 190
Şekil 4.204 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 191
Şekil 4.205 $4B7R_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,215 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 192
Şekil 4.206 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 192

Şekil 4.207 $4GZQ_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,298 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 193
Şekil 4.208 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 194
Şekil 4.209 $3TIA_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,282 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 195
Şekil 4.210 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 195
Şekil 4.211 $2HU4_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 196
Şekil 4.212 $4B7R_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 197
Şekil 4.213 $4GZQ_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 197
Şekil 4.214 $3TIA_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 197
Şekil 4.215 $2HU4_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,153 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 198
Şekil 4.216 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 199
Şekil 4.217 $4B7R_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,281 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 200
Şekil 4.218 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 200

Şekil 4.219 $4GZQ_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,117 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 201
Şekil 4.220 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 202
Şekil 4.221 $3TIA_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,030 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 203
Şekil 4.222 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri 203
Şekil 4.223 $2HU4_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 204
Şekil 4.224 $4B7R_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 205
Şekil 4.225 $4GZQ_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 205
Şekil 4.226 $3TIA_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 205
Şekil 4.227 $2HU4_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,998 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 206
Şekil 4.228 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 207
Şekil 4.229 $4B7R_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,341 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 208
Şekil 4.230 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 208

Şekil 4.231 $4GZQ_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 209
Şekil 4.232 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 210
Şekil 4.233 $3TIA_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,276 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir). 211
Şekil 4.234 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 211
Şekil 4.235 $2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 212
Şekil 4.236 $4B7R_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 212
Şekil 4.237 $4GZQ_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi 213
Şekil 4.238 $3TIA_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi. 213
Şekil 4.239 $2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,094 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 214
Şekil 4.240 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 215
Şekil 4.241 $4B7R_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,236 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 216
Şekil 4.242 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 216

Şekil 4.243 $4GZQ_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,176 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 217
Şekil 4.244 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 218
Şekil 4.245 $3TIA_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,194 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir) 219
Şekil 4.246 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri 219
Şekil 4.247 OSC ligandının seçilen proteinlere yerleştirilmesiyle hazırlanan komplekslerin MD hesaplamaları sonucu kcal/mol cinsinden MM/GBSA ile bulunun bağlanma enerjilerine karşılık literatürden bulunan IC50 değerlerinin (nanomolar) eksi logaritması alınarak oluşturulan pIC50 değerlerinin grafiği 221
Şekil 4.248 OSC ligandının seçilen proteinlere yerleştirilmesiyle hazırlanan komplekslerin MD hesaplamaları sonucu kcal/mol cinsinden MM-PB/SA ile bulunan bağlanma enerjilerine karşılık literatürden bulunan IC50 değerlerinin (nanomolar) eksi logaritması alınarak oluşturulan pIC50 değerlerinin grafiği 221
Şekil 4.249 3TIA proteininin seçilmiş ligandlarla olan komplekslerinin MM-GB/SA, MM-PB/SA skorları 222
Şekil 4.250 MM-PB(GB)/SA hesaplamaları için seçilmiş ligandların tüm reseptörlerle ΔG_{GB} skorları grafiği 223
Şekil 4.251 MM-PB(GB)/SA hesaplamaları için seçilmiş ligandların tüm reseptörlerle ΔG_{PB} skorları grafiği 223
Şekil 4.252 OSC ligandının $3TIA_{WT}$ (bej) ve $3TIA_{MT}$ (mavi) respetörlerinin MD simülasyonlarından alınmış en düşük potansiyel enerjili yapılarının üst üste çakıştırılması (RMSD=1.217 Å) 224
Şekil 4.253 $3TIA_{WT}$ OSC etkileşimleri (sol) $3TIA_{MT}$ OSC etkileşimleri (sağ) 225
Şekil 4.254 Mutant olmayan reseptör ve mutant reseptörlerin OSC komplekslerinin MD sırasında oluşmuş en düşük enerjili konformasyonlarının iki boyutlu desenleri 227

Şekil 4.255 r84, f01 ve vo1 moleküllerinin $3TIA_{WT}$ ve $3TIA_{MT}$ proteinleri ile oluşturduğu komplekslerin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyon anındaki iki boyutlu etkileşim desenleri 229
Şekil 4.256 r84 molekülünün rasyonel tasarımı..... 230
Şekil 4.257 $3TIA_{WT}$ OSC etkileşimleri (sol) $3TIA_{MT}$ OSC etkileşimleri (sağ) 232
Şekil 4.258 r84 molekülünün 2HU4, 4B7R ve 4GZQ proteinlerinin WT ve MT yapıları ile oluşturduğu komplekslerin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyon anındaki iki boyutlu etkileşim desenleri (sarı tuz köprüsü, yeşil hidrojen bağı, pembe Van der Waals, kırmızı itme kuvvetlerini göstermektedir)..... 233

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 1.1 CADD katkılarıyla keşfedilen onaylanmış ilaçlardan bazıları (Baig vd., 2016) 10
Tablo 1.2 İnfluenza virüsüyle ilgili genel bilgiler..... 13
Tablo 1.3 Başlıca modern dönem grip pandemileri (Hilleman, 2002; Potter, 2001). 20
Tablo 3.1 Seçilen ligandlar ve kodları 50
Tablo 4.1 Seçilen proteinlerin katalitik bölgelerinde bulunan ligandlarla etkileşen amino asitler..... 58
Tablo 4.2 OSC ligandının bağlanma serbest enerjileri (MM-PB(GB)/SA) ve IC50 değerleri..... 221

EKLER LİSTESİ

EK 1. Sanal tarama ile NA geni üzerinden bulunan ligandlar Tablo 1.2 İnfluenza virüsüyle ilgili genel bilgiler ..... …248
EK 2. Sanal tarama ile bulunan doğal ligandlar 250
EK 3. Sanal tarama ile FoodDB kataloğu üzerinden bulunan ligandlar 251
EK 4. De novo Dizayn ile oluşturulmuş liganlar 252
EK 5. Rasyonel Dizayn ile Çizilmiş Liganlar 255
EK 6. Rasyonel Dizayn ile Ç Tablo EK 6. Antiviral direnç risk değerlendirme sonuçları…….…….…….….256
EK 7. Dock Skorları 259
EK 8. Ligandların MM-PB(GB)/SA metodu ile elde edilen bağlanma serbest enerjileri ve bu değere enerji bileşenlerinin katkıları 262

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

Simge	Açıklama
α	Alfa
Å	Angstrom
µm	Mikrometre
ns	Nano Saniye
nm	Nanometre
ps	Piko Saniye
pm	Pikometre

Kısaltma	Açıklama
1D	Bir Boyutlu
2D	İki Boyutlu
3D	Üç Boyutlu
ADMET/	Absorpsiyon, Dağılım, Metabolizma, Atılım, Toksisite
ALA	Alanin
ARG	Arginin
ASN	Asparjin
ASP	Aspartik Asit
CADD	Bilgisayar Destekli Ilaç Tasarımı
CDC	Hastalık Kontrol Ve Önleme Merkezi
CYS	Sistein
CYX	Çapraz Bağlı Sisteinin Kodu
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda Ve İlaç Bakanlığı
Gal	Galaktoz
GLN	Glutamin
GLU	Glutamik Asit
GLY	Glisin
HA	Hemagglutinin
HID	Delta Hidrojenli Histidin
HIE	Epsilon Hidrojenli Histidin
HTS	Yüksek Verimli Tarama

IC50	İnhibitör Inhibisyon Yarı Konsantrasyonu
ILE	İzolösin
IUPAC	Uluslararası Temel Ve Uygulamalı Kimya Birliği
LBDD	Ligand Tabanlı Ilaç Tasarımı
LBVS	Ligand Tabanlı Sanal Tarama
LEU	Lösin
LYS	Lizin
MD	Moleküler Dinamik
MM	Moleküler Mekanik
NA	Nöraminidaz
NMR	Nükleer Manyetik Resonans
PBVS	Farmakafor Tabanlı Sanal Tarama
PDB	Protein Data Bank
PK	Farmako Kinetik
PMEMD	Parçacık Örgüsü Ewald Moleküler Dinamik
QSAR	Kantitatif Yapı-Aktiflik Ilişkileri
RNA	Ribo Nükleik Asit
SA	Sialik Asit
SANDER	NMR-Türevli Enerji Sınırlamaları Ile Benzetimli Tavlama
SBDD	Yapı Tabanlı Ilaç Tasarımı
SBVS	Yapı Tabanlı Sanal Tarama
TRP	Triptofan
TYR	Tirozin
VAL	Valin
VS	Sanal Tarama

ÖZET

HESAPLAMALI KİMYA DESTEKLİ ANTİ-İNFLUENZA NÖRAMİNİDAZ İLAÇ TASARIMI

Kurt, Murat
Doktora, Kimya Bölümü
Danışman: Prof. Dr. Necmettin Prinççioğlu
İkinci Danışman: Doç. Dr. Selami Ercan
Haziran 2022, 265 sayfa

İnfluenza, halk arasında grip olarak bilinen, influenza virüslerinin sebep olduğu, bulaşıcı ve ölümcül bir hastalıktır. İnfluenza virüsü tarihte her yüz yılda yaklaşık 3-4 pandemi, 4-5 epidemi, oluşturarak milyonlarca insanın ölümüne sebep olmuştur. Kolayca mutasyon geçiren ve pek çok konağa adapte olmuş bu virüs mevsimsel bir hastalığa da dönüşerek her sene nüfusun yaklaşık %5-15'inin enfekte olmasına, üç-beş milyon insanın şiddetli hastalık geçirmesine, 290.000-650.000 insanın ise ölmesine sebep olmaktadır. Bu sayılar halk sağlığını koruma açısından influenzaya karşı her zaman tetikte ve çalışma içinde olmamız gerekliliğini ortaya koymaktadır. İnfluenzaya karşı geliştirilen FDA onaylı Tamiflu® (Oseltamivir -OSC), Relenza™ (Zanamivir -ZMR) gibi antiviral ilaçlar vardır. Ancak yakın zamanda görülen kuş gribi ve domuz gribi gibi salgınlarından sonra artan çalışmalarda grip virüsünün bu ilaçlara karşı direnç kazandığı anlaşılmıştır.

Bu çalışmamızda bilgisayar destekli ilaç tasarımı yöntemleri (sanal tarama, de novo dizayn, rasyonel dizayn, dock, moleküler dinamik, MM-PB(GB)/SA) kullanılarak grip virüsünün yüzey glikoproteinlerinden olan nöraminidaz inhibitörü olabilecek potansiyele sahip moleküller bulunmaya çalışılmıştır. Bu amaçla son yüzyılda insanlarda pandemiye sebep olan influenza A virüsü alt tiplerinden H1N1, H5N1, H2N2 ve H3N2 nöraminidaz proteinleri ve bunların FDA onaylı ilaç moleküllerine (OSC ve ZMR) karşı direnç geliştirmiş mutant varyantları hazırlanmış ve bu sekiz protein hesaplamalarda reseptör olarak kullanılmıştır. Sanal tarama ile belirlenen yedi binden fazla molekül veya denovo dizayn ve rasyonel dizayn ile tasarlanan yüzden fazla molekül potansiyel NAI etkinliğini denemek için bu reseptörlere karşı denenmiştir. Dock skorları, moleküler dinamik hesaplamarı ve MM-PB(GB)/SA skorlarına göre, özellikle vo1, f01 ve r84 olarak kodladığımız moleküllerin tüm proteinlerde başarılı sonuçlar verdiği bulunmuştur. Örneğin MM-PB(GB)/SA ile hesaplanan bağlanma serbest enerjisi karşılaştırmalarında mutant olmayan 3TIA proteini OSC kompleksi için bağlanma serbest enerjisi -25,64 kcal/mol iken aynı proteinin r84, f01, vo1 molekülleriyle oluşturduğu komplekslerde bu enerji sırasıyla -34,84; -60;66; -59,99 kcal/mol olarak bulunmuştur. Aynı şekilde mutant 3TIA proteini OSC kompleksi için bağlanma serbest enerjisi -18,40 kcal/mol iken mutant 3TIA proteini r84, f01, vo1 molekülleriyle komplekslerinde bu enerji sırasıyla -40,40; -58,93; -76,19 kcal/mol olduğu bulunmuştur. Bu çalışmada rasyonel tasarlanan r84 molekülüyle ilgili bölüm ayrıca detaylı açıklanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Hesaplamalı Kimya, İlaç Tasarımı, İnfluenza, Nöraminidaz, Docking

ABSTRACT

COMPUTER AİDED DRUG DESİGN SUPPORTED ANTI-INFLUENZA NEURAMINIDASE DRUG DESIGN

Kurt, Murat
PhD in Department of Chemistry
Supervisor: Necmettin Prinççioğlu
Co-Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Selami Ercan
June 2022, 265 pages

Influenza, commonly known as flu, is a contagious and deadly disease caused by influenza viruses. Influenza virus has caused the death of millions of people by creating about 3-4 pandemics and 4-5 epidemics every hundred years. This virus, which mutates easily and adapts to many hosts, also makes seasonal disease, causing about 5-15% of the population to be infected, 3-5 million people to suffer from severe illness, and 290.000-650.000 people to die every year. These numbers reveal the necessity of being on the alert and working towards influenza at all times in order to protect public health. There are FDA-approved antiviral drugs Tamiflu®) (Oseltamivir -OSC), Relenza™ (Zanamivir -ZMR) developed against influenza. However, after the recent epidemics such as bird flu and swine flu, increased studies have shown that the flu virus has acquired resistance to these drugs.

In this study, we tried to find molecules with the potential to be a neuraminidase (one of the surface glycoproteins of the influenza virus) inhibitor, by using computer aided drug design methods (virtual scanning, denovo design, rational design, dock, MD, MM-PB(GB)/SA). For this purpose, we prepared H1N1, H5N1, H2N2 and H3N2 neuraminidase proteins, one of the influenza A virus subtypes that caused pandemics in humans in the last century, and their mutant variants that developed resistance to FDA-approved drugs (Oseltamivir (OSC) and zanamivir (ZMR)) and we used these eight proteins as receptors in calculations. More than seven thousand molecules determined by virtual scanning or more than a hundred molecules designed with denovo design and rational design were tested against these receptors to test potential NAI efficacy. According to Dock scores, MD calculations and MM-PB(GB)/SA scores, it was found that especially vo1, f01 and r84 coded molecules gave successful results in all proteins. For example, in the binding free energy comparisons calculated with MM-PB(GB)/SA, while the binding free energy for the non-mutant 3TIA protein complexes with OSC was -25,64 kcal/mol, this energy was found to be -34,84; -60,66; -59,99 kcal/mol for complexes with r84, f01, vo1 molecules respectively. Likewise, while the binding free energy for the mutant 3TIA protein complexes with OSC was -18,40 kcal/mol, this energy was found to be -40.40; -58,93; -76,19 kcal/mol for mutant 3TIA protein complexes with r84, f01, vo1 molecules, respectively. In this study, the part about the rationally designed r84 molecule is also explained in detail.

Keywords: Computational Chemistry, Drug Design, Influenza Neuraminidase, Docking

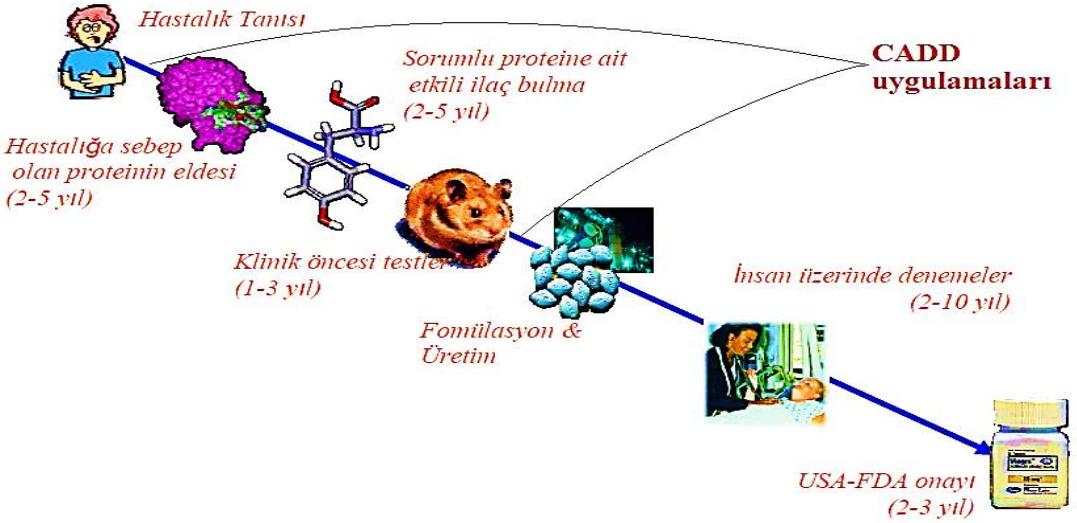
1. GİRİŞ

İlaç keşfi ve geliştirilmesinin çok fazla zaman, emek ve kaynak harcanan bir süreç olduğu genel olarak bilinir ve bu sürecin çok zahmetli olduğu çoğunlukla samanlıkta iğne aramakla karşılaştırarak ifade edilir (Cerqueira vd., 2015).

Bir ilacın keşfi ve geliştirilmesi yaklaşık 10-17 yıl sürer ve yaklaşık 800 milyon ABD Doları (Cerqueira vd., 2015) ile 2,6 milyar ABD Doları civarında (Leelananda ve Lindert, 2016) maliyet oluşturur. Bu, zaman, para ve insan kaynakları açısından çok büyük bir yatırım anlamına gelir. Bu süreçte, hayvanlarda test edilen 40.000 bileşiğin beşi sonunda insan testine eriştiği ve klinik çalışmalara giren beş bileşikten sadece bir tanesinin onaylandığı tahmin edilmektedir (Cerqueira vd., 2015). Maliyetin yaklaşık % 75'i bu süreçte gerçekleşen başarısız denemelerden kaynaklanmaktadır (Leelananda ve Lindert, 2016).

Binlerce molekülü robotik otomasyonla test edebilen daha hızlı HTS deneyleriyle, bileşiklerin taranması ile bağlantılı insan emeği azaltıldı. Bununla birlikte, HTS pahalıdır ve çok sayıda hedef ve ligand gerektirir. Bu kaynaklar genellikle akademilerde yoktur. Ek olarak birçok ilaç şirketi, başarı gösterme ihtimali olmayan ligandların taranmasını önleyebilecek yollar bulmaya çalışmıştır (Leelananda ve Lindert, 2016). Bu nedenlerle, ilaç keşfi ve geliştirme sürecini kolaylaştırmak, hızlandırmak ve düzene sokmak, zaman, para ve kaynakları kurtarmak için yeni yaklaşımlara ihtiyaç duyulmaktaydı.

5 Ekim 1981'de Fortune dergisinde "Sonraki Endüstriyel Devrim: Merck'te Bilgisayarda İlaç Tasarlamak" başlıklı bir makale yayımlandı (Cerqueira vd., 2015). Bunu bilgisayar destekli ilaç tasarımına (CADD-Computer Aided Drug Design) geçişin başlangıcı olarak nitelendiren bilim insanları da vardır (Van Drie, 2007). Böylece CADD kullanışlılığıyla ilaç keşif sürecinde popülarite kazanarak haklı yerini almıştır. Şekil 1.1 ilaç keşfi aşamalarını ve bilgisayar destekli ilaç tasarımının (CADD) bu aşamalardaki yerini özetlemektedir.



Şekil 1.1 İlaç keşfi aşamaları ve CADD'ın bu aşamalardaki yeri (Şenkuytu 2013'den değiştirilerek)

CADD, IUPAC tarafından "istenilen yapı ve özelliklere sahip bileşikleri keşfetmek, tasarımlamak ve optimize etmek için kullanılan bilgisayar destekli teknikler" olarak tanımlanmaktadır. CADD, hesaplamalı kimya ve bilgisayar teknolojisindeki son gelişmelerden ortaya çıkmıştır ve potansiyel ilaç adayı moleküllerinin tasarımında çığır açma potansiyeline sahiptir (Cerqueira vd., 2015). CADD'ın amacı, bir dizi hit bileşiği (aktif ilaç adayı), öncü bileşikleri (daha ileri değerlendirme için muhtemelen adaylar) üretmek veya bilinen öncü bileşimleri fizikokimyasal, ilaç ve ADMET/PK (absorpsiyon, dağılım, metabolizma, atılım toksisite/farmakokinetik) özelliklerinin geliştirilmesi (optimizasyon) ile daha uygun ilaçlar haline getirmektir (Jorgensen, 2004).

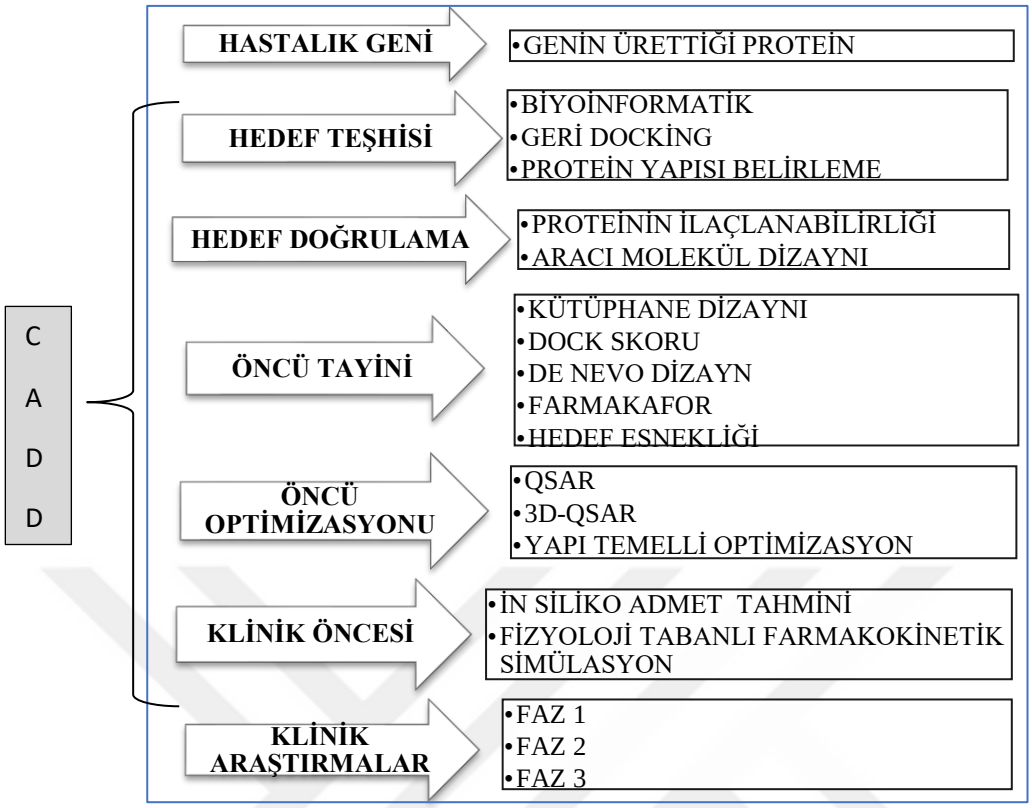
Bu araştırma alanının hızlı genişlemesi kısmen bilgisayarların yazılım, donanım ve hesaplama gücü gelişmeleri sayesinde mümkün olmuştur. Öte yandan, proteinlerin, nükleik asitlerin ve karmaşık yapıların 3D (üç boyutlu) şekillerinin bilgisi, potansiyel ilaç hedeflerinin tüm yönlerini anlamak için esastır. 1970 ile 2004 yılları arasında 50.000 yapı protein veri bankasında depolanmışken, 2014'te bu sayı üç kat arttarak 150.000'e ulaşmıştır. Ayrıca, potansiyel ilaçlar ve diğer yararlı bileşikler hakkında ayrıntılı bilgi içeren molekül kütüphaneleri, yeni ilaçların tasarımı için çok önemli hazinelerdir (Cerqueira vd., 2015).

Günümüzde en iyi ilaç şirketleri ve araştırma grupları maliyeti düşürmek, süreci hızlandırmak ve başarısızlıkları en aza indirgemek için CADD tekniklerini kullanmayı

tercih etmekte ve bu sayede daha kolay, hızlı ve daha az maliyetle ilaç molekülü keşfedebilmektedir. Akılcı ilaç tasarımını içeren son başarılara sonraki bölümlerde değinilmiştir. CADD'ın da parçası olduğu rasyonel ilaç tasarımı bu başarısını, protein ve ligand arasındaki etkileşimler ve bağlanma afinitesi hakkında değerli bilgiler verebilecek bilgi odaklı bir yaklaşımı kullanarak elde etmektedir. CADD tekniklerini uygularken kullanılacak süper bilgisayarların ve paralel iş yürütme yazılımlarının geliştirilmesi farmasötik araştırmalarda öncü keşif oranını büyük ölçüde kolaylaştırmıştır (Macalino vd., 2015).

İlaç keşif süreci kimyasal ve yapısal biyoloji, hesaplama kimyası, organik sentez ve farmakoloji gibi çeşitli disiplinleri içeren multidisipliner ve aşamalı bir süreçtir (Macalino vd., 2015). Bu aşamalar Şekil 1.2'de gösterilmiştir.

- Hedef belirleme; hedeflerin keşfedilmesini, işlevlerini ve belirli bir hastalıkla olan ilişkisini araştırmak için ve izolasyonunu içerir.
- Hedef doğrulama; ilaç hedefi olan makromolekülün hastalık ile ilişkisini saptamak için çok sayıda denemeyle vücuttaki fonksiyonları düzenleme sistematiği anlaşılmaya çalışılır.
- Öncü tayini; biyolojik bir hedefe karşı belirli bir etki ve özgünlük gösteren ve hedeflenen hastalığı tedavi edebilen bir ilaç keşfedilmeye çalışılır.
- Öncü optimizasyonu; potansiyel bileşiklerin ve bunların analoglarının etki ve diğer önemli özelliklerin tekrarlayan değerlendirme döngüleri aracılığıyla geliştirilmesini kapsar. Böylece güvenli ve verimli bir ilaç olarak gelişme için en uygun potansiyele sahip adaylara öncelik verilmesi ve seçilmesi için hem in vitro hem de in vivo deneyler yürütülür. Değerlendirme için sentezlenecek analoglara uygulanabilen ilgili farmakokinetik ve farmakodinamik özellikleri belirlemek için yapı-aktivite ilişkileri kullanılır.
- Klinik öncesi; bu aşamada ilaç sentezi ve formülasyon araştırmaları, etki ve toksisite için in vivo hayvan çalışmaları ve mekanik toksisite karakterizasyonu yapılır.
- Klinik araştırmalar; üç alt aşamada aday ilacın güvenirliği, yan etkileri, dozajı, etkililiği ve farmakokinetik ve farmakolojik özellikleri gönüllü insanlar üzerinde yapılan deneyle belirlenir.

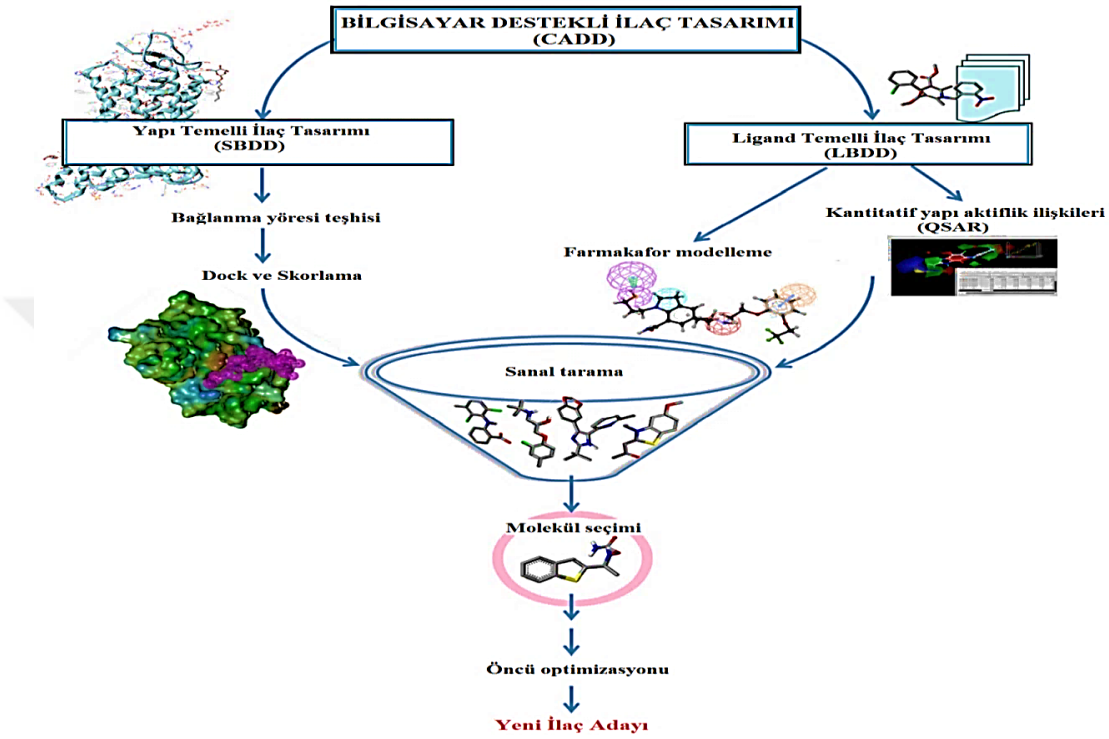


Şekil 1.2 İlaç keşfi aşamalarında CADD kullanımı (Kore vd., 2012'den değiştirilerek)

CADD, mümkün olan en iyi bileşiklerin hayvan çalışmalarına girmesini sağlayarak ilaç keşfi ile ilgili maliyetleri düşürmekle kalmaz, aynı zamanda bir ilacın keşfi için gereken süreyi de kısaltır. CADD araçları, test için öncü ilaç moleküllerini tespit eder, etkinliği ve muhtemel yan etkileri öngörebilir ve olası ilaç moleküllerinin biyoyararlanımını geliştirmeye yardımcı olabilir. Ayrıca öncü yapısını kullanarak, daha yüksek etki potansiyeli olan analoglar üretilebilir (Leelananda ve Lindert, 2016).

CADD yöntemleri hedef yapı bilgilerinin kullanılabilirliğine bağlı olarak genelde ikiye ayrılır (Şekil 1.3). Yapı tabanlı ilaç tasarımı (SBDD-Structure Based Drug Design) araçlarını kullanabilmek için, hedef yapılar hakkında X-ışını kristalografisi veya NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) ile deneysel olarak elde edilen bilgilere sahip olmak gerekir. Bunlar mevcut değilse, hedeflerin üç boyutlu yapılarını tahmin etmek için homoloji modelleme gibi hesaplama yöntemleri kullanılabilir. Hedef yapı bilindiğinde, sanal tarama ve doğrudan docking yöntemleri kullanılabilir. Bağlayıcı serbest enerjiler hesaplanarak moleküllerin hedeflere afinitesi değerlendirilebilir. Son aşamaya kadar elenmeyen aday moleküllerin etkileri in vitro deneylerle test edilir.

Hedef yapı deneysel olarak belirlenemediğinde veya hesaplama yöntemleri kullanarak yapıyı tahmin etmek mümkün olmadığında, ligand tabanlı ilaç tasarımı (LBDD-Ligand Based Drug Design) genellikle bir alternatif olarak kullanılır. Bu yöntemler, hedefe etkili bağlanan ligand bilgilerine dayanmaktadır (Leelananda ve Lindert, 2016).



Şekil 1.3 Bilgisayar destekli ilaç tasarımı için temsili iş akışı (Macalino vd., 2015'ten tercüme edilmiştir.)

1.1. Yapı tabanlı ilaç tasarımı (SBDD): Doğrudan yaklaşım

Bu yaklaşımda proteinin X-ışını kristalografisi veya NMR (Nükleer Manyetik Rezonans) deneysel veya homoloji modellemesi hesaplamalı bilgilerinden elde edilen üç boyutlu makromolekül yapı bilgileri kullanılarak, bağlanma bölgesi ile bağlanabilecek potansiyel moleküller bulunur veya tasarımlanır (Grinter ve Zou, 2014; Lavecchia ve Di Giovanni, 2013). Bu nedenle, ilaç hedefinin belirlenmesi ve yapısal bilgilerinin edinilmesi, SBDD'nin ilk hayati adımlarıdır.

SBDD iki kategoriye ayrılabilir sanal tarama yaklaşımı ve de novo yaklaşım (Kalyaanamoorthy ve Chen, 2011; Lionta vd., 2014). Sanal taramada (VS-Virtual Screening), molekül kütüphaneleri taranarak hedef biyomoleküle özgü biyoaktiviteye sahip moleküller bulunmaya çalışılır (Andricopulo vd., 2009; Lavecchia ve Di

Giovanni, 2013). De novo ilaç tasarımı, reseptörün bağlanma yöresi 3 boyutlu bilgilerini, bağlama yöresi ile iyi uyuşan küçük parçaları (fragman) bulmak için kullanır. Sonra bu parçalar kimyasal bağlanma kurallarına dayalı olarak bir araya getirilir ve yeni ilaç molekülü oluşturulur (Kutchukian ve Shakhnovich, 2010; Rodrigues ve Schneider, 2014).

1.1.1. Bağlanma yeri tahmini

Genelde ideal bağlanma bölgesi, istenen sonuca ulaşmak için (aktivasyon, modülasyon veya inhibisyon) bir ligand ile etkileşime giren içbükey bir bölgedir (Anderson, 2003; Kalyaanamoorthy ve Chen, 2011). Sübstratları veya bilinen inhibitörleri ile kristalleştirilen proteinler, mutasyon için önemli artıkları tanımlayan çalışmalar SBDD'de faydalı bilgi sağlar. Bununla birlikte, bağlanma yeri hakkında hiçbir bilgi mevcut olmadığında, yapı temelli rasyonel ilaç keşfini gerçekleştirmek için ek analizlere ihtiyaç vardır (Laurie ve Jackson, 2006; Zhang vd., 2011).

1.1.2. Dock ve skorlama

Moleküler yerleştirme (dock), hedef bağlanma bölgesine yakınsanan bir bileşiği olası bağlanma modlarıyla tahmini yerleştiren ve bağlanma cebinde bulunan özelliklerle uyumluluğuna ve tamamlayıcılığına dayalı olarak afiniteyi tahmin eden SBDD yöntemlerinden biridir (Cheng vd., 2012; Hung ve Chen, 2014). Küçük moleküllerin yerleştirilmesi genel olarak üç yoldan biriyle gerçekleştirilir: Hedefin ve ligandın esnemez olarak muamele edildiği rijit yerleştirme, hedefin esnemez tutulduğu esnek ligand yerleştirme veya hem hedef hem de ligandın esnek tutulduğu esnek yerleştirme. Kenetleme işleminin karmaşıklığı, esnemez kenetlenme, esnek ligand kenetlenme ve esnek kenetlenme sırasına göre artar (Leelananda ve Lindert, 2016).

Güvenilir bir yerleştirme algoritması, ligand ve hedef arasındaki muhtemel bağlanma modlarını çok sayıda uygun geometrik örnekleme ile denemelidir. Ancak bu işin de mantıksal bir sınırlaması ve kabul noktası olmalıdır. Protein yapılarda, geniş yapısal boşluk mevcut olduğu için kısmi esneklik (yan zincir) son zamanlarda GLIDE, GOLD, AUTODOCK, FlexX gibi bazı yerleştirme algoritmalarına dâhil edilmiştir. Genetik algoritmaları (AUTODOCK, GOLD) ve Monte Carlo benzetimli tavlama algoritmaları (GLIDE) yaygın olarak kullanılmaktadır (Baig vd., 2016).

1.2. Ligand tabanlı ilaç tasarımı (LBDD): Dolaylı yaklaşım

Ligand temelli ilaç tasarımı (Ligand Based Drug Design) veya dolaylı ilaç tasarımı, biyolojik hedeflere karşı potansiyel taşıyan diğer bilinen aktif moleküllerin bilgisine dayanır. Bu bilinen moleküllerin hedefe bağlanması için gerekli yapısal özellikleri belerlemek için farmakofor modelleri türetilmiştir. Alternatif olarak, niceliksel yapı-aktivite ilişkisinde (QSAR), bir bileşiğin hesaplanan moleküler özellikleri ile deneysel olarak belirlenmiş biyolojik aktivite arasındaki korelasyon türetilir. Bu öngörücü QSAR korelasyonları ile yeni analogların aktivitesini tahmin edilmeye çalışılır (Baig vd., 2016).

1.2.1. Nicel yapı-aktivite ilişkisi (QSAR)

QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) çalışmaları, biyoaktivitedeki değişikliklerin bir dizi bileşikteki yapısal ve moleküler varyasyonlarla ilişkili olduğu bilgisine dayanmaktadır (Lavecchia ve Di Giovanni, 2013; Melo-Filho vd., 2014) (Lavecchia ve Giovanni 2013; Melo vd., 2014). Yeni bileşiklerin biyolojik özelliklerini geliştirmek ve matematiksel olarak tahmin etmek için bu korelasyondan istatistiksel bir taslak oluşturulur (Melo-Filho vd., 2014).

1.2.2. Farmakofor

Bir farmakofor, optimum supramolekülün sağlanması için gerekli olan 1D (fiziksel veya biyolojik özellikler), 2D (alt yapılar) ve 3D (yüklü/iyonlaşabilen gruplar, hidrofobik gruplar ve hidrojen bağı alıcı/vericiler) gibi sterik ve elektronik özelliklerin toplamıdır. Bir farmakofor modeli hem ligant bazlı hem de yapı temelli tasarımlarda kullanılabilir. LBDD'de, bu yöntem, bir dizi aktif molekülün üst üste çakıştırılması ve biyoaktivitesi için gerekli olan temel gerekli kimyasal özelliklerin belirlenmesinde kullanılabilir. SBDD'de bu yaklaşım, hedef protein ve ligandlar arasındaki muhtemel etkileşim noktalarını araştırarak kullanılabilir (Baig vd., 2016).

1.3. Sanal tarama (VS-Virtual Screening)

Sanal tarama, yeni ilaçların keşfi için HTS'yi başarıyla tamamlayan hesaplamalı bir yaklaşımdır. Sanal taramada kimyasal olarak sentezlenebilen çok sayıda molekülün sanal veritabanı hazırlanır. Bu sayede bu moleküllerin biyolojik etkinlikleri

hesaplamalı olarak hızlı ve maliyetsiz şekilde taranabilir. VS, HTS'nin aksine kaba kuvvet araştırmasına dayanmaz ve bunun yerine inceleme altındaki reseptörün başlangıç verisine veya onun aktif ligandlarının bilgisine dayanır. VS yöntemleri bu başlangıç bilgisine bağlı olarak yapı tabanlı sanal tarama (SBVS-Structure-based Virtual Screening) veya farmakofor tabanlı sanal tarama (PBVS-Pharmacophore-based Virtual Screening) şeklinde kullanılabir. SBVS kullanan programlara örnek olarak Glide, Flexx ve GOLD sayılabilir. Farmakofor tabanlı aramaları gerçekleştiren bazı programlara örnek olarak UNITY, MACCS-3D, Catalyst, PHASE ve ROCS sayılabilir (Baig vd., 2016).

1.4. Bilgisayar Destekli İlaç Tasarımı Katkısıyla Bulunan İlaçlar

İlaç keşfinde, yeni ve güçlü ilaç adaylarının geliştirilmesinde CADD'ın başarılı uygulamaları sıralanırsa çok geniş bir liste oluşur. 1990'lı yıllarda HIV ve influenza için ilaçların geliştirilmesi CADD'ın kabul edilen başarılı uygulamaları arasındadır. Relenza ve HIV proteaz inhibitörleri CADD'nin en başarılı iki sonucudur. Relenza, 1990 yılında GlaxoSmithKline Inc. (GSK)'ye ruhsat verilmiş ve 1999 yılında FDA tarafından onaylanmış bir nöraminidaz inhibitörüdür. İlk HIV proteaz inhibitörü olan Ritonavir, 1991'de yeterli oral biyoyararlanım ile sentezlenmiştir. FDA bu bileşiği rekor sürede (72 gün) 1996 yılında onaylamıştır. Bu ilaç sekiz yılda (tipik bir ilacın yaklaşık yarısı kadar sürede) geliştirilmiştir. Aynı zaman içerisinde, Saquinavir (Roche) ve Nelfinavirde dâhil olmak üzere bir dizi başka HIV proteazları geliştirilmiştir. Bu ilaçlar HIV'in tedavisine yardımcı olmuştur. CADD kullanılarak tanımlanan çok sayıda patentli ilaç geliştirilmiştir. Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü olan Kaptopril, 1981'de onaylanan bir antihipertansif ilaçtır. Bir karbonik anhidraz inhibitörü olan Dorzolamid 1995 yılında onaylanmıştır. Buna ek olarak, Saquinavir 1995 yılında onaylanmıştır ve HIV tedavisinde, Saquinavir, İndinavir ve Ritonavir üçlü tedavi kombinasyonu 1996'da onaylanmıştır. 1998'de onaylanan bir fibrinojen antagonisti olan Tirofiban'ın yanısıra Zanamivir, Oseltamivir, Aliskiren, Boceprevir, Nolatrexed ve Rupintrivirare de CADD'ın sonuçlarıdır (Baig vd., 2016). Tablo 1.1'de klinik olarak onaylanmış CADD katkılarıyla keşfedilen ilaçların bir kısmı listelenmiştir.

Antiviraller, özellikle viral enfeksiyonların tedavisinde kullanılan bir ilaç sınıfıdır. Antiviral kemoterapi, 30 yılda gelişmiş terapötik bir aşamaya ulaşan antibiyotiklerin aksine çok yavaş gelişim göstermiştir. Antiviral gelişmenin mevcut etkinlik durumuna ulaşması yaklaşık 60 yıl sürmüştür (Bryan-Marrugo vd., 2015). 1940'larda, virüslerin antibiyotiklere duyarlı olmadığı tartışılmaya başlandı. Antiviral ilaç alanında ilk önemli kilometre taşı, 1960'ların başında (William Prusoff) 5-iyodo-2'-deoksiuridin'in (idoksuridin, IDU) tanımlanması ve antiviral özelliklerinin gerçekleştirilmesiydi (Esposito, 2007). 1959'da başlangıçta kanser tedavisi için tasarlanan 5-iyodo-2-deoksiuridin (IDU), Herpes Virüsüne karşı antiviral aktivite gösterdi ancak yüksek sitotoksisitesi nedeniyle kullanımı sınırlıydı. IDU, antiviral gelişimi artırdı ve çeşitli viral hastalıkların tedavisinde birçok antiviral molekül önerildi.

Grip, erken antiviral bir hedefti ve 1964 yılında amantadinin influenza A'nın spesifik bir inhibitörü olduğu bildirildi. Amantadin ve Rimantadin daha sonra virüs replikasyonunun ilk aşamalarında bir iyon kanalı oluşturan viral M2 proteini ile etkileşime girerek etki gösterdiği anlaşıldı (Oxford vd., 2003).

1972'de Ribavirin'in, özellikle de negatif RNA iplikçik virüsü solunum sinyal virüsü olmak üzere birçok farklı virüs ailesine karşı etkili geniş spektrumlu antiviral bir bileşik olduğu bildirildi (Sidwell vd., 1972). 1970'lerde bir başka bulgu, pirofosfat analogu fosfonoformik asitin (fosfonoformat, PFA) antiherpes virüsü aktivitesiydi (Oberg, 1971).

Sahada büyük etkisi olan bir sonraki kilometre taşı, Nobel ödüllü Gertrude Elion tarafından yapılan, HSV (Herpes Simpleks virüsü) replikasyonunu seçici olarak inhibe eden asiklovir maddesinin keşfedilmesiydi. Asiklovir, viral çoğalmayı güvenli bir şekilde inhibe etme imkânını gösteren ilk seçici antiviral bileşiktir. Bundan sonra antiviral alan çarpıcı bir şekilde değişti ve onlarca antiviral ilaç ortaya atıldı (Esposito, 2007).

Son otuz yılda, yeni ilaç keşfetme yöntemleri çok gelişti. Kimya, farmakoloji, mikrobiyoloji ve biyokimya, ilaç keşfinin gidişatını şekillendirdi. İlaç moleküllerinin

biyokimyasal mekanizmaları, biyolojik hedefin yapısının ve fonksiyonunun belirlenmesi yeni ilaçların eldesinde rasyonel bir yol sağladı (Drews, 2000).

Daha yakın zamanlarda, genomik bilimlerin ortaya çıkışı, hızlı DNA dizilemesi, kombinatoryal kimya, hücre tabanlı tahliller ve otomatik yüksek performanslı tarama (HTS) ilaç keşfinde bize kolaylık sağladı. Çok sayıdaki bileşik şimdi bilgisayar tabanlı siliko taramada ve biyolojik testlerde biyolojik aktivitelerini doğrulamak/değerlendirmek için zaman ve paradan büyük tasarruf ile test edilebilmektedir. Elde edilen öncüler arasında, iyi in vitro farmakolojik ve toksikolojik etki gösteren bileşikler, daha ileri in vivo çalışmalar için klinik öncesi aday olarak seçilebilir (Drews, 2000).

Tablo 1.1 CADD katkılarıyla keşfedilen onaylanmış ilaçlardan bazıları (Baig vd., 2016)

İlaç	Onay Yılı	Biyolojik Eylem
Captopril	1981	Antihipertansif
Dorzolamid	1995	Karbonik anhidraz inhibitörü
İndinavir	1996	İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)
Ritonavir	1996	İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)
Saquinavir	1995	İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)
Triofiban	1998	Fibrinojen antagonisti
Raltegravir	2007	İnsan immün yetmezlik virüsü (HIV)
Zanamivir	1999	Nöraminidaz inhibitörü
Aliskiren	2007	İnsan renin inhibitörü
Oseltamivir	1999	İnfluenza A ve B virüslerine karşı aktiftir
Boceprevir	Faz III	Hepatit C virüsü (HCV) inhibitörü
Nolatreksed	Faz III	Karaciğer kanseri
TMI-005	Faz II	Romatoid artrit
LY-517717	Faz II	Serin proteaz İnhibitörü
NVP-AUY922	Faz I	HSP90 için inhibitör

1.5. Mikroorganizmalar

Mikroorganizma terimi Yunanca mikrós; ‘küçük’ ve organismós; ‘canlı, organizma’ kelimelerinden türetilmiştir ve mikron boyutlu organizmalar için kullanılır. Halk arasında mikrop olarak da adlandırılan mikroorganizmalar, hücresel yapılı olanlar ve

hücresel yapıda olmayanlar olmak üzere ikiye ayrılabilir. Hücresel yapıda olanlar çok çeşitlidir. Bunlara örnek olarak bakteriler, mantarlar, protistler verilebilir. Hücresel yapıda olmayanlar ise virüsler, viroidler, prionlardır.

Mikroorganizmaların varlığına dair erken döneme ait iddialar ortaya atılmıştı ancak doğal olarak bu öngörüler tartışmaya açıktı ve veriye veya bilimsel araştırmaya dayanmıyordu. 17.yüzyılın sonuna kadar mikroorganizmaların varlığı kanıtlanamamış ve doğru ve açık bir biçimde tanımlanamamıştı. Bunun nedeni bu varlıkların görülememesiydi.

İlk mikrobiyolog olarak kabul edilen Anton van Leeuwenhoek kendi tasarımı olan bir mikroskop kullanarak mikroorganizmaları gözlemleyen ilk kişidir. Bunu yaparak Leeuwenhoek biyolojiye en önemli katkılardan birini yapmış ve mikrobiyoloji ve bakteriyoloji sahalarını açmıştır (Leeuwenhoek, 1700).

Leeuwenhoek'un 1675'de mikroorganizmaları keşfinden önce, üzümlerin nasıl şarap olduğu, sütün nasıl peynir olduğu ve besinlerin neden çürüdüğü bir gizemdi. Leeuwenhoek, bu süreçler ve mikroorganizmalar arasındaki ilişkiyi tespit etmedi ancak mikroskobu kullanarak, çıplak gözle görülemeyecek yaşam biçimleri olduğunu kanıtladı (Leeuwenhoek, 1700). Leeuwenhoek'un keşfi, Lazzaro Spallanzani ve Louis Pasteur'ün gözlemleri ile beraber uzun süre kabul görmüş olan, yaşamın canlı olmayan maddelerin çürümesi sırasında kendiliğinden oluştuğu inancını yıktı. Pasteur'ün deneyinde filtre takılı olan et sularında herhangi bir canlı üremedi. Bu şu anlama geliyordu; içinde mikroorganizma üreyen et sularına bu canlılar dışarıdan mesela toz üzerindeki sporlardan geliyordu. Böylece Pasteur kendiliğinden oluş teorisi yerine mikrop teorisini ortaya koydu.

1876'da Robert Koch mikropların hastalık yapabileceğini ortaya koydu. Deneylerine dayanarak, bir mikrop ve hastalık arasında mantıksal bir bağ kuran, bugün Koch postülatları olarak bildiğimiz ilişki sürecini açığa çıkardı.

1884'te Fransız bakteriyoloğu Charles Chamberland bakterilerin geçişine izin vermeyen porselen bir filtre üretti. Bu filtre bakteriden arınmış su elde etmede

kullanılıyordu. 1892'de Rus bilim adamı Dimitri Ivanovsky tütün mozaik hastalığının etkeninin bu süzgeçten geçebildiğini gösterdi. Bu süzgeçlerden geçen mikroorganizmalara filtrabl (filtreden geçebilen) virüsler adı verildi.

1900'de Amerikalı bilim adamı Walter Reed'in bazı filtrabl virüslerin günümüzde Sarı Humma olarak bilinen hastalığa sebep olduğunu buldu. Aynı şekilde bakteriden arındırılmış filtratların (süzülmüş sıvıların) hayvanlarda tümör ortaya çıkmasında rol oynadığı önce Vilhelm Ellerman ve Oluf Bang (1908 Danimarka) daha sonra da Peyton Rous (1911 ABD) tarafından açıklandı. Virüslerin bakteriler içinde de gelişebildikleri 1915'te Frederick Twort tarafından bildirildi.

Virüslerin ilk görüntüleri, Alman mühendisler Ernst Ruska ve Max Knoll tarafından 1931'de elektron mikroskobunun icadı üzerine elde edildi (Stanley ve Lauffer, 1939). 1935'te, Amerikan biyokimyacı ve virolog Wendell Meredith Stanley tütün mozaik virüsü ile ilgili çalışmalar yaptı ve bunların çoğunlukla protein yapılardan oluştuğunu buldu (Stanley ve Lauffer, 1939). Kısa bir süre sonra virüsler, proteinler ve RNA (Ribonükleikasit) parçalarına ayrıştırıldılar. Tütün mozaik virüsü ilk kez kristalize edildi ve yapısı bu sayede ayrıntılı olarak tarif edilebildi. Kristalize virüsün ilk X-ışını kristalografi görüntüleri Bernal ve Fankuchen tarafından 1941'de elde edildi. Bu görüntüleri temel alan Rosalind Franklin 1955 yılında virüsün tam yapısını keşfetti. Aynı yıl içinde, Heinz Fraenkel-Conrat ve Robley Williams saflaştırılmış tütün mozaik virüsünün RNA ve protein kapsidinin kendi kendine birleşip fonksiyonel virüs formunu oluşturabildiğini gösterdi, bu basit mekanizmanın muhtemelen virüsler tarafından konak hücre içinde oluşturulduğu düşünüldü.

20. yüzyılın ikinci yarsında virüs keşfi hız kazandı ve bu yıllarda 2000'den fazla hayvan, bitki ve bakteri virüsü keşfedildi.

1.6. İnfluenza

İnfluenza; halk arasında grip olarak bilinen, RNA virüslerinin sebep olduğu, bulaşıcı, öldürücü, viral bir hastalıktır (Centers for Disease Control and Prevention, 2019). Tablo 1.2'de influenza ile ilgili genel bilgiler verilmiştir.

Tablo 1.2 İnfluenza virüsüyle ilgili genel bilgiler

Virüsler	**Ortomiksovirüs**	Grip A· Grip B· Grip C Grip D
Alt türleri	**Grip A**	H1N1· H1N2· H2N2· H2N3· H3N1· H3N2· H3N8· H5N1· H5N2· H5N3· H5N8· H5N9· H7N1· H7N2· H7N3· H7N4· H7N7· H7N9· H9N2· H10N7
H1N1	**Grip pandemileri**	1918 (İspanyol gribi)· 2009 (Domuz gribi)
H5N1	**Salgınlar**	Hırvatistan (2005)· Hindistan (2006)· Birleşik Krallık (2007)·Batı Bengal (2008)
Tedaviler	**Antiviral ilaçlar**	Arbidol Adamantane türevleri (Amantadine· Rimantadine) Nöraminidaz inhibitörü (Oseltamivir· Laninamivir· Zanamivir · Peramivir (deneysel))
	Aşılar	FluMist· Fluzone· Pandemrix
Pandemiler	**Pandemiler**	Rus gribi (1889–1890) İspanyol gribi (1918) Asya gribi (1956–1958) Hong Kong gribi (1968–1969) Domuz gribi (2009)
Epidemiler	**Epidemiler**	Rus gribi (1977–1978) Fujian gribi (H3N2)
Hayvanlarda	**Memeliler**	Köpek Kedi At(2007 Avustralya salgını) Domuz
	Diğer	Kuş (H5N1) Fujian

Mevsimsel influenza, aniden başlayan ateş, öksürük (genellikle kuru), baş ağrısı, kas ve eklem ağrısı, şiddetli halsizlik, boğaz ağrısı ve burun akması semptomları ile teşhis edilir. Öksürük şiddetli olabilir ve iki hafta veya daha fazla sürebilir. Grip genellikle soğuk algınlığı ile karıştırılır ancak belirtileri benzer olmasına rağmen daha şiddetlidir (Eccles, 2005). Sağlıklı insanlarda ortalama bir haftada geçmesine rağmen; risk gruplarından olan vücut direncini düşüren kronik hastalığı olan kişilerde (şeker, kalp, akciğer hastalıkları, AIDS vb.) ve yaşlılarda pnömoni (zatürre), meningoensefalit (beyin iltihabı), miyokardit (kalp kası iltihabı) gibi ölümle sonuçlanabilecek hastalıklara yol açabilir. Öte yandan grip sağlıklı insanlarda bile viral zatüreye veya ikincil bakretiyal zatüreye sebep olabilir (Ballinger ve Standiford, 2010).

Grip, yetişkinlerde %5-10 ve çocuklarda %20-30 oranında tahmin edilen yıllık saldırı oranı ile küresel olarak ortaya çıkar. Ilıman iklimlerde mevsimsel salgınlar esas olarak kışın meydana gelirken, tropik bölgelerde influenza, yıl boyunca ortaya çıkabilir ve daha düzensiz salgınlara yol açabilir. Hastalık, yüksek riskli gruplarda (çok genç, yaşlı veya kronik hasta) ölümle sonuçlanabilir. Dünya genelinde yıllık salgın hastalığın yaklaşık üç ila beş milyon ağır hasta ve yaklaşık 290.000 ila 650.000 ölümle

sonuçlanacağı tahmin edilmektedir (Dünya Sağlık Örgütü, 2009). Bu sayı pandemi durumlarında milyonları bulur.

20. yüzyılda, 1918'de İspanyol influenza (~50 milyon ölüm), 1957'de Asya influenza (iki milyon ölüm) ve 1968'de Hong Kong influenza (bir milyon ölüm) (Dünya Sağlık Örgütü, 2009) pandemileri olmuş ve milyonlarca ölüme sebep olarak yıkıcı etkiler bırakmıştır. Bu pandemierin her biri virüsün değişik bir türünün insanlarda görülmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu virüs türleri genellikle mevcut grip virüsünün hayvan türlerinin birinden insana geçmesinden veya insandaki virüslerin domuz ve kuşları enfekte eden virüslerden gen almalarından sonra görülür. Bir kuş gribi türü H5N1 Asya'da 1990'larda yayılmış, pandemiye sebep olacak korkuları olmuştur fakat insandan insana bulaşan bir virüs türüne evrimleşmemiştir. Nisan 2009 da Meksika'da yeni bir virüs ortaya çıkmıştır. Influenza A/H1N1 veya domuz gribi olarak bilinen bu grip insan, domuz ve kuş gribi genlerinin kombinasyonuyla evrimleşmiştir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) 11 Haziran 2009 da bunun yeni bir pandemi olduğunu resmen ilan etmiştir (Dünya Sağlık Örgütü, 2006, 2009).

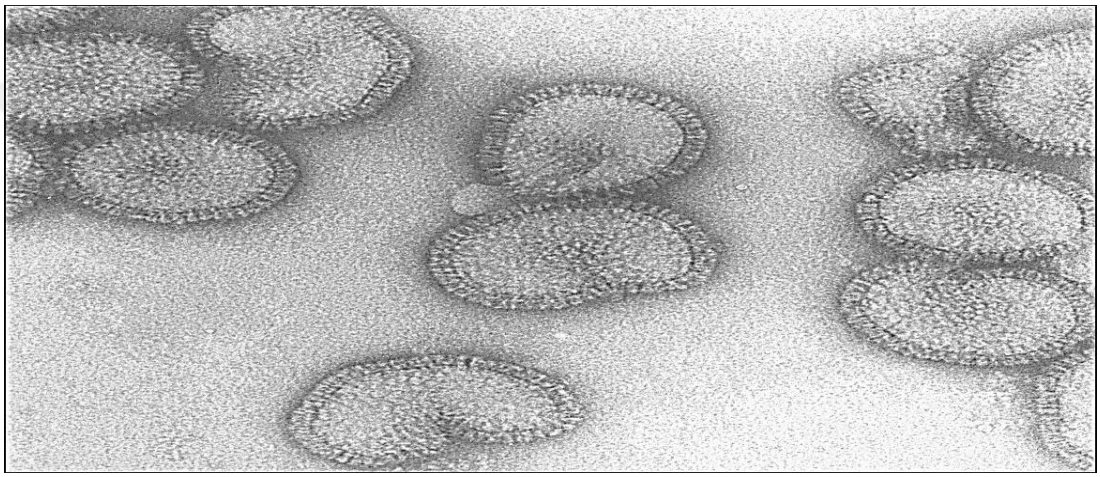
1.6.1. İnfluenza virüsleri

Virüs sınıflandırmasında influenza virüsleri, Orthomyxoviridae ailesinin yedi cinsinden dördünü (İnfluenzavirüs A, İnfluenzavirüs B, İnfluenzavirüs C, İnfluenzavirüs D) oluşturan RNA virüsleridir (Krammer vd., 2018). İnfluenza D son zamanlarda tanımlanan dördüncü bir grip virüsü ailesi olarak önerilmiştir (Collin vd., 2015).

1.6.2. Yapı, özellikler ve alt tip adlandırılması

Genel yapı bakımından influenza A, B, C virüsleri benzerdir (International Committee on Taxonomy of Viruses, 2016). Virüs parçacığı 80–120 nanometere çapında ve genellikle kabaca küreseldir (Şekil 1.4) (International Committee on Taxonomy of Viruses, 2016; Lamb ve Choppin, 1983). Ancak influenza C filamentöz şekilli de olabilmektedir. Çeşitli şekiller de olsalar bile tüm viral partiküller kompozisyon bakımından birbirine benzerlik gösterirler (Bouvier ve Palese, 2008). Bunlar merkezi çekirdeği saran iki ana tip glikoprotein içeren viral zarftan yapılmıştır. Merkezi çekirdek RNA genomu ve bu RNA'yı saran koruyucu viral protein bulundurur. RNA

tek sarmallı olma meylindedir fakat özel durumlarda çift sarmallı da olabilmektedir. Genellikle bir virüs için, kendi genomu tek parça nükleik asit değildir bunun yerine yedi veya sekiz parçaya ayrılmış negatif polariteli RNA içerir (Bouvier ve Palese, 2008). Her bir parça, proteine kod olan bir veya iki gen bulundurur. Örneğin; influenza A, 8 parça üzerinde 11 proteini kodlayan 11 gen bulundurur: hemagglutinin (HA), nöraminidaz (NA), nucleoprotein (NP), M1, M2, NS1, NS2 (NEP: nuclear export protein), PA, PB1 (polymerase basic 1), PB1-F2 ve PB2 (Şekil 1.5) (Ghedin vd., 2005).



Şekil 1.4 Grip virüsünün elektron mikroskopisi (Yüzey çıkıntıları hemagglutatin ve nöraminidaz glikoproteinleridir) (Credits: Rob Ruigrok/ UVHCI. Erişim tarihi: 27.12.2017).

HA ve NA viral partikülün dışında bulunan iki büyük glikoproteindir. HA bir lectindir ve virüsün hedef hücreye bağlanmasına, böylece viral genomun hedef hücreye girişine aracılık eder. NA ise oluşan oğul virüsün enfekte olmuş hücreden salıverilmesiyle görevlidir. Bunu olgun viral partiküllere bağlanmış şekerleri yararak yapar (Suzuki, 2005). Bu proteinler antiviral ilaçlar için hedeftir (Wilson ve von Itzstein, 2003). Dahası bunlar antikorların oluşması için antijendir.

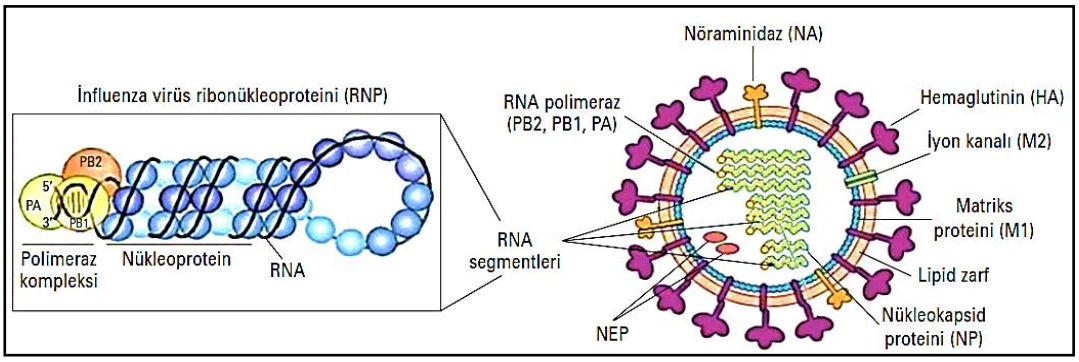
Influenza A virusleri HA ve NA glikoprotinlerine cevap olan antikorlara bağlı olarak alt tiplere ayrılır ve alt tip adlandırılması bu glikoproteinlere göre yapılır. HA ve NA formlarının farlı tipleri örneğin H5N1'de olduğu gibi H ve N ayrımının temelidir (Hilleman, 2002). 2019 yılı itibari ile 18 H alt tipi ve 11 N alt tipi tanımlanmıştır. Potansiyel kombinasyonların çoğu kuşlarda rapor edilmiştir, ancak H17-18 ve N10-11

yalnızca yarasalarda bulunmuştur (Asha ve Kumar, 2019). Fakat insanlarda genellikle sadece H 1, 2, 3 ve N1 ve N2 bulunur (Lynch ve Walsh, 2007).

1.6.3. İnfluenza A virusü

İnfluenza A virüsü (Şekil 1.5) çapı yaklaşık 100 nm olan küresel bir parçacıktır. Lipit iki tabaka (konuk hücrenin plazma zarından oluşturulmuş) ile kılıflanmıştır. Bu lipit iki tabakalı zar üzerine çivilenmiş iki integral membran proteini (yaklaşık 500 hemagglutinin (H) molekülü ve yaklaşık 100 neuraminidase (N) molekülü bulunur. İki tabakalı lipit içerisinde ise yaklaşık 3000 matriksproteini molekülü ve 8 RNA parçası bulunur. 8 RNA molekülünün her biri çok sayıda nükleoprotein kopyası, kendi RNA polimerazının üç alt biriminin birkaç molekülü ve fonksiyonu bilinmeyen yapısal olmayan birkaç protein molekülü ile birleşmiştir.

A tipi virusler dört influenza tipi arasında insanlarda en patojen ve en şiddetli hastalık sebebi olandır. Bu cinsin bir türü vardır. Bu influenza A virüsüdür. Yabani su kuşları influenza A virüsünün birçok türü için doğal konaktır. Bazen virüsler diğer türlere transfer edilerek kümes hayvanları üzerinde veya insanlarda tahrip edici yıkımlara ve ölümlere sebep olarak büyük salgınlara ve pandemilere neden olabilmektedir (Klenk vd., 2008). İnfluenza A virüsüne cevap olan antikorlara bağlı olarak alt tiplere bölünmüştür. İnsanlarda görülmüş alt tiplerden birkaçı aşağıda listelenmiştir (Hay vd., 2001).



Şekil 1.5 İnfluenza virüsünün yapısı (www.virology.ws/influenza-virion.jpg'den değiştirilerek)

- H1N1, İspanyol gribi (1918) ve domuz gribi (2009) sebep olmuştur.
- H2N2, Asya gribine (1957) sebep olmuştur.
- H3N2, Hong Kong gribine (1968) sebep olmuştur.

- H5N1, kuş gribine (2004) sebep olmuştur.
- H7N7, olağandışı zoonotik potansiyele sahiptir (Fouchier vd., 2004).
- H1N2, insanlara, kuşlara ve domuzlara özgüdür.

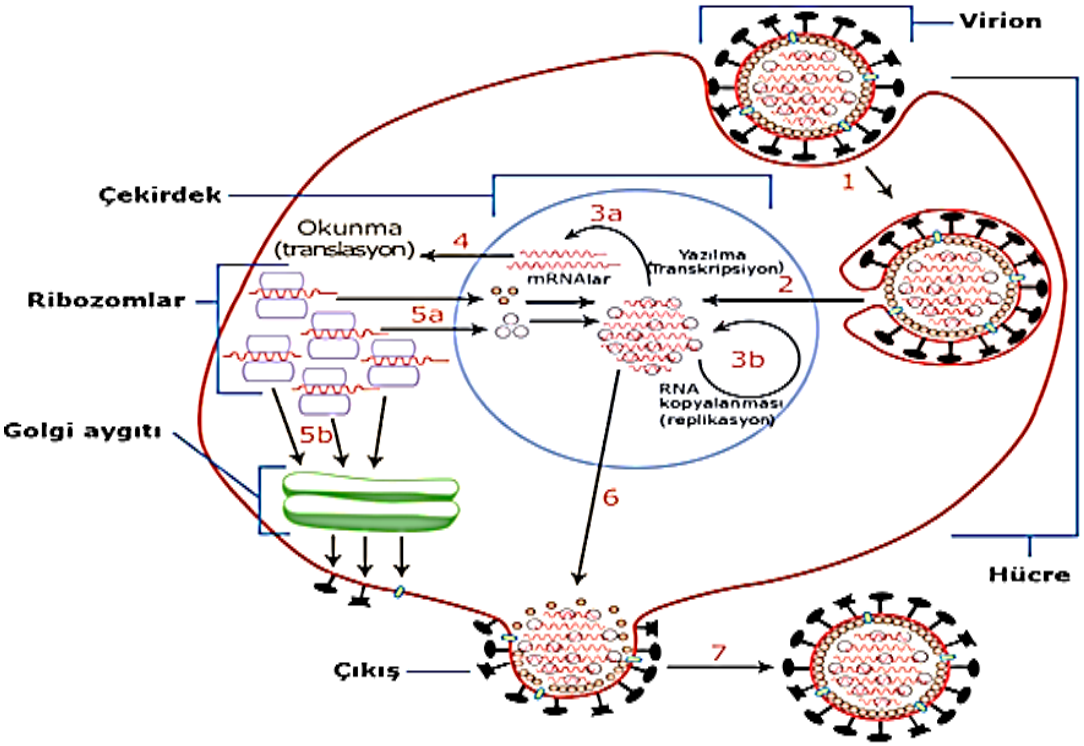
İnfuenza A genomu 8 parçasında 11 proteni kodlayan 11 gen içerir (Şekil 1.5).

1. HA geni: Hemagglutinini kodlar.
2. NA geni: Nöraminidazı kodlar
3. NP geni: Nükleoproteini kodlar. Influenza A, B ve C virusü farklı nükleoproteine sahiptir.
4. M geni: İki proteini kodlar (RNA'nın farklı okuma bölümlerini kullanarak); matriks proteini (M1- Şekil 1.6'da mavi ile gösterilmiş) ve iyon kanalı (M2).
5. NS geni: Yapısal olmayan iki farklı proteini kodlar (RNA'nın farklı okuma bölümlerini kullanarak). Bunlar enfekte olan hücrenin sitozolünde bulunur fakat virüsün kendisinde bulunmaz.
6. RNA molekülü: RNA polimeraz alt birimi PB2'yi kodlar.
7. RNA molekülü: Aynı RNA segmentinden farklı okuma çerçeveleri kullanarak hücre ölümünü indükleyen RNA polimeraz alt birimini (PB1) ve PB1-F2 proteinini kodlar.
8. RNA molekülü: RNA polimeraz alt birimini (PA) ve konak transkripsiyonunun kapanmasında rolü olan PA-X proteinini kodlar (Khaperskyy vd., 2016).

1.6.4. Çoğalma (Replikasyon)

Virüsler, sadece canlı hücrelerde çoğalır (Smith ve Helenius, 2004). İnfluenza enfeksiyonu ve replikasyonu çok basamaklı bir süreçtir. İlk olarak virüs hücreye bağlanmak ve girmek zorundarır. Sonra genomunu, viral proteinlerin kopyalarını ve RNA'larını üretebileceği yere aktarmalı, üretilen bileşenleri yeni viral partiküller içinde bir araya getirmeli ve son olarak konuk hücreyi terk etmelidir (Bouvier ve Palese, 2008).

İnfluenza virusü hemagglutinin vasıtasıyla, solunum sistemi epitel hücre yüzeyinde bulunan sialik asit şekerlerine bağlanır (Şekil 1.6 üzerinde 1. aşama) (Wagner vd., 2002). Daha sonra hemagglutinin proteaz ile ayrıldıktan sonra hücre virüsü endositoz ile içine alır (Steinhauer, 1999).



Şekil 1.6 İnfluenza virüsünün çoğalması (YK Times 2007, https://commons.wikimedia.org/wiki/ File: Virus_Replication.svg)

Hücre içinde, endozomdaki asidik koşullar iki olayın olmasını sağlar: Önce hemagglutinin protein parçası viral zarf ve koful zarını kaynaştırır sonra M2 ion kanalları protonların viral zarf boyunca hareket etmesini ve çekirdek asidetisini artırmayı sağlar. Bu ise çekirdeğin viral RNA ve çekirdek proteinlerini serbest bırakmasına sebep olur (Bouvier ve Palese, 2008). Böylece viral RNA (vRNA) molekülleri, aracı proteinler ve RNA-bağımlı RNA polimeraz sitoplazma içerisinde serbest olur (2. aşama) (Lakadamyali vd., 2003).

Bu çekirdek proteinleri ve vRNA bir kompleks oluşturarak, RNA bağımlı RNA polimerazın, pozitif duyarlı tamamlayıcı vRNA transkripsiyonuna başlayacağı hücre çekirdeğine taşınır (3a ve 3b aşamaları) (Cros ve Palese, 2003). vRNA sitoplazmaya aktarılarak okunur (4. aşama) veya çekirdekte kalır. Yeni sentezlenmiş viral proinler ya golgi cisimciği ile hücre yüzeyine salgılanır (nöraminidaz ve hemagglutinin oluşturmak üzere, 5b aşaması) veya vRNA'ya bağlanarak yeni viral genom partikülleri oluşturmak üzere tekrar çekirdeğe nakledilir (aşama 5a). Diğer viral proteinler konak hücre üzerinde, hücresel mRNA'yı parçalamak, salıverilmiş nükleotidleri vRNA

sentezi için kullanmak ve konak hücre mRNA'sının translasyonunu inhibe etmek gibi çoklu aksiyona sahiptirler (Kash vd., 2006).

Yavru virüslerin genomlarını oluşturacak negatif polariteli vRNAlar, RNA-bağımlı RNA polymeraz ve diğer viral proteinler bir virion içine monte edilir. Hemagglutinin ve nöraminidaz molekülleri bir çıkıntı içinde kümelenir. vRNA ve viral çekirdek proteinleri çekirdeği terkeder ve bu zar çıkıntısına girer (6. aşama). Olgun virüs konak hücrenin fosfolipit zarıdan yapılmış bir küre içinde (hemagglutinin ve nöraminidazı bu zarın kabuğundan edinerek) tomurcuklanarak ayrılır (7. aşama) (Nayak vd., 2004). Daha önce olduğu gibi, virüsler hemaglutinin yoluyla hücreye yapışır. Nöraminidaz konakçı hücreden sialik asit kalıntılarını kopardıktan sonra oğul virüsler konak hücreden ayrılırlar (Wagner vd., 2002). Nöraminidazı inhibe eden ilaçlar, mesela Oseltamivir, bu sebeple yeni enfekte edici virüslerin salı verilmesini önleyerek viral replikasyonu durdurur (Wilson ve von Itzstein, 2003). Yeni influenza virüslerinin salınmasından sonra konak hücre ölür. Tomurcuklanarak konak hücreden ayrılan oğul virüsler yeni hücrelere yayılır. Sonuç viral zatürredir. Genellikle hastayı öldürmez (1918 pandemisi hariç; bazı kurbanlar birkaç saatte ölmüştür.) fakat akciğerleri enfekte ederek ölümcül olabilecek çeşitli bakteriyel işgalcilere açar.

1.6.5. Epidemik ve pandemik yayılma

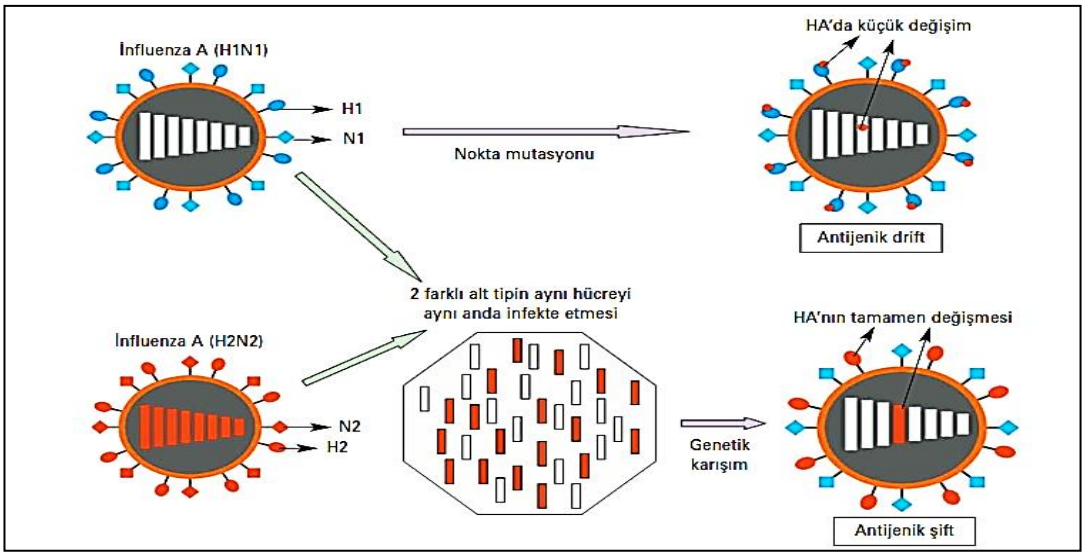
İnfluenza birçok çeşit virüs ve suşları (alt tip) sebebiyle olabildiğinden, herhangi bir senede bir alt tip ölürken diğer bir virüs alt tipi epidemiye başka bir alt tip ise pandemiye sebep olabilmektedir. Mouritz dünya grip tarihi ile ilgili yazdığı kitapta (Mouritz, 1921) 1890'a dek ilki 1510'da görülen dokuz grip pandemisi gerçekleştiğini belirtmiştir. Modern çağlarda gerçekleşen altı pandemi ile ilgili bilgiler Tablo 1.3.'te gösterilmiştir. Tipik olarak bir senede iki grip sezonu (yarımküre başına bir) vardır. Bu sezonlarda grip dünya nüfusunun %5-15'ini enfekte eder (Allen ve Ross, 2018; Vemula vd., 2016) dünya genelinde senede teşhis edilen 3 milyon ile 5 milyon arasında grip vakası (Krammer vd., 2018; Sautto vd., 2018) ve 290.000-650.000 varan ölüm olmaktadır (Allen ve Ross, 2018; Lampejo, 2020). Her yıl yetişkinlerin %5–10'u ve çocukların %20–30'u grip hastalığına yakalanmaktadır (Asha ve Kumar, 2019. Rapor edilen grip vakası sayısı genellikle gerçek vaka sayısından çok daha düşüktür . Rapor edilen grip vakası sayısı genellikle gerçek vaka sayısından çok daha düşüktür ;

Krammer vd., 2018; Principi ve Esposito, 2018). Kabaca her yüzyılda 3 kez, dünya genelinde, insan populasyonunun büyük bir kısmını enfekte eden, 10 milyonlarca insanın ölümüne sebep olabilen pandemiler olmaktadır. Çalışmalar 1918 influenza alt tipine benzer enfekte gücüne sahip bir alt tipin ortaya çıkması günümüzde gelişirse 50 ile 80 milyon arasında insanın ölebileceğini göstermektedir (Murray vd., 2006).

Tablo 1.3 Başlıca modern dönem grip pandemileri (Hilleman, 2002; Potter, 2001).

İsim	**Tarih**	**Dünya nufusu**	**Alttip**	**Hasta**	**Ölüm**
1889–90 grip pandemisi	1889–90	1,53 milyar	H3N8 veya H2N2 olabilir	20–60% (300–900 milyon)	1 milyon
İspanyol gribi	1918–20	1,80 milyar	H1N1	33% (500 milyon) veya >56% (>1 milyar)	17–100 milyon
Asya gribi	1957–58	2,90 milyar	H2N2	>17% (>500 milyon)	1–4 milyon
Hong Kong gribi	1968–69	3,53 milyar	H3N2	>14% (>500 milyon)	1–4 milyon
1977 Rusya gribi	1977–79	4,21 milyar	H1N1	?	0,7 milyon
2009 domuz gribi	2009–10	6,85 milyar	H1N1/09	11–21% (0.7–1,4 milyar)	151,700–575.400
Tipik mevsimsel grip (pandemi değil)	Her yıl	7,75 milyar	A/H3N2, A/H1N1, B, ...	5–15% (340 milyon – 1 milyar) 3–11% veya 5–20% (240 milyon – 1,6 milyar)	290.000–650.000/yıl

Yeni influenza virüsleri sık sık mutasyon ve yeniden düzenlenme ile evrimleşir (Şekil 1.7). RNA düzeltme enziminin olmamasından dolayı, viral genomu kopyalayan RNA-bağımlı RNA polimeraz ortalama her 10 bin nükleotitte (yaklaşık influenza vRNA uzunluğu kadar) bir hata verir. Bu sebeple yeni üretilmiş influenza virüslerin çoğunluğu mutanttır. Mutasyon virüsün yüzeyinde bulunan hemagglutinin ve nöraminidaz antijenleri üzerinde küçük değişmelere sebep olabilir. Bu antijenik kayma (drift) olarak adlandırılır ve yavaşça artan alt tip çeşitliliği oluşturarak sonunda biri gelişip önceki alt tiplere bağışıklığı olan insanları enfekte edebilecek hale ulaşır. Bu yeni çeşitler sonra eskilerin yerine geçip insan popülâsyonuna hızla yayılarak epidemiler oluşturur (Wolf vd., 2006). Fakat yeni alt türler drift ile oluştuklarından hala eski alt tiplerle benzerlik göstereceklerdir ve bazı insanlar bunlara bağışıklık gösterebilecektir.



Şekil 1.7 İnfluenza virüslerinde antijenik sürüklenme (drift) ve antijenik değişme (şift) (Us, 2010).

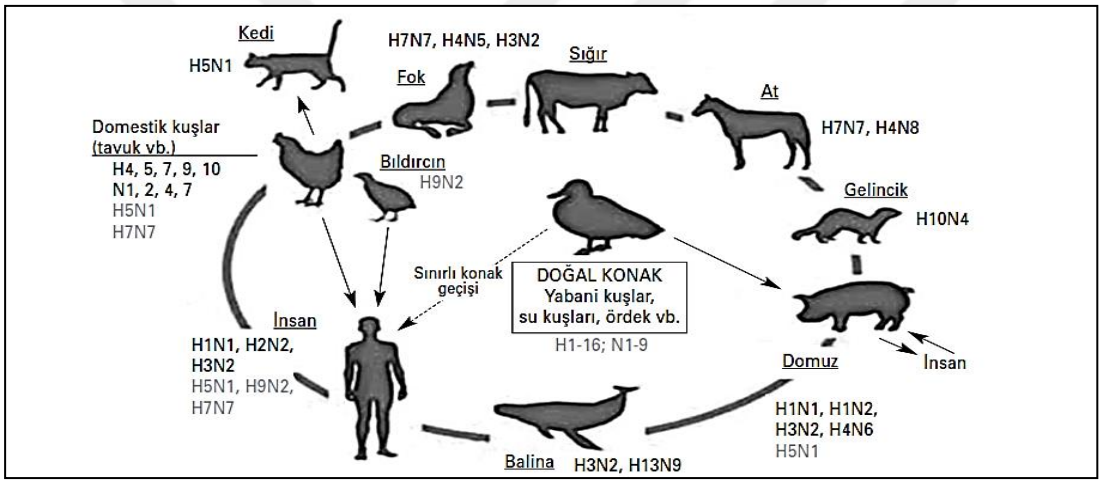
Genomunun 8 ayrı vRNA segmentine ayrılmış olması birden fazla tip influenza virüsünün aynı hücreyi enfekte etmesi sırasında vRNAların karışması veya yeniden düzenlenmesine (örneğin kuş gribi ve insan gribi arasında yeniden düzenlenme) olanak verir. Sonuç hızlı viral genetik değişmelerdir ve bu antijenik değişme(shift) denilen bir antijenden diğer antijene ani değişimdir. Bu ani büyük değişiklikler virüsün yeni konak türlerini enfekte etmesine ve koruyucu bağışıklığı hızlı bir şekilde aşmasına izin verir (Hilleman, 2002). Bağışıklık kazanımına sahip olmadığımız bu mutant türler pandemilerin de esas sebebidir. Eğer insan influenza virüsü oluştuysa, bu tamamiyle yeni antijenler içereceğinden tüm insanlar buna karşı savunmasız olacaktır ve bu yeni virüs kontrol edilemeyecek şekilde yayılıp pandemi olarak bilinen büyük salgınlara sebep olacaktır (Parrish ve Kawaoka, 2005)

Halk sağlığı bakış açısıyla grip epidemisi çok hızlı yayılır ve kontrol edilmesi çok zordur. Birçok influenza virüsü alt türü çok bulaşıcı değildir ve her enfekte olmuş birey yaklaşık iki başka bireye enfeksiyonu bulaştırır (influenza virüsü için basit çoğalma sayısı genellikle bir-dört arasındadır). Fakat virüs için kuşak süresi çok kısadır. Enfekte olmuş bir bireyin bir sonraki bireyi enfekte etmesi sadece iki gün içinde olabilir. Kısa nesil süresi influenza epidemisinin 2-3 ayda zirveye ulaşması demektir. Bu sebeple bir influenza epidemisine müdahale kararı erken alınmalıdır. Dolayısıyla müdahale kararı genellikle tamamlanmamış verilere dayanmaktadır. Başka bir problem ise bireylerin semptomları göstermeden evvel enfekte olmuş olmalarıdır ki bu insanları karantinaya alarak halk sağlığını korumaya çalışmanın etkili bir yol

olmadığı anlamına gelir (Ferguson vd., 2005). Ortalama bir birey için viral yayılım ikinci günde zirve yaparken semptomlar üçüncü günde zirve yapmaktadır (Carrat vd., 2008).

1.6.6. İnfluenza virüslerinin konak özgüllüğü

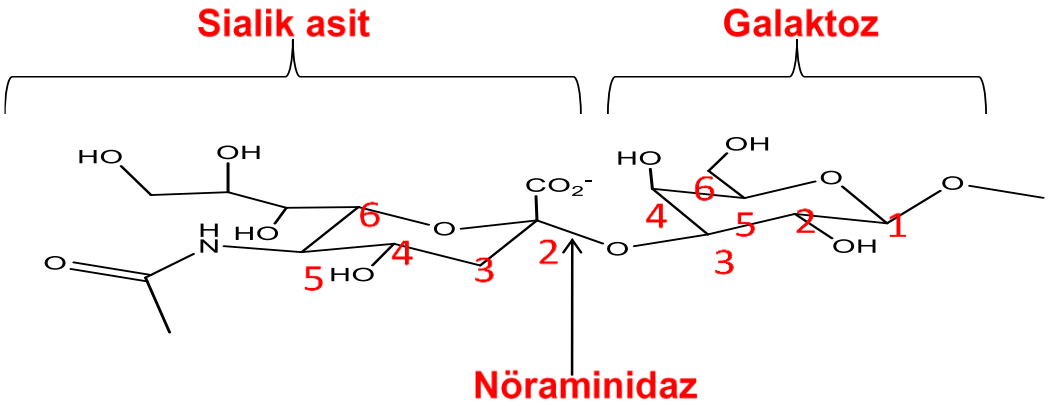
Yabani kuşlar, influenza tip A virüslerinin doğal konağı ama bu virüsler evcil kuşlar, domuz, at, sığır, gelincik, deniz memelileri gibi pek çok canlıyı konak edinebilir (Şekil 1.8). Özellikle evcil domuzlar hem insan hem de kuşları konak edinen virüslerin kesişiminde bulunduğundan kuşları ve insanları konak edinen virüs tiplerinin yeniden düzenlenme geçirmesi açısından uygun ortam sağlar.



Şekil 1.8 İnfluenza A virüs alt tiplerinin konak dağılımı ((Us, 2010), www.nanocid.com'dan alınmıştır.).

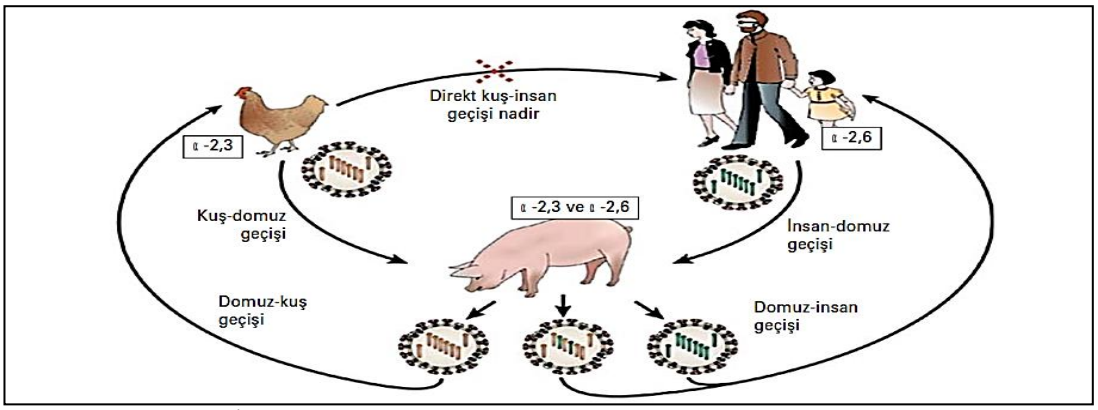
Sekizer parça içeren iki farklı virüs tipinin aynı hücreyi infeksiyonu sonunda spontan olarak 256 gen kombinasyonu olasılığı vardır. Genetik karışım (genetic reassortment) olarak bilinen bu olay, viral antijenlerin tamamen değişimiyle sonuçlanır ve oluşan yeni tipler pandemilere yol açabilir (Us, 2010).

Farklı tür canlılarda ve aynı canlının farklı organlarında sialik asit ve galaktoz moleküllerinin bağlanması farklılıklar gösterebilir (Şekil 1.9) (Lamblin vd., 1984; Shinya vd., 2006).



Şekil 1.9 Sialik asit ve galaktoz moleküllerinin bağlanması

Hücre yüzeyi reseptörlerinden olan sialik asit moleküllerinin (SA) galaktoz molekülü (Gal) ile bağlanma bölgesi influenza vürüslerinin konak özgüllüğünü belirler. Örneğin influenza A virüsünün insan alt tiplerinden olan mevsimsel H1N1 galaktoz ile α-2,6 bağları yapan sialik asit moleküllerinin (SAα2,6Gal) bulunduğu hücreleri tercih eder. Bu moleküller insan solunum yolu epitel hücrelerinde bol miktarda bulunur. Buna karşın örneğin influenza A virüsü kuş alt tipi olan H5N1 galaktoz ile α-2,3 bağları yapan sialik asit moleküllerinin (SAα2,3Gal) bulunduğu hücreleri enfekte eder (Rogers ve Paulson, 1983). Bu hücreler ise kanatlıların bağırsaklarında bol miktarda, insan epitelyum hücrelerinde ise az miktarda bulunmaktadır. Domuzların trakeal epitelyum hücrelerinde ise hem (SAα2,3Gal) hem de (SAα2,6Gal) molekülleri bulunduğundan (Şekil 1.10) domuz hücre reseptörleri insan ve kuş alt tiplerinin tutunmasına ve aynı hücreyi enfekte etmesine olanak sağlayarak bu alt tiplerin karışıma uğraması için ortam sağlamış olur (Sullivan vd., 2010; Us, 2010).



Şekil 1.10 İnfluenza Avirüslerinin konak özgüllüğü ((Us, 2010), http://www.nature.com/nrmicro/journal /v4/n11/images/nrmicro1530-f2.jpg)

1.6.7. Tedavi

İnfluenzaya yakalanan hastaların iyi dinlenmeleri, bol sıvı içmeleri, alkol ve tütünden sakınmaları önerilir. Gerekli ise ateş düşürme ve kas ağrıları için asetaminofen (acetaminophen, paracetamol) gibi bir ilaç kullanılabilir. Çocuklar ve gençler grip septomları gösteriyorsa asprin kullanmaktan sakınmalıdır (özellikle influenza B tipinde) çünku bu potansiyel ölümcül bir akciğer hastalığı olan Reye sendromuna sebep olabilir (Glasgow ve Middleton, 2001). İnfluenza bir viral hastalık olduğundan antibiyotikler enfeksiyonu tedavide etkili olmaz ancak bakteriyel pnömoni gibi ikincil enfeksiyonlarda reçete edilebilir. Antiviral tedavi etkili olabilir fakat bazı alt türler standart antivirallere karşı direnç gösterebilir (Hurt vd., 2006). Antiviral ilaçların iki sınıfı influenzaya karşı kullanılmıştır; M2 protein inhibitörleri ve nöraminidaz inhibitörleri.

M2, virüs yüzeyinde bulunan viral iyon kanallarıdır. Antiviral ilaçlar Amantadine ve Rimantadine viral iyon kanalını (M2 protein) bloke eder ve böylece virüsün hücreyi enfekte etmesini önlerler (Pinto ve Lamb, 2006). Bu ilaçlar influenza A'ya karşı enfeksiyonun erken teşhisi ile etkili olabilir fakat influenza B'ye karşı daima etkisiz olur çünkü influenza B M2 molekülleri bulundurmazlar (Stephenson ve Nicholson, 1999). H3N2 alt tipinin 2005 yılında yapılan ölçümlere göre Amatadin ve Rimatadin antivirallerine karşı direnci %91'e yükselmiştir (Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2006). Bu yüksek düzeyde direnç, Amantadinin kolay ulaşılabilirliği, Çin, Rusya gibi ülkelerde reçetesiz satılması (Bright vd., 2005) ve kümes hayvanları ölümlerini önlemek için kullanılması sebebiyle olabilir (Ilyushina vd., 2005; Parry, 2005). CDC 2005–06 influenza sezonunda M2 inhibitörlerinin kullanılmasını virüsün yüksek direnç oluşturmuş olması sebebiyle önermemiştir.

Oseltamivir (Tamiflu®), Zanamivir (Relenza™) ve Peramivir (Rapivab®) nöraminidaz inhibitörü olarak kullanılan antiviral ilaçlardır. Nöraminidaz inhibitörleri, sialik asidin nöraminidaz reseptöründeki aktif bölgeye bağlanmasını taklit ederek nöraminidaz reseptörünü bloke etmeyi hedefler. Bu sayede enfekte hücrelerden yavru hücrelerin salınımı engellenir ve viral replikasyon hızı düşer (Ghebrehewet vd., 2016).

1.6.8. Mevcut Tedavilerin Yetersizlikleri ve Nedenleri

İnfluenza özellikle son yüzyılda milyonlarca insanın ölümüne sebep olduğundan influenza üzerine çok fazla ilaç geliştirme çalışması yapılmıştır. Ama antiviral ilaç geliştirmek diğer pek çok ilacı (örneğin antibiyotik) geliştirmekten çok daha zordur. Antibakteriyel ilaçlara nazaran çok az sayıda antiviral ilaç vardır çünkü birçok virüs canlı konak hücresini işgal ederek ve hücre mekanizmasını kullanarak çoğalır. Virüsleri öldüren çok sayıda ajan vardır fakat bu maddelerin çoğu konak hücreyi de öldürür. Dolayısıyla amaç virüs için benzersiz olan moleküler mekanizmayı hedef alan ilaç bulmaktır. Bu moleküler mekanizmanın detaylarını öğrendikçe başarılı bir ilaç geliştirme şansımız artacaktır. Günümüzde influenza virüsünün etki mekanizması nispeten iyi bilinmesi elimizi güçlendirmiş olmasına rağmen bu virüslere karşı yukarıda sayılan sebeplerden dolayı hala yeterli ilaç gücüne sahip olduğumuz söylenemez.

1.7. Tezin Amacı

Halk sağlığını korumak için influenzaya karşı sürekli çalışma içinde ve tetikte olmamız gerekliliğini tarihte her yüzyılda gerçekleşmiş olan 3-4 pandemi, 4-5 epidemi, her sene gerçekleşen yaklaşık 650.000'i bulan ölüm vakası, 3- 5 milyon hastahane tedavisi gerektiren hastalanma olayı, nüfusun %5-15'inin enfekte olması gibi sayılar göz önüne sermektedir. İnsanları ve pek çok hayvanı konak edinmiş ve sürekli dolaşımda olan influenza gibi virüsler her an kırılabilecek fay hatları gibidir ve her an bir yeniden genetik düzenleme ile pandemi oluşturabilecek potansiyele sahiptir çünkü konak ve yayılım sayısı arttıkça ihtimal kombinasyonlarının sayısı artmaktadır. İnfluenza virüsünün en yaygın virüslerden olması, çok sayıda konağa sahip olması, çok sayıda alt tipinin bulunması, hızlı mutasyon potansiyeline sahip genetik yapısı, halihazırda var olan ilaçlara karşı virüsün geliştirdiği direnç gibi sebeplerle yeni ilaçların bulunması gerekliliği halen devam etmektedir.

Bu tez çalışmasında CADD yöntemleri kullanılarak özellikle son yüzyılda pandemi oluşturan ve insanlarda dolaşımda olan influenza nöraminidazlardan N1 ve N2 alt tipleri içeren H1N1, H5N1, H2N2, H3N2 ve bunların dünya hastalıkları önleme merkezi (CDC) tarafından tavsiye edilen (Oseltamivir (Tamiflu®), Zanamivir (Relenza™) gibi FDA onaylı antiviral ilaçlara karşı direnç oluşturmuş suşlarının

nöraminidazlarını hedef alan (anti-influenza nöraminidaz) etkisi gösteren potansiyel moleküller bulunmaya çalışılmıştır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

İnfluenza virüsü, yıllık mevsimsel salgınlara ve ara ara meydana gelen küresel pandemilere neden olarak tarih boyunca insan ırkını sarsmıştır. Virüs muhtemelen binlerce yıl boyunca insanlarla birlikte yaşadı ve evrildi. Aslında, tıbbi tarihçiler, M.Ö. 412'de Hipokrat tarafından ayrıntılı olarak tanımlanan üst solunum yolu enfeksiyonu salgını olan Perinthus öksürüğünün ana etiyoloji olduğundan şüphelenmektedir (Pappas vd., 2008). Wright vd., (Wright, 2001) 2013 yılında, 1918 H1N1 virüsünün, bir yıl içinde (Eylül 1918- Mart 1919), HIV (insan bağışıklık yetmezliği virüsü)'in ilk 25 yıllına denk sayıda insanı öldürdüğünü belirtmiştir (Wohlbold ve Krammer, 2014). Grip mevsiminin uzunluğu ve şiddetindeki aşırı değişkenlik nedeniyle grip kaynaklı mevcut ölüm sayısının hesaplanması zordur. Bununla birlikte, WHO, mevsimsel grip salgınlarının dünya genelinde yılda 290.000–650.000 ölüme neden olduğunu tahmin etmektedir. Dahası, influenza epidemileri, hastalığın maliyeti, iş gücü kaybı ve diğer parametrelerin maliyetini hesaba katarak, yalnızca örneğin 2003 mali yılında ABD'ye 87,1 milyar dolara mal olan muazzam bir mali yük oluşturmuştur (Molinari vd., 2007).

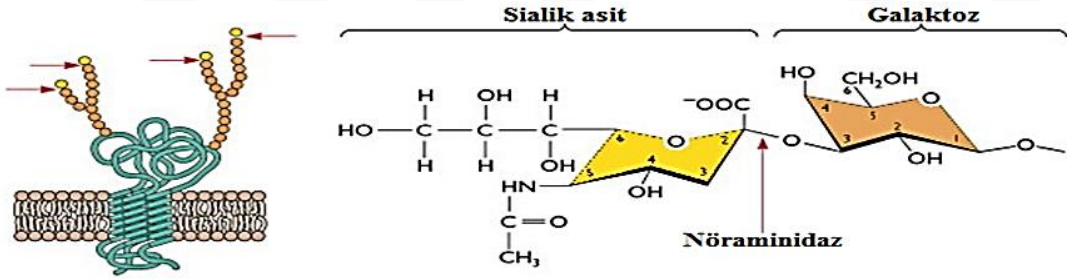
İnfluenza salgın riski ve sorunsal varlığı günümüzde devam etmektedir. Herhangi bir zamanda, herhangi bir konakta (fok, at, kümes hayvanları, insan gibi) toplu ölümlere sebep olan bir pandemi oluşabilir. Yıkımın etkin bir şekilde önlenmesi, minimal yan etkilere ve viral dirence sahip tüm grip türlerine karşı etkili olan bir ilaç gerektirir. Aşılar virüsün hızlı değişimlere uğraması sebebiyle sadece kısmen etkilidir. İnfluenza A virüslerine karşı klinik olarak kullanılan iki bileşik Amantidin ve Rimantidin yan etkilere sebep olmaktadır ve viral dirençleri hızla yüksek değerlere ulaşmıştır. İnfluenza NA'nın kristal yapısının aydınlatılması ve yapı temelli ilaç tasarımının geliştirilmesi influenzaya karşı ilaç geliştirmede elimizi güçlendirmiştir. Bu bilgiye dayalı ilaçlardan birkaçı influenza viral glikoproteinlerinden biri olan nöraminidazı inhibe etmek için ilk defa 1983'te yayınlanan NA kristal yapısını kullanarak geliştirilmiştir (Wade, 1997).

Nöraminidazın hikâyesi, ilk insan influenza virüsü izole edildikten yaklaşık on yıl sonra, 1940'ların başlarında başladı (Garman ve Laver, 2005). George Hirst, 1940'larda "reseptör yok eden enzim" olarak adlandırılan şeyin varlığını keşfettikten

kısa bir süre sonra, bilim adamları, nöraminidazın influenza virüsü enfeksiyonuyla mücadelede terapötik bir yaklaşım olarak hedef alınabileceğini anladılar (Hirst, 1942). Alfred Gottschalk, Melbourne ve Avustralya'daki Eliza Hall Enstitüsü'nde, bu enzimin substrat üzerindeki etkisinin muhtemelen "bölünmüş bir ürün" verdiğini düşünüyordu. Bu bölünmüş ürün sonunda izole edildi ve sialik asit veya N-asetil nöraminik asit olarak karakterize edildi. Bununla birlikte influenza virüsünün enzimi sialidaz veya nöraminidaz olarak anılmaya başlandı (Gottschalk, 1957). Daha sonra sialidazların doğada oldukça yaygın olduğu keşfedildi. Diğer virüsler, bakteriler, memeli hücreleri ve bazı parazitlerin hepsinin kendi sialidaz enzimlerine sahip olduğu anlaşıldı.

2.1. Nöraminidaz ve Viral Nöraminidazın Alt Türleri

Nöraminidazlar, nöraminik asitlerin glikosidik bağlarını kıran glikosid hidroliz enzimleridir. Nöraminidaz enzimleri bir dizi organizmada bulunan geniş bir enzim familyasıdır. Nöraminidazlar, sialidazlar olarak da bilinir ve örneğin virüslerde yeni oluşturulmuş virüslerin ve konak hücre reseptörlerinin terminal sialik asit kalıntılarının (Şekil 2.1) hidrolizini katalizler (von Itzstein, 2007).



Şekil 2.1 Nöraminidazın etki bölgesi (www.virology.ws Index of /wp-content/uploads/2009/05)

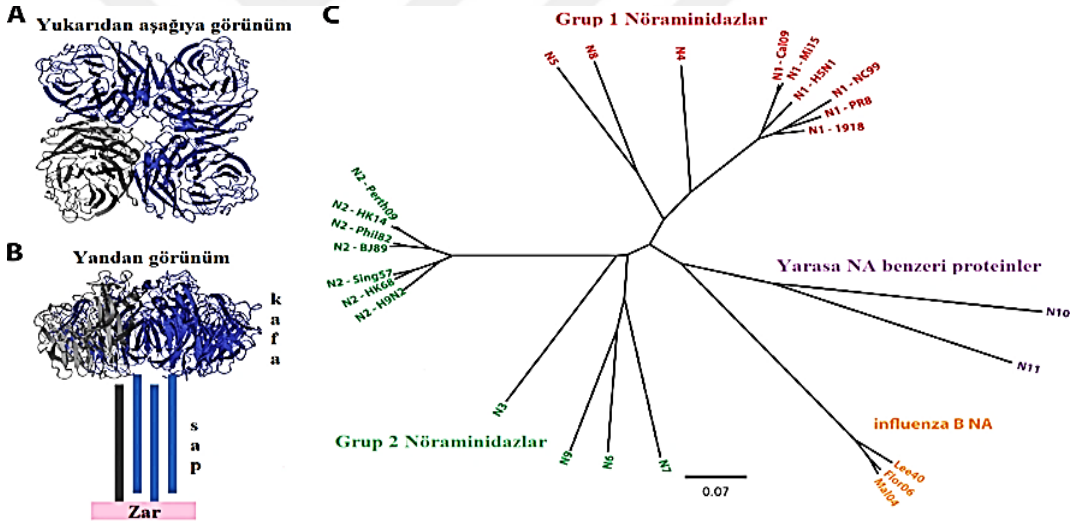
Nöraminidazın endo ve ekzo polisialik asitleri ayıran iki ana sınıfı vardır:

- α-(2→3)-, α-(2→6)-, α-(2→8)-uç sialik asit kalıntılarının glikosidik bağlarının kalıntılarını ekzo hidrolizi (Cabezas, 1991; Schauer, 1982).
- Oligo veya poli(sialik) asitlerin (2→8)-α-sialosil bağlarının endo hidrolizi (Cabezas, 1991).

Nöraminidaz enzimlerinin başlıca sınıfları; viral nöraminidaz, bakteriyal nöraminidaz ve memeli nöraminidazlarıdır. En iyi bilinen nöraminidaz viral nöraminidazdır ve influenza enfeksiyonlarının önlenmesi için ilaç hedefi olarak incelenmektedir. Viral

nöraminidazlar çoğunlukla antijenik faktör olarak kullanılır ve influenza virüsünün yüzeyinde bulunur. İnfluenza nöraminidazın bazı varyantları virüsü diğerlerinden daha fazla öldürücü yapar. Sialidazın virüs parçacıklarının solunum yolu mukusu içerisindeki hareketliliğini ve yeni oluşan virüsün enfekte olmuş hücreden ayrılmasını sağladığı düşünülmektedir (Liu vd., 1995; Palese vd., 1974).

İnfluenza C virüsleri için sadece bir, B virüsleri için iki NA alt tipi mevcutken, influenza A için NA'nın antijenik özelliklerine göre dokuz alt tipi tanımlanmıştır (N10 ve N11 yarasalarda keşfedilmiştir). İnfluenza A NA'nın dokuz alt tipi iki filogenik gruba ayrılır (Şekil 2.2). Birinci grup N1, N4, N5 ve N8 alt tiplerinin nöraminidazlarından, ikincisi ise N2, N3, N6, N7 ve N9 alt tiplerinden oluşur (Shtyrya vd., 2009).



Şekil 2.2 Nöraminidaz yapısı ve filogenisi (Kramer vd., 2018)

2.2. Viral Nöraminidazın Yapısı

İnfluenza virüsünün yapısını anlamak için önce virüs parçacıklarının deterjanlarla parçalandığı deneyler yapıldı ve bozulmuş virüs parçacıkları, selüloz asetat şeritleri üzerinde elektroforeze tabi tutuldu (Laver, 1964). Bu süre zarfında, negatif boyanmış influenza virüs parçacıklarının ilk elektron mikroskobu görüntüleri elde edildi. İzole edilmiş nöraminidazın sonraki elektron mikrografları Nick Wrigley tarafından incelendi ve baş kısımlarının tetramerler şeklinde olduğu görüldü (Wright, 2001). Baş kısmını virüsün lipit çift tabakasına bağlamaya hizmet eden ince sap kısım da görüntülendi. Çözünebilir nöraminidaz "başları" parçacıkların proteolitik enzimlerle,

örneğin pronaz veya tripsin ile işlenmesiyle bazı grip virüsü suşlarından salınabilir. Bu proteazlar nöraminidazın sapını, nöraminidaz polipeptidinin 75. kalıntısından ayırır ve grip virüsü nöraminidazının tüm enzimatik ve antijenik aktivitesini taşıyan kutu şeklindeki "baş" kısmı serbest bırakır. 1978'de bir dizi H2N2 ve H3N2 influenza virüsünün pronaz tarafından salınan nöraminidaz "başları" kristalize edildi (Laver, 1978). Alt tip N2 enziminin 2,9 Å çözünürlükteki üç boyutlu yapısı daha sonra X-ışını kristalografisi kullanılarak belirlendi (Varghese vd., 1983).

N4 ve N7 dışındaki tüm influenza nöraminidazları kristalize edilmiştir. N2 (Varghese vd., 1983), N9 (Baker vd., 1987), N8 (Taylor vd., 1993), N6 (Garman ve Laver, 2005) ve B tipi (Burmeister vd., 1992) için nöraminidaz kristal yapıları elde edilmiştir. N9, N8, N6 ve influenza tip B nöraminidazları, nöraminidaz polipeptit zincirinin aminoasit dizisinde %75'e kadar farklılığa rağmen N2 nöraminidazına benzer genel bir topolojiye sahiptir (Garman ve Laver, 2005).

NA'nın aminoasit dizisi altıncı RNA segmenti tarafından kodlanır. İnfluenza nöraminidaz; influenza virüsünün yüzeyinde, mantar şekilli, kovalent bağlı olmayan bir homotetrameride düzenlenmiş dört özdeş polipeptitten oluşan tip II yekpare bir zar proteinidir. Her bir monomer yaklaşık 470 amino asit kalıntısı içerir ve dört bölgeye ayrılır: bir N-terminal sitoplazmik alanı, bir hidrofobik transmembran bölgesi, bir ince hiperdeğişken sap ve enzimatik aktif bölgeyi barındıran küresel bir baş alanı.

N-terminali sitoplazmik alanı, altı aminoasitli (MNPNQK) kısa bir zincirdir. Bu dizi, tüm influenza A alt tiplerinde yaklaşık %100 korunmuştur, ancak işlevi açık değildir (Air, 2012). Kısa sitoplazmik sekansı hemen takip eden transmembran kısım, alt tipler arasında değişkendir, fakat tüm alt tiplerde, aminoasitleri 7-29'u kapsayan bir transmembran heliksi oluşturduğu son derece güvenilir program TMHMM tarafından analiz edildiğinde tahmin edilmiştir. Transmembran sekans, NA'yı endoplazmik retikulum boyunca yönlendiren ve aynı zamanda membranda tutan bir kombine sinyal peptid-çapa fonksiyonuna sahiptir (Air, 2012). Transmembran dizisi ile küresel baş bölgesi arasında, değişken uzunlukta ve ince bir sap bulunur. Tüm NA alt tipleri, sap ve/veya transmembran bölgelerinde Cys kalıntılarına sahiptir ve bunlar disülfid bağlarıyla tetramer oluşumuna yardımcı olur (Air, 2012).

Nöraminidazın kafa kısmında enzim aktif bölgesi ve düşük pH değerlerinde enzim yapısını stabilize eden kalsiyum bağlanma alanı yer almaktadır. Enzimin kafa kısmı için bir alt türdeki suşlar arasındaki homoloji yaklaşık %90'a ulaşırken, alt tipler arasındaki homoloji ise %50 ve A ve B tipleri arasındaki homoloji ise %30 civarındadır (Colman vd., 1993). Aktif bölge, merkezi paralel şeritlerin N-terminal ucunda bulunur. Bu dörtgen ekseninden 32 Å uzaklıkta, eni 16 Å ve derinliği 8-10 Å olan bir oyuktur. Aktif yöre, bu eksenden yukarı doğru giden on iki esnek ilmik ile çevrilidir (Bossart-Whitaker vd., 1993).

Enzimin katalitik fonksiyonunu belirleyen kalıntılar (Arg118, Asp151, Arg152, Arg224, Glu276, Arg292, Arg371 ve Tyr406) (N2 numaralandırmasıyla) influenza A'nın tüm NA alt tipleri ve influenza B NA için korunmuştur. Aktif bölgenin boyutsal yapısını oluşturan aminoasitler (Glu119, Arg156, Trp178, Ser179, Asp/Asn198, Ile222, Glu227, His274, Glu277, Asp293 ve Glu425) de tüm alt tiplerde korunur (Burmeister vd., 1992; P. M. Colman vd., 1983). Glikosilasyon bölgesini oluşturan asparajin kalıntıları (özellikle Asn146) ve polipeptit zincirinin gerekli katlanmasını sağlayan ve molekülün 3 boyutlu yapısını stabilize eden prolin ve sistein kalıntıları da oldukça korunur (P.M. Colman, 1989). Fonksiyonel aminoasitler enzimatik reaksiyonun ürünü olan sialik asit ile doğrudan temas halindedir hemen hepsi sialik asitle polar kontaklar oluştururlar.

NA yapısında sekiz konservatif disülfid bağı mevcuttur. N2, N8 ve N9 alt tiplerinde bunlara ek bir bağ daha vardır. Disülfür bağlarının alttürler arasında değişmezliği, stabil bir NA yapısının oluşumundaki önemini doğrulamaktadır. Tetramer'in simetri eksenine olan yakınlığından dolayı, N1 NA'nın eşleşmemiş Cys161'inin alt birimlerin birleştirilmesinde rol aldığı varsayılmaktadır.

Grup 1 NA'nın A/Vietnam/1203/2004(H5N1) 'den N1 yapısı, N2 veya N9 yapılarında bulunmayan aktif bölgenin yanında ek bir boşluk olduğunu göstermiştir. Bu oyuk 150 ilmiğinin (147-152) hareketi tarafından oluşmakta ve ilaç tasarımı için yeni bir kapı açmaktadır. N1, N4 veya N8 NA'lar inhibitörlerle kompleks oluşturdularında, 150 ilmiğin kristal oluşum koşullarına bağlı olarak açık veya kapalı konumda olduğu

görülmüştür (Russell vd., 2006). 150 ilmiği sadece domuz kaynaklı virüs A/California/04/2009(H1N1) NA yapısında kapalı bir konfigürasyonda görülmüştür (Li vd., 2010). Bir moleküler dinamik çalışması, açık formun çözelti içinde tercih edildiğini ve açık formun, kuş N2 ve en erken insan N2 yapılarında da mevcut olabileceğini göstermiştir (Amaro vd., 2011).

2.3. Nöraminidazın Fonksiyonel Aktivitesi

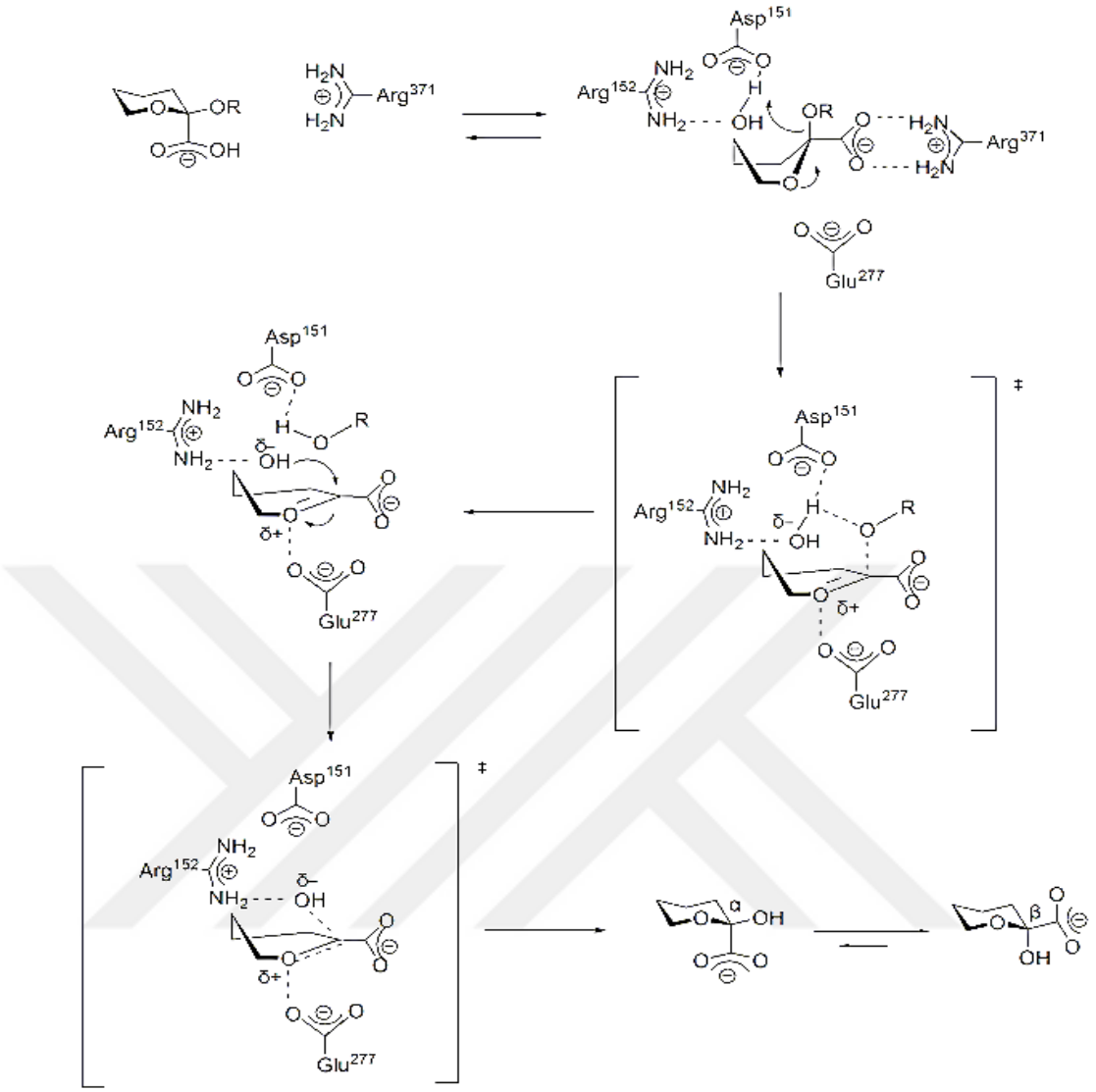
Nöraminidazın, enfeksiyonun farklı aşamalarında aktivitesinin olduğunu gösteren veriler vardır.

Öncelikle, virüsün, hedef hücrelere, solunum yolu müsinlerinden sialik asitlerin ayrılmasıyla yaklaşmasına yardımcı olduğu düşünülmektedir (Matrosovich vd., 2004). Ayrıca, viral ve hücre zarlarının füzyonunda rol oynuyor olabileceğine dair görüşler de vardır (Wagner vd., 2000).

Virüs partiküllerinin enfekte olmuş hücrelerden salınmasında nöraminidazın rolü 1974'te Meindl ve meslektaşları tarafından gösterilmiştir (Meindl vd., 1974). Ek olarak, NA'nın HA'nın reseptör bağlanma bölgesini çevreleyen oligosakkaridlerin terminal nöraminikasit kalıntılarının ayrılması yoluyla HA hemaglütinasyon aktivitesini arttırdığını gösteren veriler de vardır (Ohuchi vd., 1995).

2.3.1. Mekanizma

İnfluenza virüs sialidaz enzimatik mekanizması Taylor ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Enzim kataliz süreci dört aşamadan oluşur (Şekil 2.3). İlk basamak α-sialosidin, sialosidin sialidaz bağlanmasıyla $^{2}C_{5}$ sandalye konformasyonundan (çözeltideki en düşük enerji formu) pseudoboat konformasyonuna çevrilmesini içerir. İkinci basamak oksokarbokatyon araürünü (sialosil katyonu) oluşumunu sağlar. Üçüncü basamak başlangıçta α-anomer olan Neu5Ac oluşumudur sonra mutarotasyonla termodinamik kararlı olan β-Neu5Ac oluşur (N. R. Taylor ve von Itzstein, 1994).

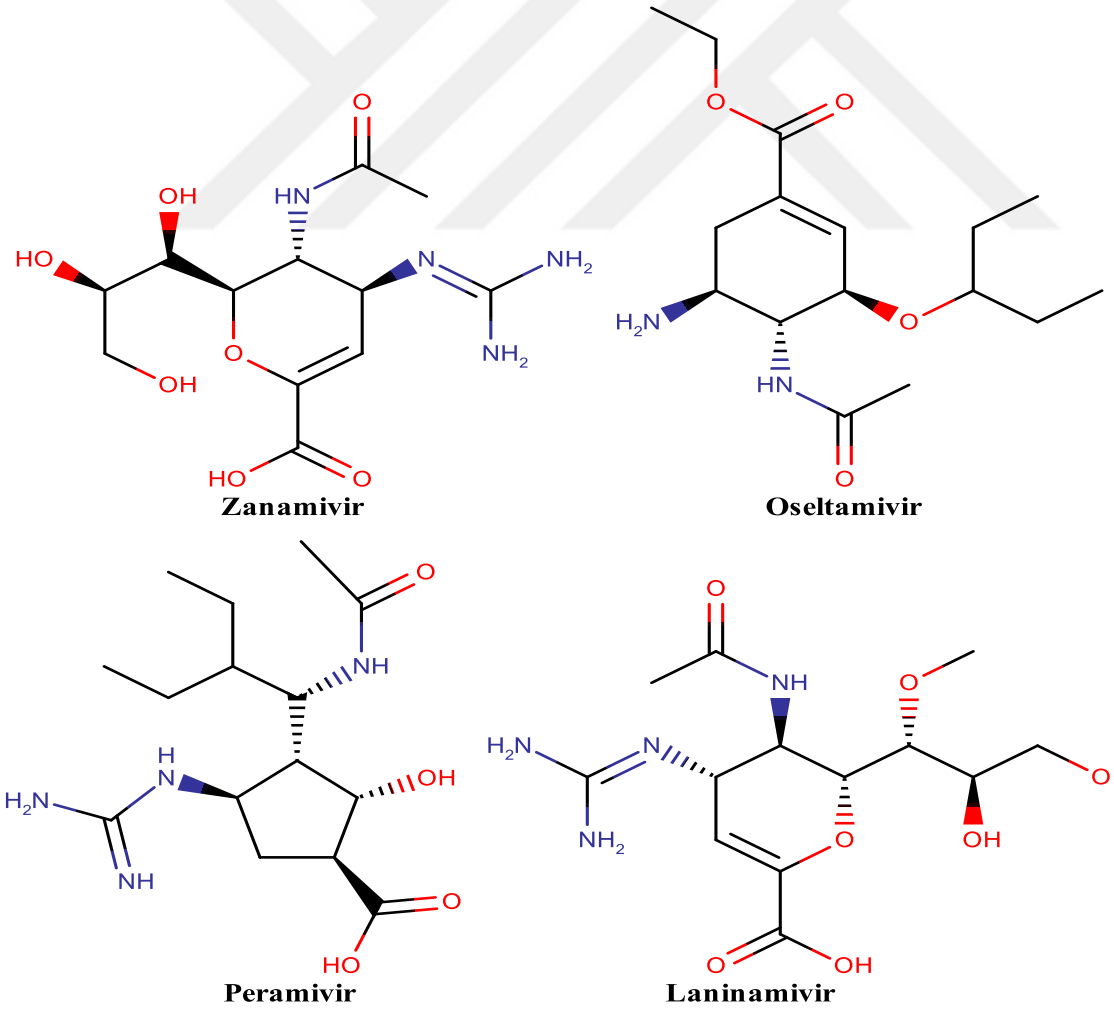


Şekil 2.3 İnfluenza virüs sialidaz enzimatik mekanizması (von Itzstein, 2007)

2.4. Nöraminidaz İnhibitörleri

Daha önceki kısımlarda da belirtildiği gibi, grip virüsü parçacıklarının yüzeyinde iki ana protein vardır. Bunlardan biri, nispeten sığ üç sialik asit bağlama bölgesine sahip bir lektin olan hemaglutinin proteinidir. Diğeri oyuklu aktif yöresiyle sialidaz enzimidir. Sialidaz nispeten derin aktif yöresi sayesinde düşük molekül ağırlıklı inhibitörlerle çoklu uygun etkileşmeler yapabilir ve sialositlerin hidrolizinde geçiş hallerinin analoglarının tasarımı için imkân sunar. Bu ise sialidazı anti-influenza ilaçların hedefi olarak hemaglutininden daha çekici kılar (Taylor ve Drickamer, 2006). Birkaç influenza virüs sialidazın X ışınları kristal yapısı elde edildikten sonra yapı temelli inhibitör dizaynı, bu enzimin inhibitörülerinin keşfi için kullanılan bir yöntem olmuştur (Dyason ve von Itzstein, 2001).

Nöraminidaz inhibitörleri (NAI) nöraminidaz enzimini bloke eden bir ilaç sınıfıdır. Yaygın olarak antiviral ilaçlar olarak kullanılırlar, çünkü bunlar, grip virüsünün viral nöraminidazlarının fonksiyonunu bloke eder ve bunların konakçı hücreden tomurcuklanarak çoğalmasını önler. Oseltamivir (Tamiflu®) (Şekil 2.4) bir ön ilaçtır ve oral olarak uygulanır. Zanamivir (Relenza™) (Şekil 2.4) oral inhalasyon yoluyla uygulanır. Peramivir (Rapivab®) (Şekil 2.4) intravenöz veya intramüsküler enjeksiyon yoluyla olarak uygulanır. Oral inhalasyon yoluyla uygulanan Laninamivirin (Inavir) (Şekil 2.4) ise faz III klinik çalışmaları devam etmektedir. Sadece influenza A'ya karşı etkili M2 inhibitörlerinin aksine, nöraminidaz inhibitörleri hem influenza A hem de influenza B'ye karşı etki eder (Gubareva, 2004; Smith vd., 2002).



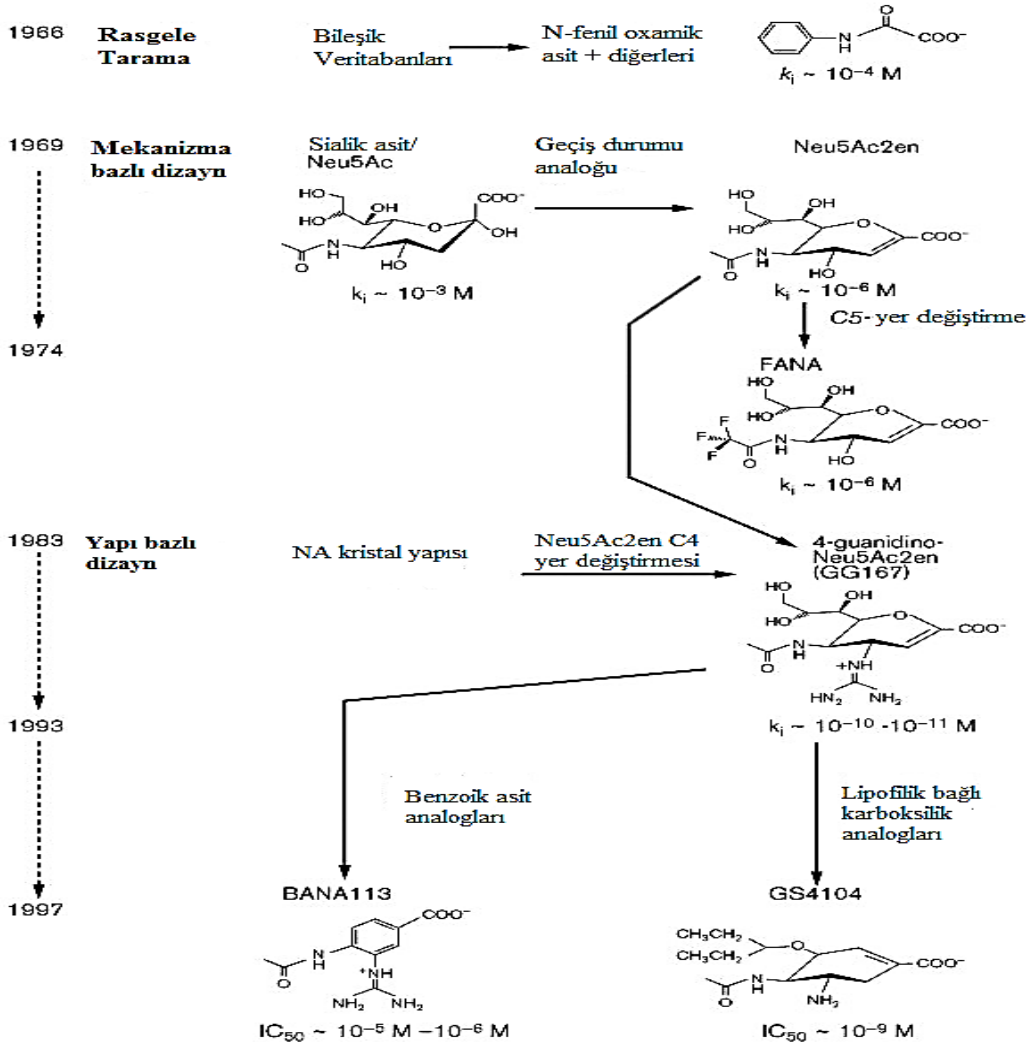
Şekil 2.4 Viral nöraminidaz inhibitörleri

2.5. Antinöraminidaz İnhibitör Araştırmaları

Antinöraminidaz inhibitör sistematik araştırmaları 1960'larda başladı. Bu araştırmalardaki ana adımlar Şekil 2.5'te özetlenmiştir. İlaç tasarım hedefi, güçlü NA inhibitörleri tasarımlamak olmuştur. Başvurulan ilk yol rasgele tarama, sonra geçiş durumu analogları mekanistik dizaynı ve en yakın zamanda ise SBDD olmuştur.

2.5.1. Pre-1983 ve NA yapısı tayini

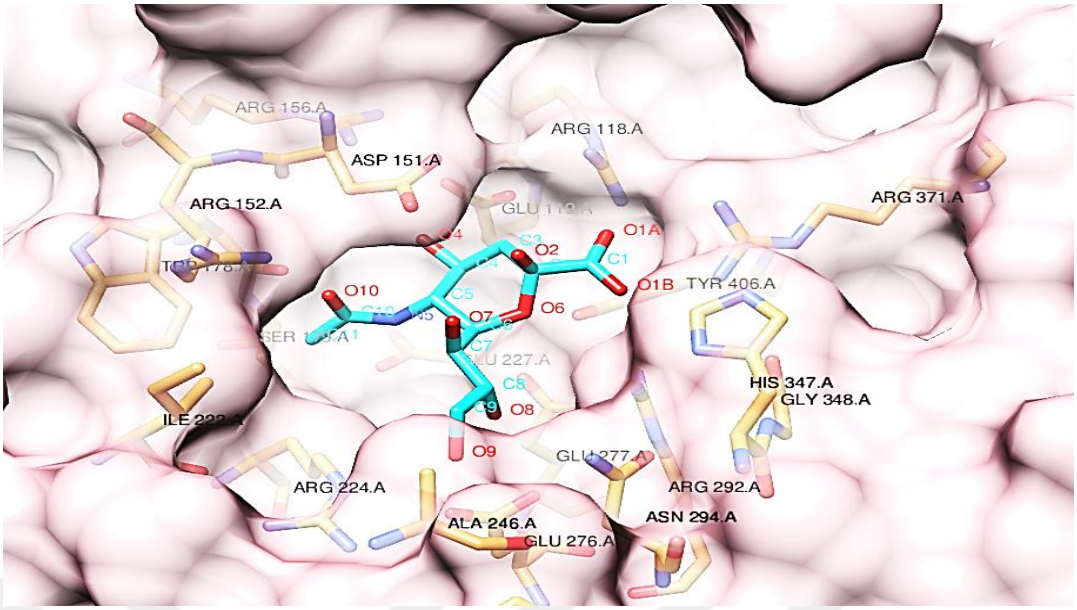
Rastgele tarama ile NA inhibitörü keşfedilmedi (Edmond vd., 1966). Enzim inhibitör tasarımına klasik mekanistik yol, yani olası geçiş durumu analoğu tasarlanması, yaklaşık 1000 kat daha büyük bir bağlanma ile ümit vaat eden bir öncü bileşik olan, 2-deoksi-2,3-dehidro-N-asetilneuraminikasit (Neu5Ac2en) ile sonuçlandı (Meindl ve Tuppy, 1969). Bir dizi Neu5Ac2en analogunun sentezlenmesiyle potansiyel ve özgüllükteki gelişmeler araştırıldı, ancak en güçlü, halojene edilmiş bir türev olan 2'-Deoxy-2'-Fluoroarabino Nucleic Acid (FANA) ve bunun analoglarının hiçbiri hayvanlarda antiviral aktivite göstermedi.



Şekil 2.5 Antinöraminidaz dizaynının kronolojik şeması (Wade, 1997)

2.5.2. 1983 sonrası ve NA yapı tayini: Birinci nesil ilaçlar

Daha büyük ilerleme ancak influenza NA kristal yapıları elde edilince ortaya çıkabildi (Colman, 1994; Colman vd., 1983; Varghese vd., 1983). Kristal yapıda, aktif bölge olduğu ortaya çıkarılan korunmuş kalıntılarla çevrili bir yüzey oyuğu (Şekil 2.6) keşfedilmiştir. Mark von Itzstein ve arkadaşları farklı fonksiyonel gruplar için enerji bakımından uygun bağlanma yerlerini tespit etmek için aktif yöreyi GRID programını kullanarak araştırdı (von Itzstein vd., 1996).



Şekil 2.6 NA-Neu5Ac kompleksi kristal yapısı

Bu analiz NA-Neu5Ac kompleksinde korunmuş cep olduğunu ortaya koydu. Bu Neu5Ac2en'in 4-OH pozisyonunda basit bir sübstituent ile doldurulabilecek ve böylece Glu-119 ve Glu-127 ile etkileşebilecekti. Bu buluşun sonucu olarak 4-guanidino-Neu5Ac2en (GG167) araştırıldı ve influenza A ve B için etkili ve özgü olduğu görüldü. SBDD'nin de öngördüğü gibi NA-4-guanidino-Neu5Ac2en kompleksinin kristal yapıları (Varghese vd., 1995; von Itzstein vd., 1993) 4-guanidino-Neu5Ac2en'in Neu5Ac2en ile aynı bağlama moduna sahip olgunu doğrulamıştır. Başlangıçtaki model yapıdan sapma 4-guanidino sübstituentinin oryantasyonuydu. Dizaynında olduğu gibi hidrojen bağı yapmamış, Glu119 ile tuz köprüsü oluşturmuştu. Kompleksin sonraki modellemeleri deneysel sonuçlara yakın yapılar vermiştir (Taylor ve von Itzstein, 1994; Varghese vd., 1995). GRID ile belirlenmiş faydalı diğer bağlanma bölgeleriyle etkileşebilecek Neu5Ac analogları üzerinde de çalışmalar yapıldı.

2.5.3. 1983 Sonrası ve NA yapı tayini: İkinci nesil ilaçlar

GG167 düşük biyoyararlanımı ve kolay atılımı sebebiyle ya teneffüs edilmeli veya burun spreyi olarak kullanılmalıydı. Bu sebeple daha kararlı nonkarboksilat yapıları dizayn etmek amaçlandı. Neu5Ac2en piranoz halkasına benzen yerleştirme çabaları daha az potent inhibitörler ile sonuçlandı (Jedrzejas vd., 1995; Singh vd., 1995). Bu gerilmiş piranoz halkasının şeklinin ve sübstituentlerin halkanın üzerindeki

oryantasyonunun yüksek afinite için önemli olabileceğini gösterir. Bununla birlikte benzoik asit analogları, SBDD ile ilgili birkaç ilginç bakış açısı sağlamıştır. Özel olarak bir benzoik asit analoğu (BANA113) guanidino sübstituenti ile dizayn edildi. Bu aslında GG167 ile aynı cepte bağlanma sağlıyacak fakat guanidino grubunun farklı oryantasyonu ile Neu5Ac2en'nin gliserol grubu posizyonunda bağlanacaktı (Singh vd., 1995). GRID programını sübstituentlerin yerleşimi için ve sürekli elektrostatik yaklaşımı bağlanma sabitlerini hesaplamak için kullanarak Jedrzejas vd. (Jedrzejas vd., 1995) ikinci bir guanidino grubunun eklenmesinin bağlanma affinitesini arttıracağını tahmin ettiler. Müteakip deneysel veriler iki guanidino bulunduran molekülün beklenildiği şekilde yapısal olarak bağlandığını gösterdi (Sudbeck vd., 1997). Neu5Ac2en'in halka yapısını yakından taklit eden karbosiklik analoglar sentezlendi ve antinöraminidaz aktivitesine sahip olduğu bulundu (Ogawa vd., 1992). Halkaya bağlı fonksiyonel grupları daha fazla lipofilik yaparak, (Kim vd., 1997) GG167'nin gücünü aşan bir potansiyele sahip, oral olarak biyoyararlanabilen bir bileşik olan GS4104'ü tasarladı.

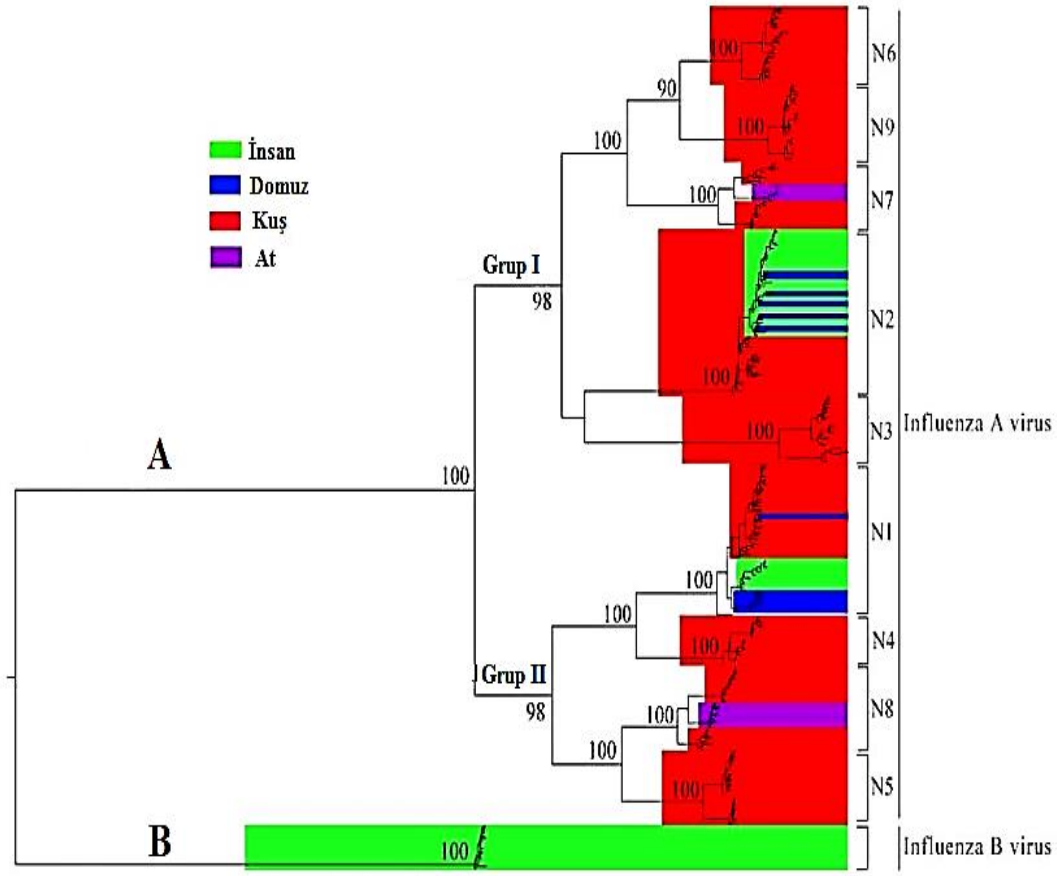
2.6. İnfluenza Virüslerinin Evrimi ve Mutasyonları

Genetik mutasyon, influenza virüsünün evriminde en önemli moleküler mekanizmalardan biri olarak kabul edilir (Webster ve Bean, 1978). Çoğu RNA virüsünde olduğu gibi, influenza virüsü düşük replike RNA doğruluğu sentezine sahiptir, bu da yüksek mutasyon oranına neden olur (genom replikasyonu başına bir mutasyon) (Drake, 1993). Hızla değişen viral popülasyonlara etki eden doğal seleksiyon gibi evrimsel kuvvetler, farklı konakçılarda, coğrafi bölgelerde ve zaman aralıklarında influenza virüslerinin genetik yapısını şekillendirebilir (Ghedin vd., 2005; Holmes, 2010). Daha da önemlisi, hızlı evrim, influenza virüslerinin konakçı türlerin bariyerlerini geçme kabiliyetini kısmen kolaylaştırabilir ve yeni konakçılarda başarılı bir şekilde ortaya çıkabilir ki bu halk sağlığı ve hayvan sağlığı açısından çok önemlidir (Pensaert vd., 1981).

İnfluenza virüsü ayrıca sürekli antijenik sapma, yani HA ve NA segmentlerinin epitop pozisyonlarında mutasyondan dolayı bağışıklık sistemlerini kolayca aşabilir (Bush vd., 1999; A. E. Smith ve Helenius, 2004). Antijenik sürüklenme, viral enfeksiyonu baskılamak için konakçı bağışıklık sistemi tarafından tanınması gereken antijenik

bölgelerde yapısal değişikliklere neden olabilir (Plotkin vd., 2002). Bu genellikle, aşı ile o anda dolaşan viral suşlar arasında bir eşleşme sağlamak için yıllık influenza aşılarının güncellenmesini gerektirir (Schwartz ve Wortley, 2006). Ayrıca, influenza virüsleri, antijenik değişmeler olarak bilinen, tek bir konakçıda farklı influenza virüsleri alt türleri arasında yeniden sınıflandırmayı takiben oluşan daha dramatik antijenik değişiklikler de geçirebilir (Webster vd., 1992). Antijenik değişimler ile genom büyük bir değişim geçirdiğinden bu olay ile oluşan virüsler pandemilere sebebiyet verebilmektedir.

İnfluenza virüsünün sekiz RNA segmenti arasında nöraminidaz (NA) özellikle önemlidir. NA, influenza A ve B'nin önemli bir yüzey glikoproteinidir. Nöraminidazın enfeksiyon sırasında reseptörü kırması dışında de önemli bir rol oynayabileceğini düşündüren veriler vardır. Muhtemelen enzim, virüs parçacıklarının solunum salgıları yoluyla hareketini kolaylaştırmak için gereklidir ve bu nedenle engellenirse, virüs soluk yolunda hareketsiz hale getirilip tuzaklanmış olur (Garman ve Laver, 2005). İnfluenza viral NA dizilerinin filogenetik analizleri, influenza virüslerinin evrimini anlama konusunda önemli bilgiler sağlamıştır. En çok benzerlik (The Maximum Likelihood-ML) ve MCMC (Markov Chain Monte Carlo) Bayesian analizleri influenza NA geninin önce A ve B'ye ayrıldığını ve bunu takiben influenza A alt tiplerinin bölündüğünü göstermiştir. İnfluenza A'da iki alt grup bulunmuştur, bunlardan biri N2, N3, N6, N7 ve N9 alt grubu (Grup I), diğeri ise geriye kalan dört alt tip olan N1, N4, N5 ve N8'den (Grup II) oluşmaktadır (Şekil 2.7). Her bir alt grup, kuş, insan, at ve domuz konakçılarına bağımsız olarak adapte olmuş virüslerden oluşur ve bu, iki alt grupta paralel evrim meydana geldiğini gösterir (Xu vd., 2012). Ayrıca Şekil 2.7'de görüldüğü gibi kuşlar influenza virüsleri için doğal konaktır. İnsanları enfekte eden suşların hemen hepsi influenza A'nın N1 ve N2 alttipleri ve influenza B'dir ve bu alt tipler domuzları da enfekte etmektedir.



Şekil 2.7 İnfluenza A ve B nöraminidaz (NA) genlerinin filogenisi (Xu vd., 2012)

2.7. Nöraminidaz İnhibisyon Direnci

İnfluenza suşları sürekli olarak mutasyona uğrar. Bu sebeple bir grip suşuna ve oluşan mutasyona karşı var olan ilaçların sürekli etkililik bakımından test edilmesi ve geliştirilmesi gerekir. Bu dinamik durumun olabilecek ani bir pandemiye hazır olabilmek adına yeni ilaçların da geliştirilmesini kapsayacak şekilde geniş tutulması halk sağlılı açısından önemlidir.

Yüzey proteini olan nöraminidazdaki mutasyonlar, influenza virüsü için ilaçların tasarlanması konusunda büyük bir sorundur. Mutasyon aktif bölgedeki bir amino asitteki değişime bağlı olarak tüm bitişik aminoasitleri etkiler ve direnç oluşturur. Nöraminidaz inhibitörleri ile etkileşime giren korunmuş artıklar seçici basınç altındadır, ancak birkaç tanesi dirençle bağlantılıdır. Literatür, NA aktif alanın dört korunmuş bağlanma bölgesinden ve 12 kalıntıdan oluştuğunu belirtir. Birinci bölgede pozitif yüklü Arg118, 227 ve 371, ikinci bölgede negatif yüklü Glu151, 119 ve 227, üçüncü bölgede Ile222, Trp178 ve Trp406 ve dördüncü bölgede Glu276 ve Glu277 kalıntıları bulunur. Nöraminidaz inhibitörleri ile doğrudan etkileşime giren ancak

inhibitörlere direnç kazandığı bildirilmemiş olan Arg118, Asp151, Arg152, Glu227, Arg224, Glu276, Arg371 ve Tyr406 aminoasitleri inhibitörler için aktif bölge veya cep oluştururlar. Yaygın mutantlar olan His274Tyr, Asn294Ser, Ile223Arg, Glu119Gly, nöraminidaz inhibitörleri ile doğrudan etkileşime girmez, bunlar aktif bölgeden uzakta bulunur, ancak inhibitörlerin bağlanma kuvvetini etkilerler. Bazı mutasyonlar virüsün enfeksiyona neden olmasına yardımcı olur ve mutasyonların çoğu NA genindeki mutasyonlardan kaynaklanır. HA geni ve M2 genindeki değişiklikler de NAI'lere duyarlılığa yol açabilir. Bu değişiklikler, daha fazla enfektivite ve virülans için yeni suşların NA aktivitesine olan ihtiyacını azaltır.

Klinik çalışmalardan elde edilen veya ters genetik teknolojisi kullanılarak elde edilen veriler, katalitik veya çerçeve bölgelerdeki tek aminoasit sübstitüsyonlarının, farklı NA tiplerinde alt tip spesifik NAI direncine veya verim direncine yol açabileceğini göstermiştir. H3N2 influenza virüsünde Glu119Val, Asp151Glu, Ile222Val, Arg224Lys, Glu276Asp, Asn249Ser, Arg292Lys ve Arg371Lys (N2 numaralandırması) NA yer değiştirmeleri ve pH1N1 influenza virüsünün içinde Glu119Val, Ile222Val, Ser247Asn, His275Tyr ve Asn294Ser (N1 numaralandırma) gibi yerdeğiştirmeler nöraminidaz inhibitörleri için %50 inhibitör konsantrasyonunda (IC50) (≥10>100 kat) artışa neden olduğu bulunmuştur (Eshaghi vd., 2014).

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

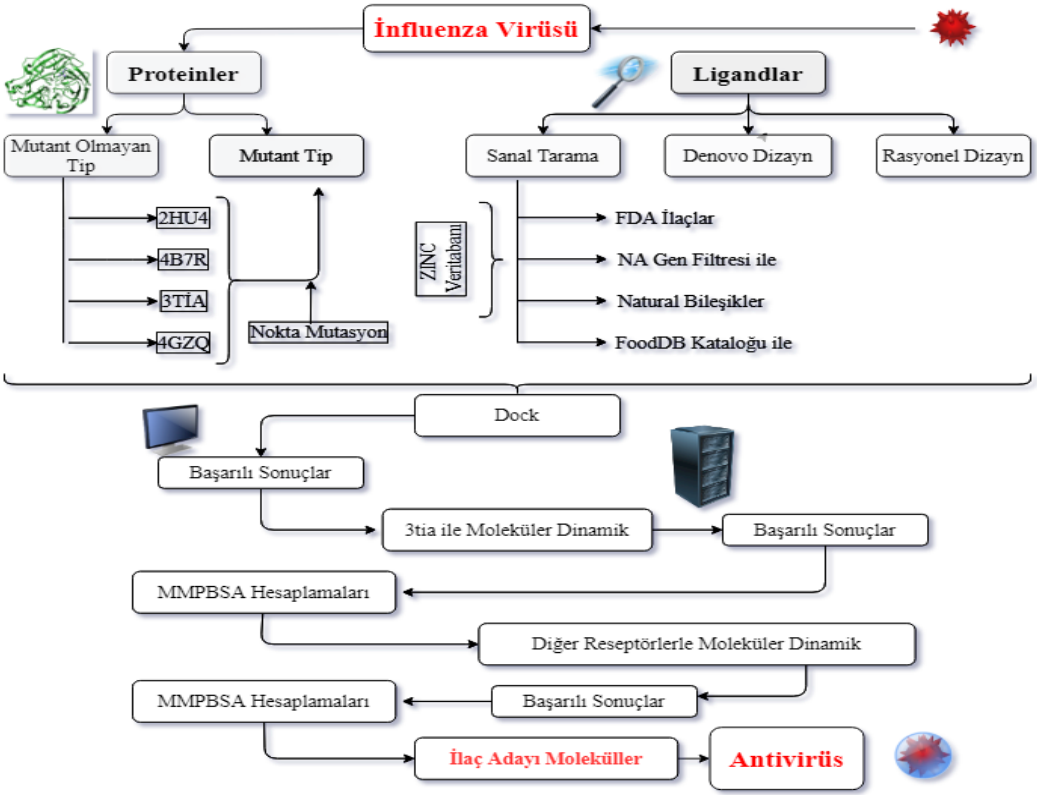
Bu çalışmada kullanılan proteinlerin X-ray pdb yapıları protein data banktan (https://www.rcsb.org/) (Berman vd., 2000) indirildi. Sanal ligand taraması ve seçiminin büyük bir kısmı ZINC15 veritabanı (http://zinc15.docking.org/) (Sterling ve Irwin, 2015) üzerinden yapıldı. De novo ligand tasarımı için Xu Drug Discovery Lab. (https://www.dxulab.org/) (Tao vd., 2019) uygulaması olan ezGrow kullanıldı. Rasyonel tasarlanan ligandların üç boyutlu çiziminde GaussView (Frisch vd., 2009) programı kullanıldı. Ligandların iki boyutlu yapılarının çiziminde Chemaxon MarvinSketch (Marvin, 1998) programı kullanıldı. Sanal taramayla seçilen veya tasarlanan ligandların mutajen, tumorojen ve irritant olanlarının elenmesinde Datawarrior (Sander vd., 2015) programı kullanıldı. Ligandların minimizasyonunda Avogadro (Hanwell vd., 2012) programı, Gaussian 09 (Frisch vd., 2009) ile AMBER16 paket programı (Case, 2016) içinde yer alan Sander programları kullanıldı. Ligandların General Amber Force Field (GAFF) (Wang vd., 2004) atom tipinin belirlenmesive ligandlar için yük ve parametre hesaplanmasında AMBER içindeki Antechamber (Wang vd., 2004) programı kullanıldı. Atom yükleri AM1-BCC (Wang vd., 2006) metoduyla hesaplandı. Belirlenen protein ve ligandların üç boyutlu gösteriminde, yapıların üst üste çakıştırılmasında, komplekslerdeki etkileşimlerin analizinde ve üç boyutlu gösteriminde Chimera (Pettersen vd., 2004) ve DSVisualizer (BIOVIA, 2019) programları kullanıldı. Komplekslerdeki etkileşimlerin iki boyutlu gösteriminde DSVisualizer ve Chimera programları ile gerçekleştirildi. Moleküler dinamik hesaplamalar için gerekli olan parametre ve topoloji dosyalarının hazırlanmasında, sisteme çözücü ve iyon eklenmesinde AMBER paketi içindeki Xleap programı kullanıldı. Zamana bağlı enerji değişimleri Perl ile yazılmış ve AMBER programı içinde yer alan process_mdout.perl scripti ile yapıldı. Zamana bağlı RMSD ve bağ uzunlukları değişimi AMBER'in içinde bulunan PTRAJ programı kullanılarak yapıldı. Zamana bağlı enerji ve RMSD değişimlerinin grafik gösterimi Xmgrace grafik programı ile gösterildi. Ligandların proteine yerleştirilmesi DOCK6 (Dock) (Lang vd., 2009) programı ile gerçekleştirildi. Komplekslerin MD simülasyonları neticesinde elde edilen en düşük enerji yapılarındaki ligand-protein etkileşimleri Chimera ve DSVisualizer programı ile incelendi. Protein ve ligandların etkileşimlerinin iki boyutlu

gösterilmesi için ProteinsPlus (Fahrrolfes vd., 2017; Schoning-Stierand vd., 2020) web sunucusu (https://proteins.plus) uygulaması olan PoseView (Fricker vd., 2004; Stierand vd., 2006) kullanıldı. Protein ve ligandlar arasındaki bağlanma serbest enerjileri AMBER paketi içinde yer alan MM-PB(GB)/SA (Srinivasan vd., 1998) modülü ile hesaplandı.

Moleküler Dinamik çalışmalarının bir bölümü Intel tabanlı i5 ve i7 işlemciye sahip, Linux işletim sistemli bilgisayarlarda yapılırken diğer bir bölümü ise TÜBİTAK/GRIDTR altındaki AMD tabanlı Opteron 6174 işlemcili Linux işletim sistemli bilgisayarlarda yürütüldü.

3.2. Metot

İlaç keşif ve tasarım çalışmalarının pek çoğu gibi bu çalışma da çok sayıda aşama üzerinden yürütülmüştür. Çalışmanın aşamaları Şekil 3.1'de gösterildiği gibi özetlenebilir.

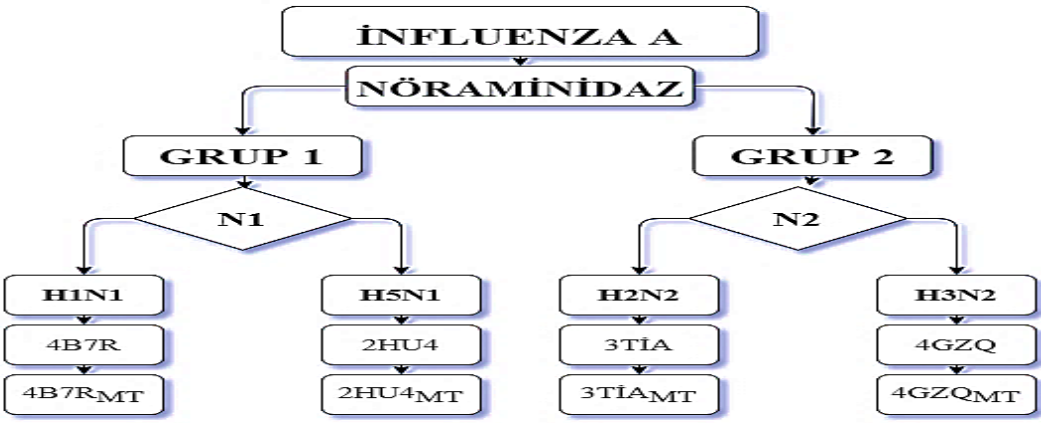


Şekil 3.1 Kullanılan metaryal ve metodun özet şeması

3.2.1. Reseptörlerin seçilmesi ve hazırlanması

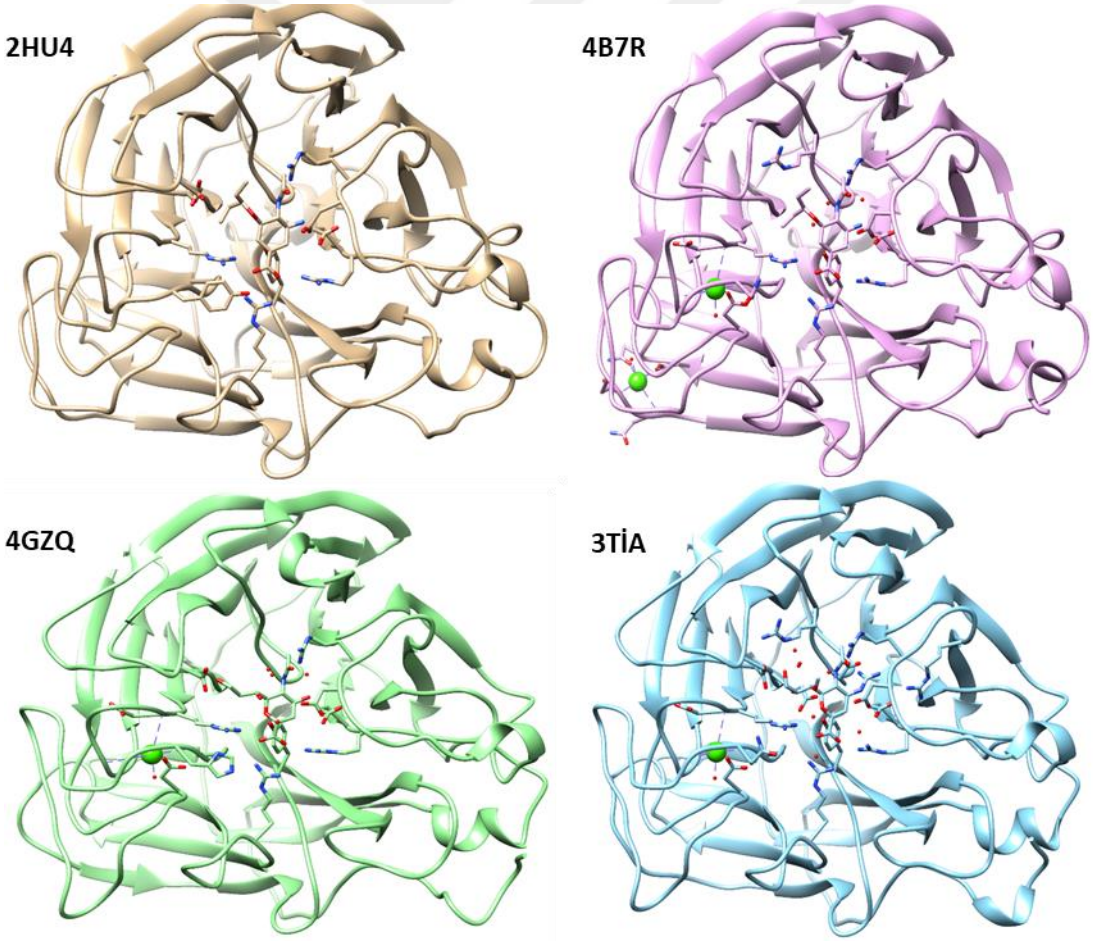
İnfluenza nöraminidazın (NA) 9 çeşidi filogenetik ve yapısal analizlere bağlı olarak gruplandırılır (Russell vd., 2006). Nöraminidaz alt tiplerinden N1 ve N2 nöraminidaz insanlarda pandemiye ve epidemiye yol açan influenza A virüslerinden izole edilmiştir (Hay vd., 2001).

Kullanılacak reseptörlerin hazırlanması için protein veri bankasından (http://www.rcsb.org) viral influenza A nöraminidaz ile ilgili bütün pdb dosyaları incelendi. Bu pdb dosyalarından insanlarda pandemi ve epidemilere sebep olan virüslerin hemen hepsinde var olan (Thompson vd., 1994) nöraminidaz N1 ve nöraminidaz N2 alt tiplerine ait olanlar seçilerek protein veri bankasından pdb dosyası olarak indirildi. Alt tipi N1 olan proteinlerden; İspanyol gribi ve domuz gribine sebep olan H1N1 virüsü ile kuş gribine yol açan H5N1 virüsünün nöraminidaz proteinlerinin X-ray yapıları ve alt tipi N2 olan proteinlerden; Asya gribine sebep olan H2N2 ve Hong Kong gribine sebep olan H3N2 virüslerinin X-ray yapıları kendi içinde karşılaştırılarak reseptör seçimi yapıldı. Seçim yapılırken; proteinde eksik amino asit sayısının en az olmasına, virüsün kendi mutasyonu dışında ekstra mutasyonun olmamasına veya az sayıda mutasyon olmasına, proteinde eksik amino asit dizisi varsa bu eksiklerin proteinin katalitik bölgesinde olmamasına ve çözünürlüklerinin düşük olmasına dikkat edildi. Bu yapılardan H1N1 virüsü için 4B7R, H5N1 virüsü için 2HU4.pdb yapıları ve H2N2 virüsü için 3TIA.pdb, H3N2 için 4GZQ.pdb yapıları seçildi (Şekil 3.2).



Şekil 3.2 Seçilen reseptörlerin pdb dosyaları

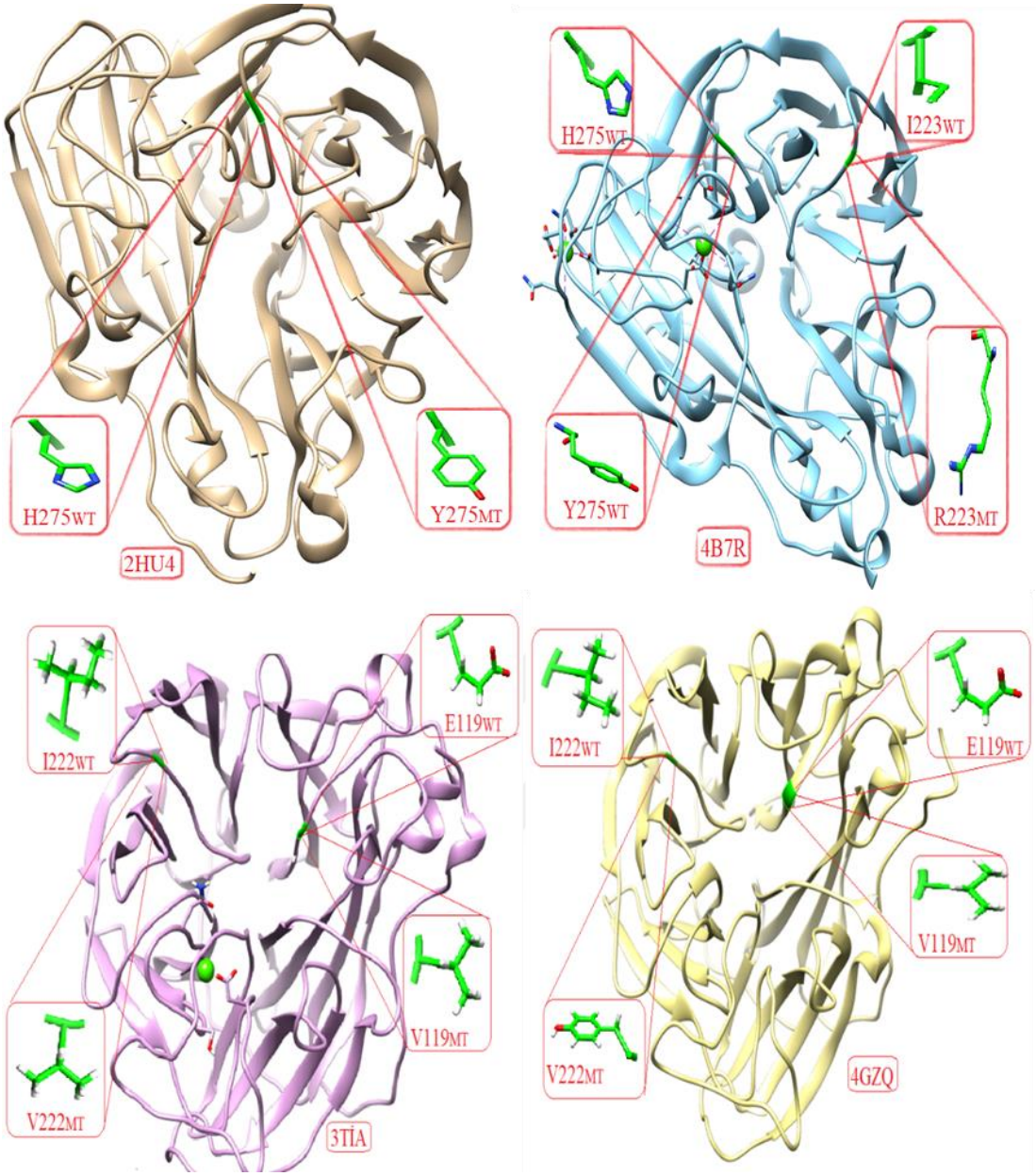
Seçilen bu proteinlerin var olan ilaçlara karşı direnç kazanmış varyantları literatürden taranarak proteinlerin mutant varyantları hazırlandı ve mutant olmayan tip proteinlere karşı başarılı bulunan ligandların etkiliği bu mutant proteinler üzerinde de denendi. Seçilen bu pdb X-ray yapıları, protein data banktan (www.rcsb.org) pdb formatında indirildi. Yapıların validasyon raporları tek tek incelendi. Bu yapılardan 4B7R, 4GZQ, 3TIA için A zincirleri, 2HU4 için B zinciri seçilip diğer zincirler silindi (Şekil 3.3.). 2HU4 proteini kalsiyum içermediği için homoloğu olan 2hty proteininden kalsiyum yapıya yerleştirildi. Ayrıca bu proteinde düzenlenmiş (engineered) nokta mutasyon bulunmaktaydı. UniProtKB (https://www.uniprot.org/) kodu Q6DPL2 olan bu protein 252. amino asit olarak histidin (H) içermesi gerekirken 252. amino asit olarak tirozin (Y) düzenlenmesi uygulanmıştı. Bu amino asit Chimera programında (Pettersen vd., 2004) swapaa komutu ile tekrar histidine çevrildi.



Şekil 3.3 Seçilen reseptör zincirlerinin görüntüsü

Her bir protein için seçilen zincirlerde dock ve moleküler dinamik işlemlerine hazırlık amacıyla disülfit bağı yapan Cys amino asitleri Cyx olarak düzeltildi. Kristal suları ise MD aşamasında yeniden eklenmek üzere ayrı bir pdb dosyası olarak kaydedildi. Sonuçta sadece atom bilgilerini içeren dosya yeniden pdb formatında kaydedildi. Böylece mutant olmayan proteinler (Wild Type-WT) hidrojen ve yük yükleme işlemleri için hazır hale getirildi.

Nöraminidaz inhibitörü olabilecek muhtemel moleküllerin halihazırda var olan ilaçlara karşı direnç kazanmış mutasyonları bulunduran nöraminidaz proteinlerine (Mutant Tip-MT) karşı da etkili olması beklenir. Bu çalışmada taranan ve dizayn edilen moleküllerin mevcut ilaç moleküllerine karşı direnç oluşturmuş mutant proteinlere karşı etkinliğinin araştırılması için literatürden ilaç dirençli mutant nöraminidaz proteinleri araştırıldı. WT ile karşılaştırıldığında H275Y veya I223R mutansyonlarını bulunduran rekombinant nöraminidazların sübstrat affinitesinin yarı yarıya az olduğu ve bu ikili mutasyonu bulunduran varyantların oseltamivir ve zanamivire karşı sırasıyla 6195-15,2 kat direnç kazandığı (LeGoff vd., 2012) belirlenmişti. Ayrıca literatür araştırmaları (Baz vd., 2006; Simon vd., 2011) E119V ve I222V ikili mutasyonlarını bulunduran H3N2 suşlarının oseltamivire karşı yüksek dirence (293-2286 kat) sahip olduğu göstermektedir. Araştırmalar sonucunda önceki bölümde nasıl seçildiği açıklanmış olan mutant olmayan proteinlerden 2HU4 proteini üzerinde H255Y (literatürde 274 mutasyonu olarak anılır), 4B7R üzerinde I223R ve H275Y (literatürde 274 mutasyonu olarak anılır) mutasyonları, 3TIA ve 4GZQ proteinlerine E119V ve I222V nokta mutasyonları uygulanarak oseltamivir veya zanamivire karşı direnç gösterdiği belirlenmiş olan mutant reseptörler (Şekil 3.4.) hazırlandı. Bu reseptörler de WT reseptöre uygulanan dock işlemlerine hazırlık süreci takib edilerek dock ve MD işlemleri için hazırlandı.



Şekil 3.4 WT proteinlerden MT reseptörler elde edilirken uygulanan nokta mutasyonlar

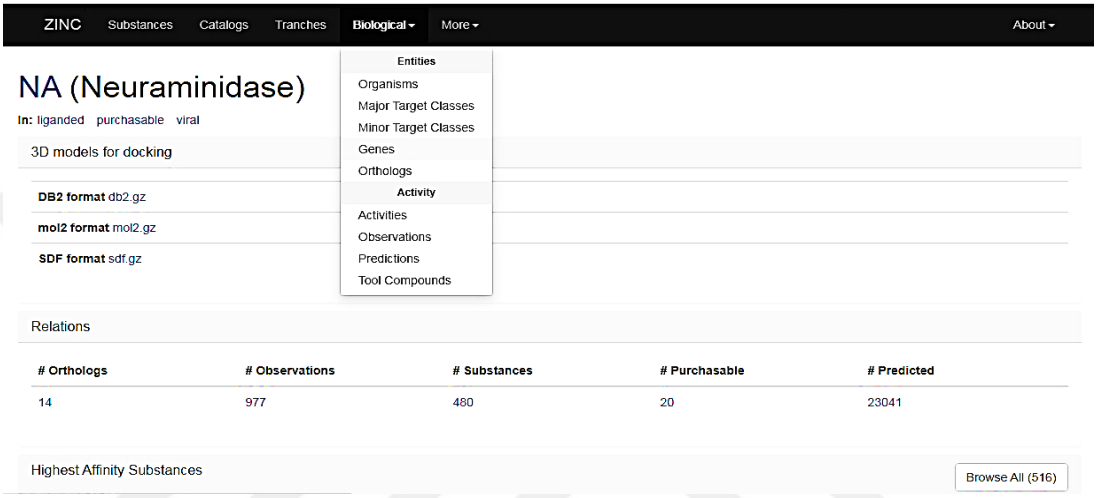
3.2.2. Ligand seçimi ve tasarımı

3.2.2.1. Sanal tarama ile bulunan ligandlar

Ligand taraması ve seçiminin büyük bir kısmı ZINC15 veritabanı (http://zinc15.docking.org/) üzerinden yapıldı. ZINC15 veri tabanında bulunan moleküllerin hepsi numaralarla kodlanmıştır. Bu kodlar üzerinden de araştırmacılar istediği moleküle kolayca ulaşabilmektedir. Ayrıca veritabanında hazır sunulan alt kümeler ile moleküller sınıflandırılmıştır. Araştırmacıların sınıflandırılmış alt kümelere, hazır sunulan filtreler vasıtasıyla ulaşabilmelerine imkân sağlanmıştır.

a. Nöraminidaz (NA) geni üzerinden

ZINC15 veri tabanının ve kütüphanesinin avantajlarından biri dock işlemleri için hazır ligandlar sunmasının yanı sıra proteinleri kodlayan genlerin kodu üzerinden ligand taramaya (ligand fishing) uygun olmasıdır. ZINC15 veri tabanı nöraminidaz (NA) geni üzerinden tarandığında (https://zinc15.docking.org/genes/NA/) ligandların Substances, Predicted gibi alt kümelerde sınıflandırıldığı görülmektedir (Şekil 3.5).



Şekil 3.5 ZINC veri tabanında NA geni üzerinden arama yapma görüntüsü (Erişim tarihi: 25.09.2018)

Araştırmamızda bu kümelerden 480 molekül içeren Substances kümesine ayrı ayrı FDA, only-in-vitro, only-in-vivo filtresi uygulanarak tarandı ve moleküllerin Dock6 ile docking işlemleri çalışıldı. Ayrıca bu moleküllerden zanamivir ve oseltamivir karboksilatın diğer moleküllerle karşılaştırılmak için moleküler dinamik simülasyon hesaplamaları yapıldı. Bu belirtilen alt kümeler dışında Predicted alt kümesinde bulunan 23.041 moleküle, Novel ve Strong filtreleri uygulandığında kalan 10.626 molekül sdf formatında indirildi ve bu moleküller Datawarrior (Sander vd., 2015) ile açıldı. Aynı olan yapılar silindi. 9788 molekülün kaldığı görüldü. Irwin ve arkadaşları (2018) ZINC15 peredicted moleküller için, p değerleri (p values) 80 ve üstü, maxTc (maximum Tanimoto coefficient) 80 ve üstü olan ligandların daha iyi sonuç verdiğini belirtmiştir. Burda p değerleri, CheMBL gibi referans bir veritabanında açıklanmış ligandlara benzerliğine dayalı olarak bir bileşiğin biyolojik hedefini tahmin etmek için geliştirilmiş bir hesaplama sonucu iken, MaxTc Morgan (Morgan, 1965) parmak izlerinden türetilen molekül benzerliklerini karşılaştırmak için kullanılan Tanimoto katsayılarıdır. 9.788 molekül bu ölçütlere göre Datawarrior ile filtrelendiğinde 77 molekülün kaldığı görüldü. Kalan 77 moleküle Datawarrior ile kimyasal özellikleri

eklendi. Hiç birinin mutajen ve tümörojen özellik göstermediği ancak 12 tanesinin reproductive ve irritant özelliklerinin olduğu program öngörüsü ile saptandı. Kalan 65 ligandın kodları ZINC15 web sitesinde arandığında sadece 29 ligandın mol2 dosyasının olduğu görüldü. Bu 29 ligandın bir kısmının aynı ligandın farklı PH değerlerindeki (ref, mid, high) mol2 dosyaları olduğu görüldü. Dock işlemleri sonucunda bu ligandların reference (ref) mol2 formatlarının daha iyi kenetlenme gösterdiği belirlendi. EK 1'de 2D görselleri verilen bu 21 ligandın varsa reference mol2 formatları ile çalışmaya devam edildi ve bunlara yeniden kod verildi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 Seçilen ligandlar ve kodları

Proteinlerin Kristal Yapısında Bulunan Ligandlar		**FDA Onaylı Ilaçlar**	
Oseltamivir karboksilat (2HU4, 4B7R)	G39(OSC)	Zanamivir	ZNM
Sialik asit (4GZQ)	SIA	Oseltamivir fosfat	OSL
Laninamivir (3TIA)	LNV	Oseltamivir karboksilat	OSC
Sadece *invitro* Çalışılmış Ligandlar		**Sadece *invivo* Çalışılmış Ligandlar**	
ZINC000100067274	ro1	ZINC000038540546hp	vo1
Doğal Bileşiklerin Taranması ile Bulunan Ligandlar		**Food Database Kataloğundan Bulunan Ligandlar**	
n01, n02, n03, …….		f01, f02,…….	
ZINC Predictions Alt Kümesinden Seçilen Ligandlar			
ZINC000077312077ref	z01	ZINC000013780042rf	z12
ZINC000255997317ref	z02	ZINC000013778791re	z13
ZINC000255997318ref	z03	ZINC000013778790re	z14
ZINC000504544003ref	z04	ZINC000013778775re	z15
ZINC000514268074ref	z05	ZINC000013778770re	z16
ZINC000040863125ref	z06	ZINC000013778754re	z17
ZINC000036451498ref	z07	ZINC000012503710re	z18
ZINC000027736353ref	z08	ZINC000006411782hp	z19
ZINC000027108015ref	z09	ZINC000006381741re	z20
ZINC000026748461ref	z10	ZINC000004134486re	z21
ZINC000013780051ref	z11		
Denevo Dizayn ile Tasarlanan Ligandlar		**Rasyonel Dizayn ile Tasarlanan Ligandlar**	
d01, d02, d03,……,d37		r01, r02, r03,……..,r85	

b. Natural-products filtresi üzerinden

Zinc15 ligand kütüphanesi üzerinden sanal tarama imkanlarından biri de filtreler üzerinden ligand türleri arasında arama yapılabilmesidir. Hazır filtrelerde çok sayıda ligand sınıflandırması üzerinden arama yapılabilmektedir. Bu çalışmada doğal moleküllerin antinöraminidaz etkinliğini belirlemek için arama filtrelerinden natural-products filtresi üzerinden tarama yapılmış ve bu ligandların tümü (12.041 molekül) dock için mol2 formatında indirilmiştir. Bu ligand grubu Datawarrior ile açılıp aynı olanlar, tumorojen, mutajen ve irritant olanlar elendiğinde 4.528 farklı molekül kaldığı görülmüştür. Bu moleküller 4 farklı reseptörle Dock6 ile dock edilip sonuçlar incelenmiş ve nihayetinde reseptöre kenetlenme ve özgünlük açısından daha olumlu bulunan ligandların ZINC kodları ve 2D görselleri EK 2'de verilmiştir. Bu moleküllerden tabloda n01 ve n02 olarak kodlanmış olanların MD hesaplamaları ve MM-PB(GB)/SA skorlamaları yapılmıştır.

c. Food Database kataloğu üzerinden

Zinc15 ligand kütüphanesi üzerinden sanal tarama imkanlarından biri de kataloglar üzerinden ligand türleri arasında arama yapılabilmesidir. Hazır kataloglar üzerinden sınıflandırmalara tabi tutulmuş moleküller taranıp ilaç tasarımları için kullanılabilmektedir. Bu çalışmada ZINC15 kataloglarından biri olan FoodDB kataloğunda bulunan moleküller mol2 formatında indirilmiş ve 2.792 adet olduğu görülen bu ligandlar reseptörlere dock edilmiştir. Bu moleküllerden dock aşamasında başarılı görülen ve özgün olan birkaçının 2D görseli ve ZINC kodu EK 3'te verilmiştir.

3.2.2.2. De Novo dizayn ile oluşturulan ligandlar

De novo dizayn için Xu Drug Discovery Lab (https://www.dxulab.org/) (Tao vd., 2019) uygulaması olan ezGrow kullanıldı. Bu uygulama var olan öncü moleküllerin geliştirilmesini sağlamaya yönelik olarak geliştirilmiştir. Uygulama öncü molekülleri şablon olarak alıp proteinin katalitik bölgesinde yeni moleküller türetir. Bu web uygulamasına 4GZQ proteini ve zanamivir, oseltamivir ve sialik asit molekülleri ayrı ayrı yüklendi. Türetilen yaklaşık 120 ligand indirildi. Bu ligandların bir kısmının birbiri ile aynı olduğu bir kısmının ise yanlış protonlandığı görüldü. Bunun üzerine türetilen tüm ligandlar GaussView (Frisch vd., 2009) programında çizildi. Ardından ligandlar Avogadro ile (Hanwell vd., 2012) UFF tabanında minimize edilip mol2

formatında kaydedildi. Ligandları Dock6 ile yapılacak kenetleme işlemlerine hazırlamak için ligandlara Chimera programı ile am1 yükleri yüklendi ve ligandlar mol2 olarak kaydedildi. 120 ligand daha önce belirlenmiş dört reseptöre Dock6 programı ile dock edildi ve sonuçlar incelendi. 4 reseptöre de uygun konformasyonda ve yüksek skorla yerleşen 37 ligand (EK 4) seçildi. Bu ligandlardan nispeten özgün olanların MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapıldı.

3.2.2.3. Rasyonel dizayn ile tasarlanan ligandlar

Reseptörlerlerle etkileşebilecek molekülleri rasyonel olarak oluşturabilmek için hâlihazırda ilaç olarak kullanılan zanamivir ve oseltamivirin dock edilmiş halleri Chimera ve DsVisualizer (BIOVIA, 2019) pogramları ile 4GZQ proteini içinde açıldı. Bunlar referans alınarak Gausview programı ile reseptörün aktif oyuğundaki amino asit artıkları ile etkileşebilecek moleküller çizildi. Çizilen moleküller Avogadro programı ile UFF tabanında minimize edilerek mol2 formatında kaydedildi. Bu ligandlar EK 5'te gösterilmiştir. Çizilen moleküller 4 reseptöre ve bunların mutant suşlarına dock edilerek sonuçlar incelendi. Bu moleküllerden uygun doğrultuda yerleşen ve skoru yüksek olanlar MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları için seçildi.

3.2.3. Ligand yerleştirme (dock) çalışmaları

Tüm proteinlere dock işlemi için Chimera programında hidrojen ve AMBER ff14SB (Maier vd., 2015) kuvvet alanı altında AM1-BCC (J. M. Wang vd., 2006) metodu ile yükleri yüklenerek mol2 formatında ve reseptör yüzeyi oluşturmada kullanılmak üzere hidrojensiz olarak pdb formatlarında kaydedildi. Aynı program ile protein yüzeyi de oluşturulduktan sonra hem Chimera programı içinde yer alan DMS eklentisi kullanılarak, su molekülü büyüklüğünde bir topun hedefin van der Waals yüzeyinde yuvarlanmasına dayalı DMS algoritması (Ryckaert vd., 1977) ile 1,4 Å çapında prob kullanılarak çözücünün etkileşebileceği protein bağlanma bölgeleri hesaplandı. İşlem sonucunda, ligand bağlanacak bölgeler için protein yüzeyinde noktalar oluşturulmuş oldu. SPHGEN programı kullanılarak bu noktalardan örtüşen küre kümeleri oluşturuldu ve bağlanma bölgesindeki küre kümeleri seçilerek grid hesaplamalarında kullanılmak üzere kaydedildi. Seçilen küreleri içerecek şekilde her yönde ekstra 6 Å mesafe konularak grid kutusu oluşturuldu. Belirlenen bölgedeki muhtemel ligand-reseptör etkileşimleri taraması için grid hesaplaması yapıldı. Bu hesaplamalar için

grid, van der Waals ve elektrostatik bileşenleri içeren moleküler mekanik kuvvet alanını kullanmaktadır. Ligand yerleştirme işlemi için 50 sonuç istenirken, maksimum oryantasyon sayısı 500 olarak belirlendi. Yukarıda nasıl seçildiği anlatılmış olan ligandın hepsi dört ayrı reseptöre ve bunlardan türetilmiş dört mutant reseptöre Dock6 ile dock edildi.

3.2.4. Reseptörlerin moleküler dinamik için hazırlanması

Çalışmamızda moleküler dinamik hesaplamalar AMBER paket programı (Case, 2016) kullanılarak yapıldı. Proteinler ve ligandlar arasındaki komplekslerin moleküler dinamik simülasyonlar için hazırlanması (topoloji/parameter ve koordinat dosyalarının oluşturulması), sistemin nötraleştirilmesi (Na^+ veya Cl^- ilavesi) ve su molekülerinin ilavesi için AMBER paket programı içindeki Xleap modülü kullanıldı. Proteinlerin atom tipleri, atom yükleri ve parameterleri için ff14SB (Maier vd., 2015) kütüphanesi kullanıldı. Proteinlerin hepsi Ca^{+2} iyonlarını içerdiğinden bu iyonun kütüphanesi ayrıca Xleap'ten yüklendi. Ligandlar için Genaral Amber Force Field (J. Wang vd., 2004) kütüphanesi kullanıldı. Bu moleküllerin atop tipleri, yükleri ve parametreleri Antechamber programı ile yaplıldı (Wang vd., 2006).

Sonraki aşama olan minimizasyon 3 adımda yapıldı. Birinci adım için protein 5 kcal/mol'lük kuvvetle sabit tutularak çözücü önce steepest descent algoritması ile 1000 adım ve sonrasında conjugate gradient metodu kullanılarak 1.000 adımda minimize edildi. Her 100 adımda bir koordinatlar kaydedildi (cut off değeri 10.0 Å alındı). İkinci adımda proteindeki H'ler hariç protein yapısı sabit tutularak aynı şartlarda minimizasyon yapıldı. Son adımda ise tüm sistem serbest bırakılarak aynı şartlarda minimizasyon yapıldı.

Minimizasyonun ardından ısıtma işlemi yapıldı. Sistem her bir basamağı 0,002 pikosaniye süren 500.000 basamakta koordinat ve enerji dosyaları her 1.000 basamakta bir kaydedilmek üzere 0 K'den 300 K sıcaklığa kadar ısıtıldı. Sıcaklık ayarlaması için Langevin termostatı seçildi. Cut off değeri 10 Å alındı.

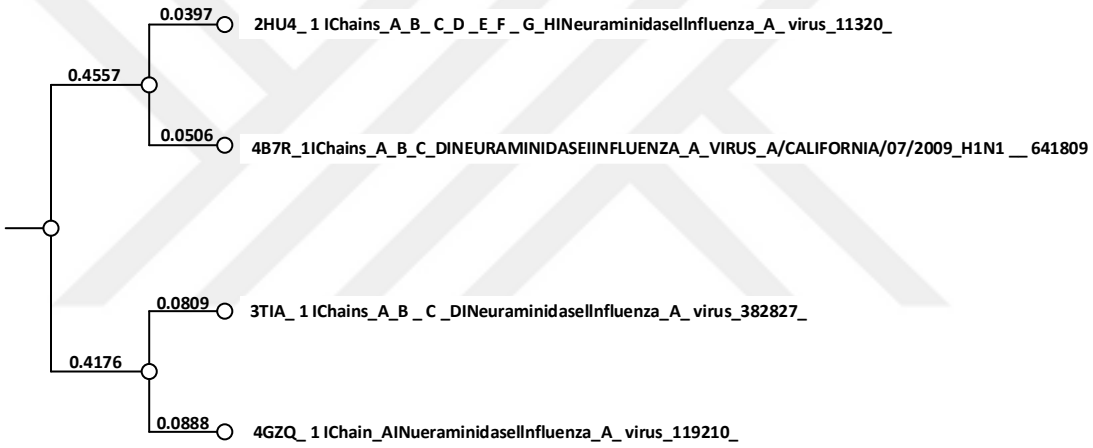
MD sümilasyonları 300 K'de gerçekleştirildi. Sistemin sıcaklığını sabit tutmak için çarpışma frekansı iki alınarak Langevin termostatı kullanıldı. Uzun mesafe

elektrostatik etkileşimleri Particle Mesh Ewald (PME) (Ewald, 1921) protokolü ile 10 Å cut off mesafesinde işlem yapıldı. Hidrojen bağlarının titreşimleri SHAKE (Ryckaert vd., 1977) algoritması ile engellendi. Simülasyon süresince iki fs'lık bir zaman basamağı ve periyodik sınır koşulları uygulandı.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Nöraminidaz Alt Tiplerinin Karşılaştırılması

Çalışmamızda kullandığımız proteinlerin kendi aralarındaki filogenetik sınıflandırmasını yapmak için 2HU4, 4B7R, 3TIA ve 4GZQ proteinleri fasta formatında, protein veri bankasından (https://www.rcsb.org/) indirildi. Bu dosyalar influenza araştırma veritabanına (https://www.fludb.org/) yüklendi. Sonuçlar Şekil 4.1'de gösterildiği gibi olup, grup-1 nöraminidaz proteinleri olan 2HU4 ve 4B7R proteinlerinin kendi içinde, grup-2 nöramindaz proteinleri 3TIA ve 4GZQ'nun kendi içinde dallandığı görülmektedir. Şekilde ayrıca alt tipin ana tipe uzaklığı sayılarla gösterilmiştir.



Şekil 4.1 Kullanılan proteinlerin filogenetik sınıflandırılması

Seçilen proteinlerde amonoasit dizilimlerinin karşılaştırılması Şekil 4.2'de verilmiştir. Suşları farklı olsa da proteinlerde bazı amino asit dizilerinin oldukça korunduğu görülmektedir. 2HU4 ve 4B7R (Grup-1) nöraminidaz ve 3TIA ve 4GZQ (Grup-2) nöraminidazların kendi içinde daha fazla benzerlik gösterdiği, aynı olan amino asit dizilerinin gruplar arasında daha az olduğu da dizilimlerde görülmektedir. Chimera programı proteinler arası konsensüs oranını; 2HU4- 4B7R 91.17%, 2HU4- 3TIA: 47.09%, 2HU4- 4GZQ: 46.30%, 4B7R- 3TIA: 46.30%, 4B7R- 4GZQ: 46.30%, 3TIA-4GZQ: 85.57% hesaplamıştır.



Şekil 4.2 Seçilen proteinlerin amino asit dizilimlerinin karşılaştırılması

Çalışmada antinöraminidaz etkisine sahip olabilecek potansiyel ilaç molekülü adayları taranırken moleküllerin hem halihazırda var olan ilaçlara karşı direnç geliştirmemiş (mutant olmayan-WT) hem de bu ilaçlara karşı direnç geliştirmiş (mutant tip-MT) nöraminidaz proteinleri üzerinde moleküllerin etkililiği denenmeye çalışılmıştır. Seçilen proteinlerin var olan ilaçlara karşı duyarlılığını belirlemek için proteinler fasta formatında fluDB üzerinden ilaç duyarlılıkları analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar

EK 6'daki tabloda verilmiştir. Tabloda (EK 6) da görüldüğü gibi protein veri bankasından seçilen dört proteinden sadece zanamivirin 4B7R'de bulunan V149I mutasyonunun üzerindeki etkisi belirsiz bulunmuş diğer tüm varyatların ilaç moleküllerine karşı duyarlı olduğu bulgusuna ulaşılmıştır. Bu analiz sonuçları bize bu proteinlerin mutant olmayan (wild tip) olarak referans kabul edilebileceğini gösterir.

4.1.1. Seçilen Proteinlerin Katalitik Bölgelerinin Karşılaştırılması

Literatürde nöraminidazların sialik asit ile doğrudan etkileşim içinde olduğu amino asitler; Arg118, Asp151, Arg152, Arg224, Glu276, Arg292, Arg371, Tyr406 katalitik amino asitler (McAuley vd., 2019) ayrıca sialik asit ile doğrudan etkileşmediği halde etkileşimlere katkıda bulunan Glu119, Arg156, Trp178, Ser179, Asp198, Ile222, Glu227, Glu277, Asn294 ve Glu425 amino asitleri ise çerçeve (framework) amino asitler olarak belirtilmiştir {Burmeister, 1992; Colman, 1983). Seçilen proteinlerin kristal yapıda bulunan ligandlarla etkileşimlerinde bulunan amino asitlerin ve katalitik merkezlerinin karşılaştırılması için bu etkileşimler incelenmiştir sonuçlar aşağıda gösterilmiştir.

Proteinlerin aktif yörelerinin karşılaştırılması için bu proteinlerin pdbemotif verileri kullanıldı (https://www.ebi.ac.uk/pdbe-site/pdbemotif/). Bu veribankası, protein bankasında bulunan komplekslerin, protein-ligand etkileşimlerinin türlerine göre detaylı şekilde incelenebildiği bir kaynaktır. Tablo 4.1'de görüldüğü gibi proteinlerin katalitik yörelerindeki amino asitlerin neredeyse tamamı korunmuştur. Ayrıca proteinlerin aktif merkezlerinde bulunan ligandların sialik asitle doğrudan temesta olan amino asitler (katalitik) ve çerçeve amino asitler (framework) ile etkileşimde olduğu görülmektedir.

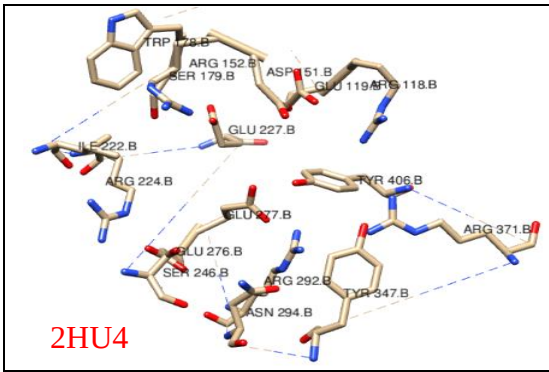
Tablo 4.1 Seçilen proteinlerin katalitik bölgelerinde bulunan ligandlarla etkileşen amino asitler

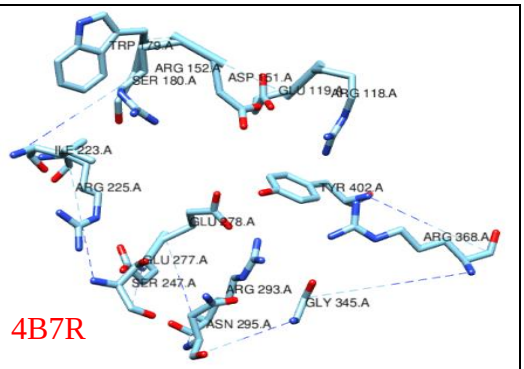
mavi: hidrojen bağı yapan amino asitler,
yeşil: Van der Waals bağı yapan amino asitler,
mor: Elektrostatik etkileşim,
gri: Liganda 5 Å mesafede olup ligandla etkileşmeyen amino asitler,
turuncu: Katalitik amino asitler,
pembe: Framework amino asitler

2HU4-G39*	4B7R-G39	4GZQ-Sia*	3TIA-Lnv*	Kısaltma	Katalitik/Framework
Arg118	Arg118	Arg118	Arg118	R118	Katalitik
Glu119	Glu119	Glu119	Glu119	E119	Framework
			Leu134		
Asp151	Asp151	Asp151	Asp151	D151	Katalitik
Arg152	Arg152	Arg152	Arg152	R152	Katalitik
Arg156	Arg156	Arg156	Arg156	R156	Framework
Trp178	Trp179	Trp178	Trp178	W178	Framework
Ser179	Ser180	Ser179	Ser179	S179	Framework
				D198	Framework
Ile222	Ile223	Ile222	Ile222	I222	Framework
			Leu223		
Arg224	Arg225	Arg224	Arg224	R224	Katalitik
Glu227	Glu228	Glu227	Glu227	E227	Framework
Ser246	Ser247	Ala246	Ala246	S/A246	
		HIS274			
Glu276		Glu276	Glu276	E276	Katalitik
Glu277	Glu277	Glu277	Glu277	E277	Framework
	Glu278				
Arg292	Arg293	Arg292	Arg292	R292	Katalitik
Asn294	Asn295	Asn294	Asn294	N294	Framework
Tyr347		Hıs347		Y/H347	
Gly348	Gly345	Gly348	Gly348	G348	
Arg371	Arg368	Arg371	Arg371	R371	Katalitik
Tyr406	Tyr402	Tyr406	Tyr406	Y406	Katalitik
				E425	Framework

*G39 : Oseltamivir Karboksilat, Sia: Sialik asit, Lnv: Laninamivir

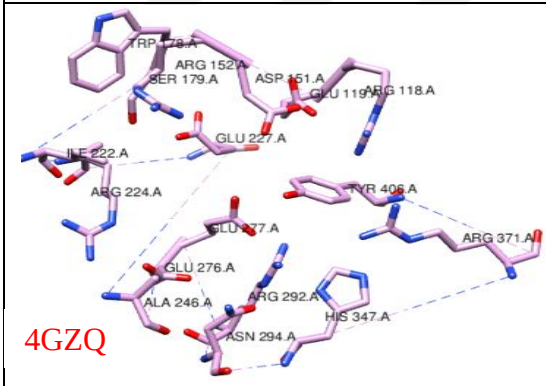
Tercih edilen proteinlerin aktif bölgelerinin hacim, yük gibi istatistiksel verilerinin karşılaştırılmasında PLIC verileri (Anand, 2014) kullanılmış ve sonuçlar Şekil 4.3'te gösterilmiştir. PLIC protein veri bankasında bulunan proteinlerin aktif yörelerinin istatiklerinin bulunduğu web sunucusudur (http://proline.biochem.iisc.ernet.in/PLIC/). Sonuçlar incelendiğinde NA proteinlerinin aktif bölgelerinin oldukça iyi korunmuş olduğu ve Grup-1 nöraminidazların (2HU4, 4B7R) oyuk hacminin daha küçük olduğu görülmektedir. Ayrıca suşlar arasında yüklerin de farklılıklar gösterdiği görülmektedir.

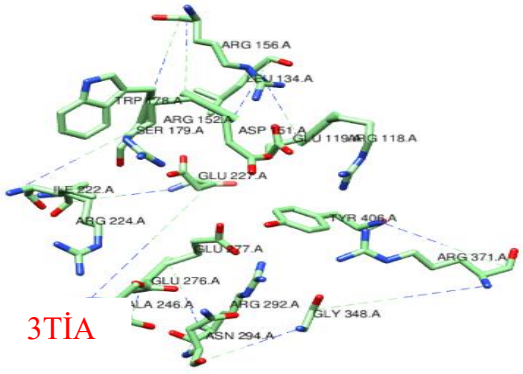




Pocket Volume :	850.39
No. of Alpha Spheres :	68
Mean Alpha Sphere Radius :	3.76
Proportion of Apolar alpha spheres :	0.18
Mean local hydrophobic density :	10.83
Hydrophobicity Score :	-3.64
Volume Score :	3.68
Charge Score :	-2
Proportion of polar atoms :	52.70
Alpha sphere density :	6.44
Max Dist. from centre of mass and all alpha spheres :	16.89
Maximum Theoretical Shape Complementarity :	493
Observed Shape Complementarity :	220
Normalized Shape Complementarity :	0.45

Pocket Volume :	937.26
No. of Alpha Spheres :	53
Mean Alpha Sphere Radius :	3.71
Proportion of Apolar alpha spheres :	0.26
Mean local hydrophobic density :	8.43
Hydrophobicity Score :	-6.1
Volume Score :	3.55
Charge Score :	0
Proportion of polar atoms :	51.28
Alpha sphere density :	6.96
Max Dist. from centre of mass and all alpha spheres :	16.6
Maximum Theoretical Shape Complementarity :	493
Observed Shape Complementarity :	237
Normalized Shape Complementarity :	0.48





Pocket Volume :	1161.23
No. of Alpha Spheres :	57
Mean Alpha Sphere Radius :	4.01
Proportion of Apolar alpha spheres :	0.26
Mean local hydrophobic density :	10.27
Hydrophobicity Score :	-6.15
Volume Score :	3.58
Charge Score :	-4
Proportion of polar atoms :	52.24
Alpha sphere density :	6.49
Max Dist. from centre of mass and all alpha spheres	15.7
Maximum Theoretical Shape Complementarity :	476
Observed Shape Complementarity :	301
Normalized Shape Complementarity :	0.63

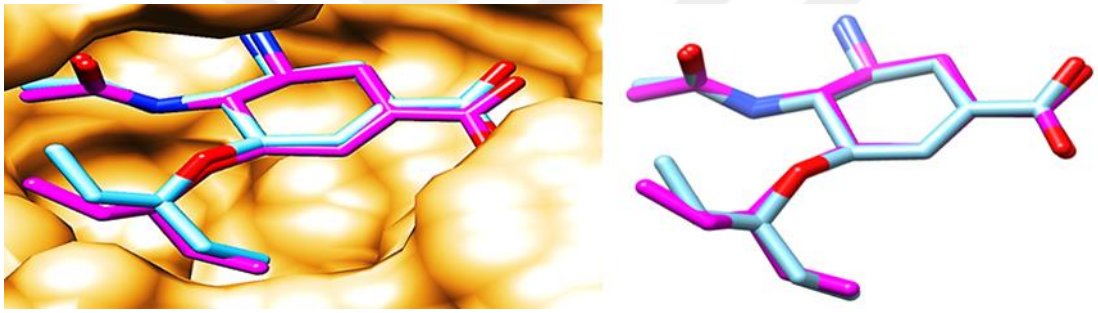
Pocket Volume :	1155.38
No. of Alpha Spheres :	58
Mean Alpha Sphere Radius :	3.90
Proportion of Apolar alpha spheres :	0.24
Mean local hydrophobic density :	11.71
Hydrophobicity Score :	-4.24
Volume Score :	3.68
Charge Score :	-2
Proportion of polar atoms :	55.56
Alpha sphere density :	6.29
Max Dist. from centre of mass and all alpha spheres	16.46
Maximum Theoretical Shape Complementarity :	527
Observed Shape Complementarity :	458
Normalized Shape Complementarity :	0.87

Şekil 4.3 Seçilen proteinlerin aktif yörelerinin şekilleri ve bilgileri

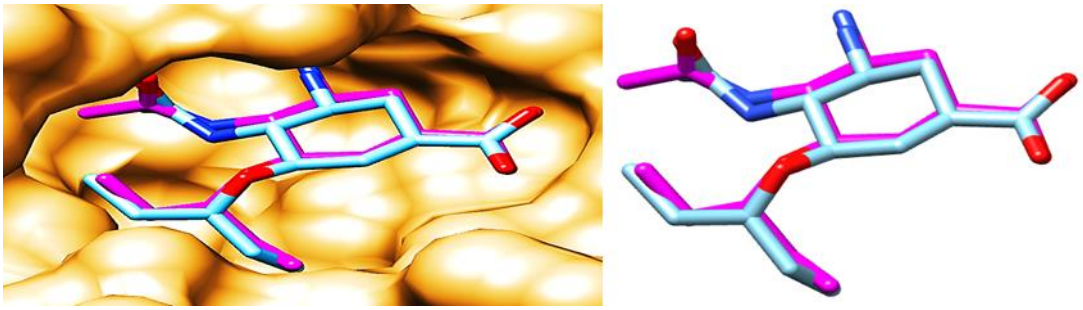
4.2. Moleküler Yerleştirme İşlemleri

4.2.1. Yöntemin Validasyonu

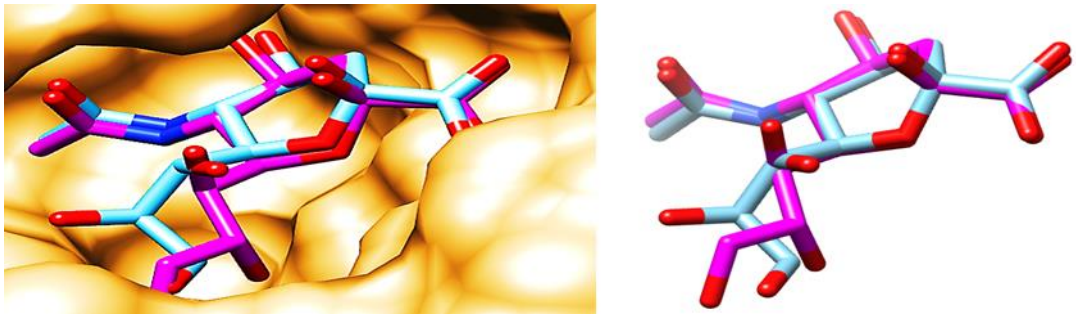
2HU4, 4B7R, 4GZQ ve 3TIA proteinlerinin kristal yapısında bulunan sırasıyla oseltamivir karboksilat, oseltamivir karboksilat, sialik asit ve laninamivir ligantlarının reseptörlere tekrar yerleştirilmesi sonucu elde edilen ve dock skoru en iyi olan yapıların mevcut kristal yapılarla üst üste bindirilmiş görüntüleri Şekiller 4.4-4.7'de sunulmuştur. Bütün ligantların, kristal yapılara çok yakın yönelimlerle aktif merkeze düşük RMSD değerleriyle yerleştirkleri görülmektedir. Sonuçlar bu çalışmada yerleştirme yaklaşımının güvenilir olduğunu göstermektedir. Dock edilmiş yapıların bağlanma modlarının kristal yapılarla mukayeseleri (Şekil 4.8) incelendiğinde dock yaklaşımı ile yerleşen ligandların proteinlerle olan etkileşim desenlerinin kristal yapılardakilerle örtüştüğü görülmektedir.



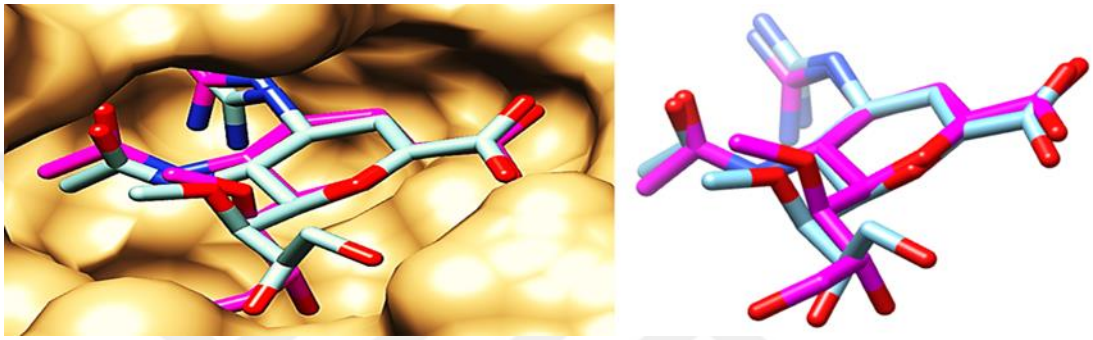
Şekil 4.4 2HU4 proteini içinde kristallenmiş oseltamivir karboksilat (OSC) ligandının (mor) Dock6 ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,399 Å)



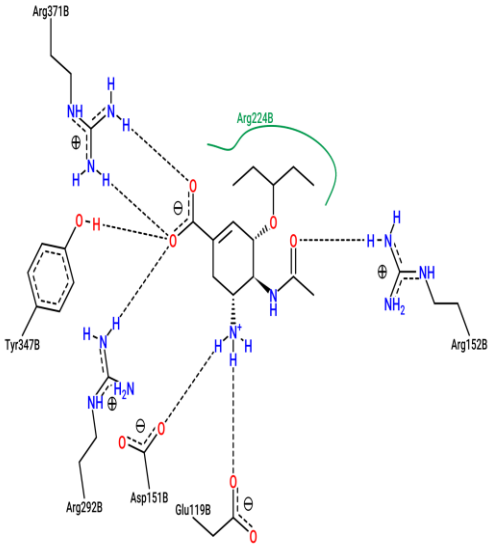
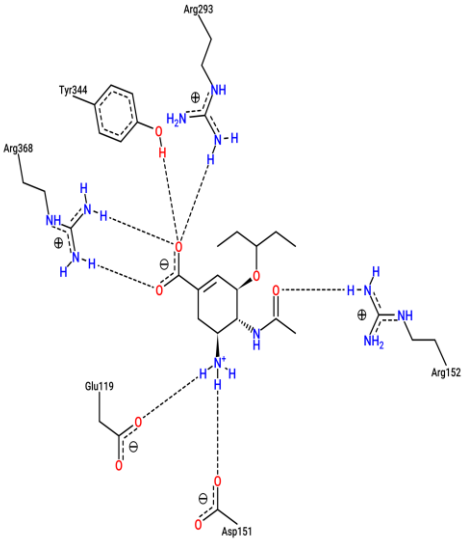
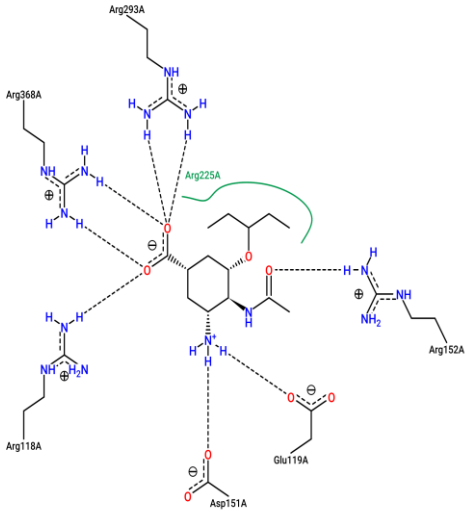
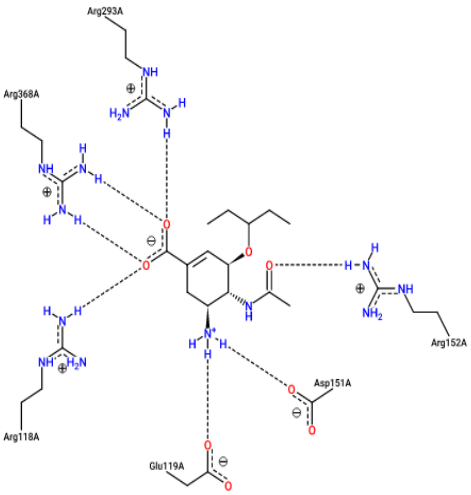
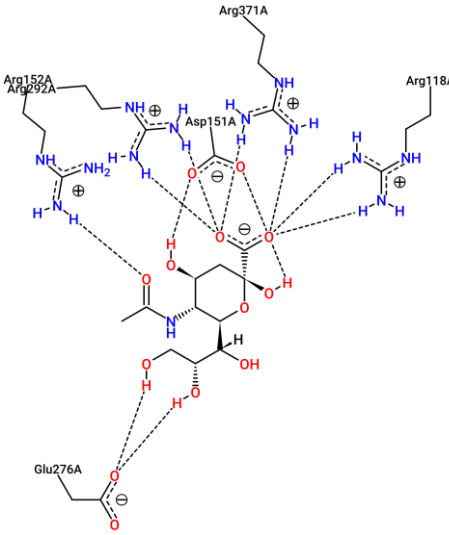
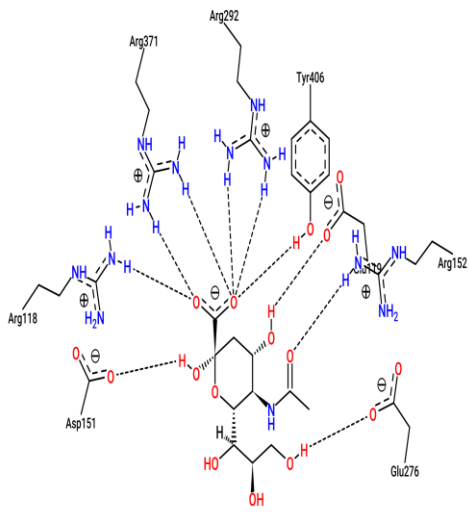
Şekil 4.5 4B7R proteini içinde kristallenmiş oseltamivir karboksilat ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,865 Å)



Şekil 4.6 4GZQ proteini içinde kristallenmiş sialik asit (SIA) ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=0,912 Å)



Şekil 4.7 3TIA proteini içinde kristallenmiş laninamivir (LNV) ligandının (mor) Dock6 programı ile proteine tekrar yerleştirilmişgörüntüsünün (mavi) üst üste çakıştırılması (RMSD=1,124 Å)

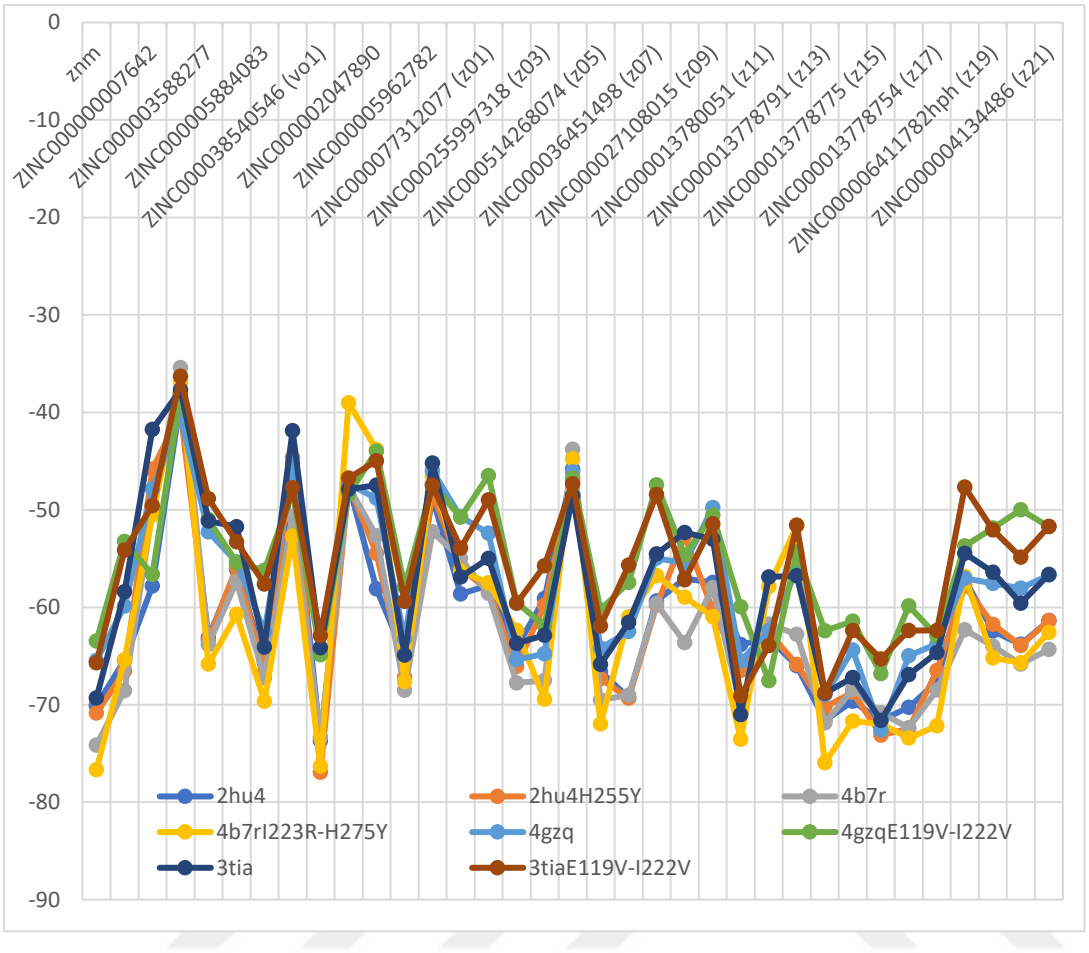
	Kristal Yapı Etkileşimleri	Dock Sonrası Etkileşimler
2HU4		
4B7R		
4GZQ		

Şekil 4.8 Kristal ve dock edilmiş yapılarda ligandların proteinlerle etkileşimlerin 2D görüntüleri

4.2.2. Moleküler Yerleştirme İşlemleri

Bu çalışmada kullanılan reseptörlere topluca dock edilen molekül sayısı 7.000'den fazla olmasına sebebiyle tüm ligandların ve dock sonuçlarının gösterilmesi tezin kapsamını aşacaktır. Bu sebeple nisbeten daha özgün olan, dock skoru daha yüksek olup MD analizleri sırasında oyukta daha kalıcı ve kapsayıcı konumlanacağı öngörülen ligandlar sonraki aşamalara geçirilmiştir. Bu ligandların seçilen reseptörlere kenetlenmesi sonucu elde edilen skorlar EK 7'deki tabloda verilmiştir.

EK 7'de yer alan tablo verilerinden elde edilen ZINC veritabanının NA geni üzerinden sanal taranmasıyla elde edilen sadece *in vivo* ve sadece *in vitro* çalışılmış ligandlara ve ZINC predictions alt kümelerine ait dock skorlarının grafiği Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Şekilden de görüleceği gibi vo1 olarak kodladığımız ligand tüm reseptörlere ve özellikle 4B7R'nin mutant varyantına yüksek skorla bağlanmış ve bu gerekçeyle önce 3TIA ile sonra tüm reseptörlerle MD hesaplamaları yapılacak liganlardan biri olarak seçilmiştir. Aynı şekilde ZINC predictions alt kümesinde yer alan ligandlardan z15 olarak kodlanan ligand daha özgün olduğu kanısıyla tüm reseptörlerle MD hesaplamaları yapılıştır. ro1 olarak kodlanan ligandın ise 3TIA reseptörü ile MD hesaplamaları yapılmış, MD sırasında kararlı bağlanmalar göstermediğinden diğer reseptörlerle MD hesaplamaları yapılmamıştır.

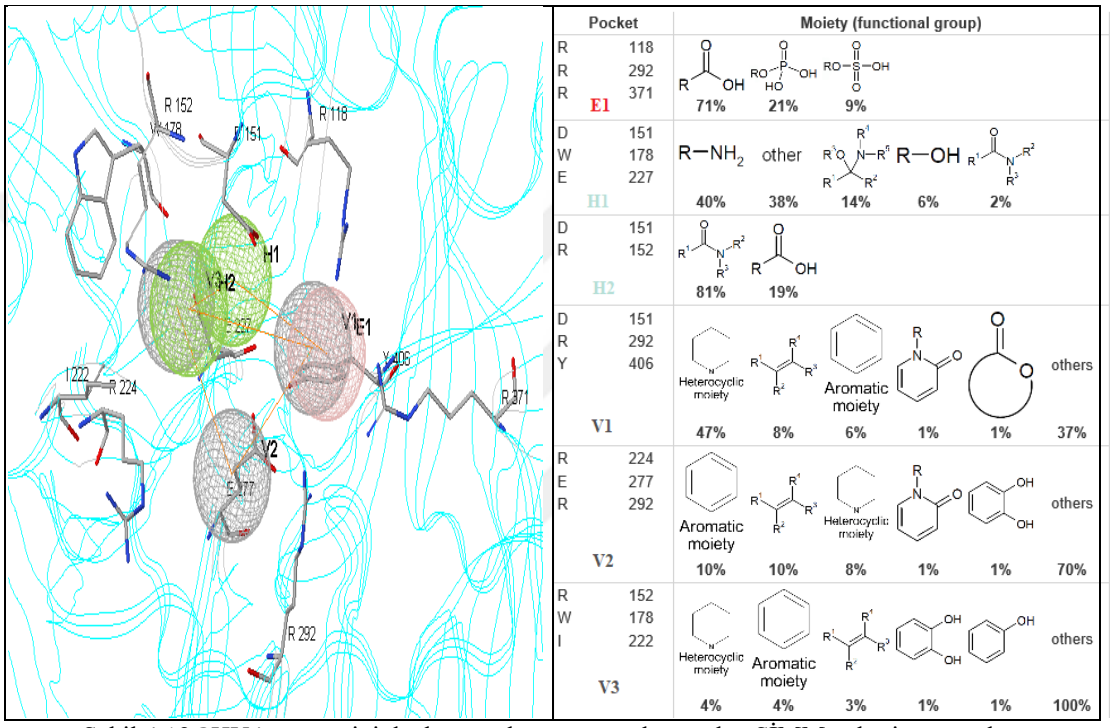


Şekil 4.9 Sadece *in vitro*, sadece *in vivo* ve ZINC predictions altkümelerinden seçilmiş ligandların dock skorları grafiği

Yukarıda açıklandığı üzere EK 7'deki tabloda gösterilen seçilmiş ve tasarlanmış tüm ligandlardan MD için seçilecek ligandları belirlemede sadece dock sonuçlarını ölçüt alınmamıştır. Bunun yerine tüm ligandların dock sonuçları Chimera programı ile incelenmiş ve reseptörlerden tamamının oyuklarına düşük skorla, uygun konum ve konformasyonda, oyuktaki katalitik amino asitlerle etkileşim kurarak yerleşmiş, nisbeten özgün olan ligandlar 3TIA reseptörü ile MD hesaplaması yapılmak üzrere seçilmiş, 3TIA ile MD hesaplama sonucu başarılı bulunan ligandların diğer reseptörlerle de MD hesaplamaları yapılmıştır.

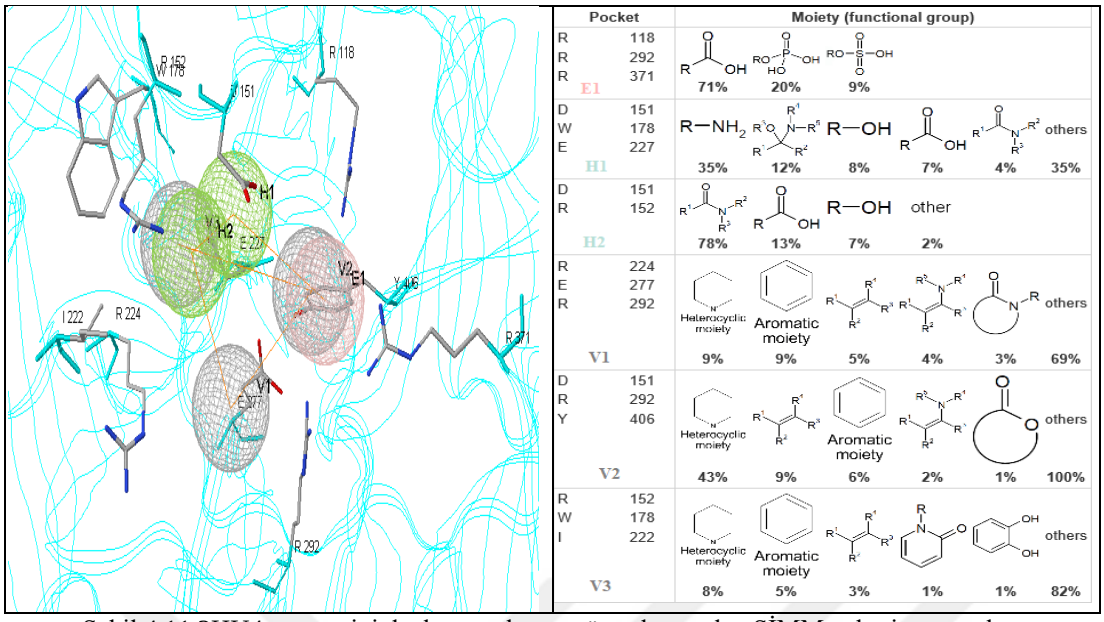
Dock sonucu oluşan reseptör-ligand etkileşimleri bir sonraki bölümde moleküler dinamik hesaplamaların başlangıç yerleştirme görüntüsü olarak verildiğinden bu bölümde gösterilmemiştir. Ancak sonuçların topluca analiz edilebilmesi için geliştirilmiş uygulamalar vardır. Sonuçların incelenmesi için reseptörde bağlanma bölgelerini belirleyip (anchor-çapa) dock sonucunda bu bölgelerle ligand parçaları

arasında konum-parça (site-moiety) haritası oluşturan SIMMap (Chen vd., 2010) kullanılabilir. SIMMap haritalarında her çapa bağlanma yöresinde etkili artıklardan oluşan ve etkileşimleri (elektrostatik (E), hidrojen bağı (H), Van der Waals (V)) içeren bir bağlanma cebini gösterir. Dock edilen tüm ligandlar değil ama EK 7'de skorları verilen ligandların reseptörlerden bir kısmı ile oluşturduğu haritalar aşağıda (Şekiller 4.10.-4.14) açıklanmıştır.



Şekil 4.10 2HU4$_{WT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları

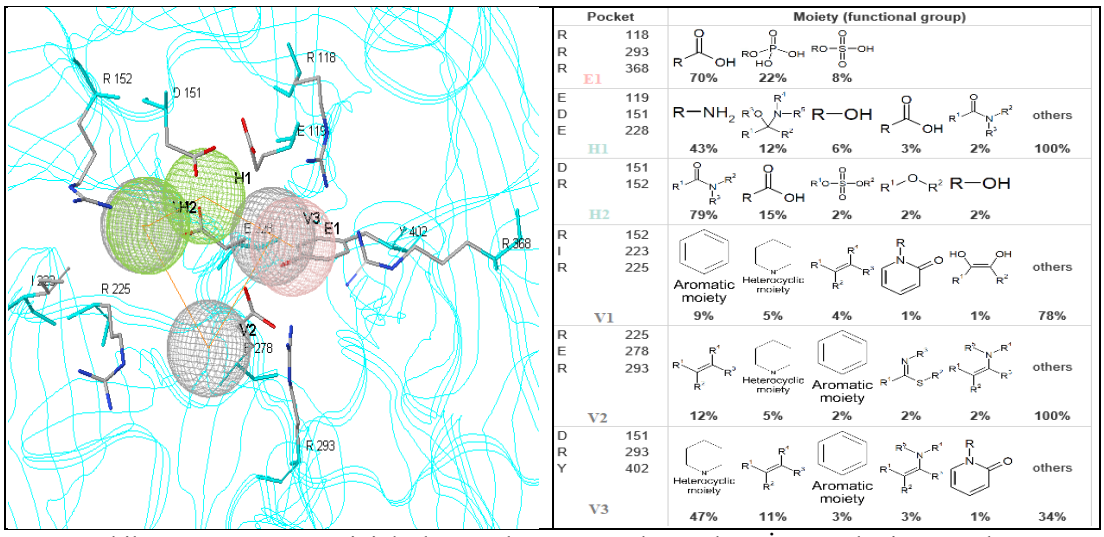
2HU4$_{WT}$ reseptörünün SIMMap haritası (Şekil 4.10) incelendiğinde altı çapa oluştuğu görülüyor. E1 elektrostatik etkileşimleri içeren Arg118, Arg292 ve Arg371 artıklarını bulunduran pozitif yüklü ceptir. Bu cep moleküllerin karboksilat, fosfonik asit ve sülfonik asit gruplarıyla etkileşimi tercih etmiştir. H1 ve H2 hidrojen bağları etkileşimlerini içeren 2 ceptir ve bitişiklerine konumlanmış V3 cebi ile birlikte 150 ilmeğinin yanındadır. Grup-1 nöraminidazlarda molekülün 150 ilmeği ile etkileşimde olması 150 ilmeğinin oyuğunu kapatması açısından önemlidir. Seçilen moleküllerin büyük yüzdesinin bu ceplerde bulunan artıklarla etkileşimde olduğu görülmektedir. V1 ve V2 çapaları ise Van der Walls etkileşimleri de içeren, moleküllerin apolar kısımlarının etkileşimlerini de barındıran çapalardır.



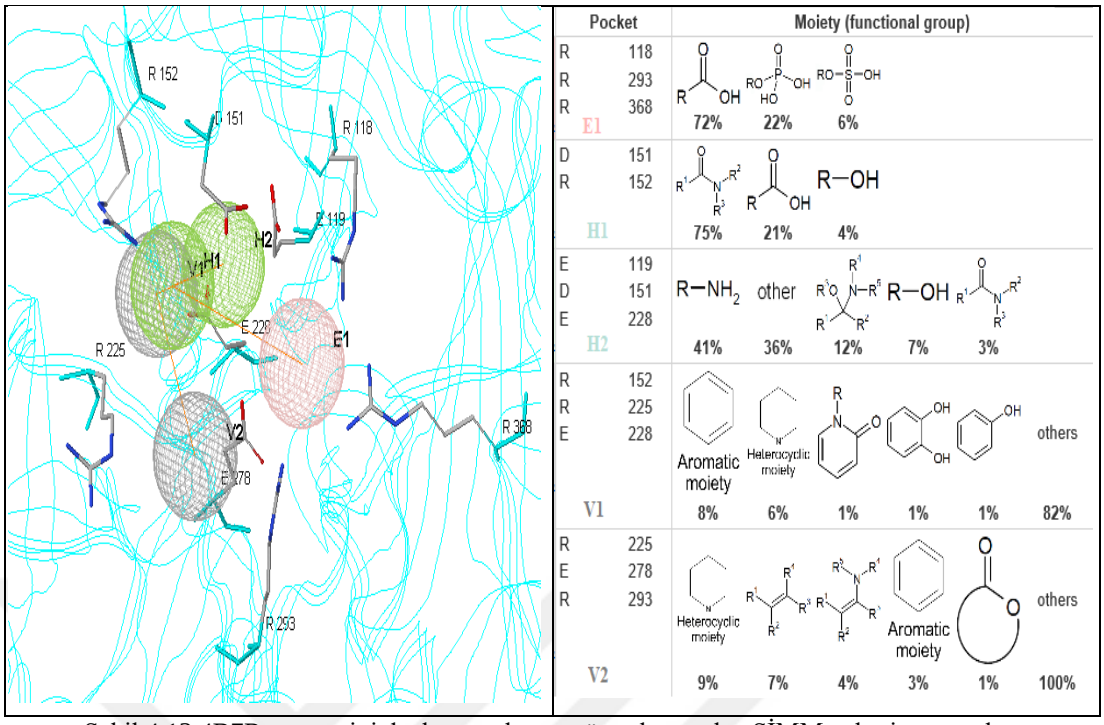
Şekil 4.11 2HU4$_{MT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları

Şekil 4.11 incelendiğinde 2HU4$_{WT}$'ye göre H274Y nokta mutasyonunu içeren 2HU4$_{MT}$ proteininin ligandlarla olan etkileşiminin SIMMap haritasının WT ile hemen hemen aynı olduğu sadece çapalarla eşleşen ligand parçalarının yüzdelerinde küçük değişiklikler olduğu görülmektedir.

4B7R$_{WT}$ proteininin SIMMap haritası ise Şekil 4.12'de gösterilmiştir. Çapa sayısı ve çapaları oluşturan amino asitler 2HU4 ile benzer olmakla birlikte H1 çapasını oluşturan aminositlerden Trp178 yerine Glu119 geldiği görülmektedir.

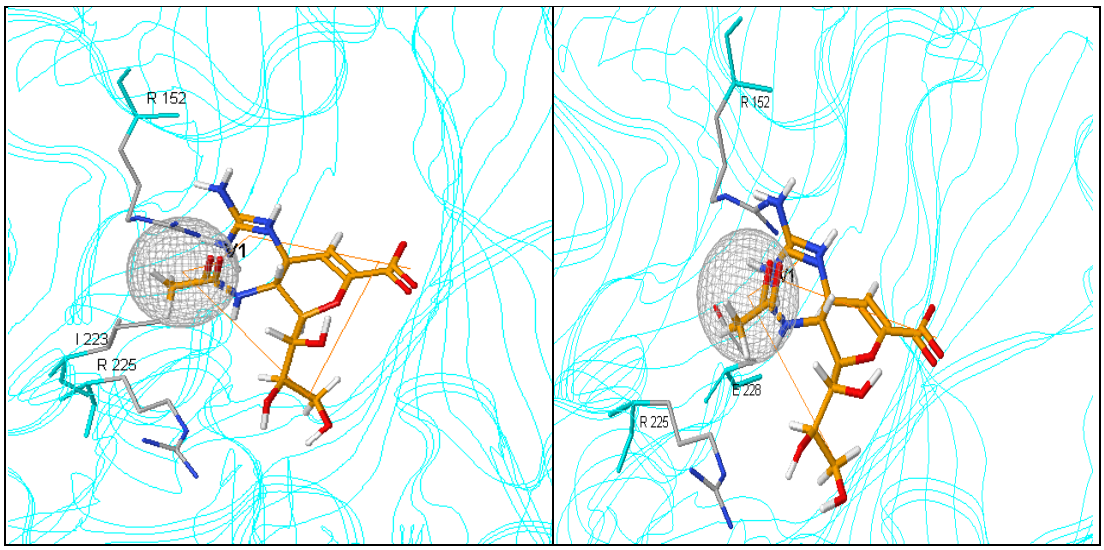


Şekil 4.12 4B7R$_{WT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları



Şekil 4.13 4B7R$_{MT}$ proteini dock sonuçlarına göre oluşturulan SİMMap harita sonuçları

4B7R$_{MT}$ proteinin ligandlarla olan etkileşiminin SIMMap haritası ise Şekil 4.12'de gösterilmiştir. 4B7R proteininin mutant olmayan tipine göre I223R ve H275Y nokta mutasyonunu bulunduran bu proteinin mutant olmayan tipe göre E1, H1, H2 çapalarını koruduğu ancak özellikler I223R mutasyonu ile V1 çapasını oluşturan amino asitlerin değiştiği WT'de olan I223 yerine E228 geldiği görülmektedir (Şekil 4.13).



Şekil 4.14 4B7R$_{WT}$ proteini V1 çapası (sol), 4B7R$_{MT}$ proteini V1 çapası (sağ) (Gösterilen ligand zanamivirdir)

4.3. Moleküler Dinamik Hesaplamaları

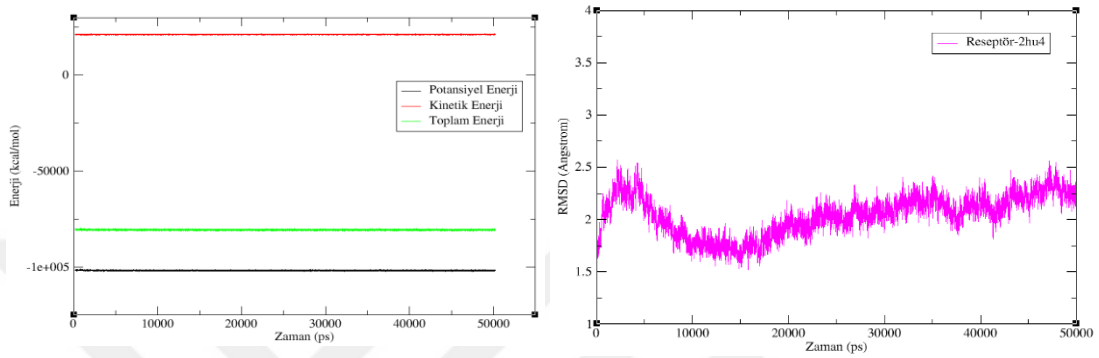
İnfluenza nöraminidazın dört suşuna ait dört resepeseptör (2HU4, 4B7R, 3TIA ve 4GZQ) çalışmada kullanıldı. Bu dört reseptöre nokta mutasyon uygulanarak hazırlanmış dört mutant reseptörün ve bu reseptörlere dock yaklaşımı ile başarılı bir şekilde yerleştirilmiş ligandlarla oluşturulan komplekslerin, nötr sulu çözelti içindeki 300 K sıcaklık ve bir atm basınç altındaki moleküler dinamik davranışları 50 ns süreyle incelenmiştir. Moleküler dinamik çalışmaları uzun zaman aldığından ve MD sonuçlarının hepsini incelemek tezin kapsamını aşacağından MD hesaplamalarında kısıtlamaya gidilmiştir. Bu kısıtlamalar için FDA onaylı iki ilaç molekül (oseltamivir ve zanamivir) karşılaştırma referansı olarak kullanılmıştır. Önceki bölümde nasıl seçildiği açıklanmış olan moleküllerden dock işlemlerinde başarılı olarak belirlediğimiz ligandların önce 3TIA reseptörü ile MD hesaplamaları yapılmıştır. Bu aşamada başarılı bulunan moleküllerin dört mutant reseptörle MD hesaplamaları yapılmıştır. Dört reseptör için de başarılı sonuç veren ligandların dört mutant reseptörle kompleksi oluşturulmuş ve bu komplekslerin moleküler dinamik hesaplamaları yapılmıştır.

Bulgular, MD hesaplamalarının tümünde simülasyon süresince nöraminidazın baş bölgesinde olan dört yapraklı yonca şeklindeki tetramer yapısının bir monomeri olan proteinin, dört kanatlı pervane tersiyer yapısını ve her bir kanadın disülfit bağları ile stabilize olan değişken uzunluktaki ilmeklerle bağlanan dört anti paralel β-çarşaf yapısını koruduğu görülmektedir. Bu bulguya ek bulgular proteinlerin ve komplekslerin MD sonuçlarının açıklandığı aşağıdaki alt başlıklarda verilmiştir.

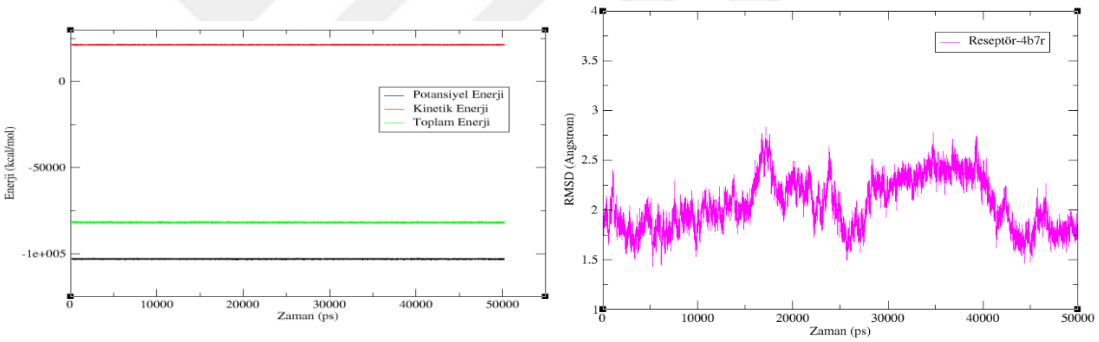
4.3.1. Reseptörlerin MD Hesaplamaları

Nöraminidaz alt tiplerinden seçtiğimiz dört mutant olmayan tip (wild type-wt) proteinin 50 ns boyunca uygulanan MD simülasyonuna ait zamana bağlı enerji ve RMSD değişimleri aşağıda (Şekiller 4.15-4.18) verilmiştir. Bütün yapıların zamana bağlı enerji değişimlerinde benzer bir değişim gözlenirken toplam enerjinin negatif olduğu ve zamanla düştüğü görülmektedir. $2HU4_{WT}$ reseptörüne ait zamana bağlı RMSD değişiminde değişimin ilk aşamalarda 2,5 Å seviyelerine çıktığı sonra 1,5 Å seviyelerine düştüğü ve ardından 2,2 Å seviyelerinde durağanlaştığı görülürken $4B7R_{WT}$ ve $3TIA_{WT}$ proteinlerinin zamana bağlı RMSD değişimleri (Şekil 4.16 ve

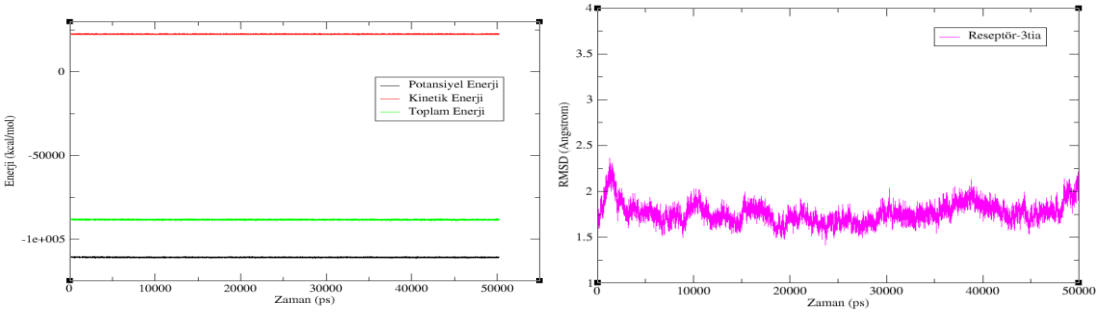
4.17) benzer bir değişim göstermekte ve 2,0-2,5 Å seviyelerinde dalgalı bir seyir izledikten sonra 1,8 Å seviyelerine düştüğü ve durağanlaştığı görülmektedir. $4GZQ_{WT}$ ise RMSD değişimi (Şekil 4.18), başlanıçta 1,5 Å seviyelerine indiği sonra 2,5 Å seviyelerine çıktığı ardından 2,0 Å seviyelerinde durağanlaştığı görülmekte ve yapının durağan bir kararlılığa yakınsadığı anlaşılmaktadır.



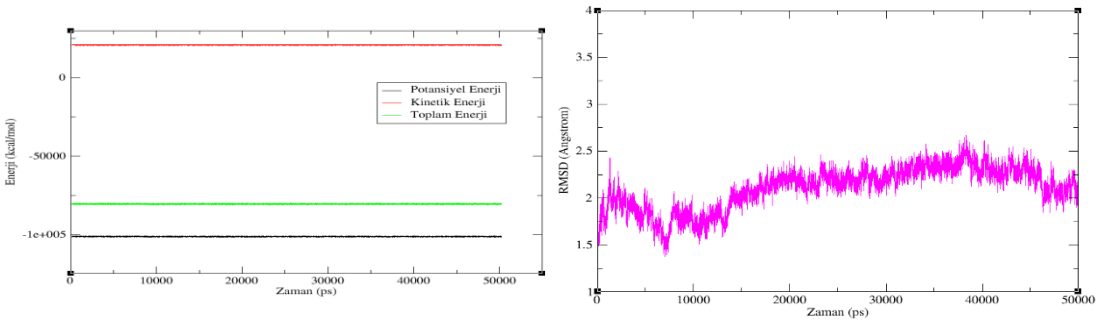
Şekil 4.15 $2HU4_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.16 $4B7R_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

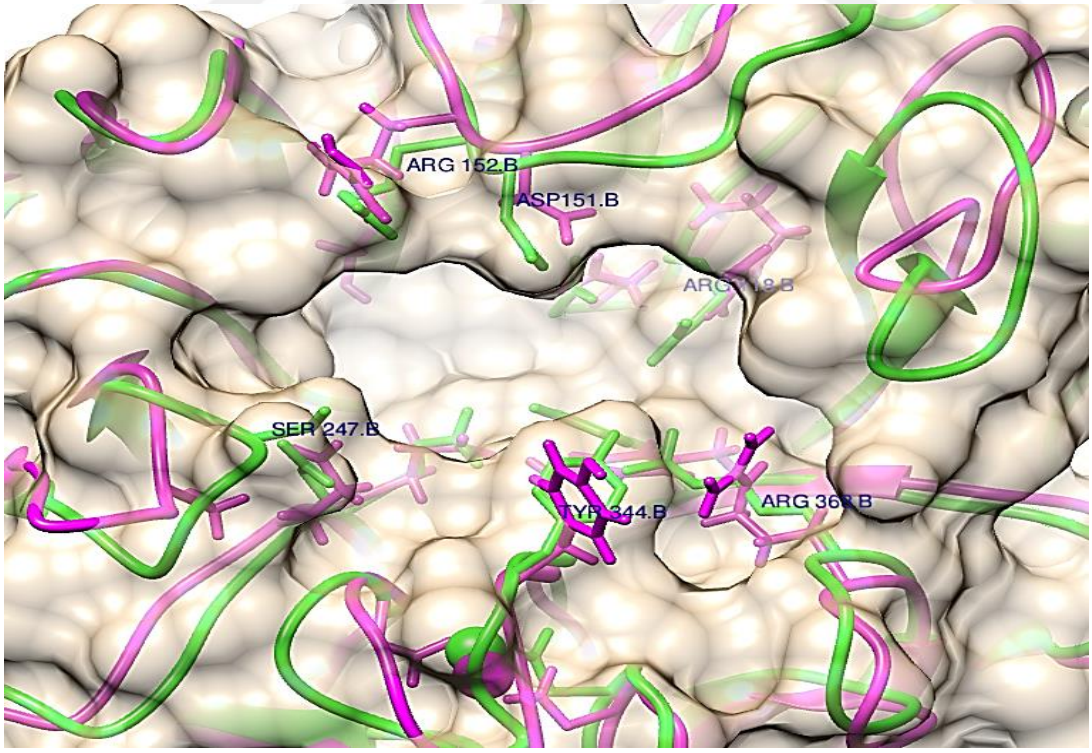


Şekil 4.17 $3TIA_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

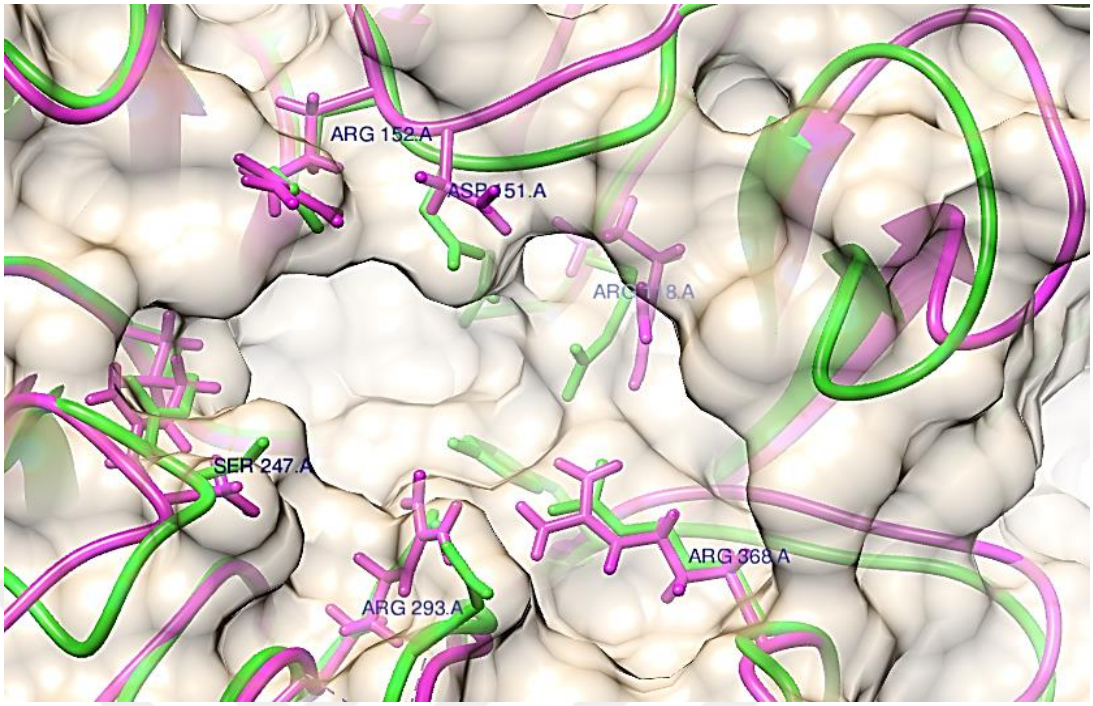


Şekil 4.18 $4GZQ_{WT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

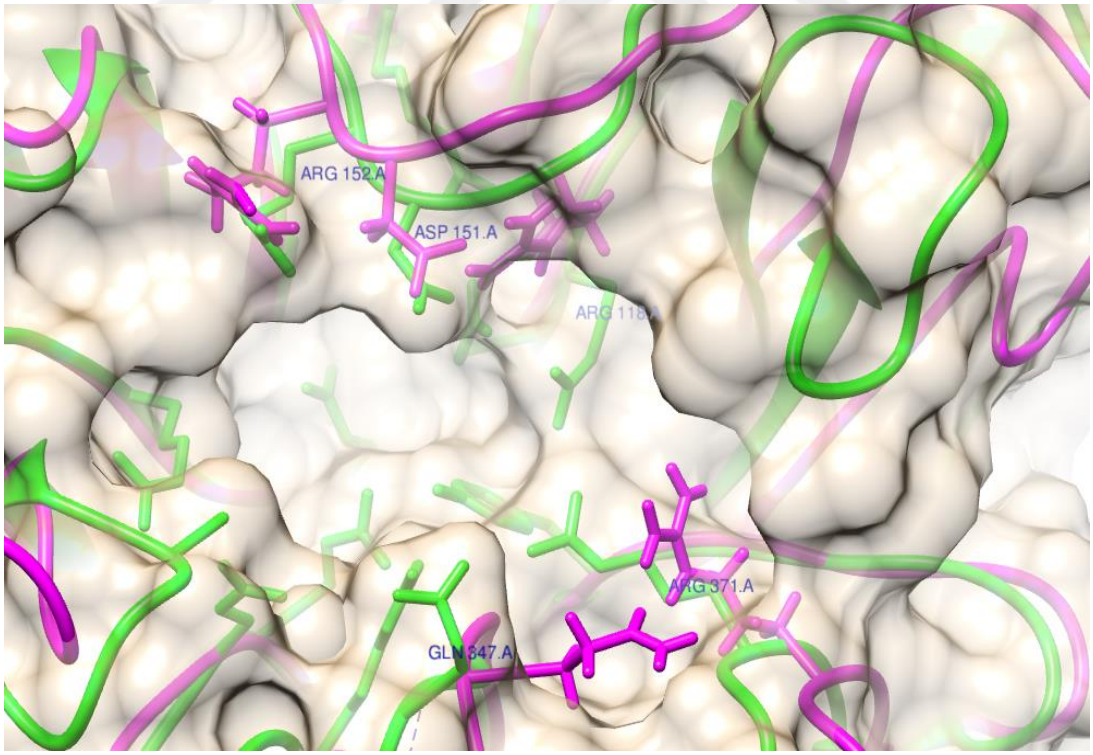
Dört mutant olmayan tip proteinin MD hesaplamalardan elde edilen ve en kararlı konformasyonların kristal yapılarla üst üste bindirilmiş görüntüleri aşağıda (Şekiller 4.19-4.22) sunulmuştur. Şekiller incelendiğinde tüm proteinlerin esnek (flexible) yapısının doğal bir sonucu olarak moleküler dinamik sırasında zincir yapısının doğal hareketliliği ile birlikte aktif yöre etrafındaki ilmeklerin başlangıç kristal yapısına göre az veya çok yer değiştirdiği görülmektedir. İlmeklerde görülen bu hareketliliğin proteinlerin katalitik bölge artıklarının da bir kısmının konformasyon değişimine sebep olduğu görülmektedir.



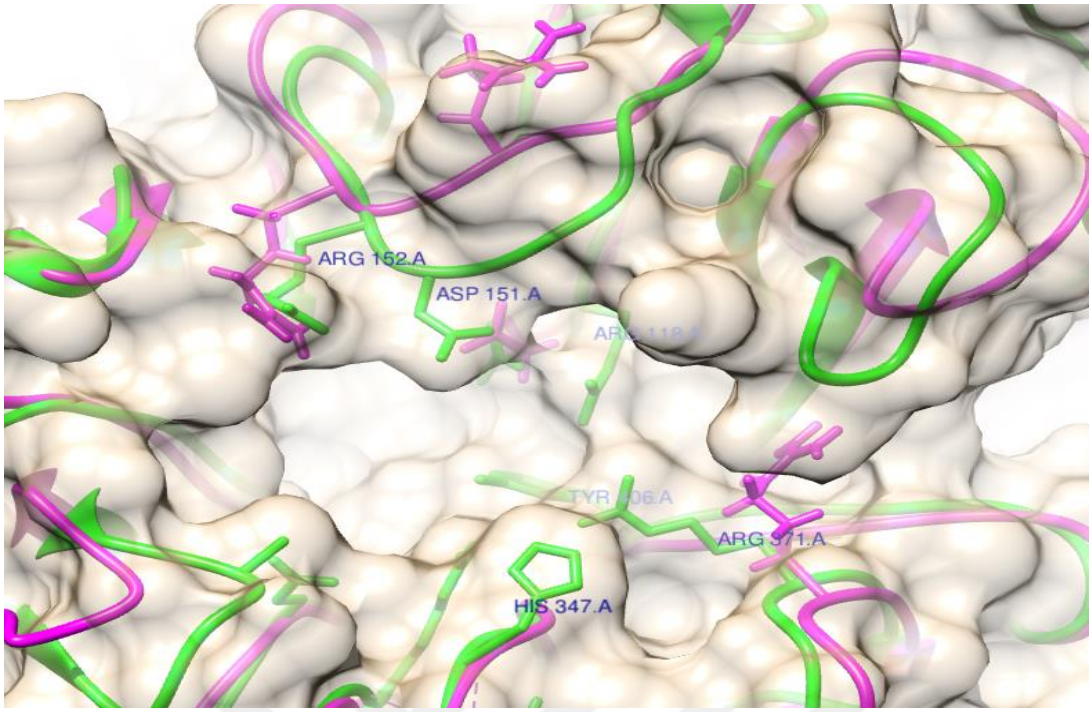
Şekil 4.19 $2HU4_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,021 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir)



Şekil 4.20 $4B7R_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,919 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir)

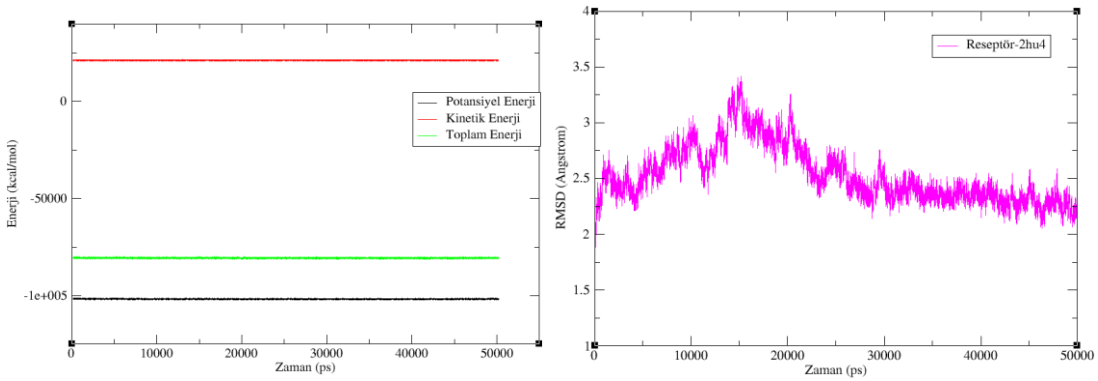


Şekil 4.21 $3TIA_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,941 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir)

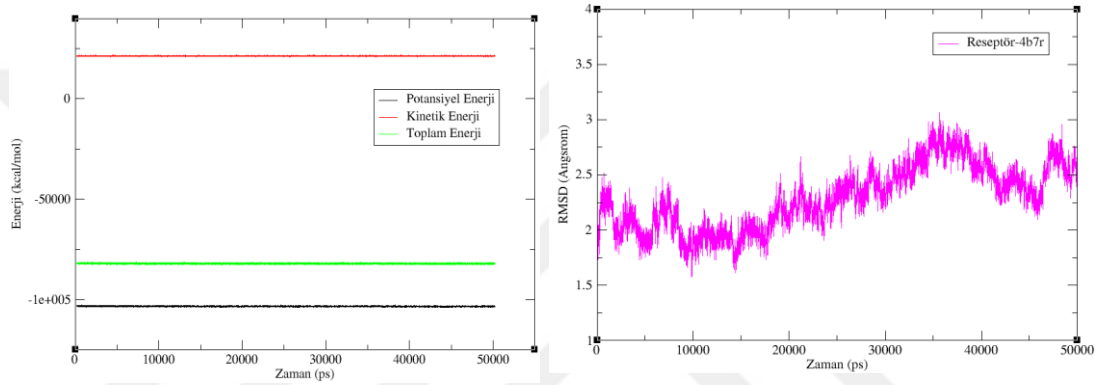


Şekil 4.22 $4GZQ_{WT}$ proteini kristal X-ray yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonun (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,027 Å) (Gösterilen yüzey X-ray yapısına aittir)

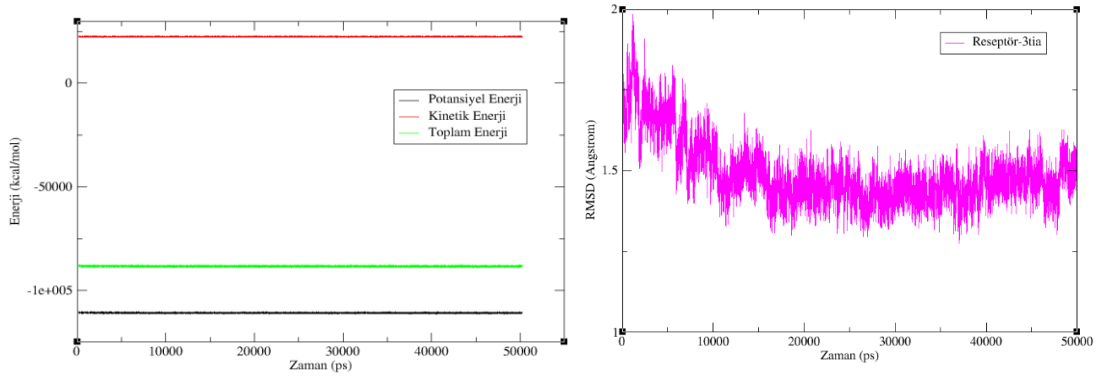
Mutant Tip (MT) proteinlerin de konformasyonel değişimlerini belirlemek için, mutant olmayan tip reseptörlerde olduğu gibi, 300 K'de, nötr sulu çözeltideki MD simülasyonları 50 ns süre boyunca yürütüldü. Bu MD simülasyonlana ait zamana bağlı enerji ve RMSD değişimleri aşağıda (Şekil 4.23-4.26) verilmiştir. Bütün yapıların zamana bağlı enerji değişimlerinde benzer bir değişim gözlenirken toplam enerjinin negatif olduğu ve zamanla düştüğü görülmektedir. $2HU4_{MT}$ reseptörüne ait zamana bağlı RMSD değişiminde (Şekil 4.23) değişimin ilk aşamalarda 3,5 Å seviyelerine çıktığı sonra 2,2 Å seviyelerine düştüğü görülürken, $4B7R_{MT}$ reseptöründe (Şekil 4.24) RMSD seviyesinin dalgalı bir seyirden sonra 2,5 Å seviyelerine geldiği ve $3TIA_{MT}$ proteininde ise (Şekil 4.25) önce 2 Å düzeyinde sapma olduğu sonra sapmanın 1,5 Å seviyesinde durağanlaştığı, $4GZQ_{MT}$ ise RMSD değişiminin (Şekil 4.26) dalgalı bir seyir izleyerek 2.0 Å seviyelerinde durağanlaştığı görülmektedir.



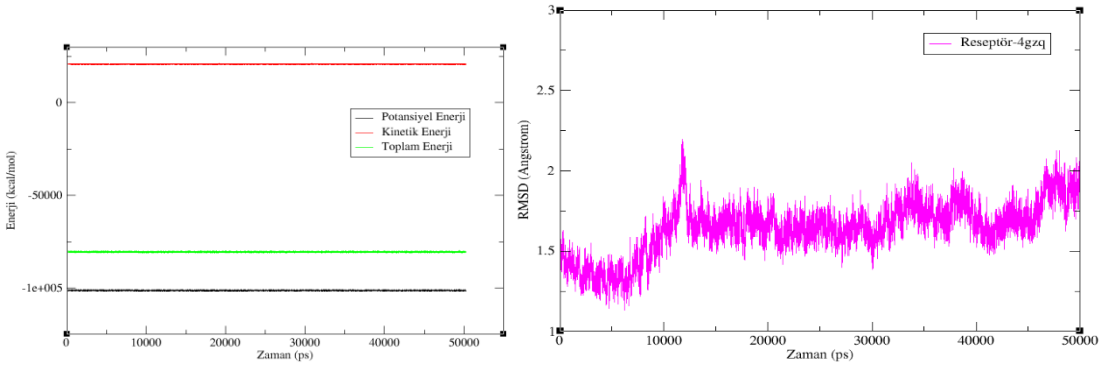
Şekil 4.23 $2HU4_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.24 $4B7R_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

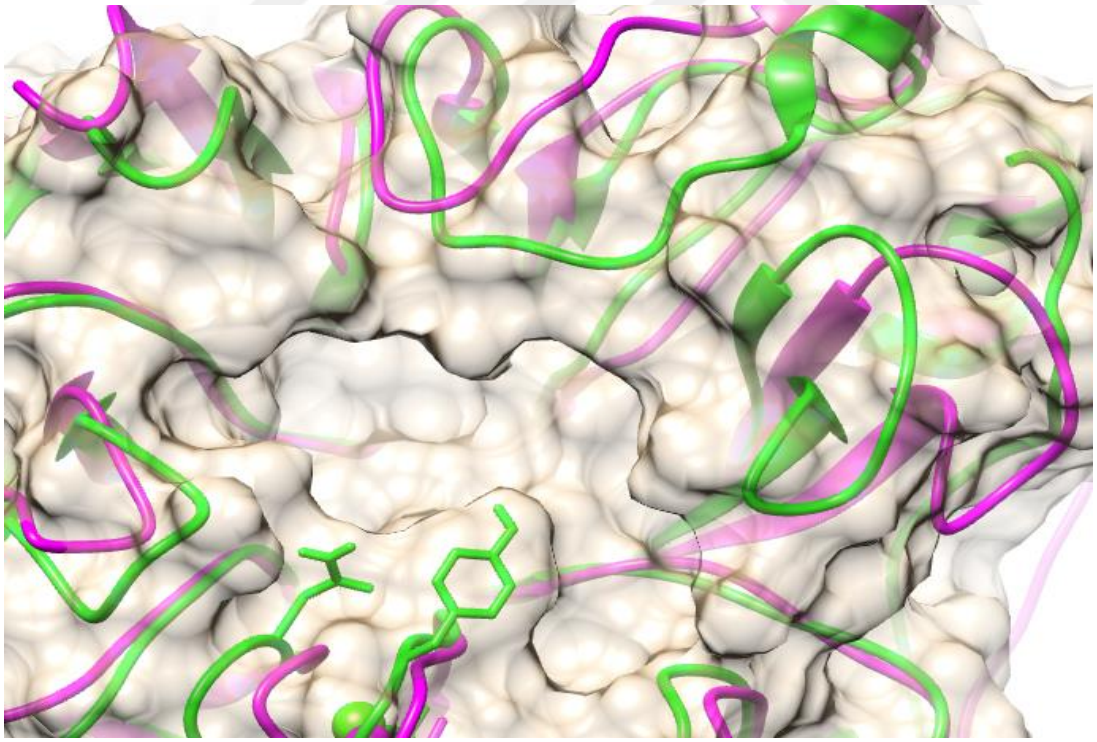


Şekil 4.25 $3TIA_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

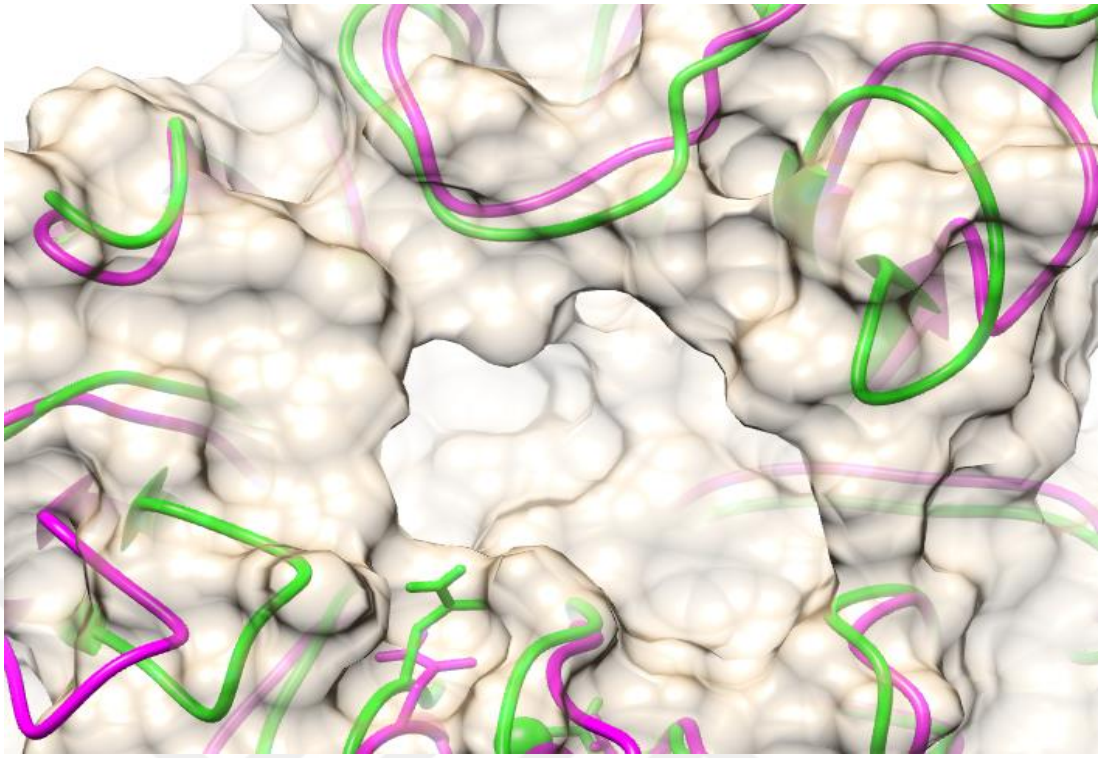


Şekil 4.26 $4GZQ_{MT}$ proteini MD sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

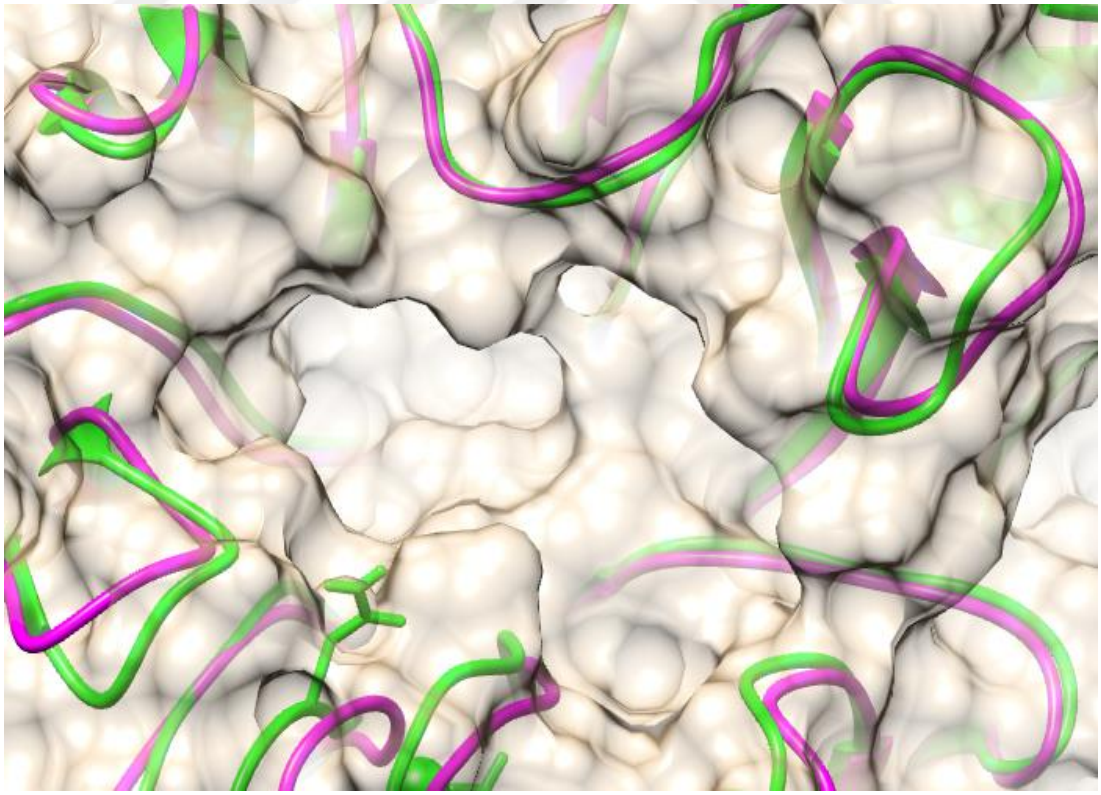
Dört mutant proteine ait MD hesaplamalardan elde edilen en kararlı konformasyonların başlangıç konformasyonu ile üst üste bindirilmiş görüntüleri Şekiller 4.27-4.30'da sunulmuştur. Şekiller incelendiğinde tüm mutant proteinlerin esnek yapısının doğal bir sonucu olarak moleküler dinamik sırasında zincir yapısının doğal hareketliliği ile birlikte aktif yöre etrafındaki ilmeklerin başlangıç kristal yapısına göre az veya çok yer değiştirdiği görülmektedir.



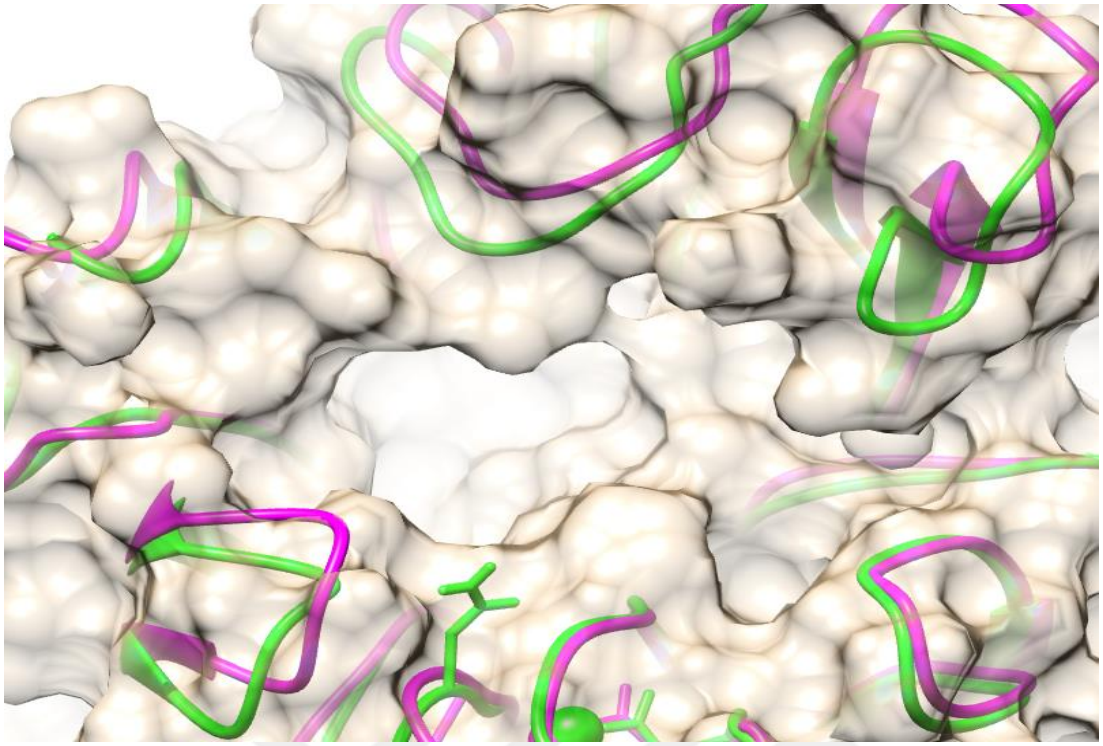
Şekil 4.27 $2HU4_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,076 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir)



Şekil 4.28 $4B7R_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,019 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir)



Şekil 4.29 $3TIA_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,971 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir)



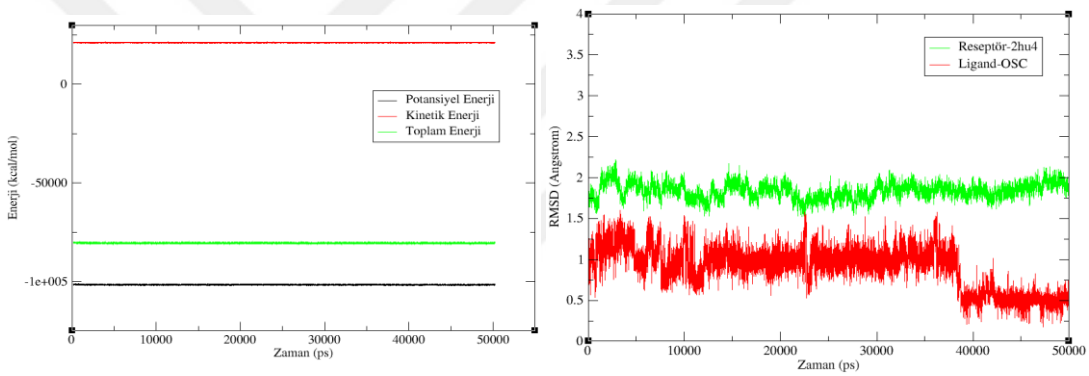
Şekil 4.30 $4GZQ_{MT}$ MD başlangıç yapısı (yeşil) ve bu yapının MD hesaplamaları sonucu en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden konformasyonu (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,016 Å) (Gösterilen yüzey başlangıç yapısına aittir)

4.3.2. Komplekslerin MD Hesaplamaları

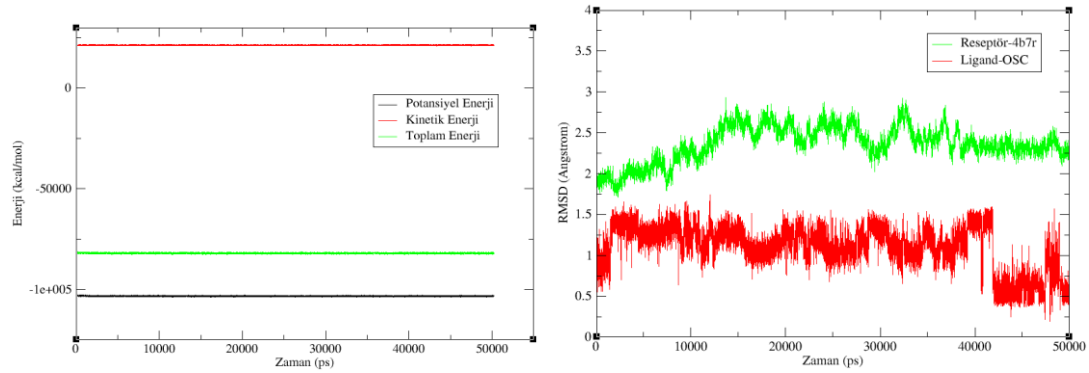
Oseltamivir ve Zanamivir molekülleri FDA onayı almış ve grip tedavisinde kullanılan ilaçlardır. Çalışmamızda bu moleküllerin seçtiğimiz 4 proteinle etkileşmeleri yeni antinöraminidaz etkinliğine sahip molekülleri belirlemede karşılaştırma referansı amacıyla kullanılmıştır. Dock sonrası oluşan etkileşimler ve moleküler dinamik sonrasındaki etkileşimleri ise bu bölümde karşılaştırılmış ve tüm sonuçlar sırasıyla aşağıda verilmiştir.

$2HU4_{WT}$ proteinine Oseltamivir karboksilat (OSC) ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.31-4.34'te verilmiştir. Bu Şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.31'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği 2 Å civarında kararlı bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. OSC ligandı RMSD değerinin ise önce çok az da olsa yükseldiği sonra 40 ns civarında birden düştüğü ve durağanlığa yakınsadığı görülmektedir. Şekil 4.32'de RMSD grafiği

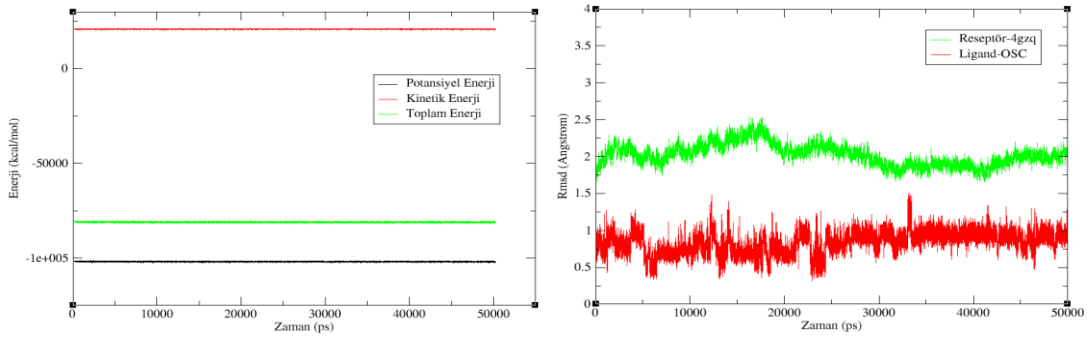
dikkate alındığında 4B7R$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 40 ns sonrasında nispeten stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.33'te RMSD grafiği dikkate alındığında 4GZQ$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir değişkenlikten sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1 Å aralığında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.34'te RMSD grafiği dikkate alındığında 3TIA$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın RMSD değerinin ise ani bir sıçrama ile 1,6 Å seviyelerine çıktığı ve bu düzeyde seyrettiği görülüyor. Bu da ligandın yeni bir konuma geçip orada kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir.



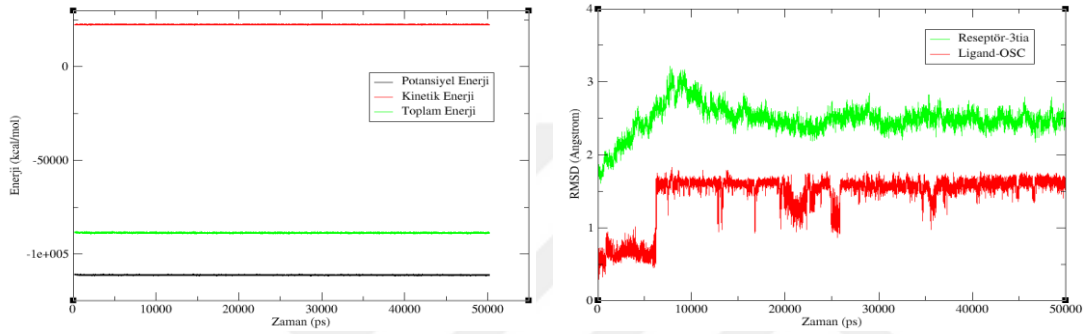
Şekil 4.31 2HU4$_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.32 4B7R$_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

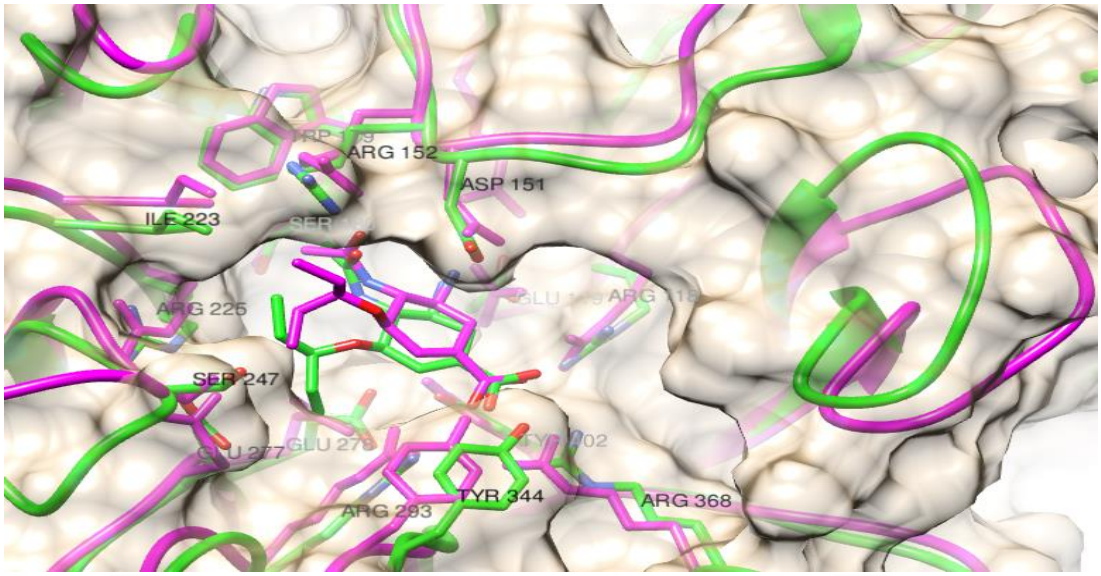


Şekil 4.33 4GZQ$_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



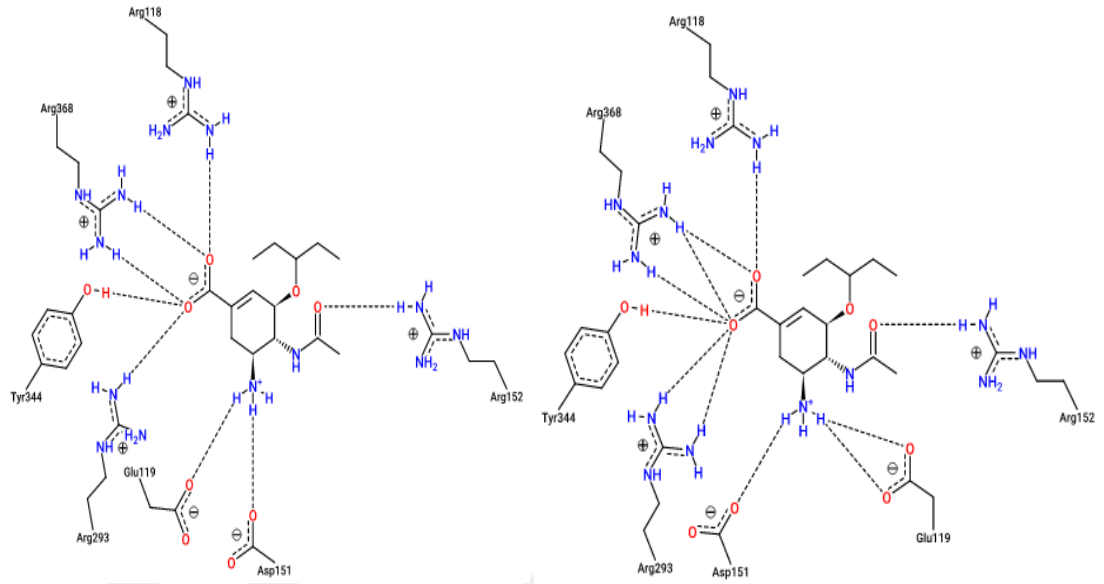
Şekil 4.34 3TIA$_{WT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sırasında zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks (aynı zamanda MD başlangıç kompleksidir) ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,041 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.35'te gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak çok fazla değişime uğramadığı, bununla birlikte reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu çok fazla değiştirmediği, OSC ligandının ise özellikle -OCHEt$_2$ grubunun konformasyonun biraz değiştiği görülmektedir.



Şekil 4.35 $2HU4_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,041 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.36'da verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince (50 ns) oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve bu etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu göstermektedir. Dock yerleştirmesi sırasında oluşan etkileşimler, kompleksin en düşük enerjili konformasyonuna geçtiği anda da devam etmiş dolayısıyla ligand reseptöre bu etkileşimlerin devamı ile dock ile yerleştiği başlangıç konumunu ve konformasyonunu devam ettirdiğini gösterir.

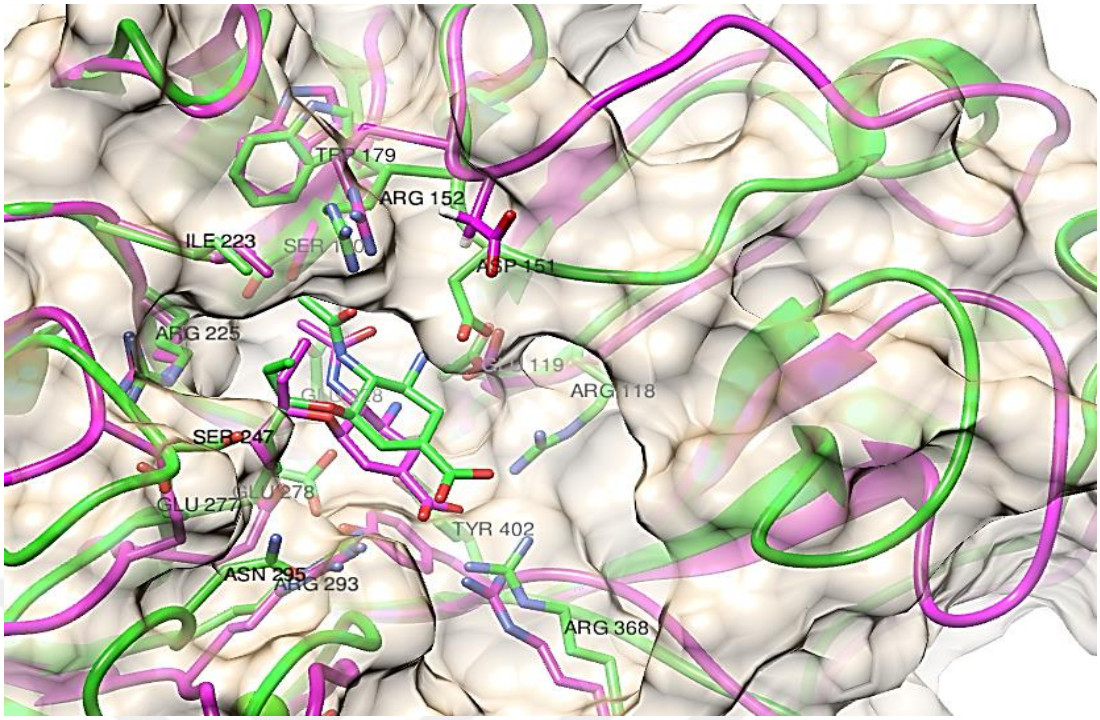


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD sırasında minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

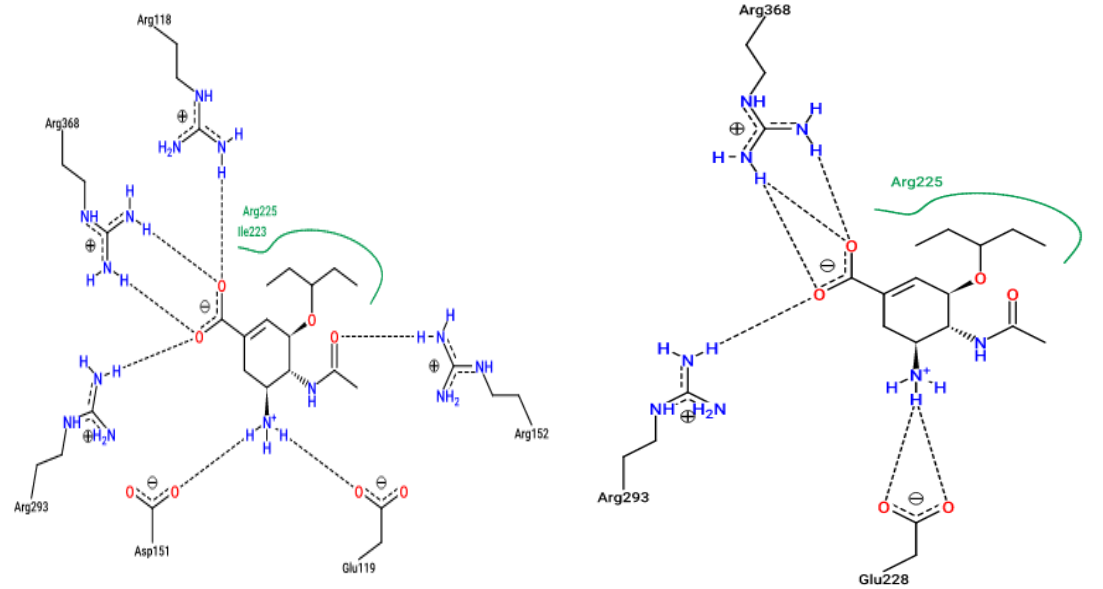
Şekil 4.36 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,201 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.37'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak oldukça değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru açıldığı görülmektedir.

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.38'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimde olmadığı görülmektedir. Bu ise o andaki 150 ilmeğinin konformasyon değişiminin sonucu olabilir.



Şekil 4.37 4B7R$_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,201 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

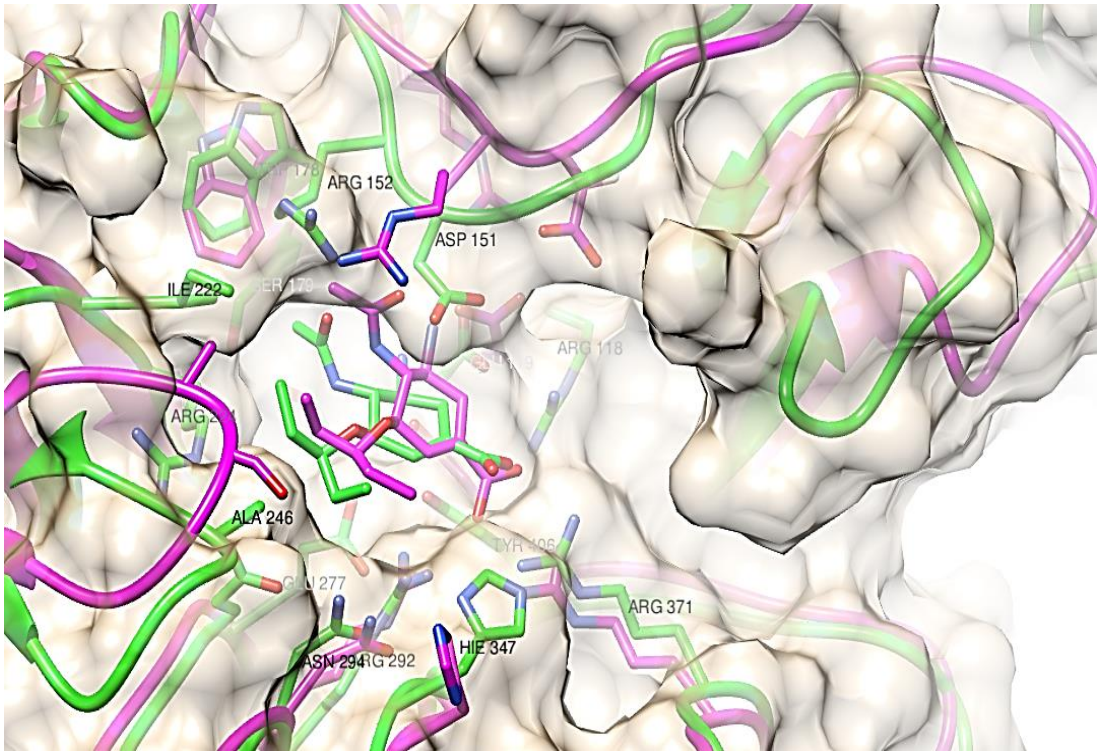


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.38 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

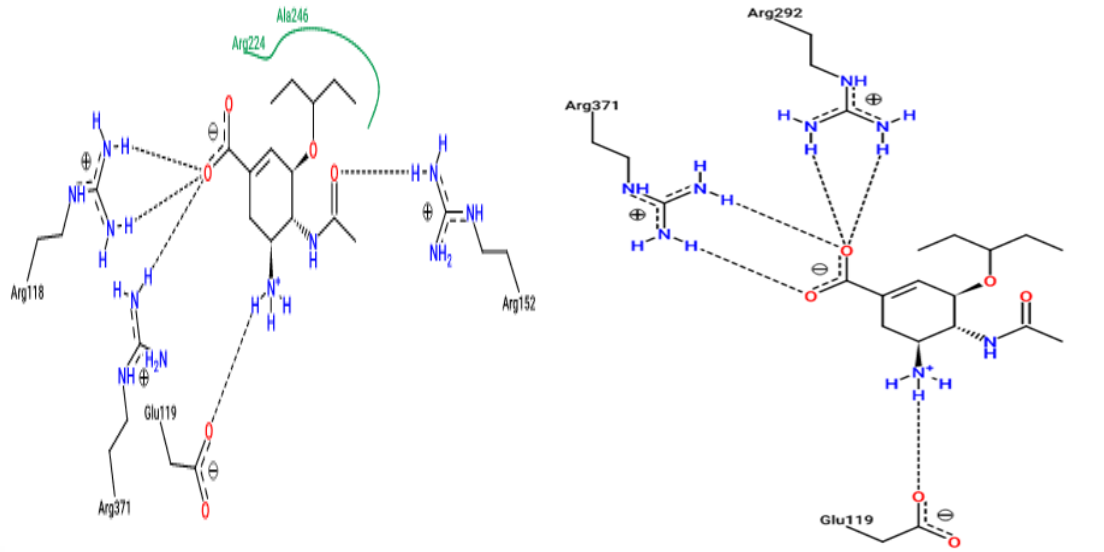
4GZQ$_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD

değeri 1,133 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.39'da gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin az da olsa gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Asp151, Arg152 gibi katalitik bölge amino asitlerinin konformasyonlarına etki ettiği görülmektedir.



Şekil 4.39 $4GZQ_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,133 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.40'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimde olmadığı görülmektedir.

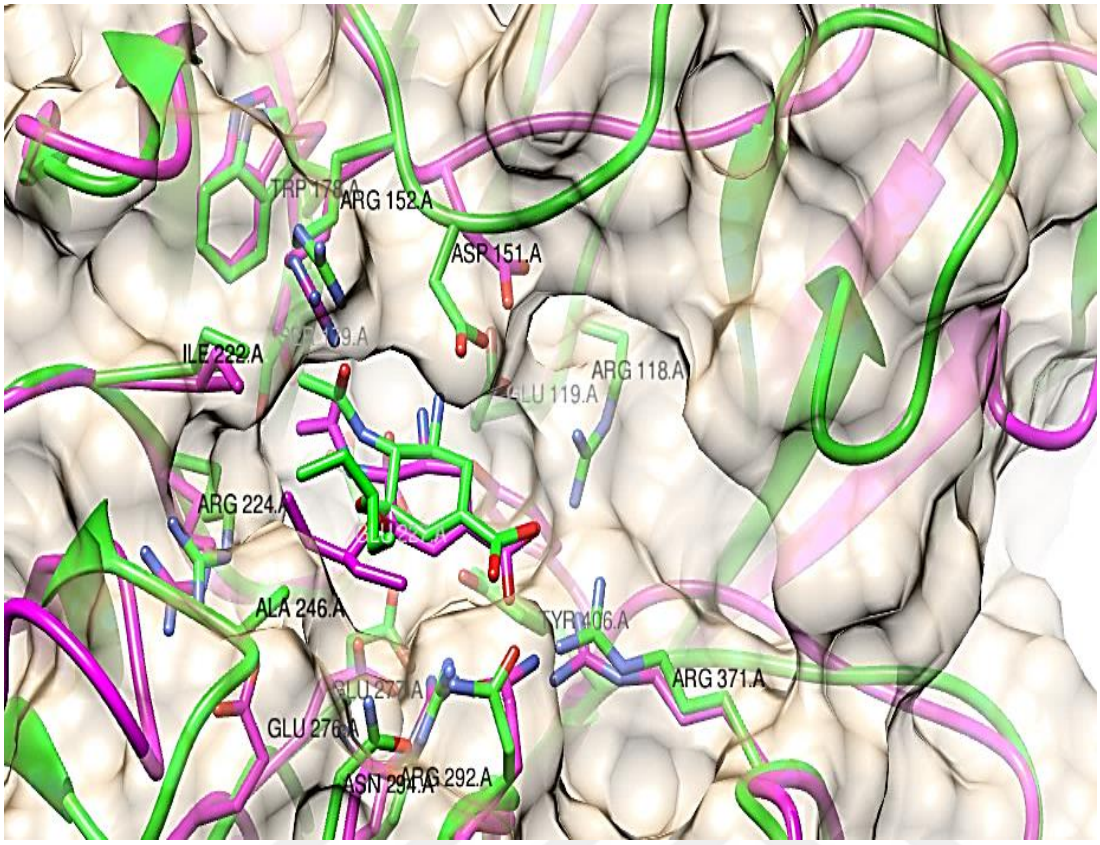


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

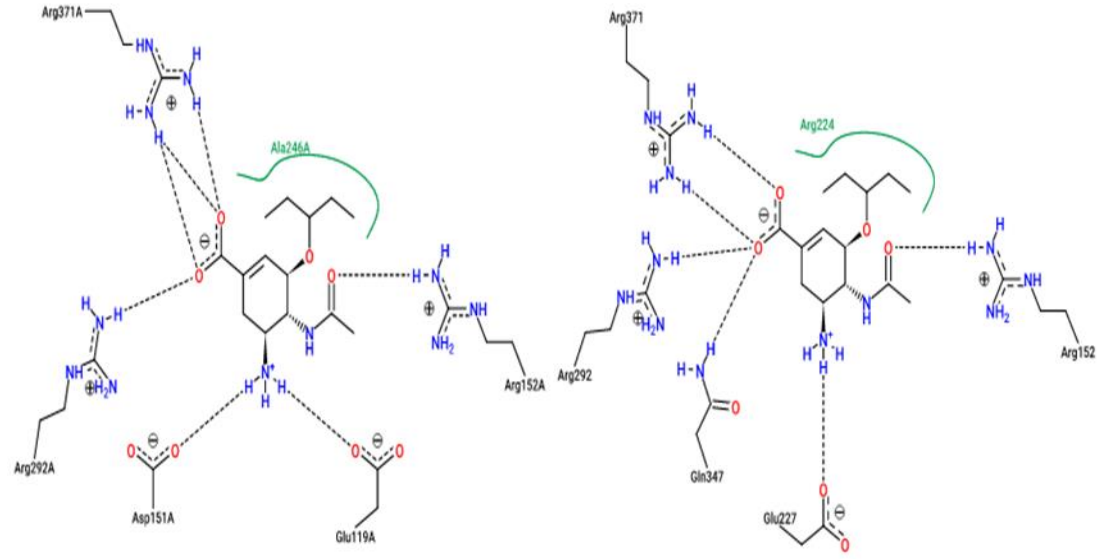
Şekil 4.40 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,221 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.41'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği, Asp151 konformasyonunun ise az da olsa değiştiği görülmektedir.

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.42'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg 292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimde olmadığı, Gln347 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.41 $3TIA_{WT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,221 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

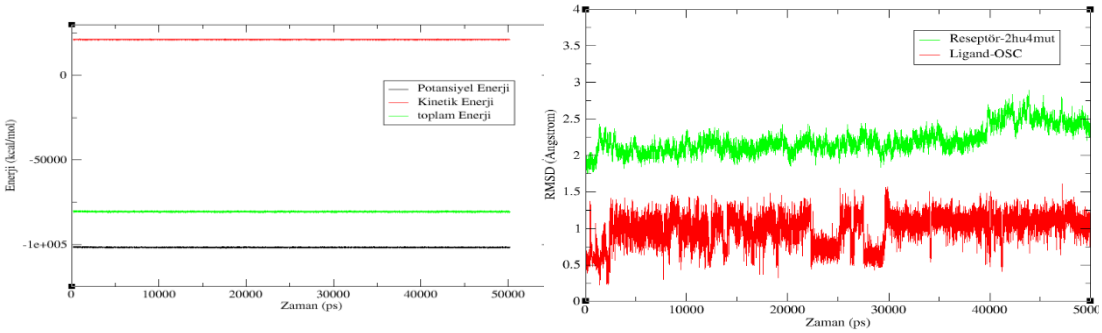


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

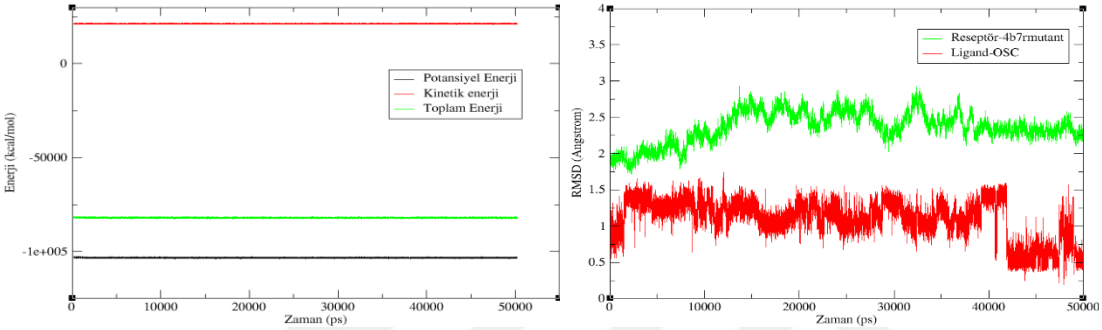
Şekil 4.42 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

Bu çalışmada kullanılan dört proteinin, mutant varyantlarıyla moleküler dinamik sonuçlarının karşılaştırılması ve bu suşların yaygın dirençli mutasyonlarına karşı etkili olabilecek moleküllerin bulunması amacıyla normal proteinlerle yapılan kompleksler ve işlemler belirlediğimiz mutant proteinlere de uygulanmıştır. Bu ilaç adayı moleküllerin sonuçlarından önce OSC ve ZNM (Zanamivir) referans moleküllerinin mutant proteinlerle MD sonuçları aşağıda verilmiş, ardından proteinlerin hepsinde MM-PB(GB)/SA sonuçları nispeten iyi olan aday molekül komplekslerinin MD sonuçları sırasıyla gösterilmiştir.

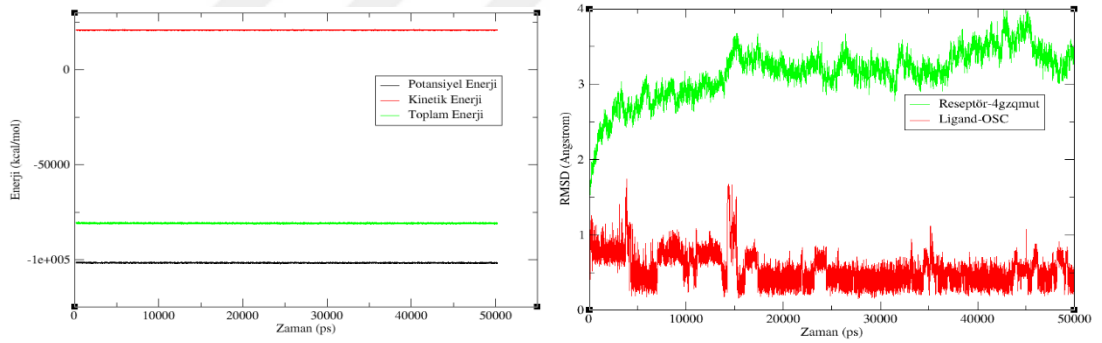
Tüm mutant varyantların proteinlerine OSC ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.43-4.46'da verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.43'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce çok az da olsa yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.44'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra düştüğü ve stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.45'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü reseptör RMSD değerinin oldukça yükseldiği 3,5 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra düştüğü ve stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.46'da RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin zamanla yükseldiği 2,8 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin genelde stabil olduğu görülmektedir.



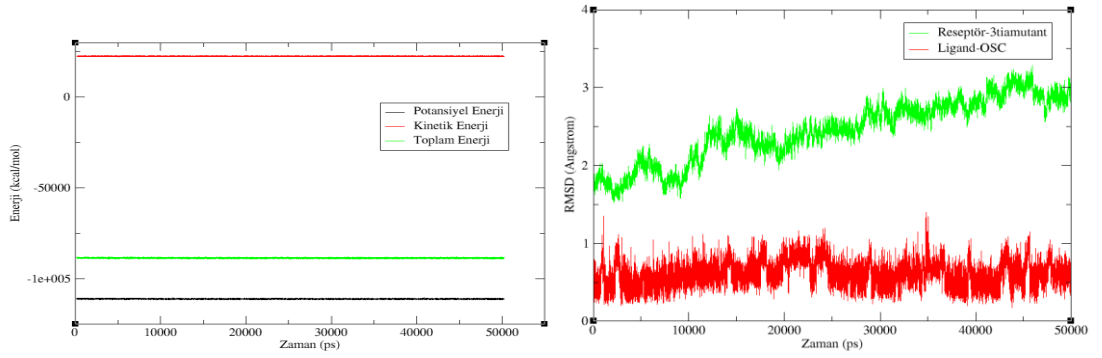
Şekil 4.43 2HU4$_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.44 4B7R$_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

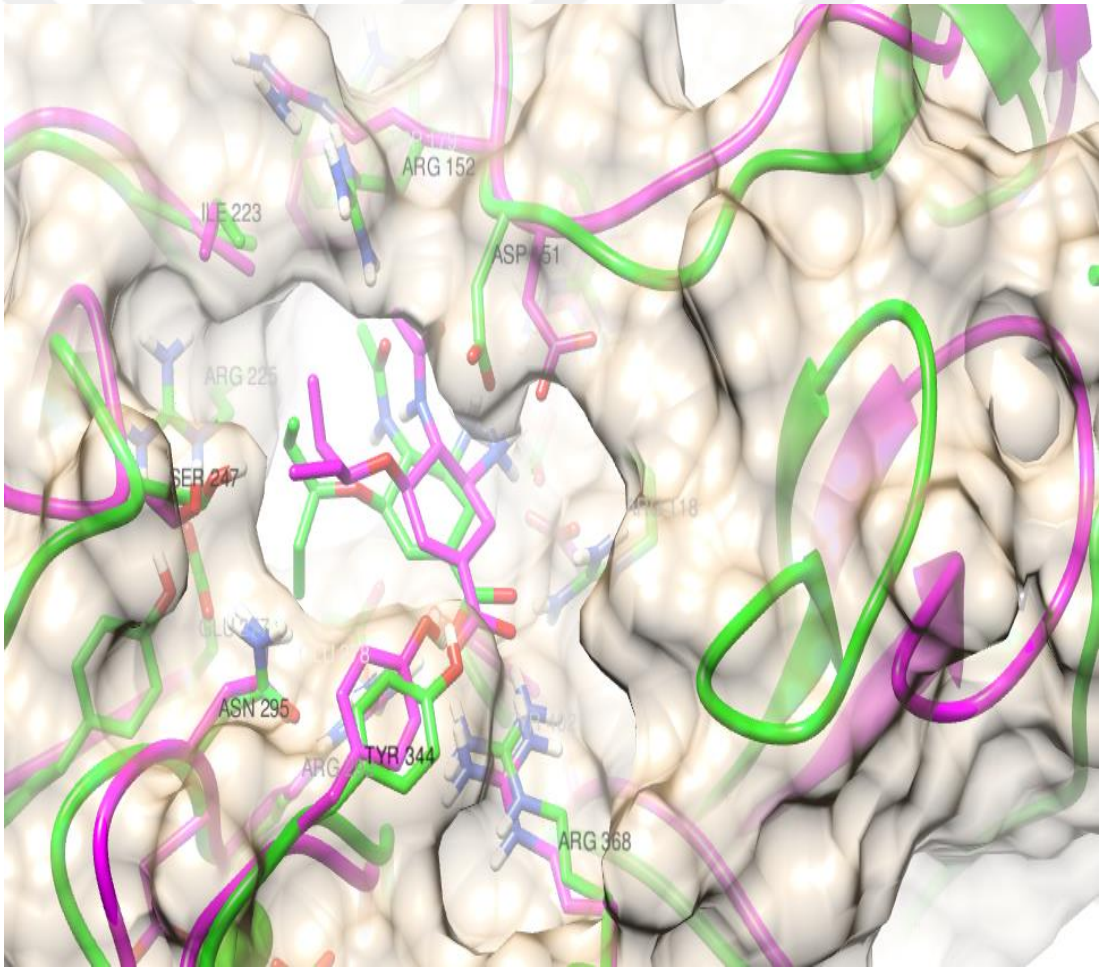


Şekil 4.45 4GZQ$_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



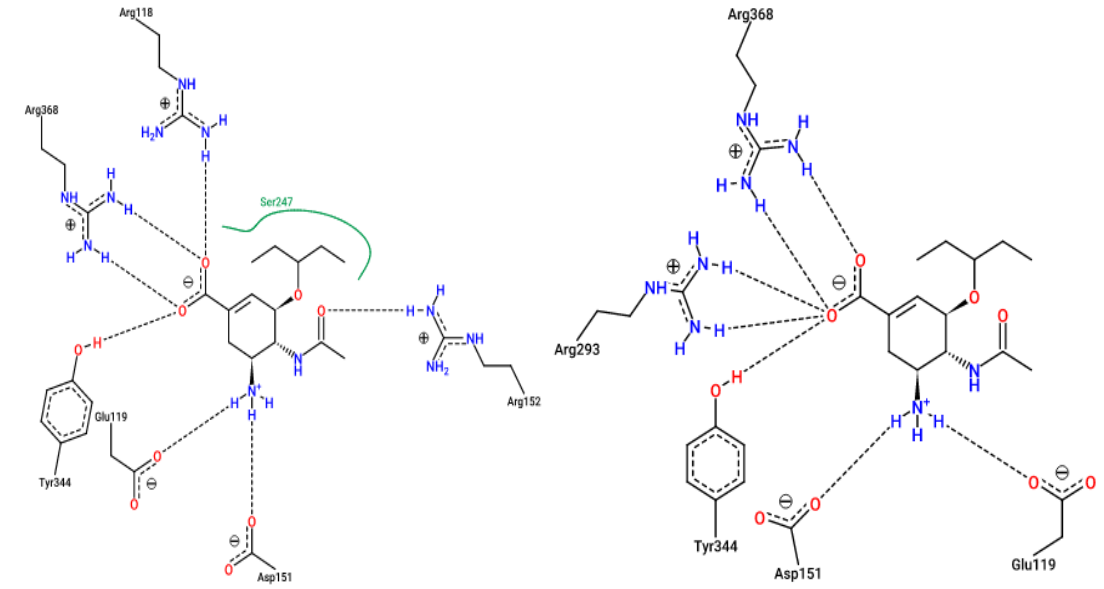
Şekil 4.46 3TIA$_{MT}$ proteinine OSC ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,065 olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.47'de gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak çok fazla değişime uğramadığı, bununla birlikte reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu biraz değiştirdiği görülmektedir.



Şekil 4.47 $2HU4_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,065 Å) Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.48'de verilmiştir. MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve Arg152 -NHAc etkileşimi dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu görülmektedir.



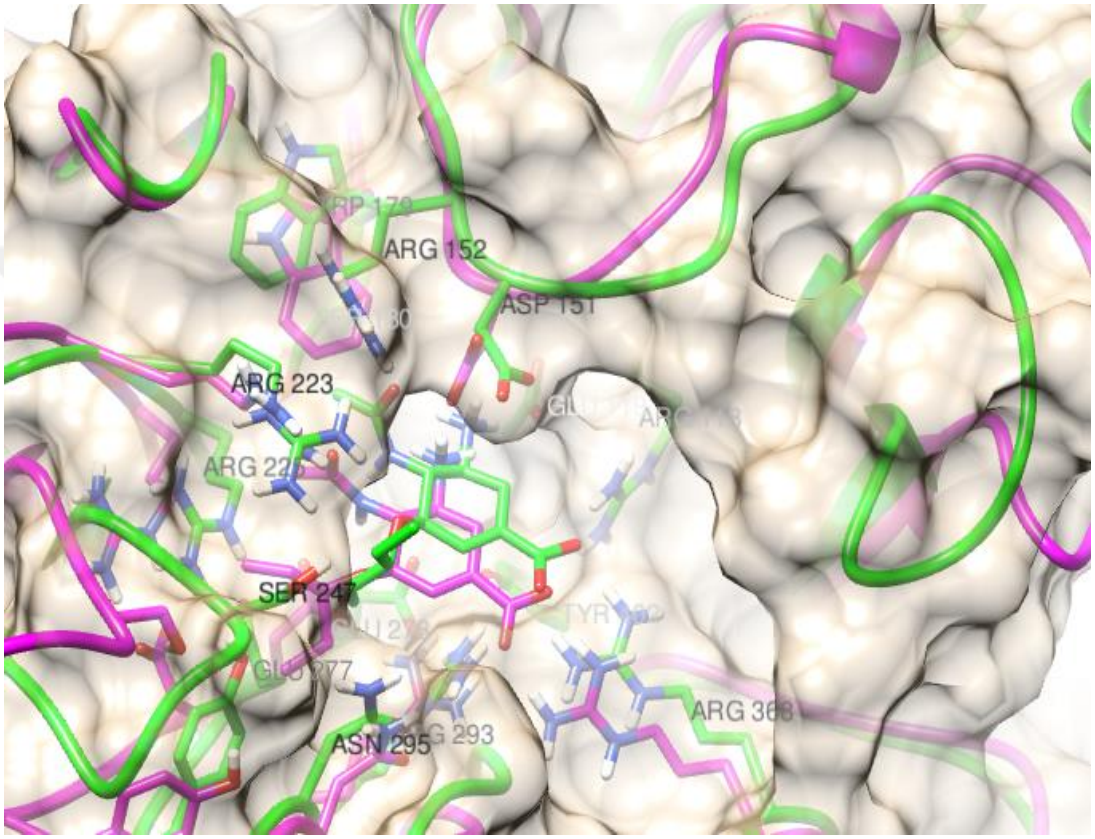
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

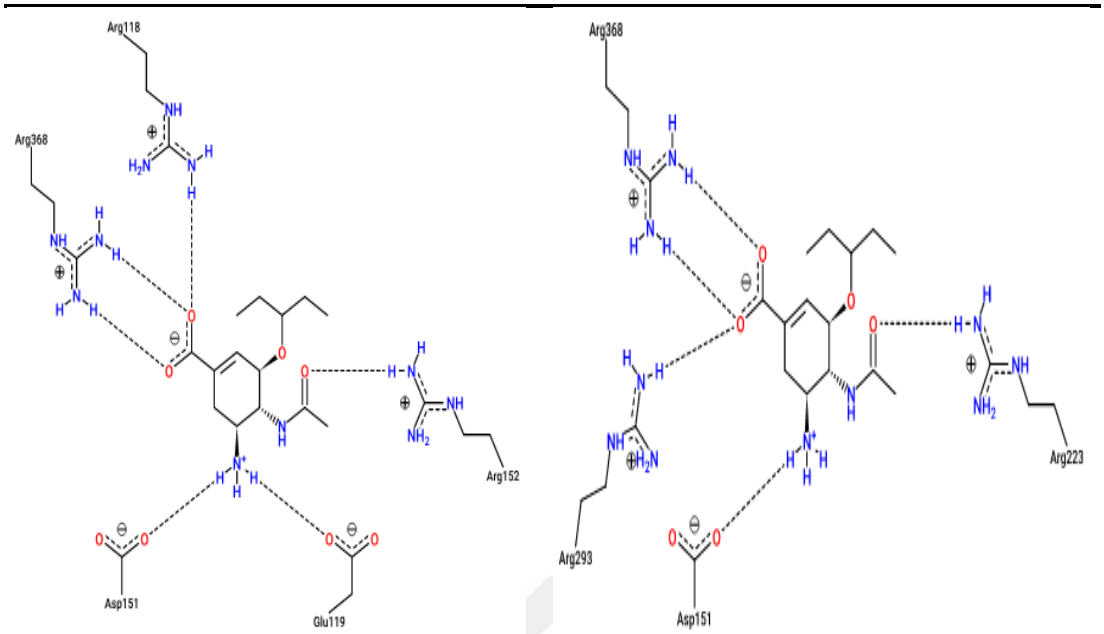
Şekil 4.48 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekі başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,180 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.49'da gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak pek değişmediği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğinin biraz ve 430 ilmeğinin ise belirgin bir biçimde oyuktan dışa doğru açıldığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.50'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve

Glu119 amino asit artıklarının ligandın -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg293 aminoasidinin -COO^- grubu tuz köprüsü ile Arg223 aminoasidinin ise -NHAc ile hidrojen bağı etkileşimi olduğu görülmektedir.



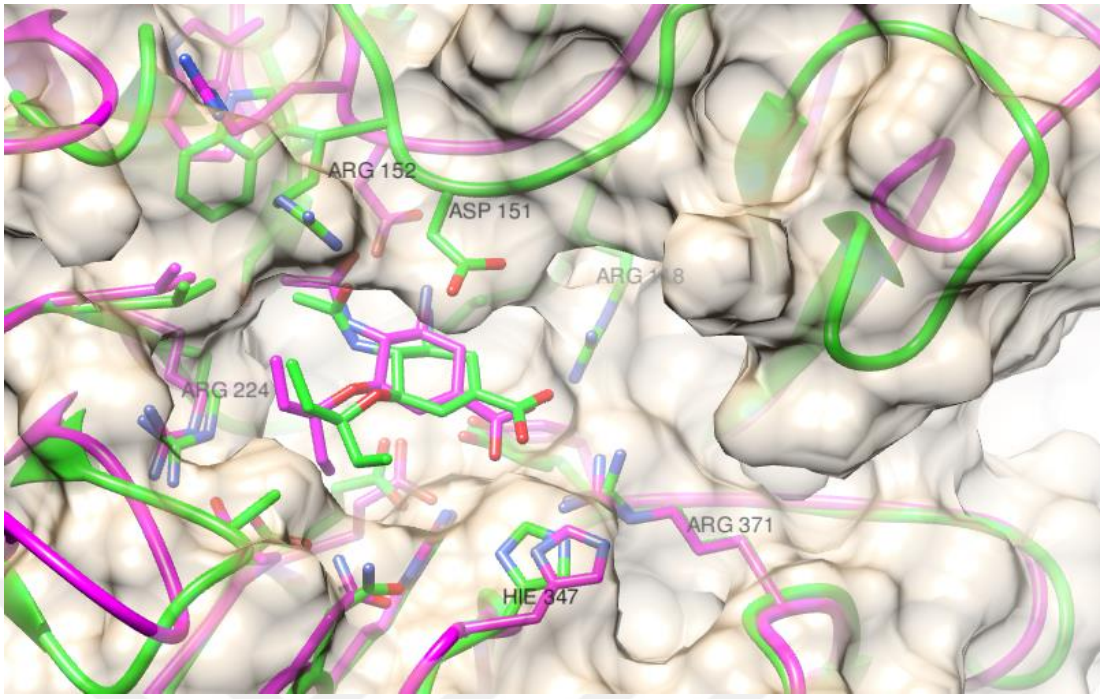
Şekil 4.49 4B7R_{MT} proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,180 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

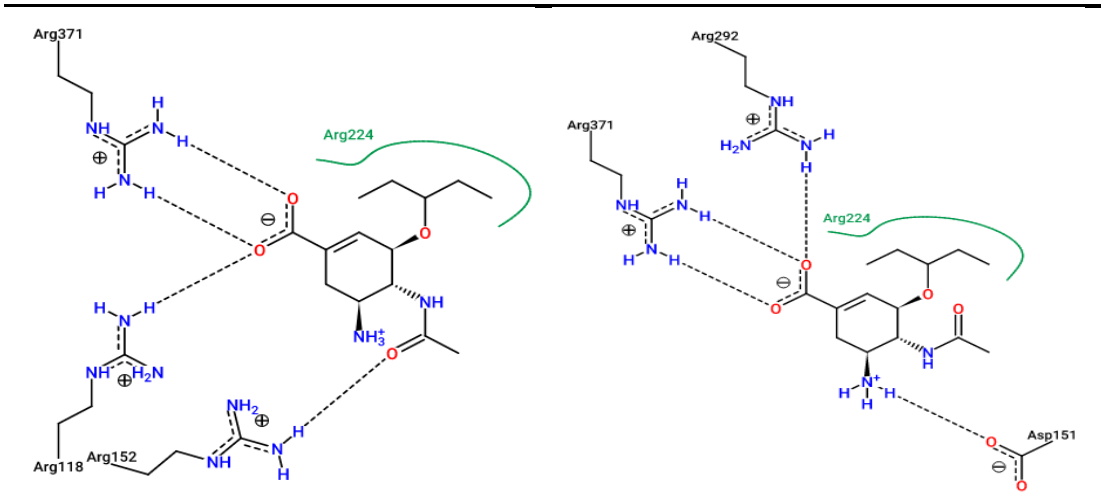
Şekil 4.50 $4B7R_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,147 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.51'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin az da olsa gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 gibi katalitik bölge amino asitlerinin konformasyonlarına etki ettiği görülmektedir.



Şekil 4.51 4GZQ$_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,147 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

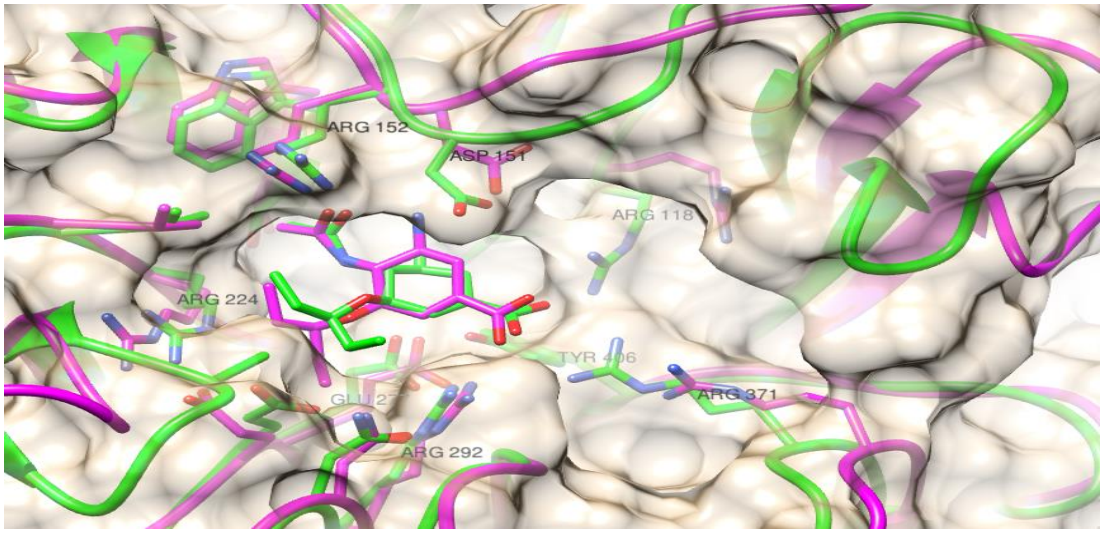
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.52'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 aminoasidinin -NH_3^+ grubu ile etkileşimde olmadığı, başlangıçta olmayan Asp151 -NH_3^+, Arg292 -COO^- tuz köprüsü etkileşlerinin ise MD simülasyanundaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda bulunduğu görülmektedir.



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD sırasında minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

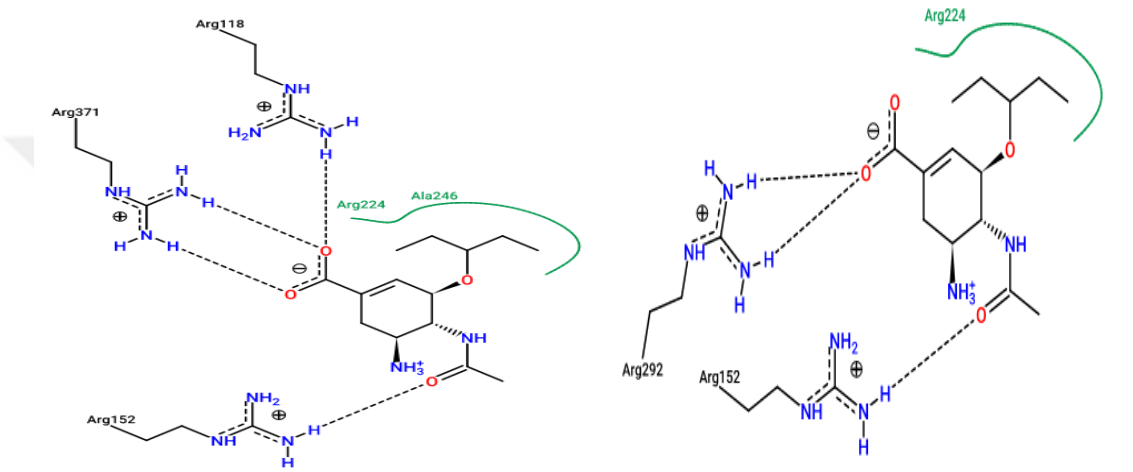
Şekil 4.52 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekı başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,024 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.53'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği, Asp151 konformasyonunun ise az da olsa değiştiği görülmektedir.



Şekil 4.53 $3TIA_{MT}$ proteinine OSC ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,024 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.54'de verilmiştir. Şekile göre MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı görülmektedir.



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

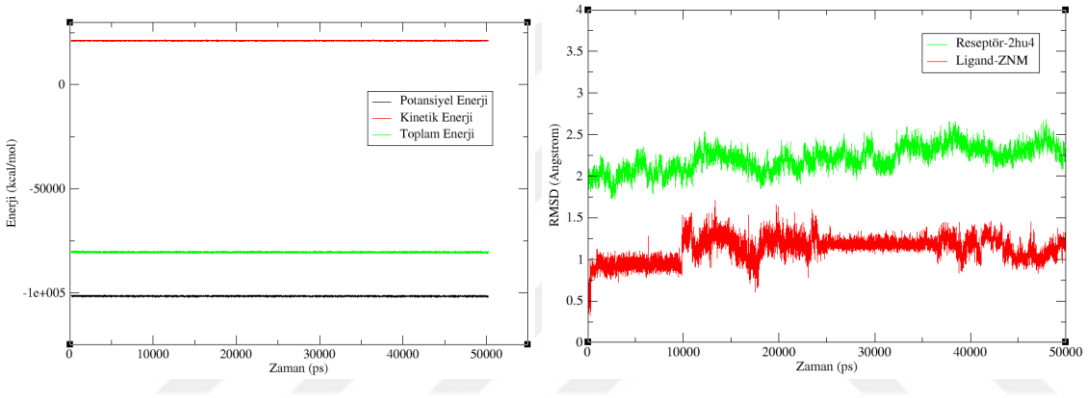
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.54 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve OSC ligandının etkileşimleri

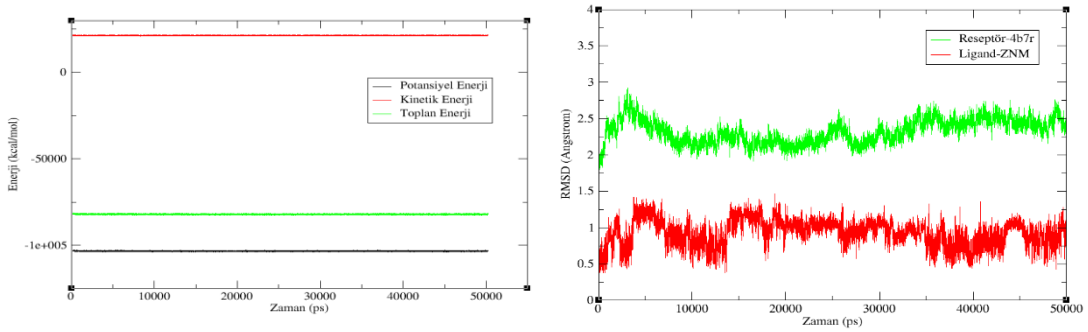
Zanamivir molekülü FDA onaylı Ralenza ticari ismi ile ilaç olarak grip tedavisinde kullanılan ilaçlardan biridir. Çalışmamızda bu molekülün seçtiğimiz 4 mutant olmayan tip proteinle ve bu proteinlerin mutant varyantlarıyla etkileşmeleri de karşılaştırma amacıyla kullanılmıştır ve MD simülasyon sonuçları aşağıda verilmiştir.

$2HU4_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.55-4.58'de verilmiştir. Bu Şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.55'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği 2 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce biraz yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.56'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı

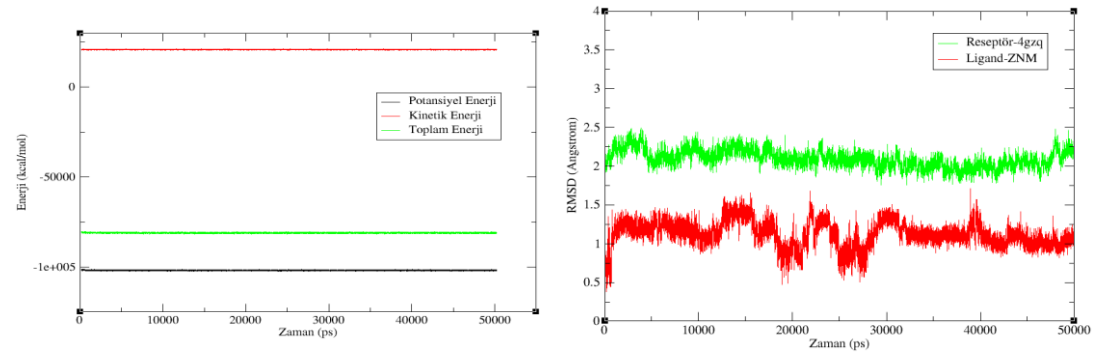
görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra durağanlaştığı görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.57'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir değişkenlikten sonra tekrar stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1 Å aralığında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.58'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin 1,2 Å seviyelerinde durağanlaştığı görülüyor. Bu yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir.



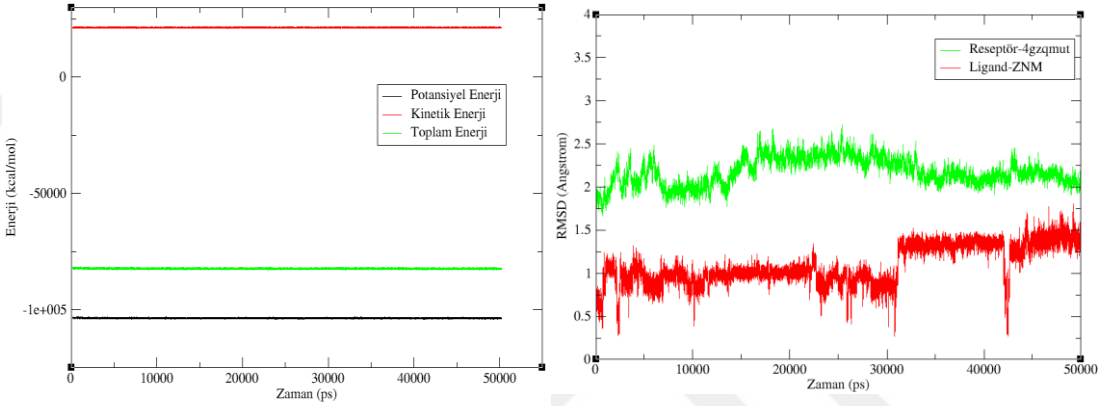
Şekil 4.55 $2HU4_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.56 $4B7R_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.57 4GZQ$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

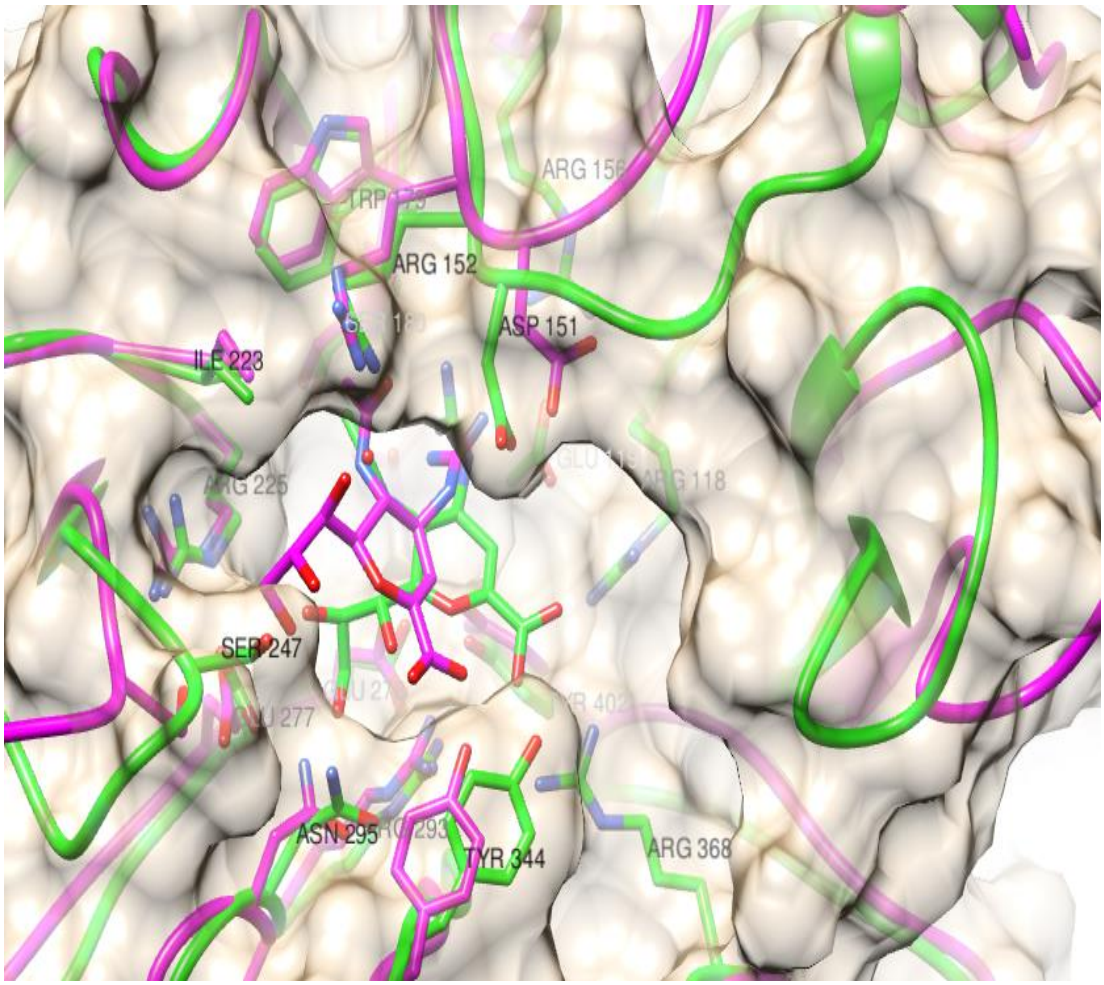


Şekil 4.58 3TIA$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

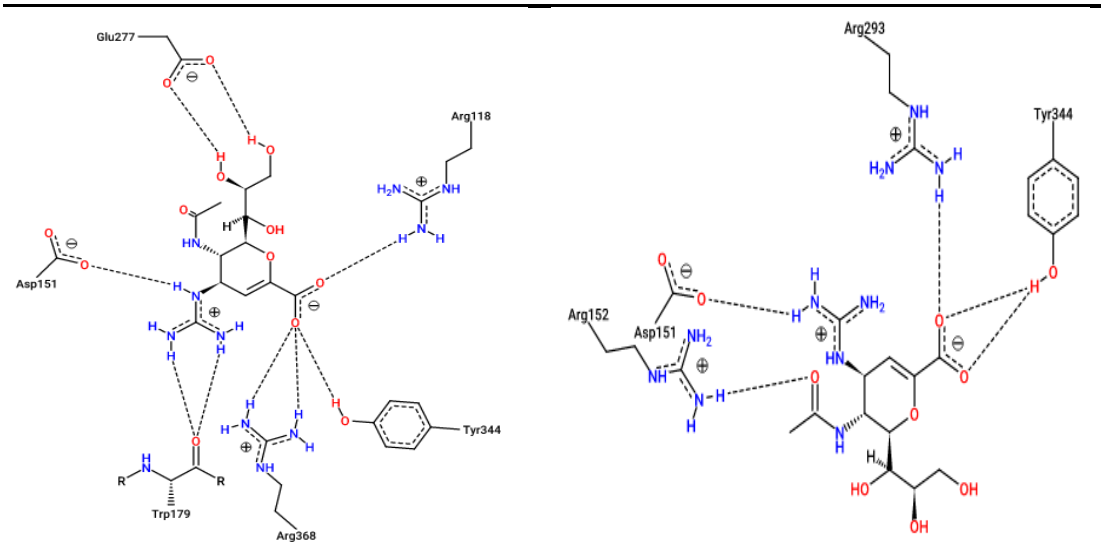
2HU4$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks (aynı zamanda MD başlangıç kompleksidir) ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,885 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.59'da gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu çok fazla değiştirmediği, ZNM ligandının konformasyonunun ise değiştiği ve ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir.

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.60'da verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir.

Görseller bize MD başlangıcında Arg118, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Trp179 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü, Glu277 amino asit artığının ise ligandın gliserol grubu hidrohsitleriyle ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın -COO^- grubu Arg293 artığıyla tuz köprüsü, -NHAc grubu Arg152 amino asit artığıyla tuz köprüsü kurarken gliserol grubunun yüksek polaritesi sebebiyle (muhtemelen suyun çekimine kapılıp) oyuktan dışarı doğru yöneldiği görülmektedir.



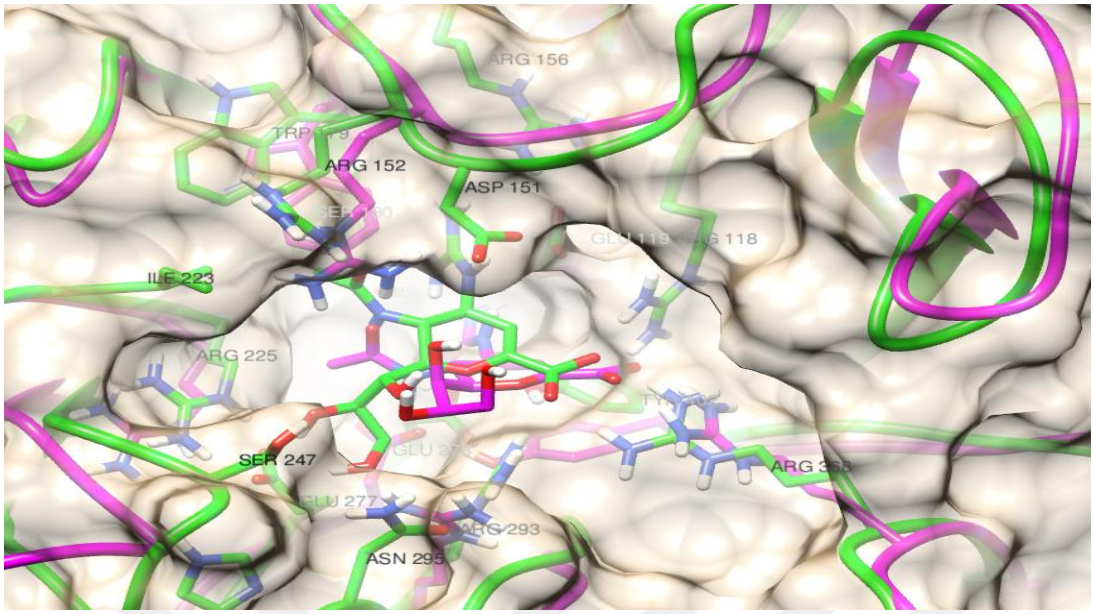
Şekil 4.59 $2HU4_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,885 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



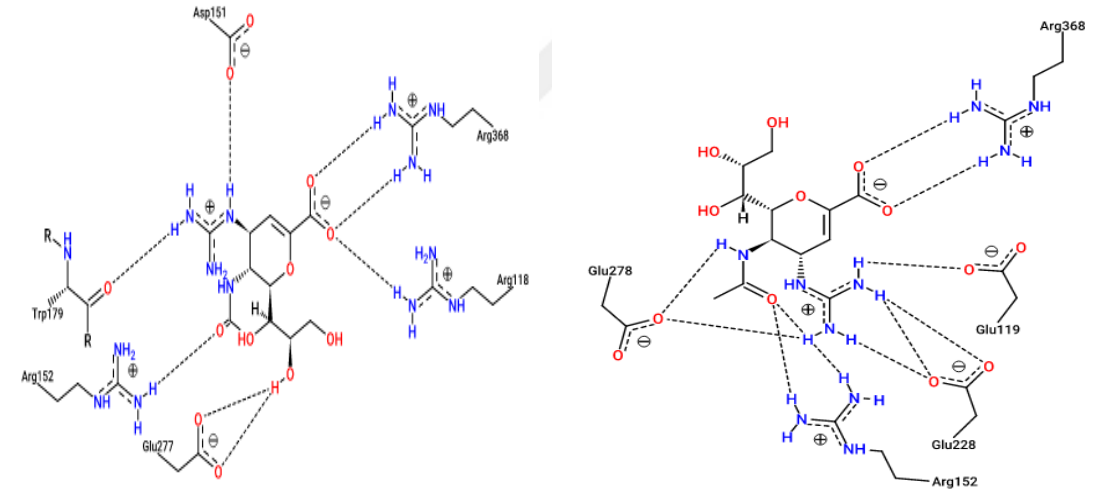
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD sırasında minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.60 2HU4$_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

4B7R$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,216 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.61'de gösterilmiştir. Şekilde reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin pek değişime uğramadığı, ZNM ligandının ise gliserol grubunun oyuk dışına doğru yöneldiği guanidyum grubunun ise oyukta daha derine yerleştiği böylece ligandın oyuktaki yerleşiminin biraz değiştiği görülmektedir. Şekil 4.62'de ise ligandın 150 ilmeği üzerindeki Arg152 etkileşiminin devam ettiği ama guanidyum grubu ile hidrojen bağı oluşturan Asp151 ve Trp179 etkileşiminin en düşük enerjili kompleks konformasyonu anında var olmadığı, bu grubun oyukta daha derinde bulunan Glu119 ve Glu228 amino asit artıklarıyla etkileşim oluşturğu görülmektedir.



Şekil 4.61 4B7R$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,216 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

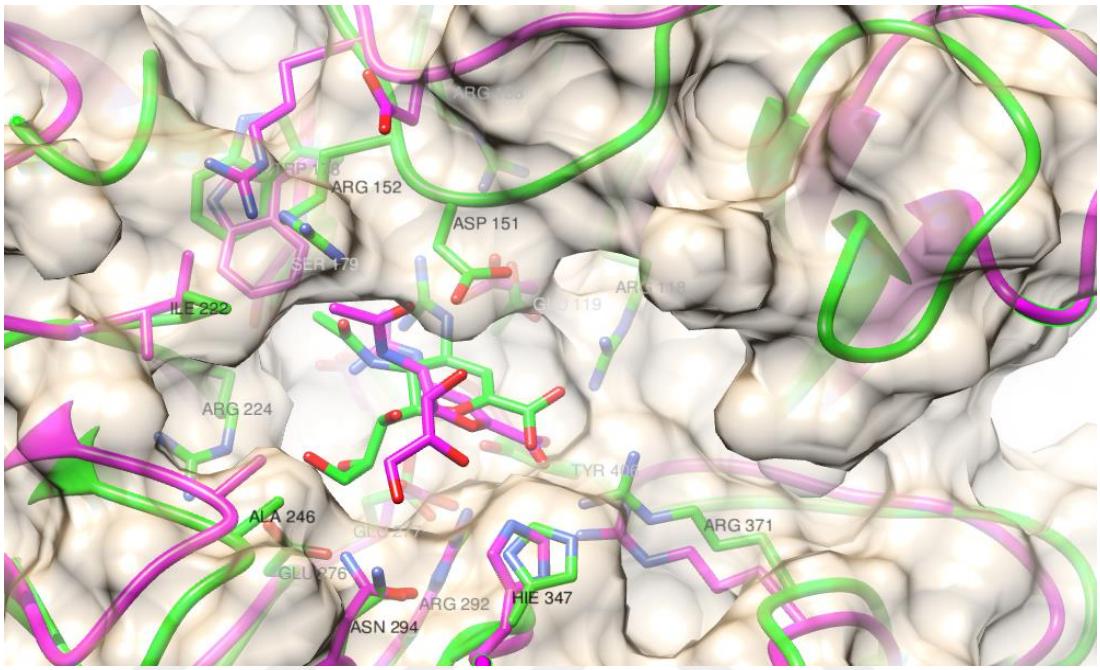


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.62 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

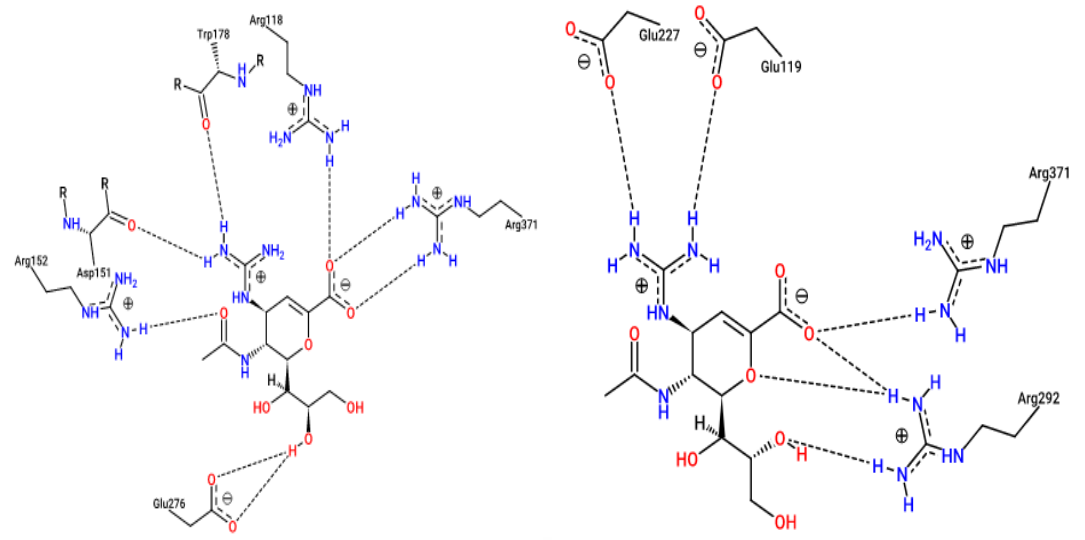
4GZQ$_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,240 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.63'te gösterilmiştir. Şekilde 4GZQ$_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki 150 ve 430 ilmeklerinde MD hesaplamaları sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıç

konformasyonuna değişimlerin gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Asp151, Arg152 gibi katalitik bölge amino asitlerinin konformasyonlarına etki ettiği görülmektedir.



Şekil 4.63 $4GZQ_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,240 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.64'te verilmiştir. Buna göre MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Trp178 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 guanidyum, Arg152 -NHAc etkileşimlerinin olmadığı, guanidyum grubunun Glu227 ve Glu119 aminosit artıklarıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.

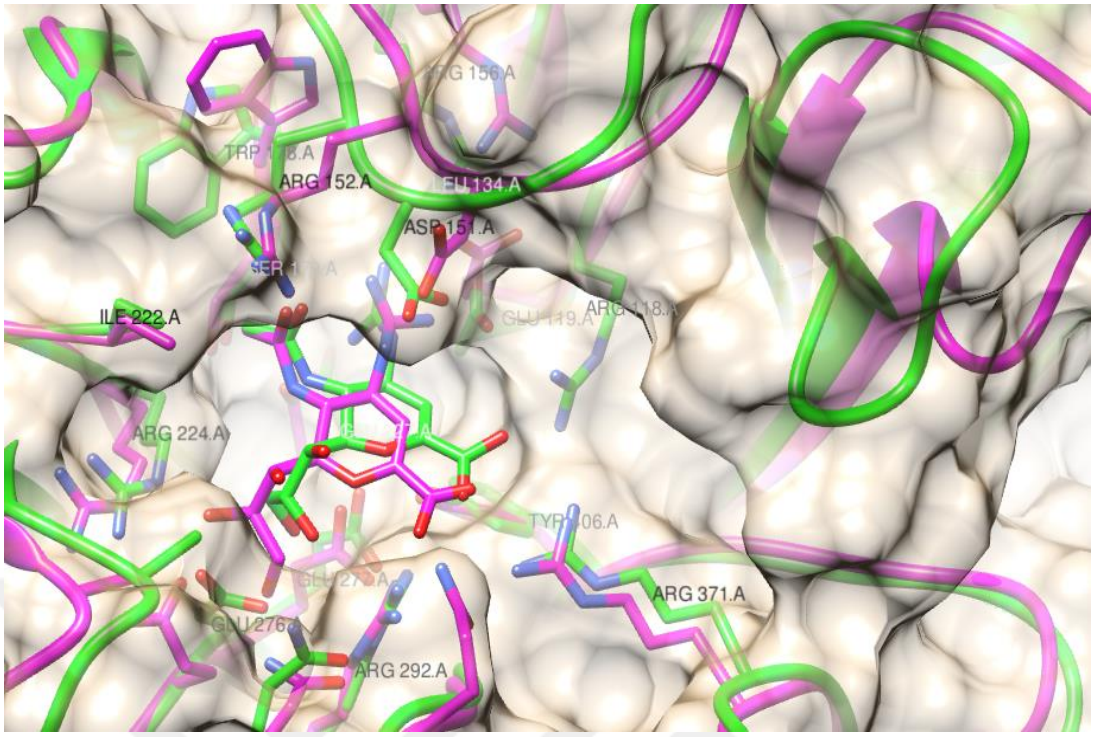


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

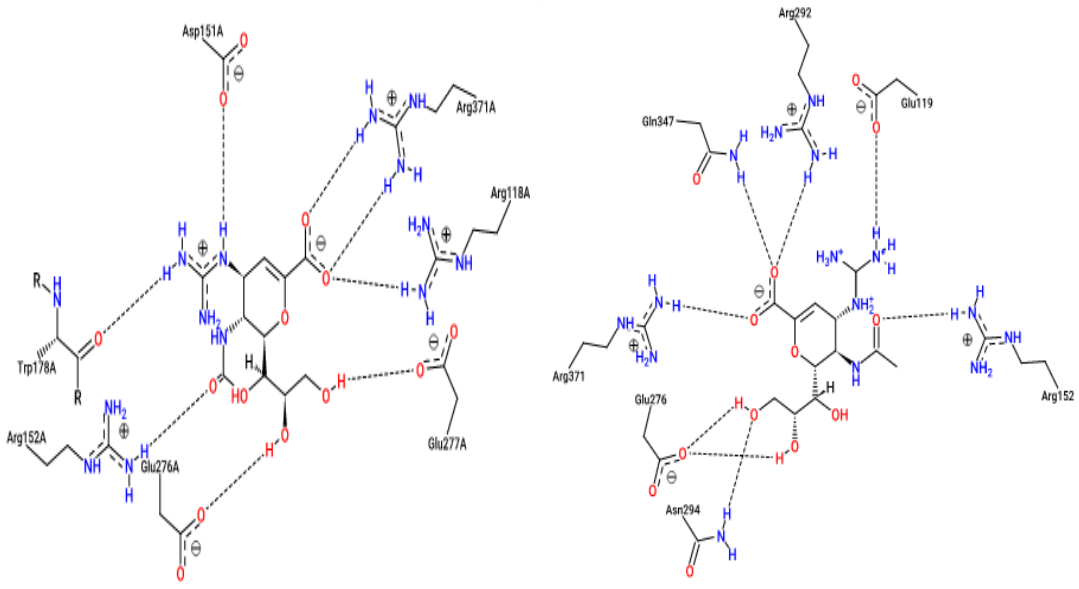
Şekil 4.64 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,105 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.65'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği, Asp151 konformasyonunun ise az da olsa değiştiği görülmektedir.

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.66'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Trp178 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 amino asidinin guanidyum grubu ile etkileşimde olmadığı, Gln347 ve Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.65 $3TIA_{WT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,105 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



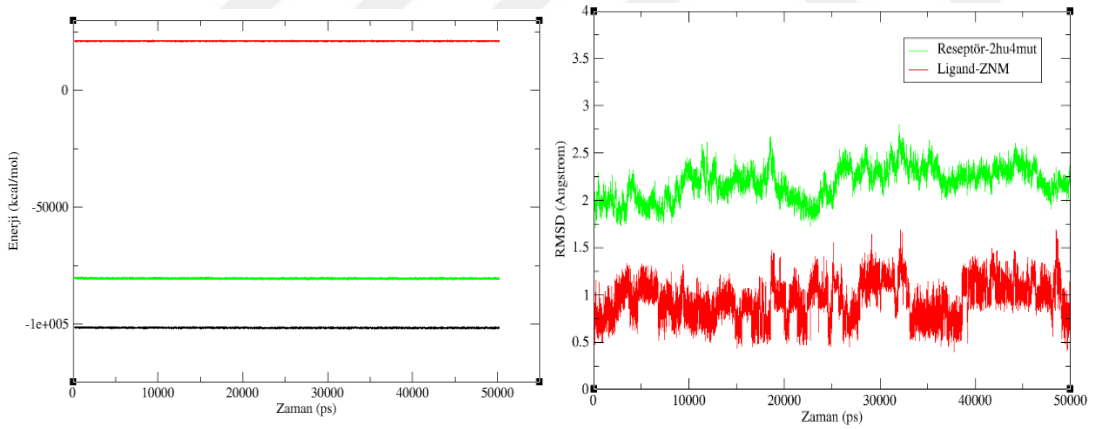
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

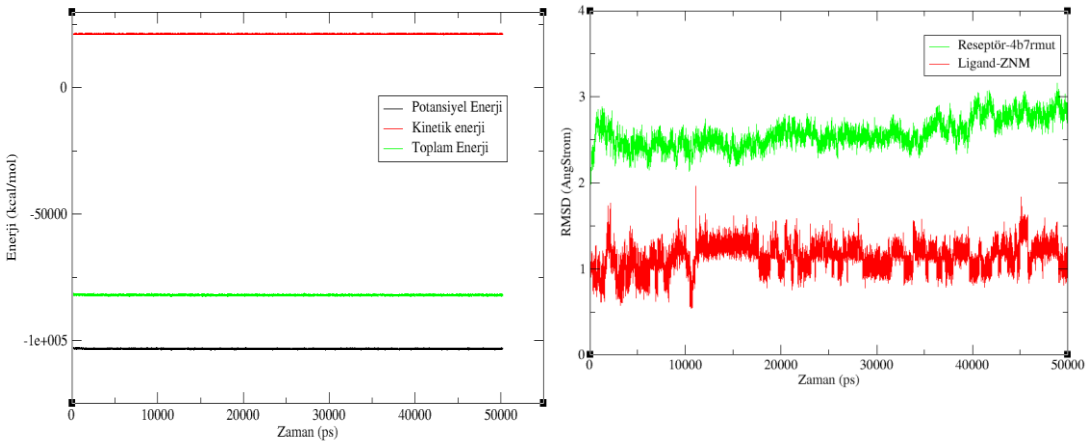
Şekil 4.66 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

Tüm mutant varyantların proteinlerine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.67-4.70'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek

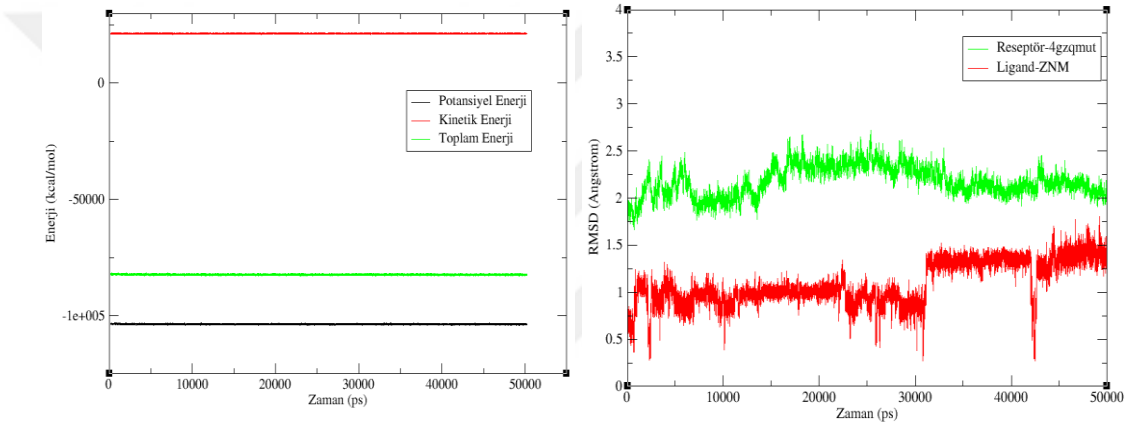
stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.67'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin 2- 2,5 Å civarında değiştiği fakat durağanlaştığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce çok az da olsa yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.68'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığısonra 3 Å civarında yeniden durağanlaştığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce biraz yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.69'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü reseptör RMSD değerinin 2,0 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra tekrar yükseldiği ve stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.70'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin zamanla yükseldiği 2,8 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin genelde stabil olduğu görülmektedir.



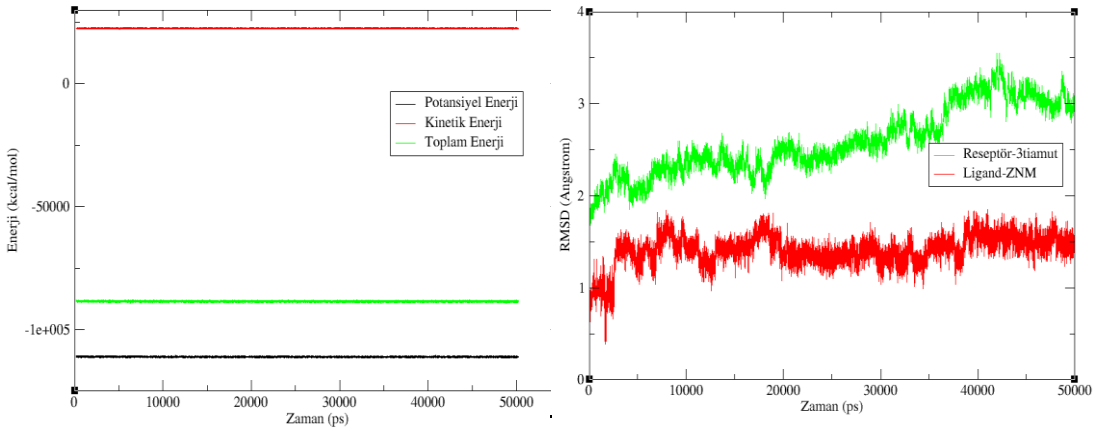
Şekil 4.67 $2HU4_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.68 $4B7R_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



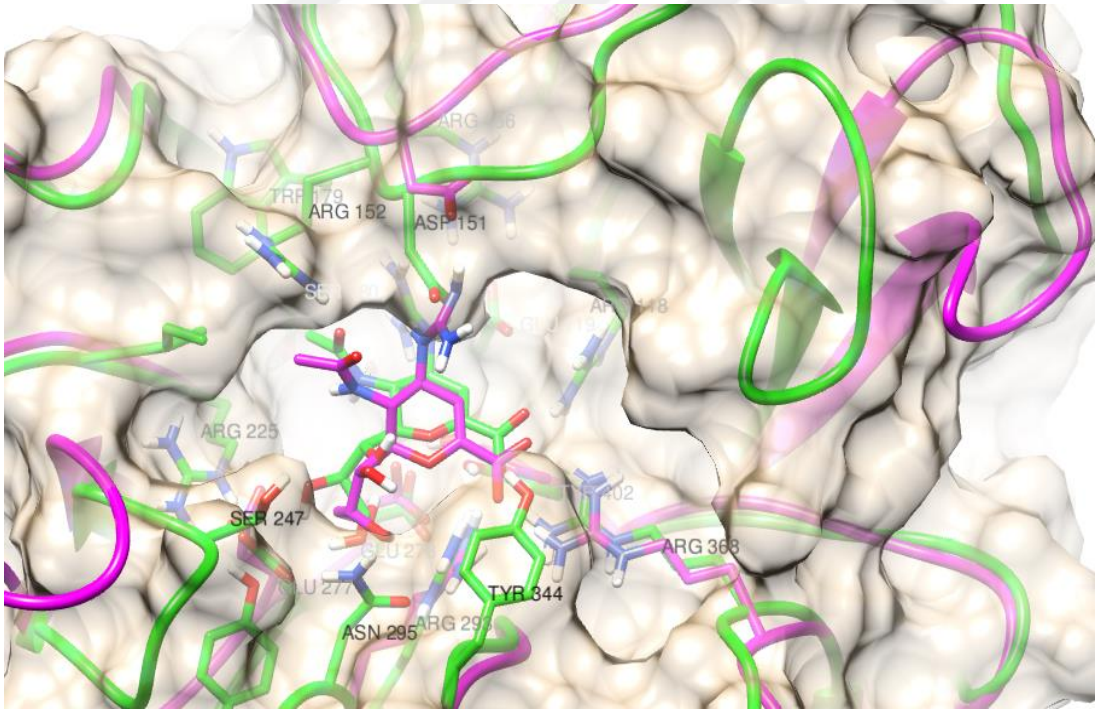
Şekil 4.69 $4GZQ_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



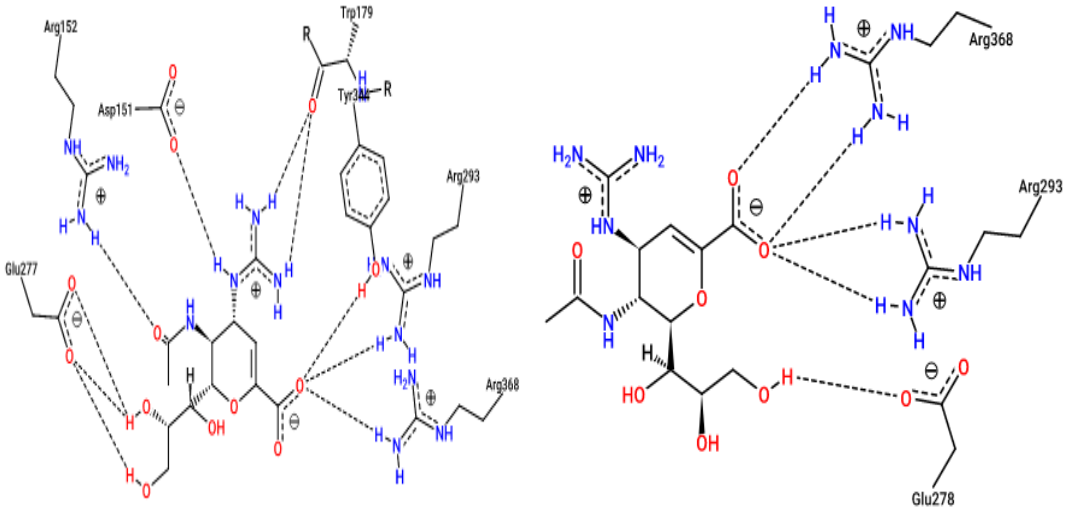
Şekil 4.70 $3TIA_{MT}$ proteinine ZNM ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,043 Å olarak hesaplanmış

ve oluşan görüntü Şekil 4.71'de gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün katalitik bölgeyi saran ilmeklerinde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı, bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu etkilediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.72'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve Arg152 -NHAc etkileşimi dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu görülmektedir.



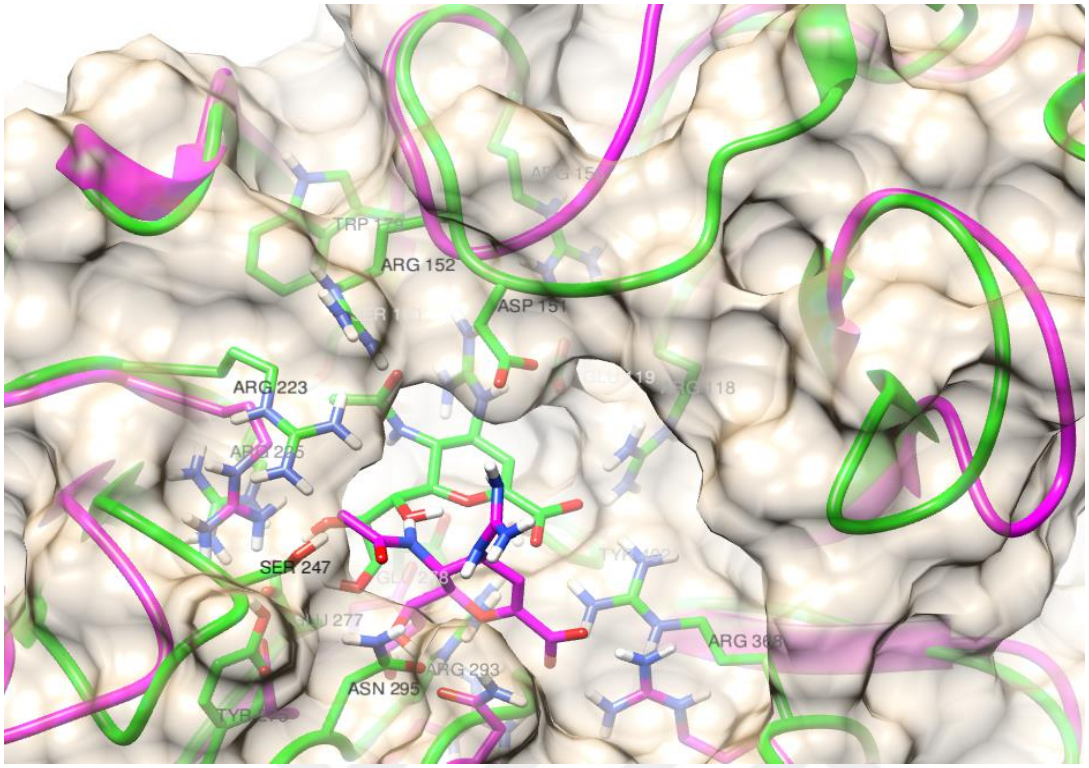
Şekil 4.71 $2HU4_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,043 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



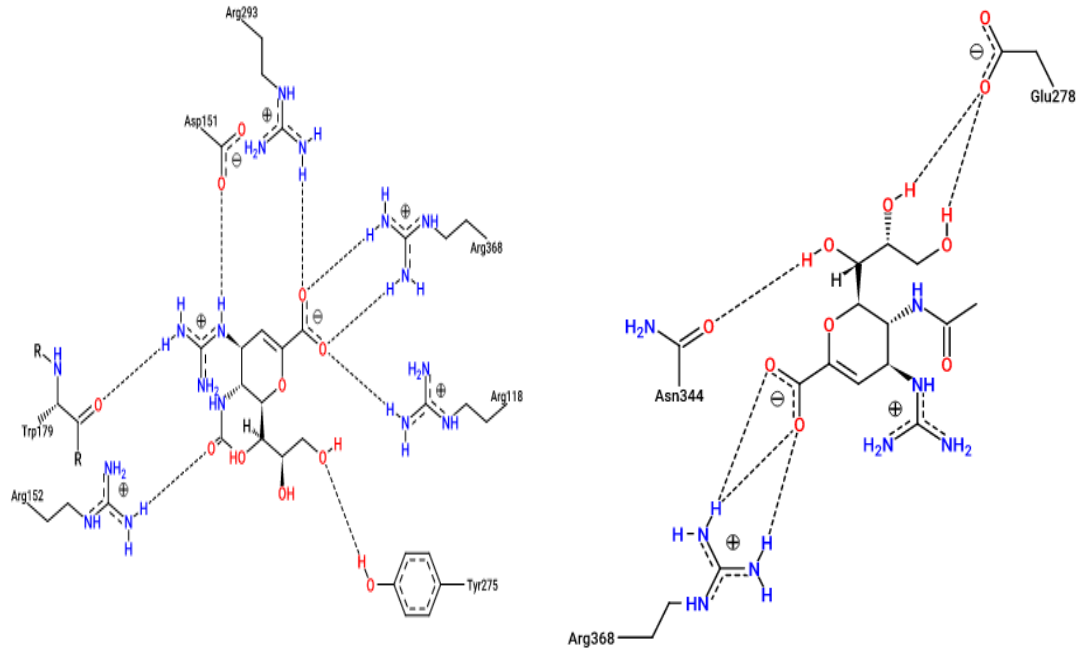
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.72 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,253 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.73'te gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonunda başlangıç konformasyonuna göre oyuğu saran çevresel ilmeklerden 150 ve 430 ilmeklerinde oyuktan dışa doğru genişleme olduğu görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.74'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Trp179 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda guanidyum grubu ve 150 ilmeğine bağlı etkileşimlerin olmadığı, ligandın gliserol grubundaki -OH gruplarının Asn344 ve Glu278 artıklarıyla, $-COO^-$ grubunun ise Arg368 amino asidi ile yaptığı bağlanmalarla reseptöre tutunduğu görülmektedir.



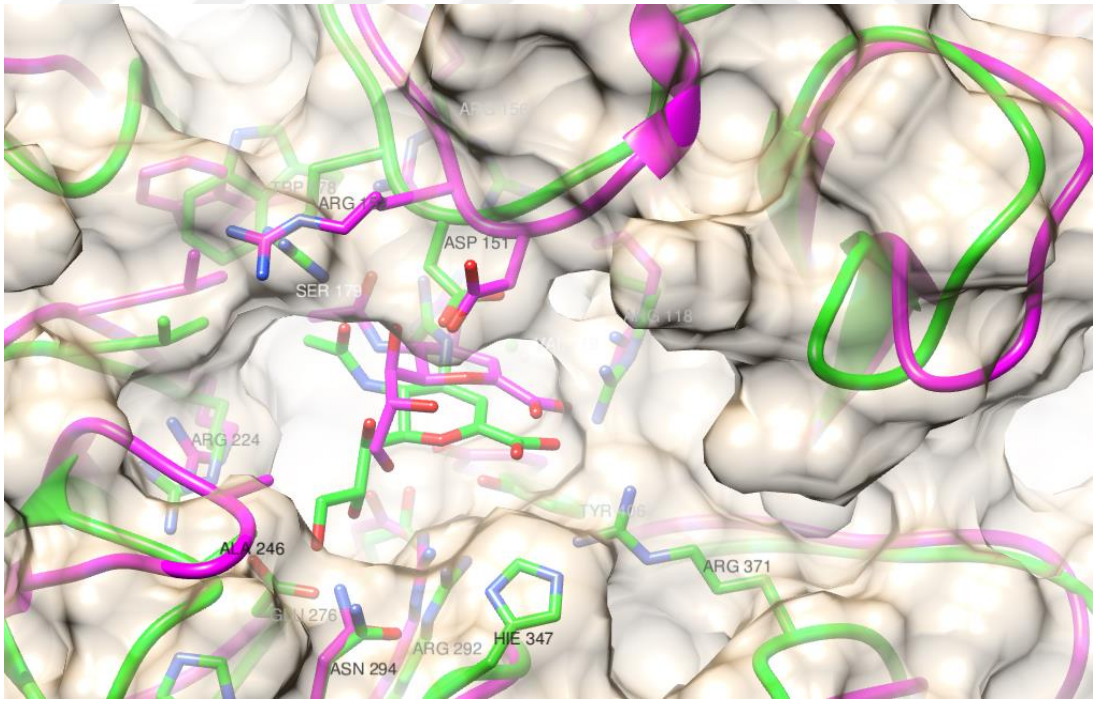
Şekil 4.73 4B7R$_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,253 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



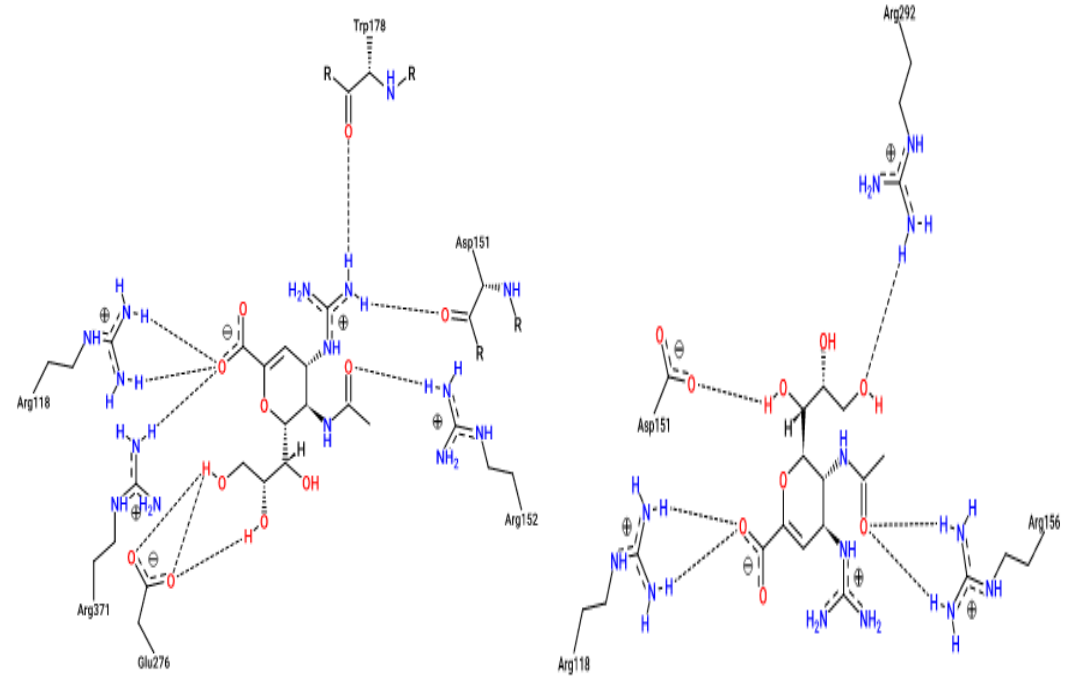
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.74 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstеki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,210 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.75'te gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin az da olsa gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 amino asitinin konformasyonuna etki ettiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.76'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 aminoasidinin ligand ile etkileşimde olmadığı, MD simülasyanundaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda başlangıçta ligandın guanidyum grubu ile etkileşimde olan Asp151 amino asit artığının ve ligandla etkileşimde olmayan Arg292 amino asit artığının ligandtaki -OH grubu ile etkileşlerinin bulunduğu görülmektedir.



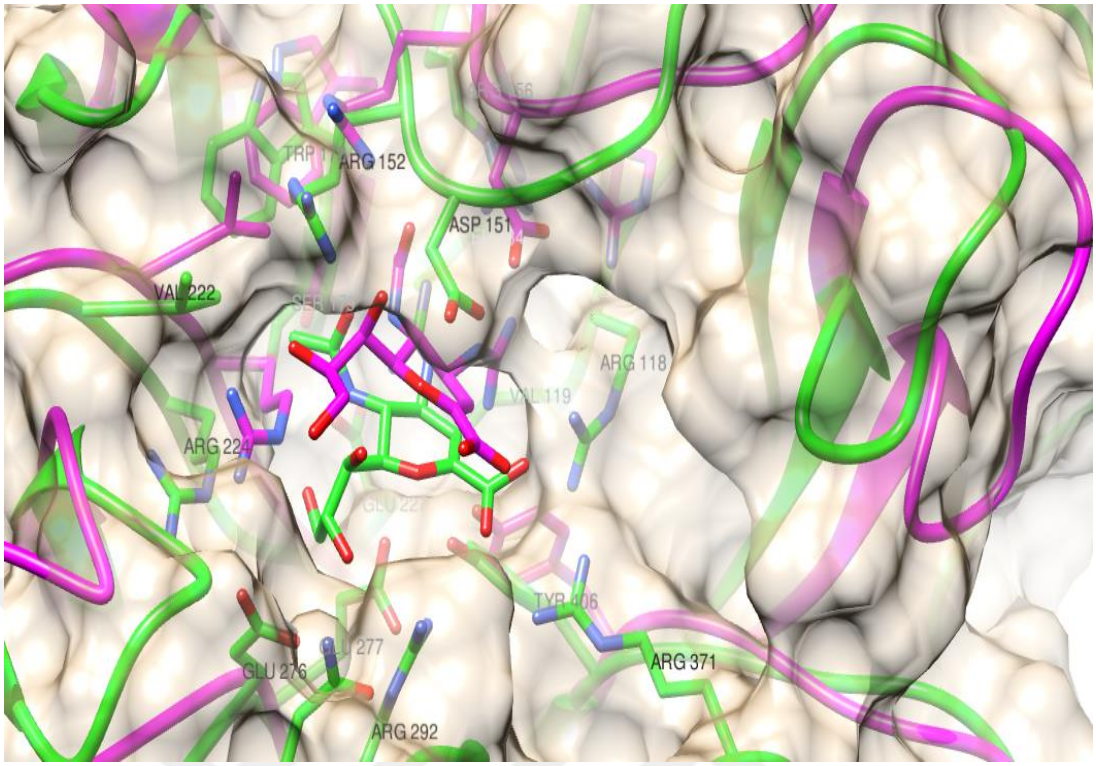
Şekil 4.75 $4GZQ_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,210 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



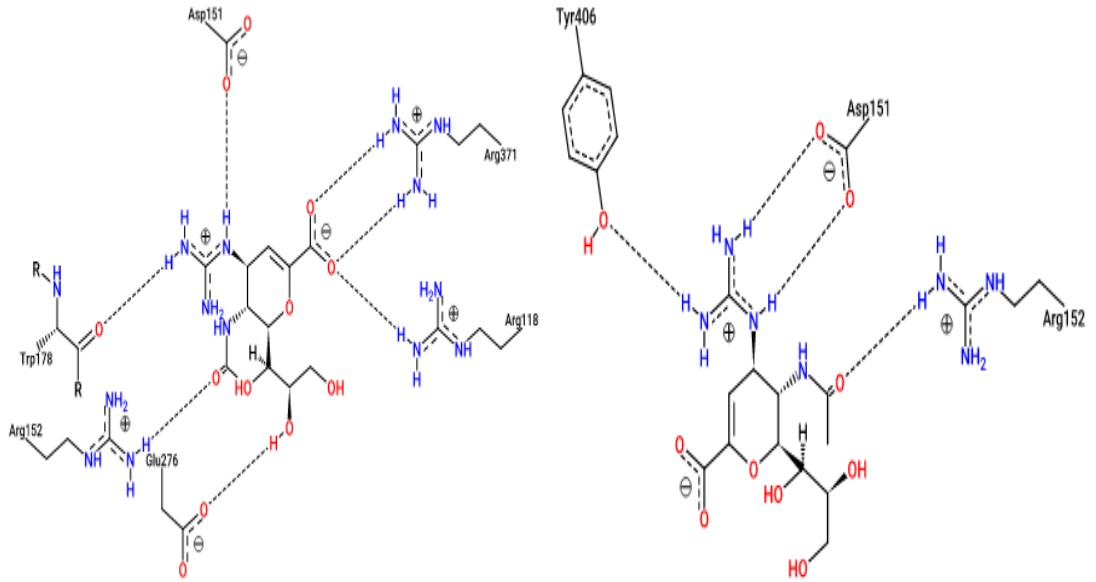
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.76 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,096 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.77'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamiğin en düşük enerjili konformasyon oluştuğu anda oyuktan dışa doğu genişlemenin olduğu ama reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin ve Asp151 amino asit artıklarının ligandla etkileşimlerinin devam ettiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.78'de verilmiştir. Buna göre MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, Trp178 artığının ise ligandın guanidyum grubu ile hidrojen bağı yaptığı, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı etkileşimlerinin oluşmadığı ligandın guanidyum grubunun Tyr406 ve Asp151 ile etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.77 $3TIA_{MT}$ proteinine ZNM ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,096 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

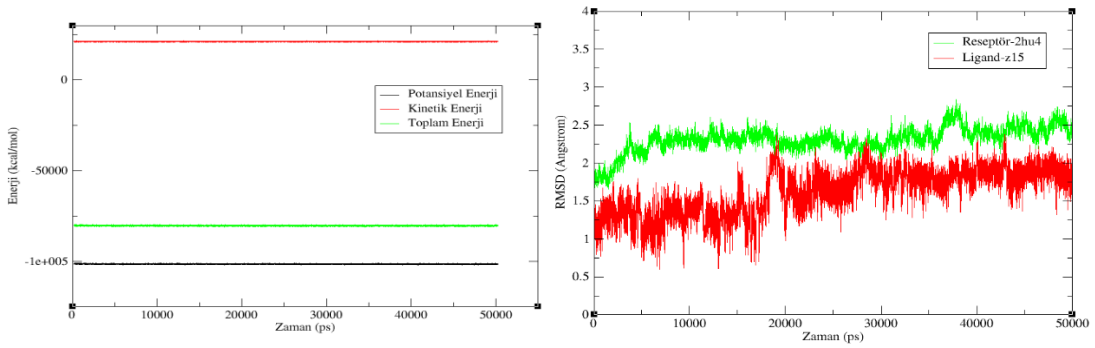


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

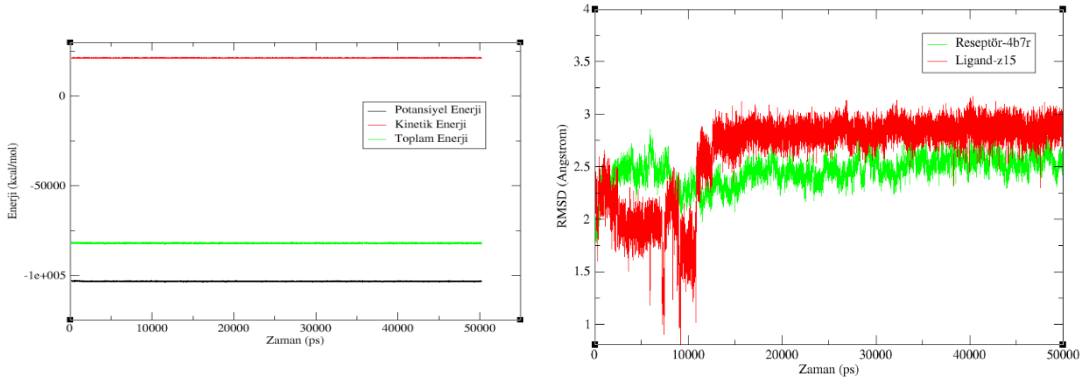
Şekil 4.78 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve ZNM ligandının etkileşimleri

$2HU4_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.79-4.82'de verilmiştir. Bu şekillerin

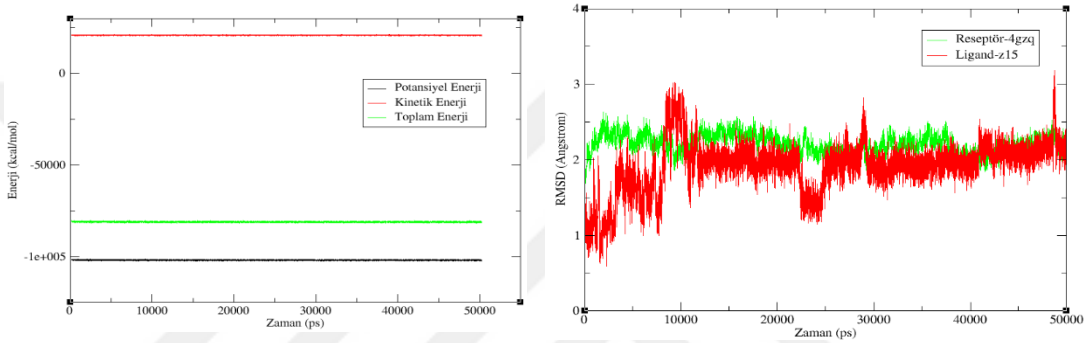
hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.79'da RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce çok az da olsa yükseldiği sonra konumunu pek değiştirmeden salınımlar yaparak son bağlandığı konumunda stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.80'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 10 ns sonrasında stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.81'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir değişkenlikten sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin hafif kararsızlıklardan sonra genelde 2 Å aralığında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.82'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin önce yükseldiği sonra düştüğü ardından bir çıkış ve iniş daha gösterdiği görülüyor.



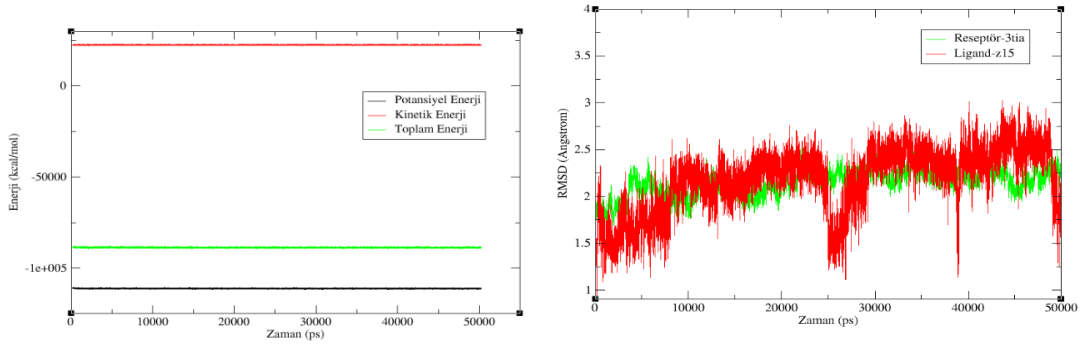
Şekil 4.79 $2HU4_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.80 4B7R$_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



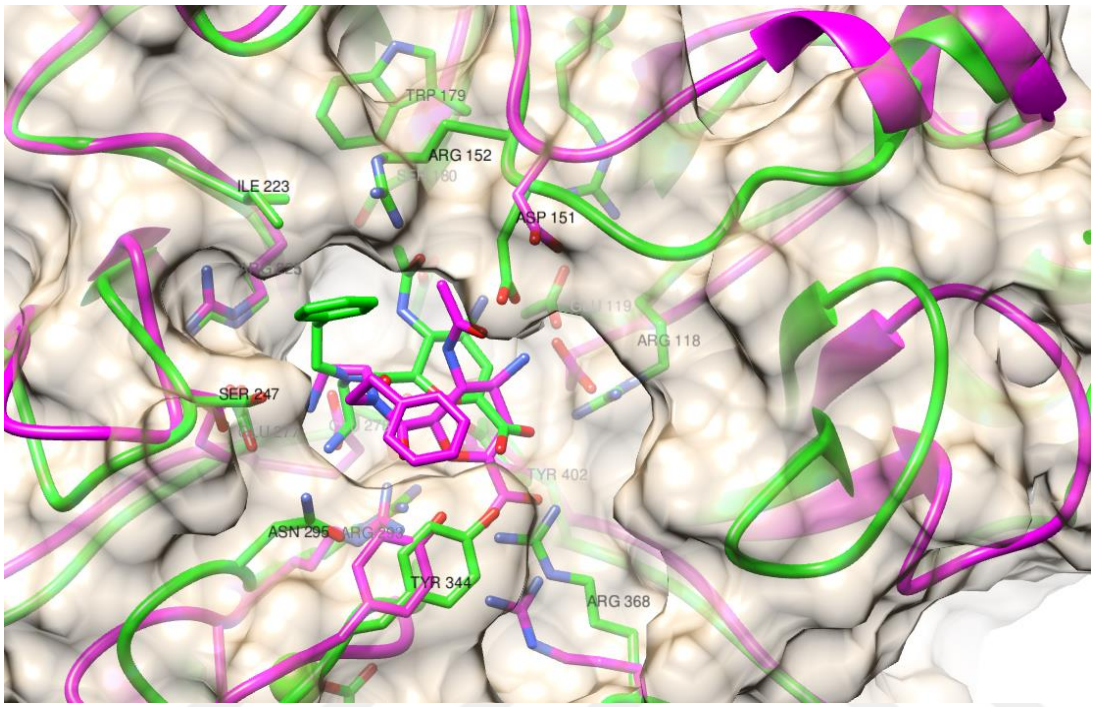
Şekil 4.81 4GZQ$_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.82 3TIA$_{WT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

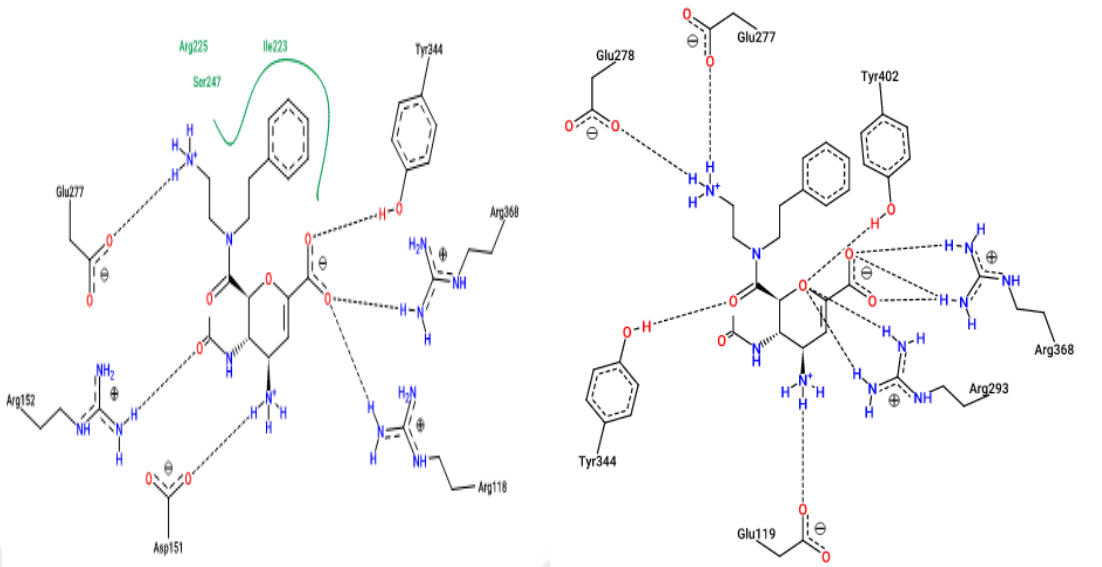
2HU4$_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,119 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.83'te gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir.

Bu değişimin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu etkilediği, Z15 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir.



Şekil 4.83 $2HU4_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,119 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

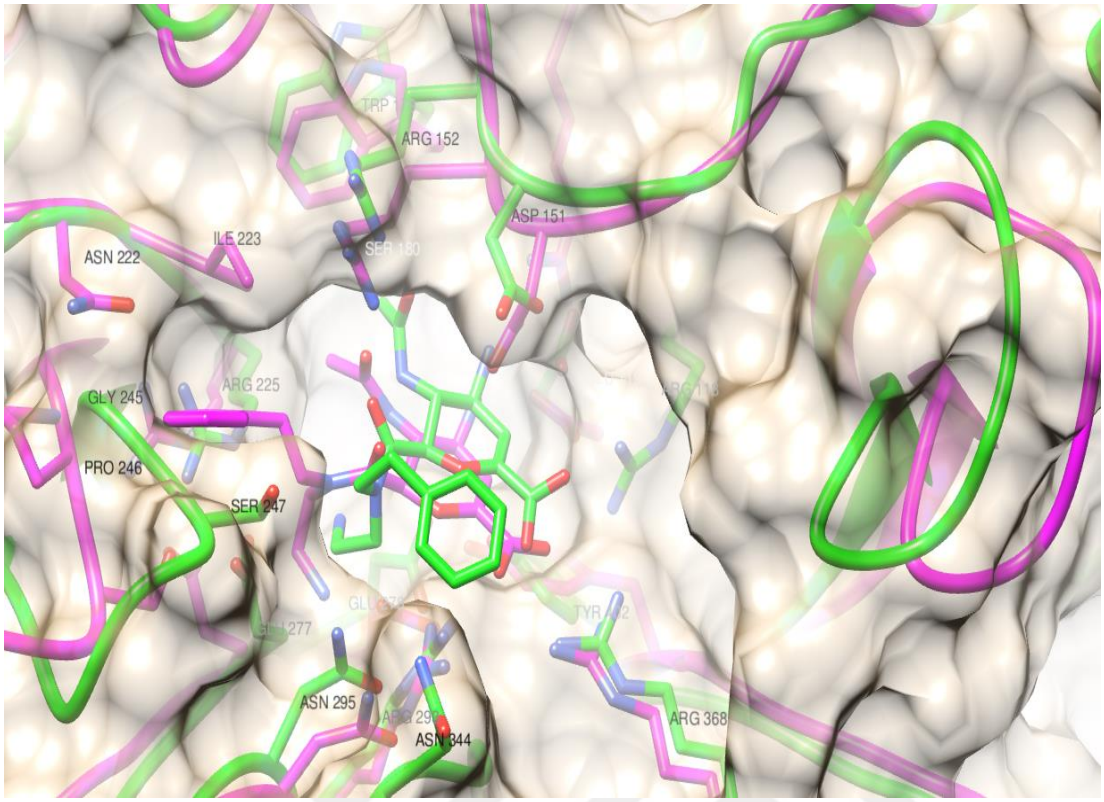
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.84'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151'in ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Glu277 amino asit artığının ise ligandın diğer $-NH_3^+$ grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Arg368 amino asit artığının etkileşimi devam ederken, -NHAc grubu Arg152 etkileşiminin o anda var olmadığı görülmektedir.



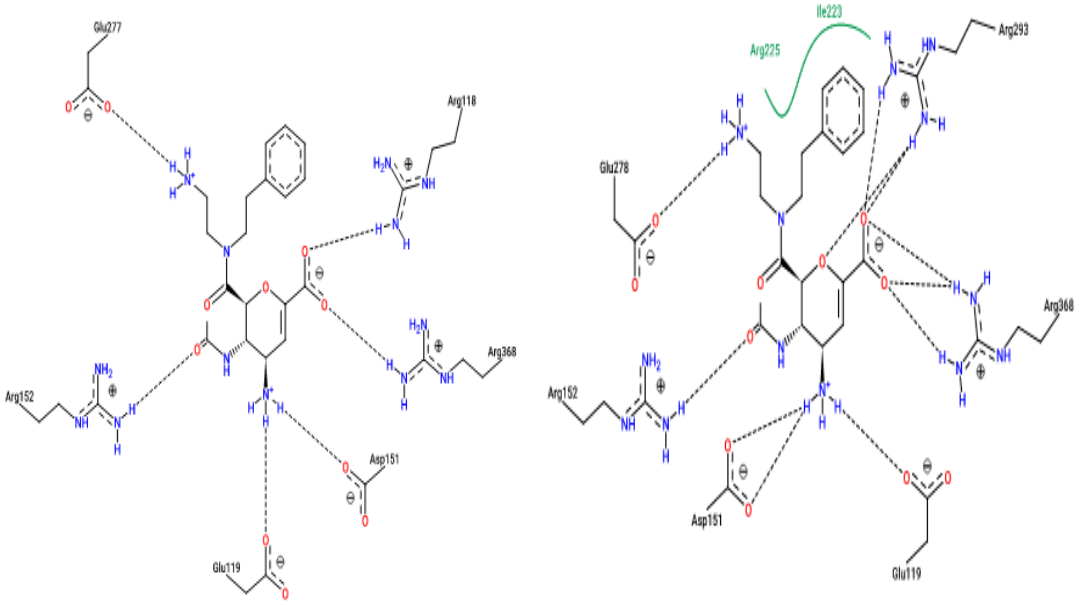
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.84 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,205 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.85'te gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde büyük konformasyonel sapmaların olmadığı, reseptörde bulunan 150 ilmeğinde pek değişim yokken ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.86'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile ikinci $-NH_3^+$ grubunun Glu277 amino asit artığıyla hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda da başlangıç etkileşimlerinin var olduğu ancak bunlara ek olarak Arg293 aminoasidinin $-COO^-$ grubuyla, ikinci $-NH_3^+$ grubunun Glu277 yerine Glu278 ile etkileşimde olduğu görülmektedir.



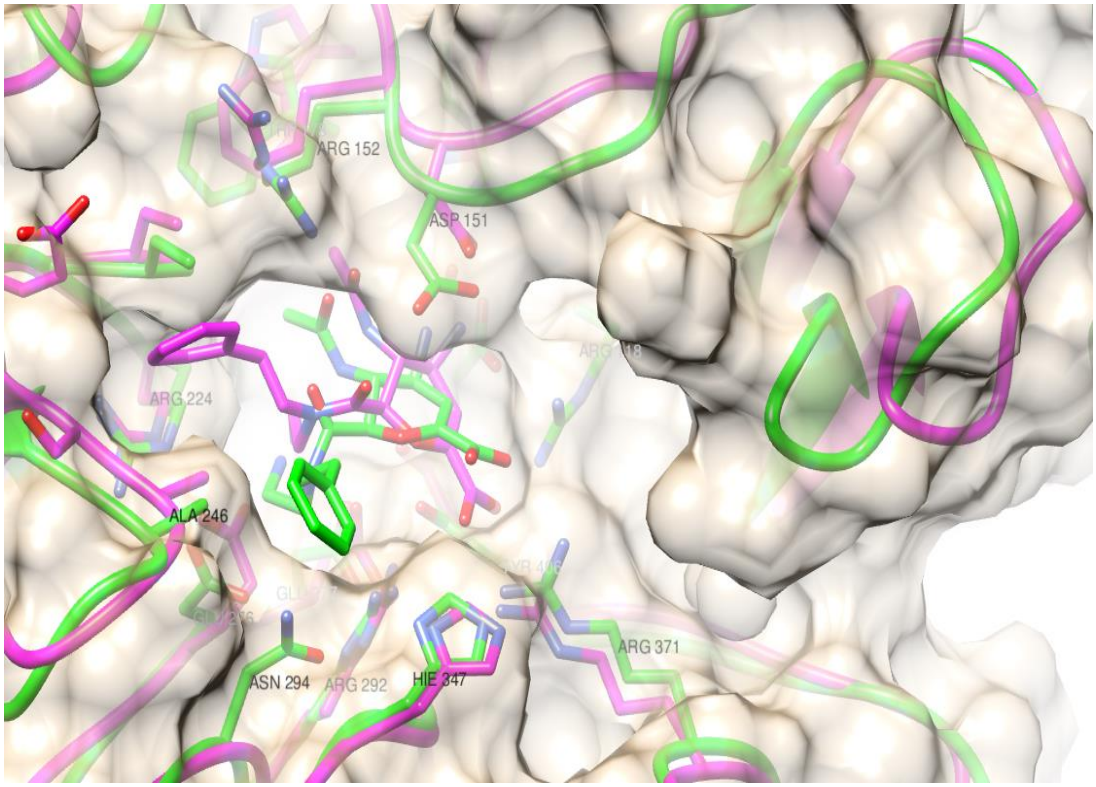
Şekil 4.85 4B7R$_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,205 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

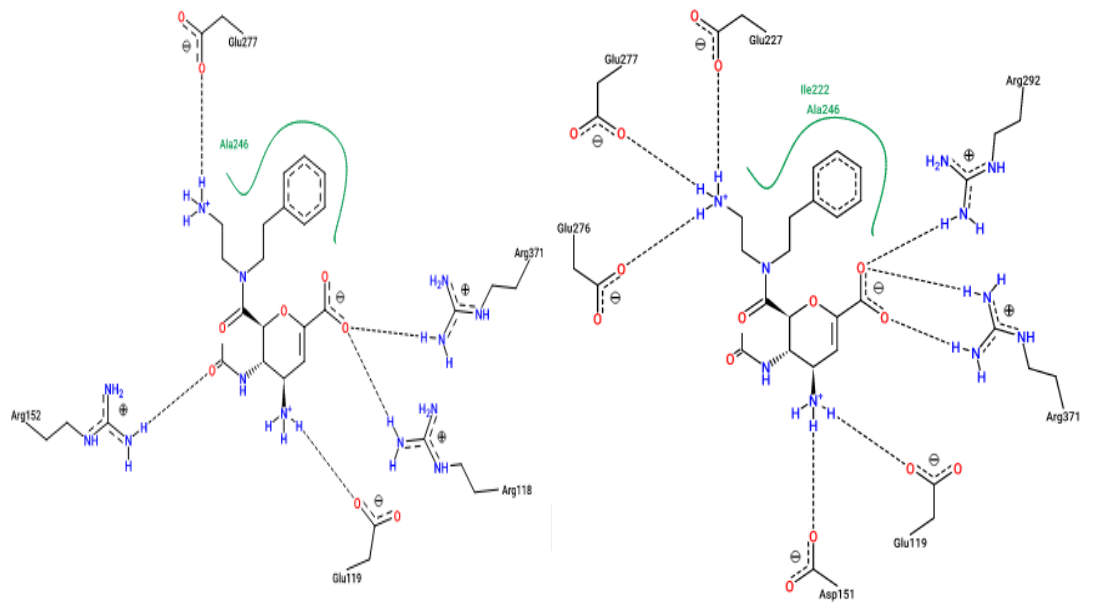
Şekil 4.86 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,225 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.87'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin az da olsa gerçekleştiği görülmektedir



Şekil 4.87 $4GZQ_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

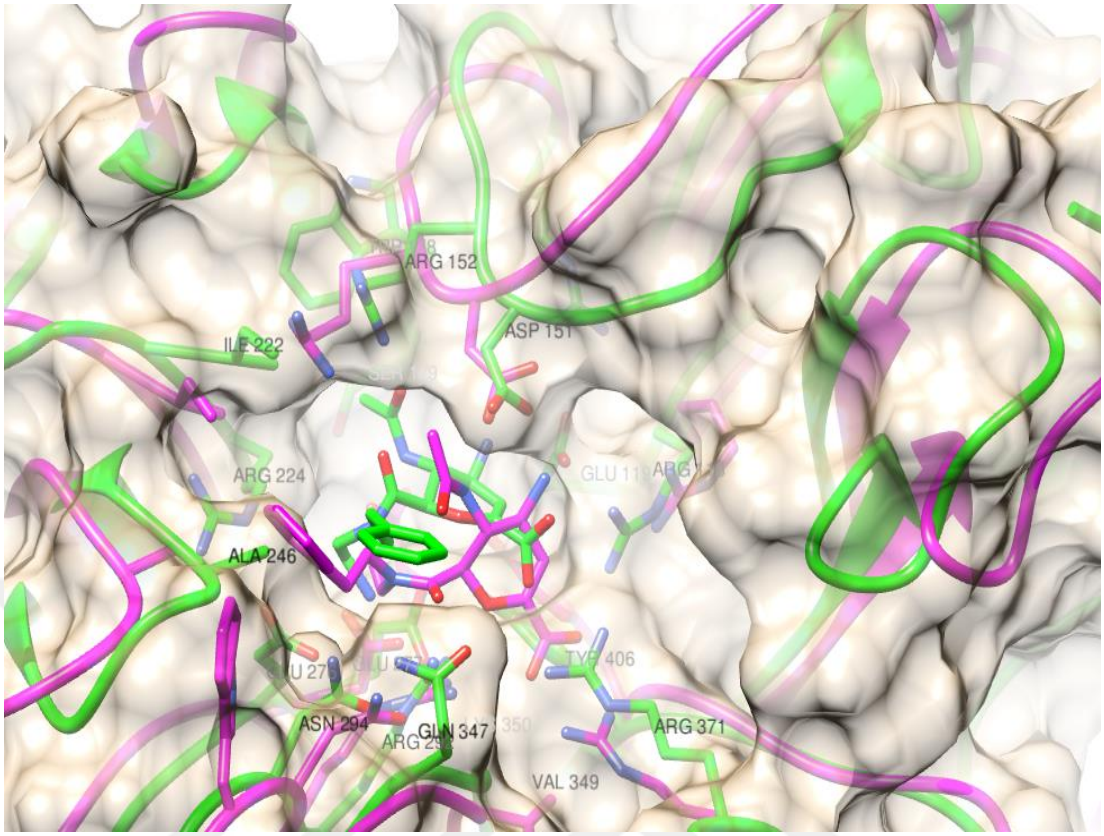
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.88'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Glu277 artığının ikinci $-NH_3^+$ grubuyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimde olmadığı, Arg292 artığının $-COO^-$ grubuyla, Glu227 ve Glu278 amino asit artıklarının ikinci $-NH_3^+$ etkileşiminin olduğu görülmektedir.



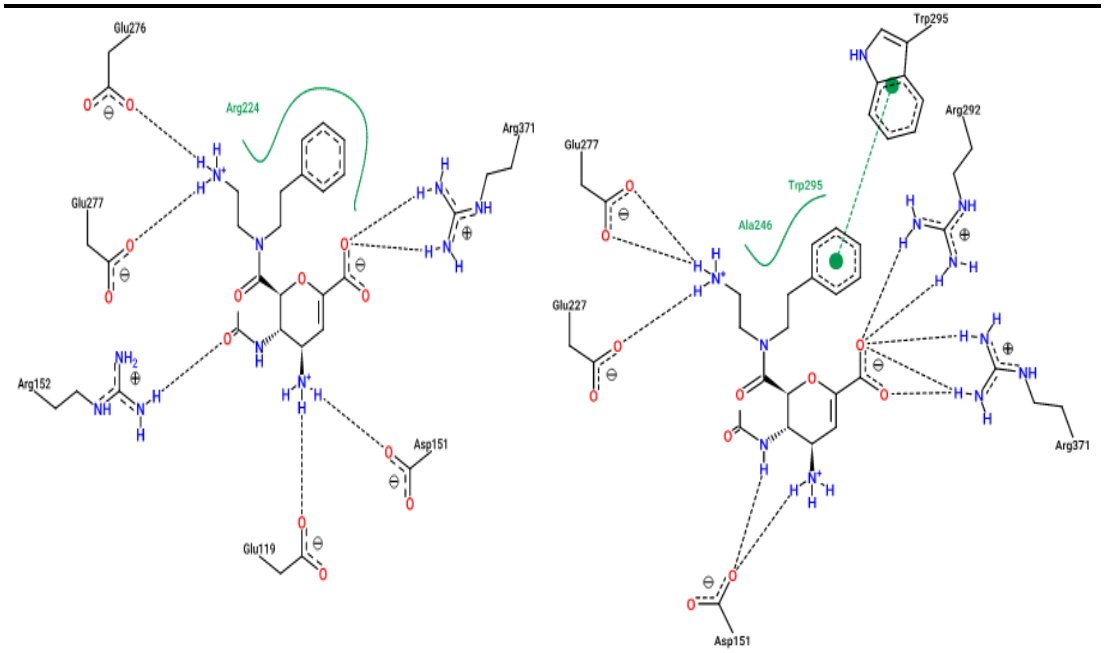
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.88 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,243 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.89'da gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği, Asp151 konformasyonunun ise az da olsa değiştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.90'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Glu227 ve Glu277 amino asit artıklarının ikinci $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 amino asidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı görülmektedir.



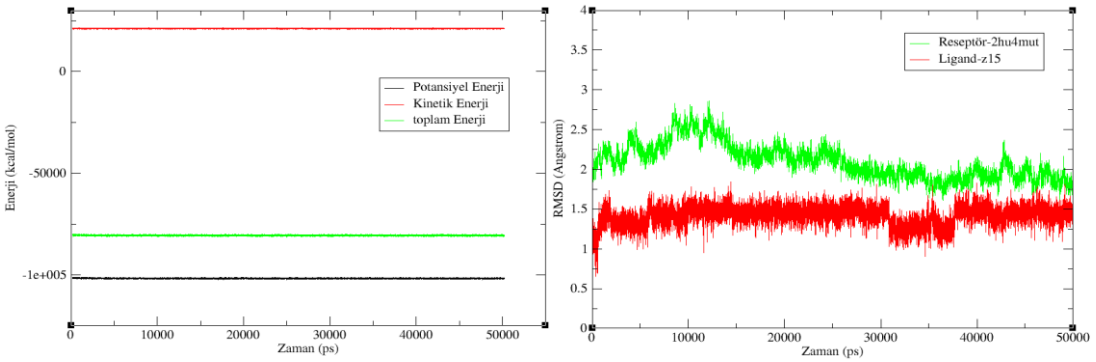
Şekil 4.89 $3TIA_{WT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,243 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



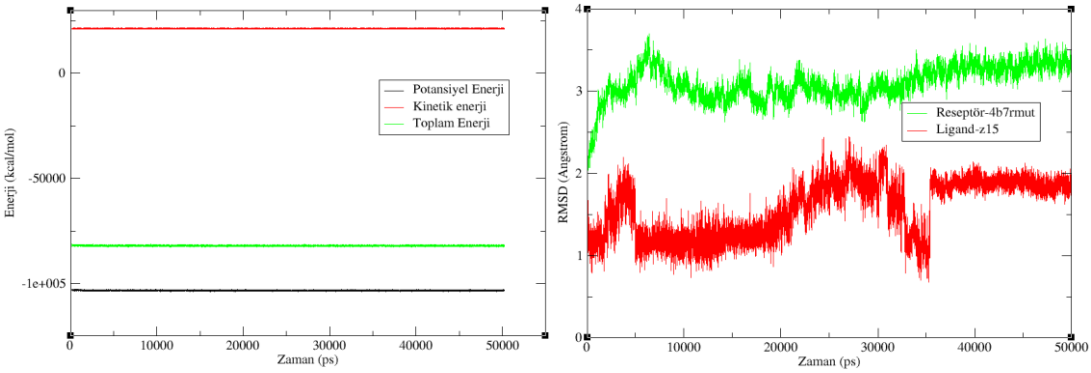
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.90 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

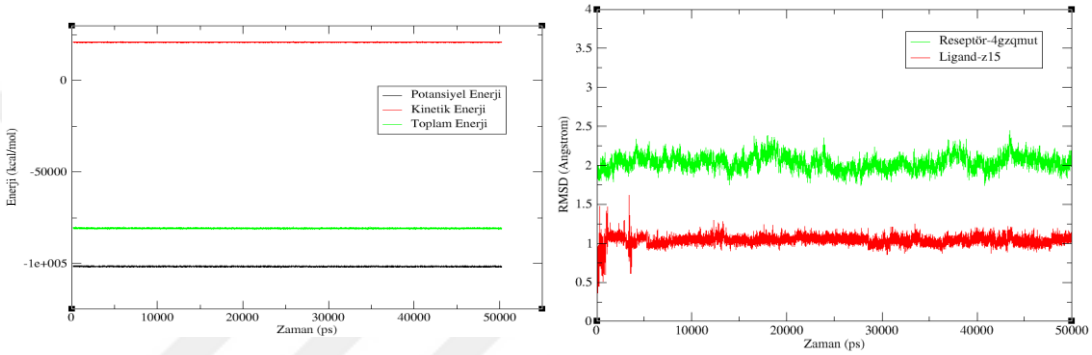
Tüm mutant varyantların proteinlerine z15 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.91-4.94'te verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.91'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği 2,0 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce çok az da olsa yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.92'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD grafiği dikkate alındığında reseptör RMSD değerinin önce yükseldiği 3 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra düştüğü ve stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.93'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü reseptör RMSD değerinin 2 Å civarında stabil kaldığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin ise 1,0 Å civarında stabil halde kaldığı görülmektedir. Şekil 4.94'te RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin zamanla yükseldiği 3 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin ise değişken olmakla birlikte son düzlükte stabil olduğu görülmektedir.



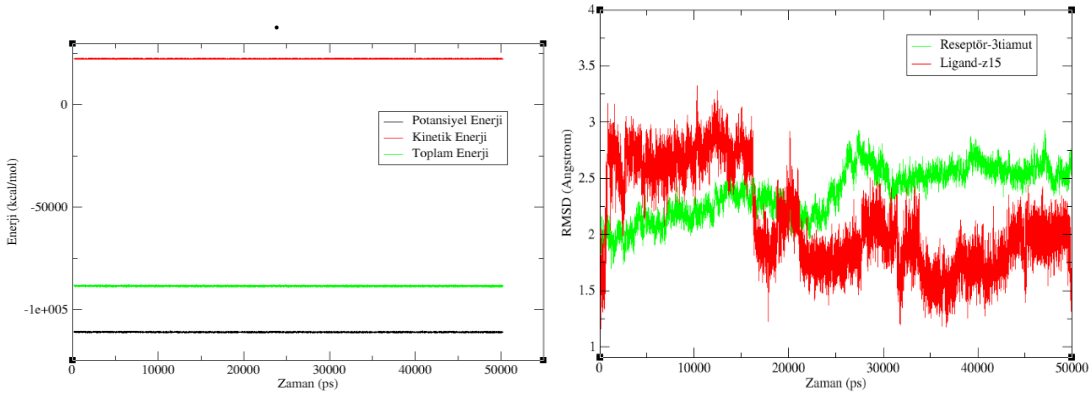
Şekil 4.91 $2HU4_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi.



Şekil 4.92 4B7R$_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

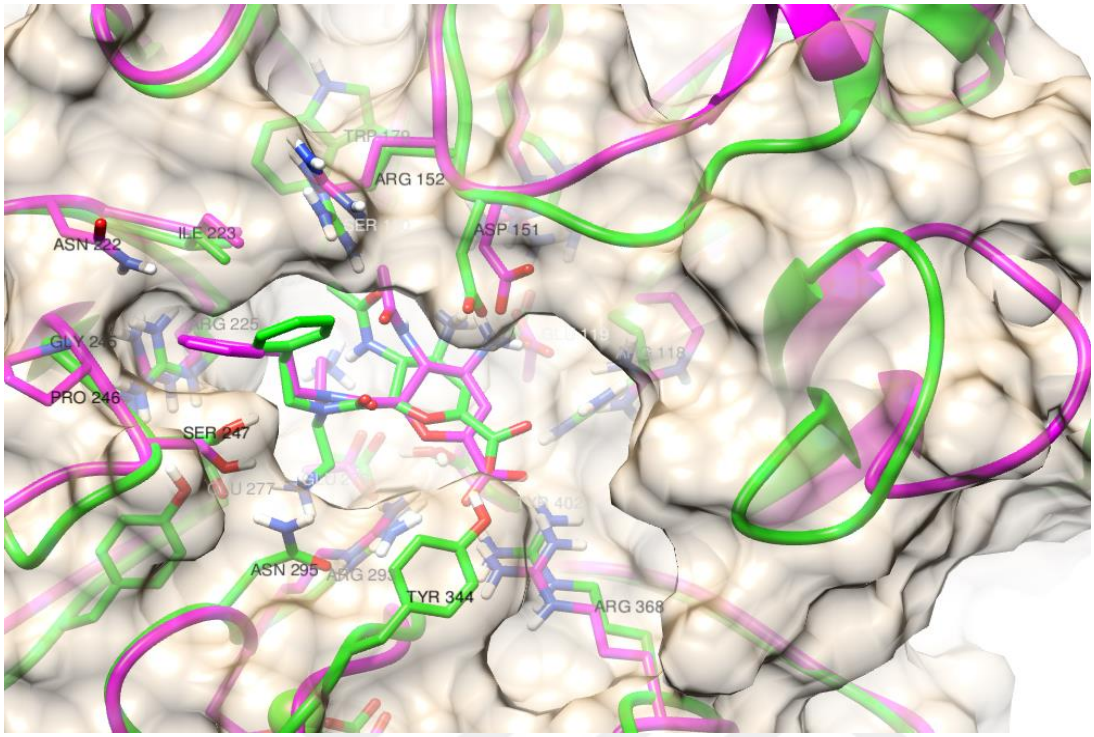


Şekil 4.93 4GZQ$_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



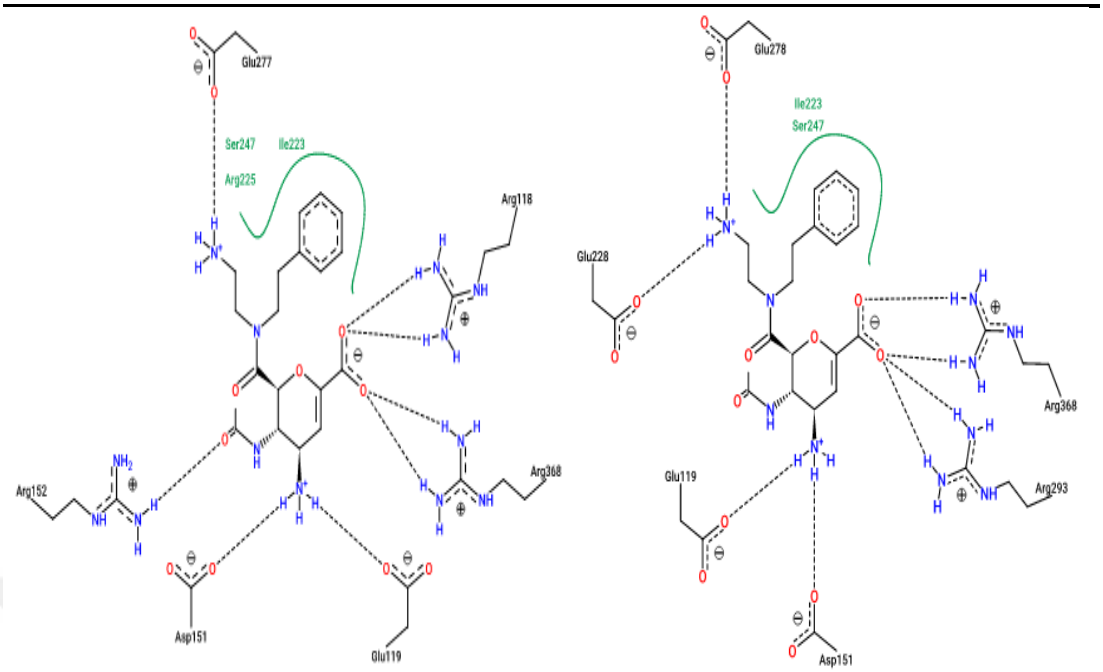
Şekil 4.94 3TIA$_{MT}$ proteinine z15 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,871 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.95'te gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{MT}$ kodlu reseptör aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerin en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda başlangıç konumlarına göre değişmeler olduğu görülmektedir.



Şekil 4.95 2HU4$_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,871 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

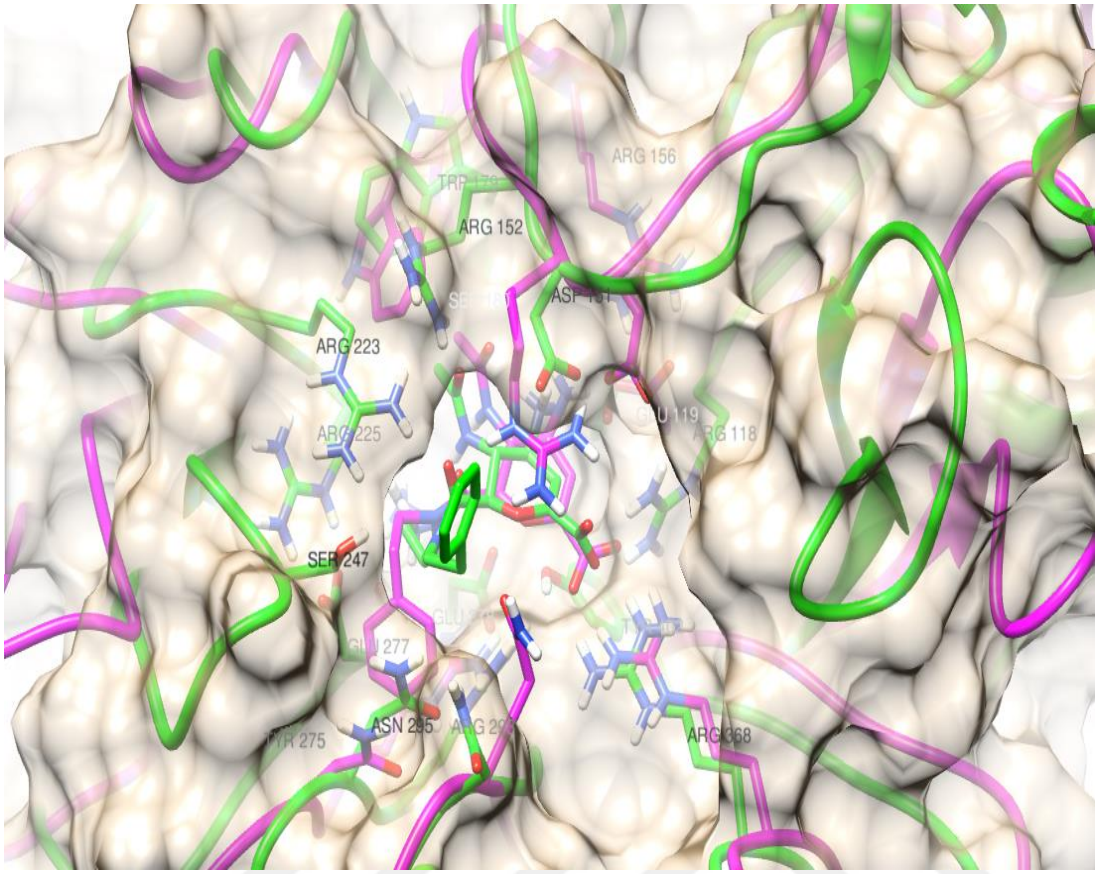
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.96'da verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da var olduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü, Glu277 ikinci NH_3^+ grubu, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve Arg152 -NHAc etkileşimi dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğu bunlar dışında Arg293 ile COO^- grubu tuz köprüsü, Glu228 ile ikinci NH_3^+ grubu tuz köprüsü etkileşimi olduğu görülmektedir.



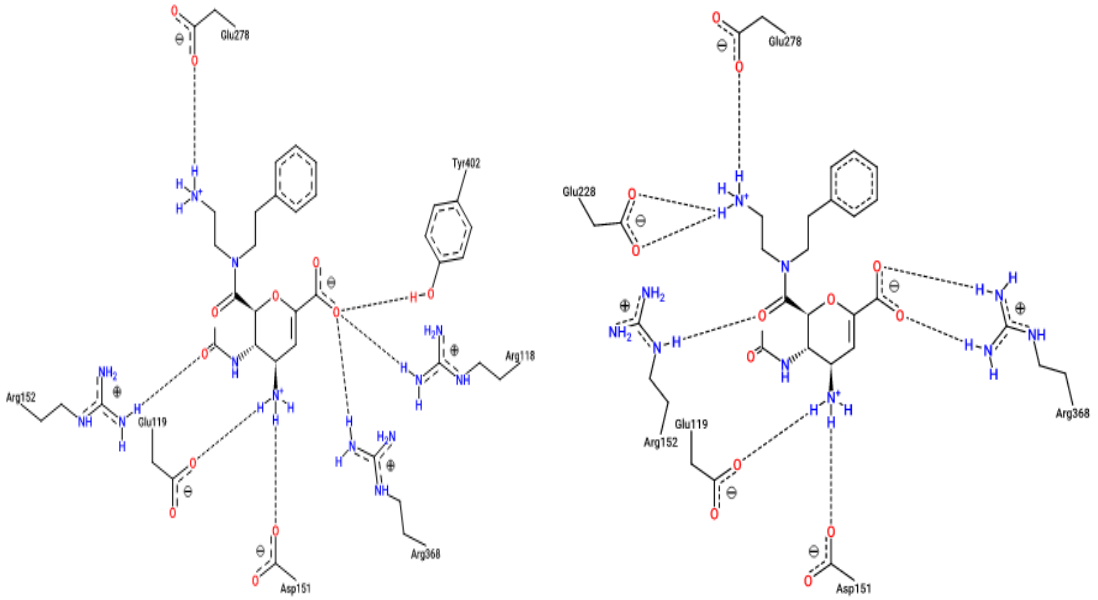
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.96 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,199 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.97'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD en düşük enerjili konformasyon anında reseptörde bulunan 150 ilmeğinin biraz ve 430 ilmeğinin ise belirgin bir biçimde oyuktan dışa doğru açıldığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.98'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Tyr402 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 ve Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Glu278 ikinci $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg368 aminoasidinin $-COO^-$ grubu ile Glu228 ve Glu278 amino asitlerinin ikinci $-NH_3^+$ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu, Asp151 ve Arg152 artıklarının ligandla etkileşimlerinin ise başlangıçtaki durumuyla aynı olduğu görülmektedir.



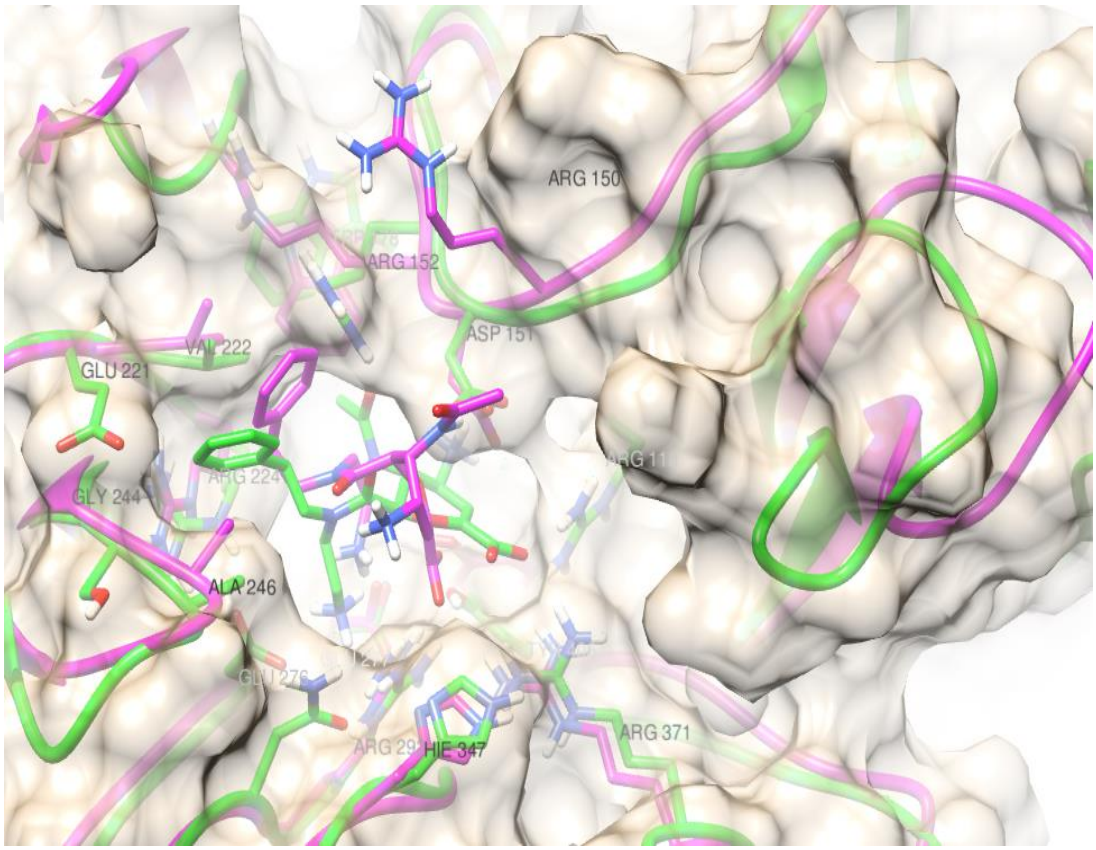
Şekil 4.97 4B7R$_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,199 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

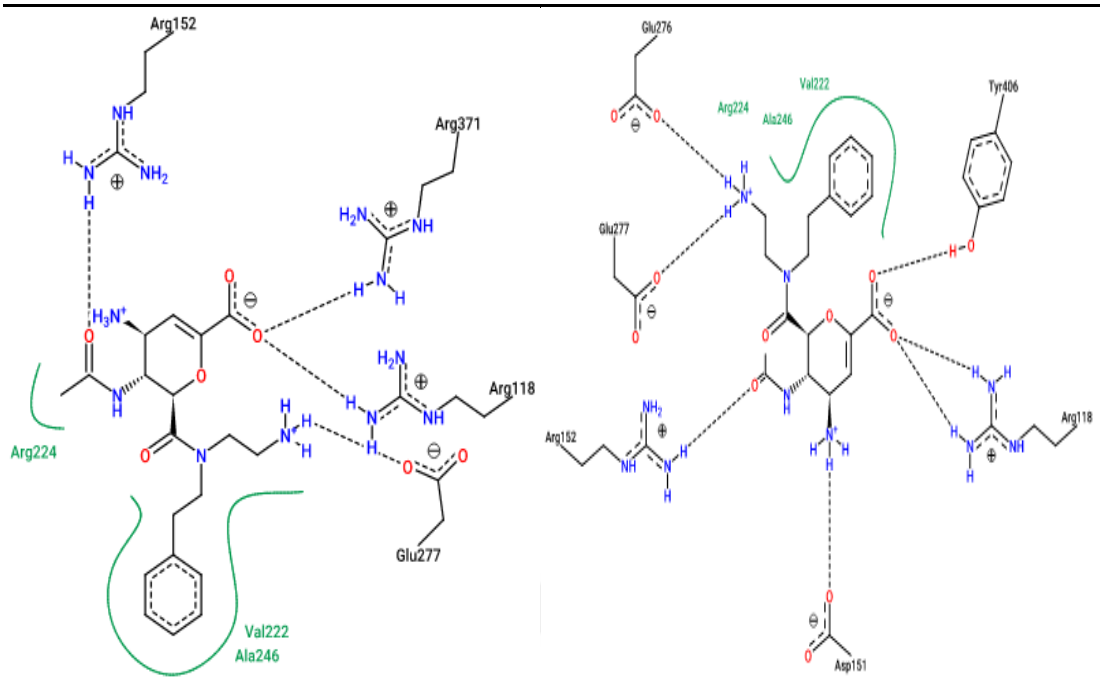
Şekil 4.98 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,126 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.99'da gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir



Şekil 4.99 $4GZQ_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,126 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.100'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Glu277 amino asit artığının ikinci $-NH_3^+$ ile tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda ikinci $-NH_3^+$ grubunun Glu277'nin yanısıra Glu276 ile de tuz köprüsü etkileşimi olduğu görülmektedir.

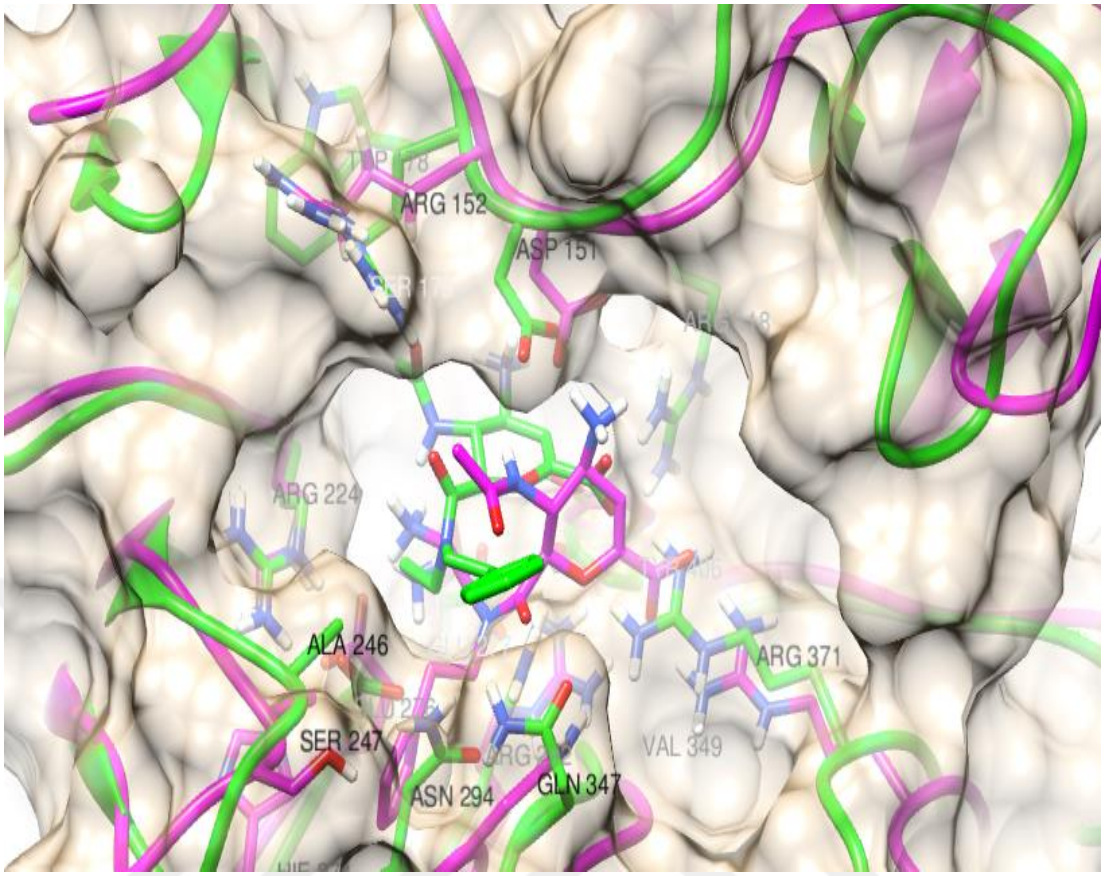


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

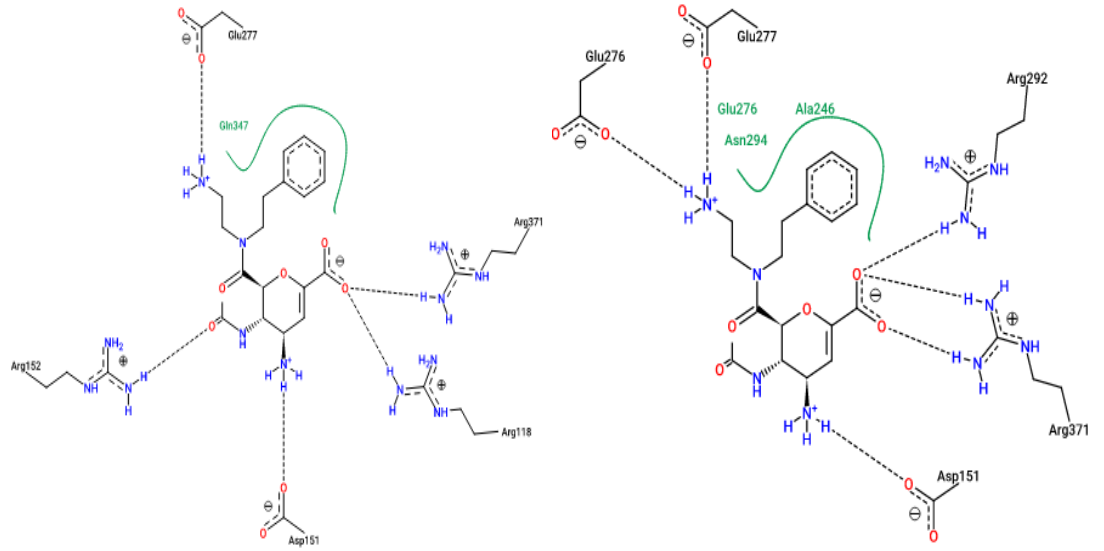
Şekil 4.100 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,098 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.101'de gösterilmiştir. Şekilde MD sırasında en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde değişimlerin pek fazla olmadığı ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Asp151 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği, Arg152 konformasyonunun ise az da olsa değiştiği bununla beraber ligandın konum ve konformasyonunun MD başlangıç anına göre değiştiği görülmektedir.

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.102'te verilmiştir. Şekile göre MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, ikinci $-NH_3^+$ grubunun Glu277 aa artığıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile tuz köprüsü, Glu276 amino asit artığının ikinci $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü etkileşimi yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.101 $3TIA_{MT}$ proteinine z15 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,098 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

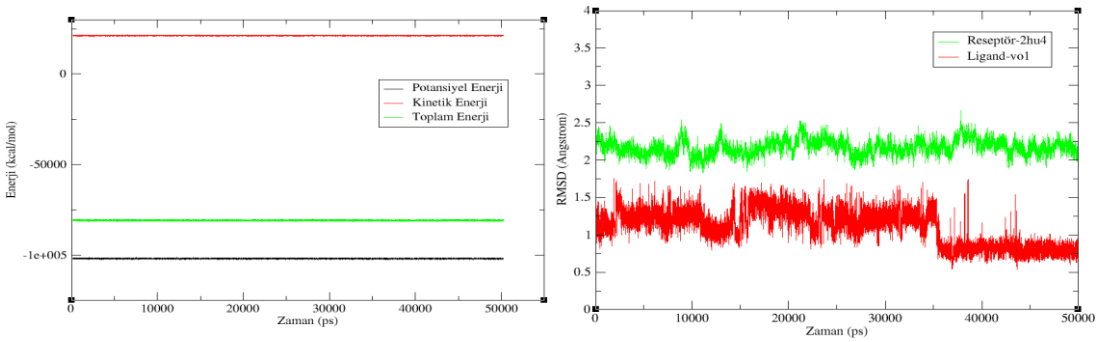


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

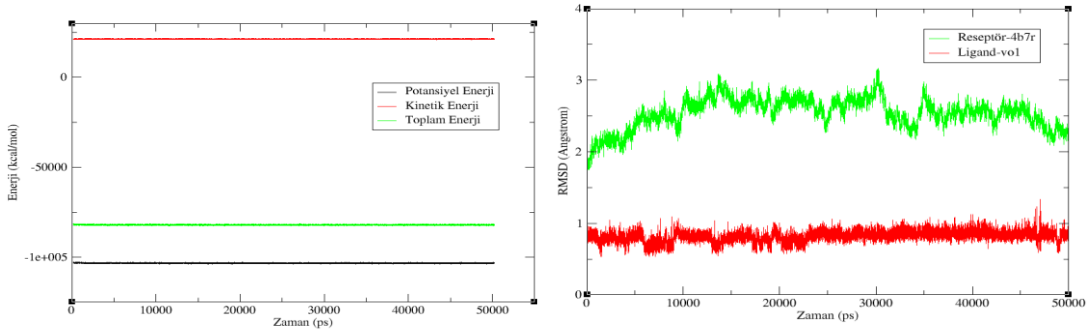
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.102 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve z15 ligandının etkileşimleri

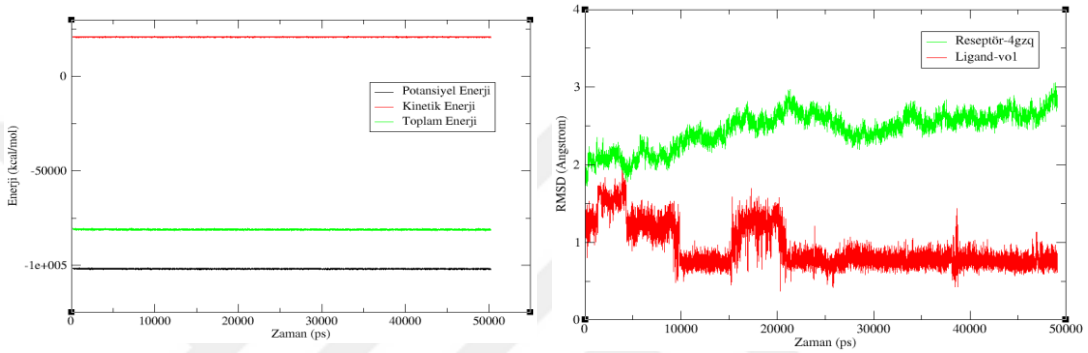
2HU4$_{WT}$ proteinine, vo1 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.103-4.106'da verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.103'te RMSD grafiği dikkate alındığında 2HU4$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin 2,2 Å civarında stabil olduğu görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. vo1 ligandı RMSD değerinin ise önce çok az da olsa yükseldiği sonra 40 ns civarında birden düştüğü ve durağanlığa yakınsadığı görülmektedir. Şekil 4.104'te RMSD grafiği dikkate alındığında 4B7R$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra düştüğü görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 0,8 Å seviyesinde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı olduğunu göstermektedir. Şekil 4.105'te RMSD grafiği dikkate alındığında 4GZQ$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir değişkenlikten sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 0,8 Å seviyesinde durağanlığa vardığı görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.106'da RMSD grafiği dikkate alındığında 3TIA$_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 0,8 Å seviyesinde durağanlığa ulaştığı görülüyor.



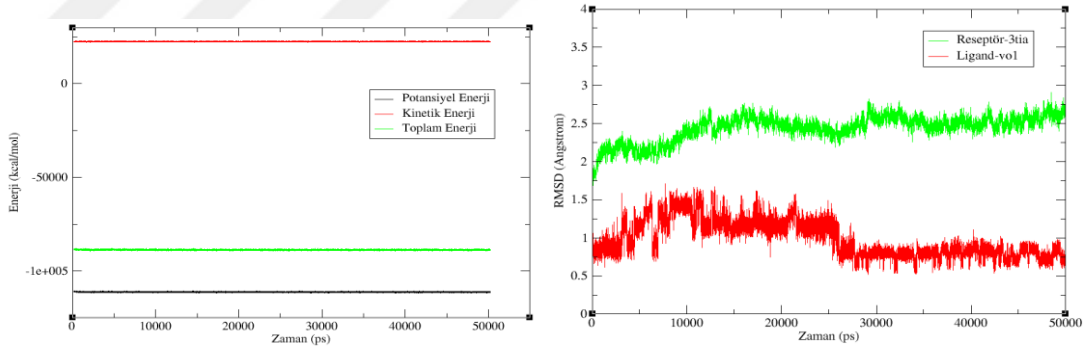
Şekil 4.103 2HU4$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi.



Şekil 4.104 4B7R$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi.



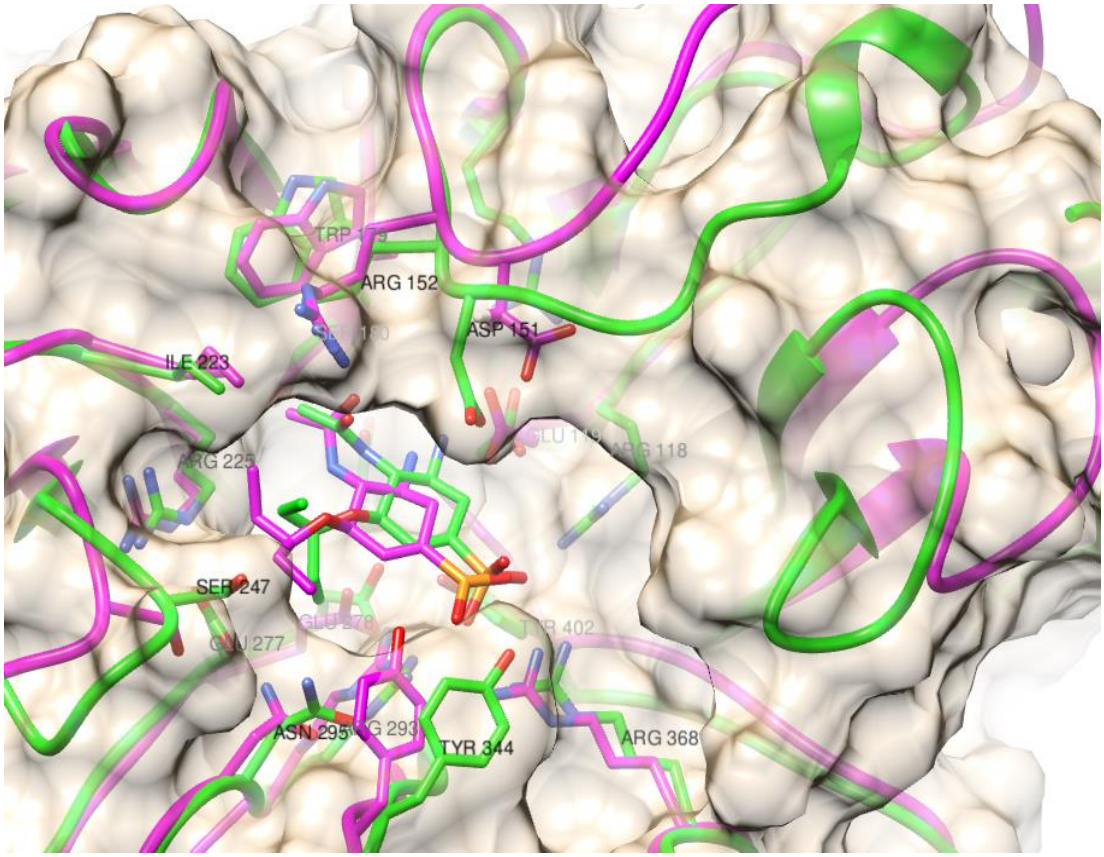
Şekil 4.105 4GZQ$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.106 3TIA$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,077 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.107'de gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak çok fazla değişime uğramadığı, bununla birlikte reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu çok fazla

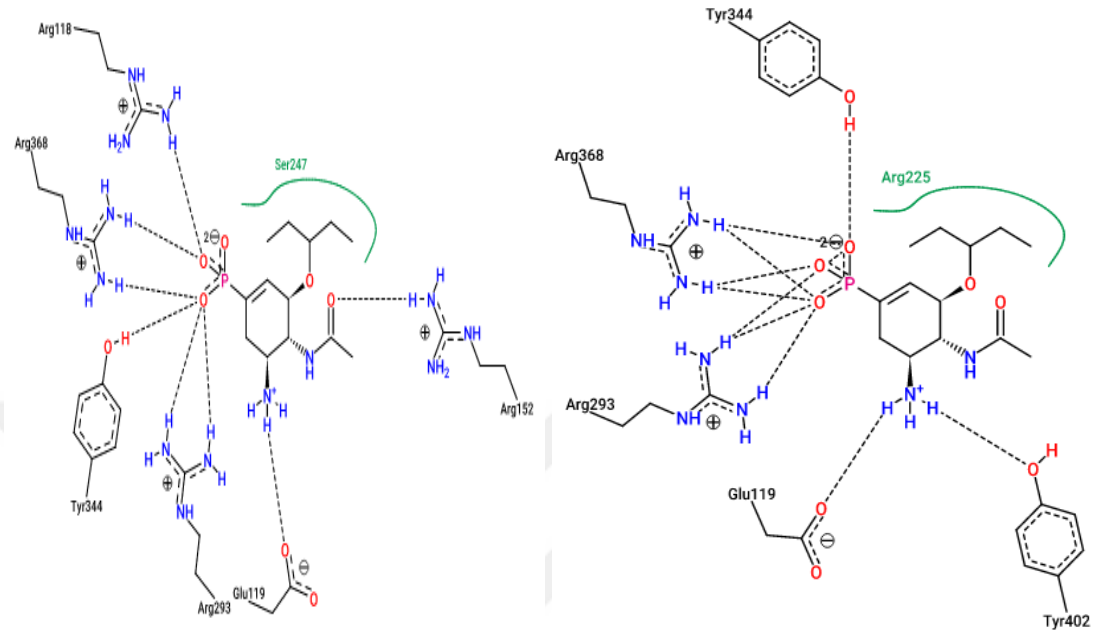
değiştirmediği, vo1 ligandının ise özellikle -$OCHEt_2$ grubunun konformasyonun biraz değiştiği görülmektedir.



Şekil 4.107 $2HU4_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,077 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.108'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince (50 ns) oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. Görseller bize MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asitin guanidyum grubu ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve bu etkileşimlerden Arg152 ve Tyr344 artıklarının ligandla olan etkileşimleri dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu göstermektedir. Dock yakınsaması sırasında oluşan etkileşimler, kompleksin en düşük enerjili konformasyonuna geçtiği anda da devam etmiş

dolayısıyla ligand reseptöre bu etkileşimlerin devamı ile dock ile yerleştiği başlangıç konumunu ve konformasyonunu oldukça koruyarak bağlı kalmıştır.

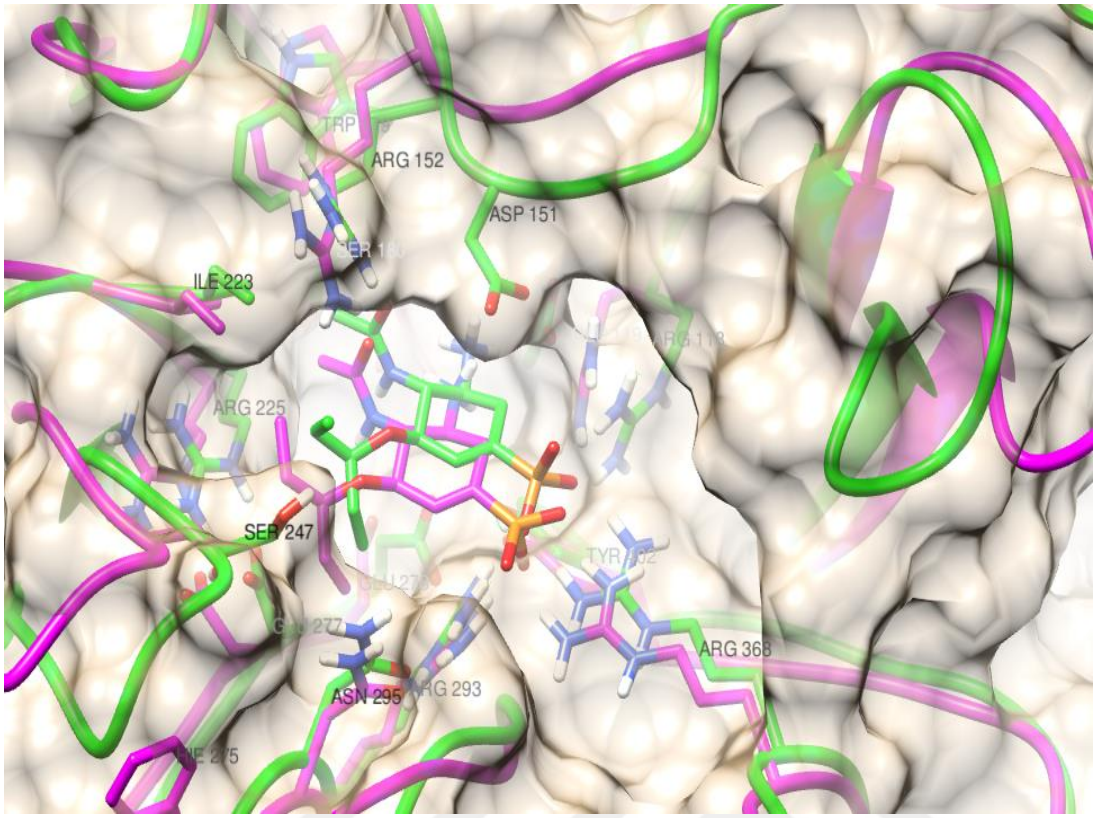


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

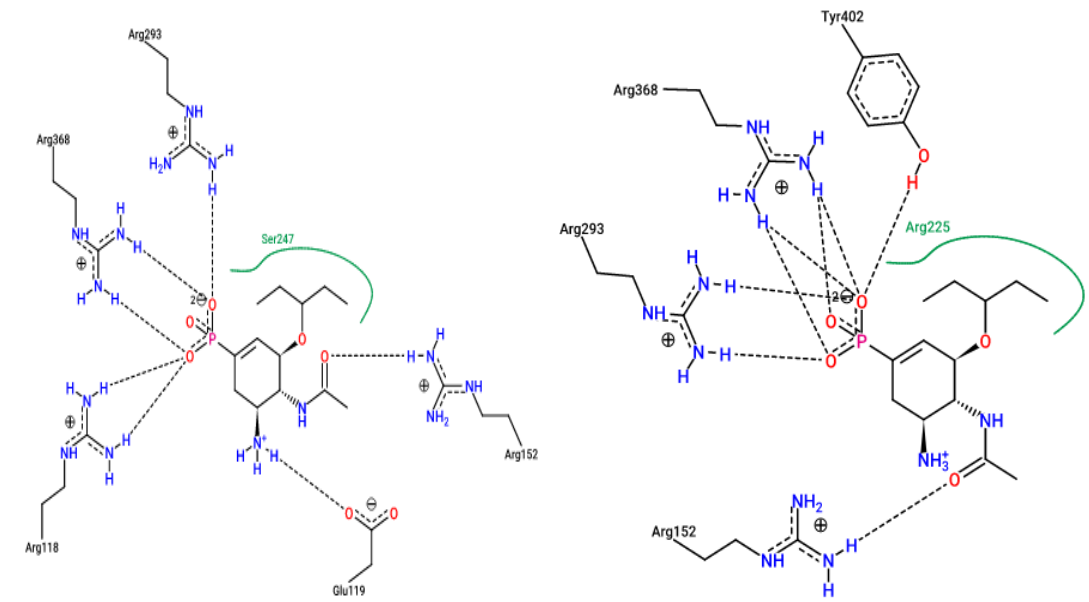
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.108 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,201 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.109'da gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sürecinde oluşan em düşük enerjili konformasyon sırasında başlangıç anına göre biraz değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru biraz esnediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.110'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg118 artığının $-PO_3^{-2}$ grubu ile etkileşimde olmadığı görülmektedir. Bu ise o anda 150 ilmeğinin konformasyon değişiminin sonucu olabilir.



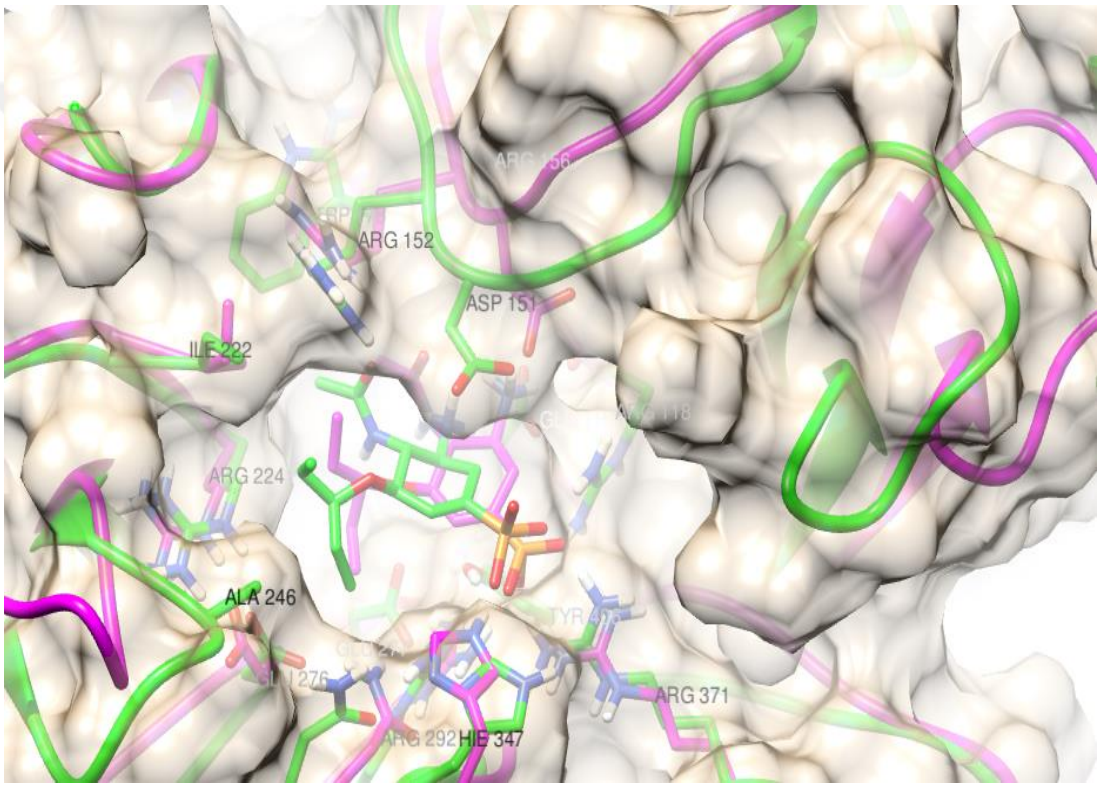
Şekil 4.109 4B7R$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,201 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

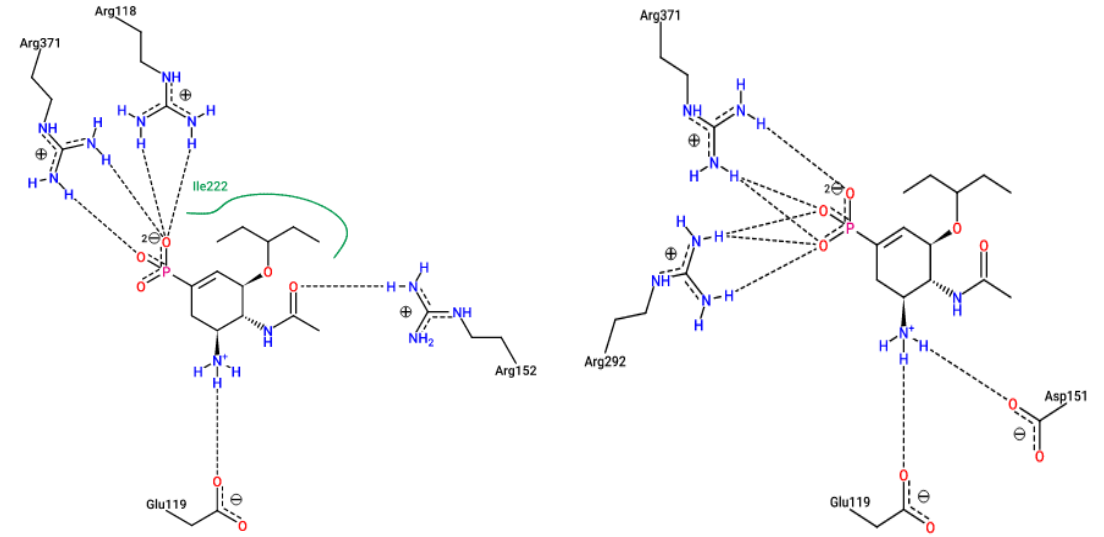
Şekil 4.110 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,203 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.111'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin az da olsa gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Asp151, Arg152 gibi katalitik bölge amino asitlerinin konformasyonlarının etki ettiği görülmektedir.



Şekil 4.111 $4GZQ_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,203 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

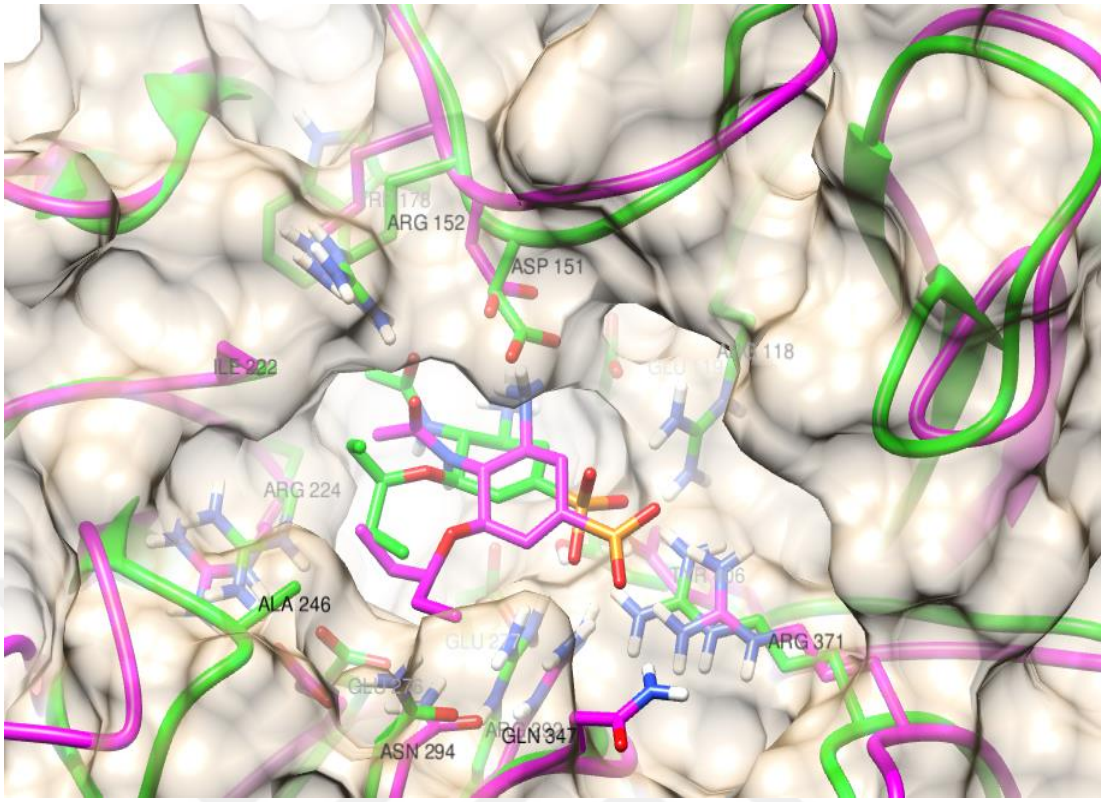
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.112'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 amino asidinin -NHAc grubu ile etkileşimde olmadığı görülmektedir.



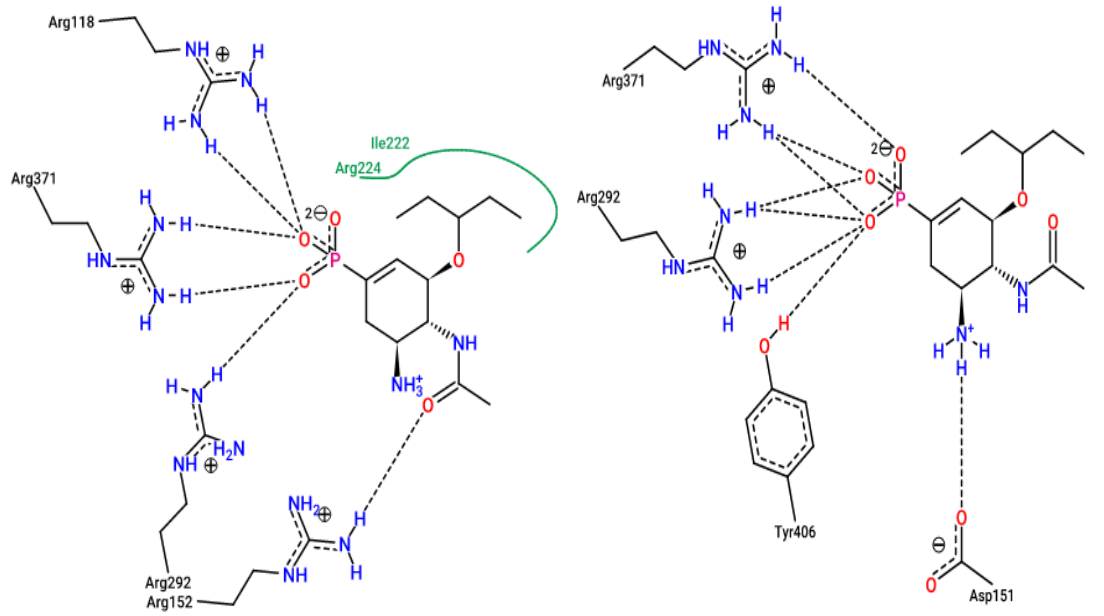
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.112 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekı başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,136 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.113'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 amino asidinin konformasyonunun pek değişmediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.114'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü, Tyr406 amino asit artığının ise $-PO_3^{-2}$ ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü etkileşiminin olduğu görülmektedir.



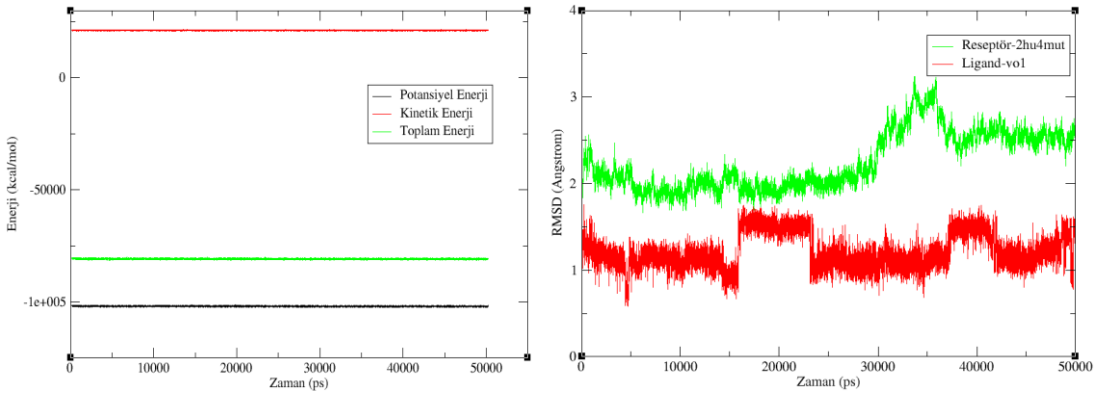
Şekil 4.113 3TIA$_{WT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,136 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



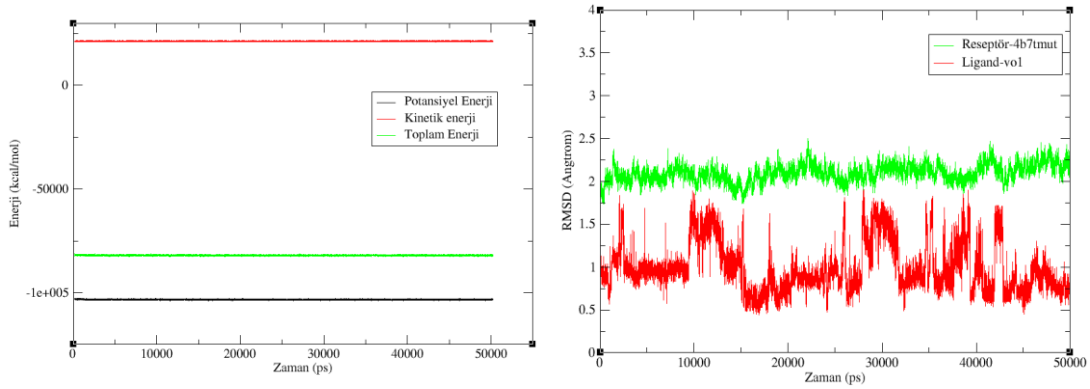
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.114 3TIA$_{WT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

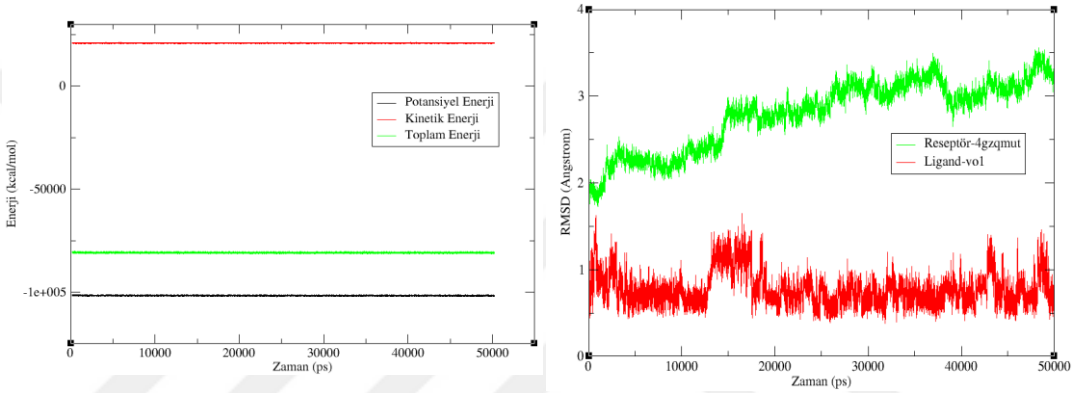
Tüm mutant varyantların proteinlerine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.115-4.118'da verilmiştir. Bu Şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.115'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükselme ve alçalmalardan sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.116'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD grafiği dikkate alındığında reseptör RMSD değerinin önce yükseldiği 2 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce ani değişmeler gösterdiği ve stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.117'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü reseptör RMSD değerinin oldukça yükseldiği 3,5 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.118'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin zamanla yükseldiği 2,3 Å civarında nispeten durağanlaştığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin simülasyonun sonuna doğru genelde stabil olduğu görülmektedir.



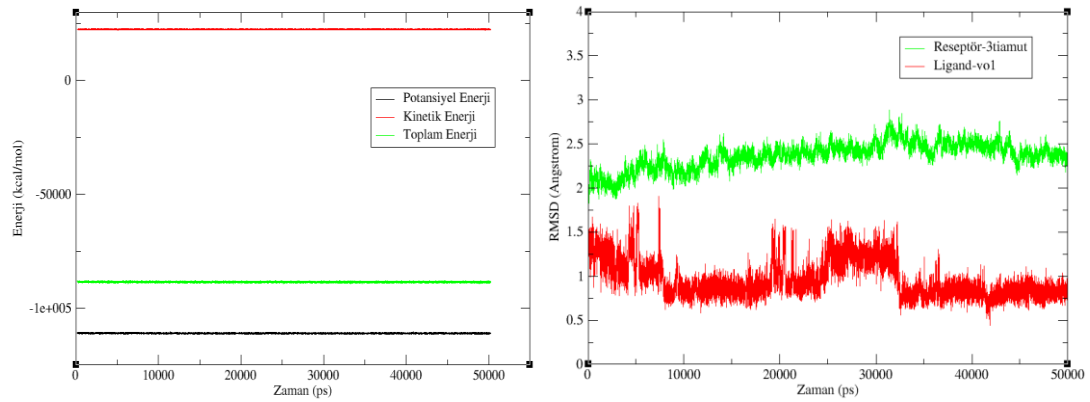
Şekil 4.115 $2HU4_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.116 4B7R$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



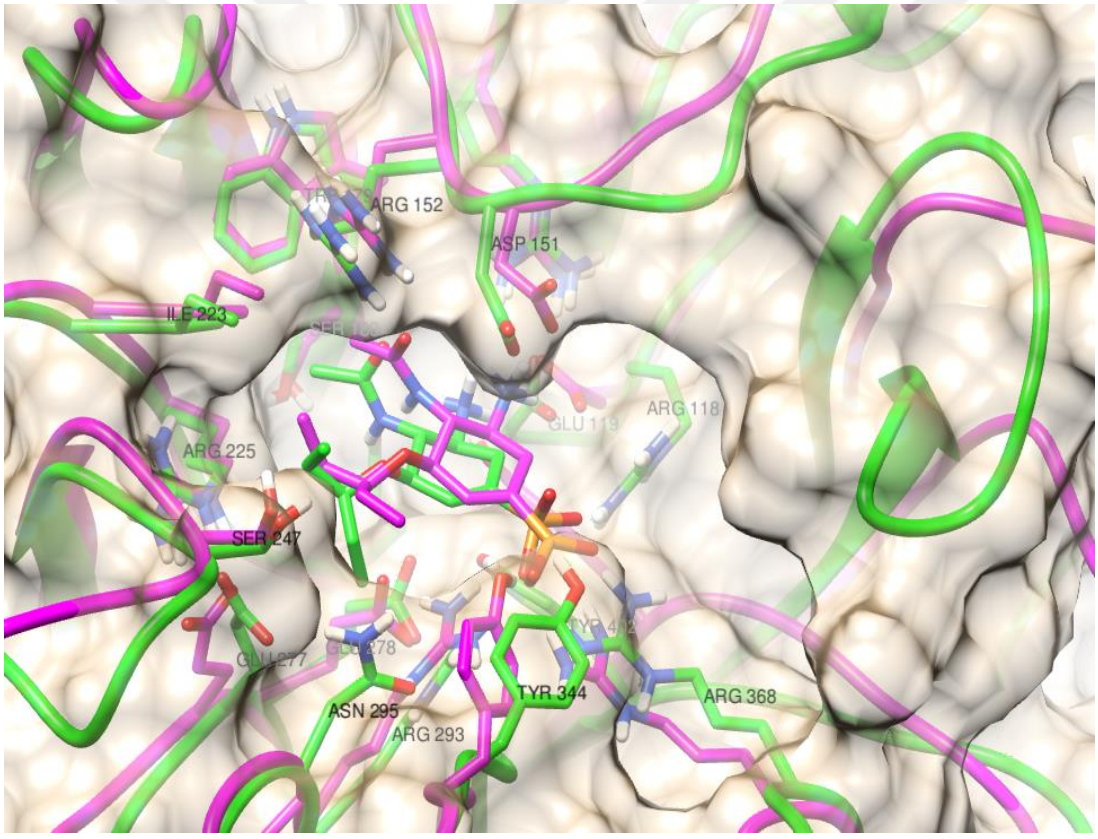
Şekil 4.117 4GZQ$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



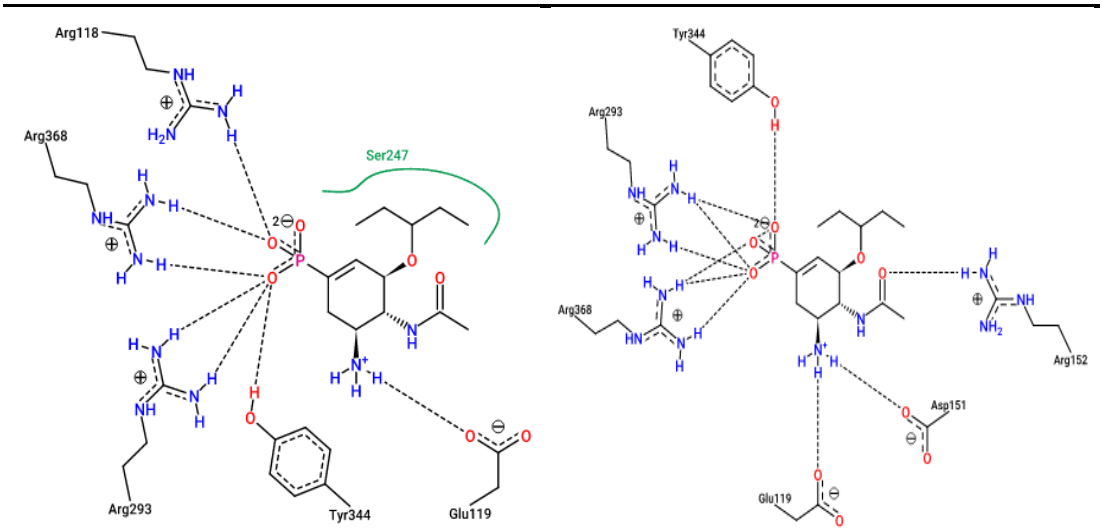
Şekil 4.118 3TIA$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,954 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.119'da gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{MT}$ kodlu reseptörün aktif yöre oyuğunun etrafındaki ilmeklerde MD sırasındaki en düşük enerjili

konformasyon anında konformasyonel olarak çok fazla değişime uğramadığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.120'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da var olduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla etkileşimde olduğu görülüyor. En düşük enerjili konformasyon anında Arg118 artığının $-PO_3^{-2}$ grubuyla etkileşimde olmadığı, Asp151 artığının $-NH_3^+$ ile etkileşime girdiği Arg152 amino asiti artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu görülmektedir.



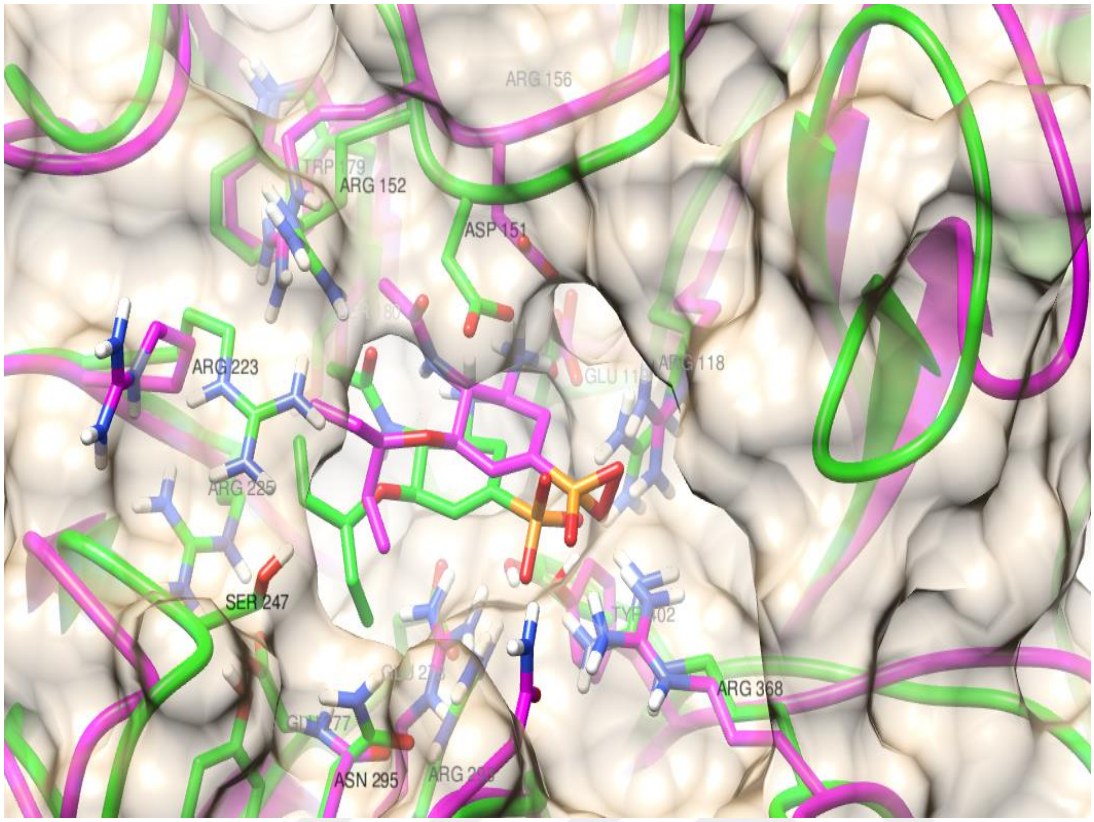
Şekil 4.119 $2HU4_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,954 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



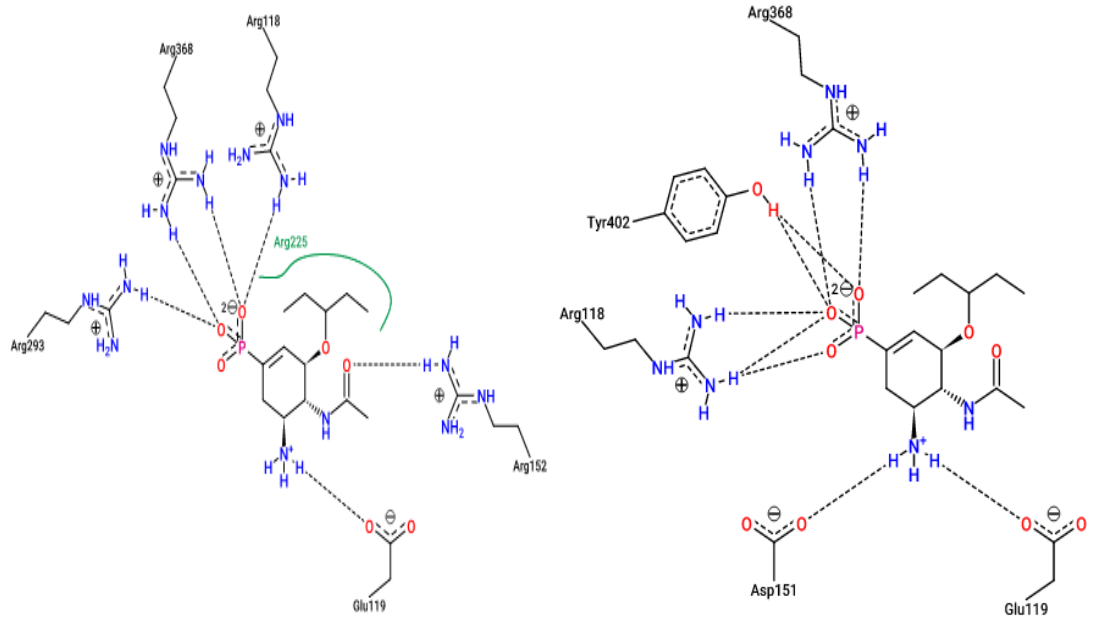
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.120 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,157 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.121'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün moleküler dinamik sonucunda konformasyonel olarak pek değişmediği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğinin biraz ve 430 ilmeğinin ise belirgin bir biçimde oyuktan dışa doğru açıldığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.122'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu119 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Tyr402 aminoasidinin $-PO_3^{2-}$ grubu ile Asp151 artığının ise $-NH_3^+$ etkileşimde olduğu görülmektedir.



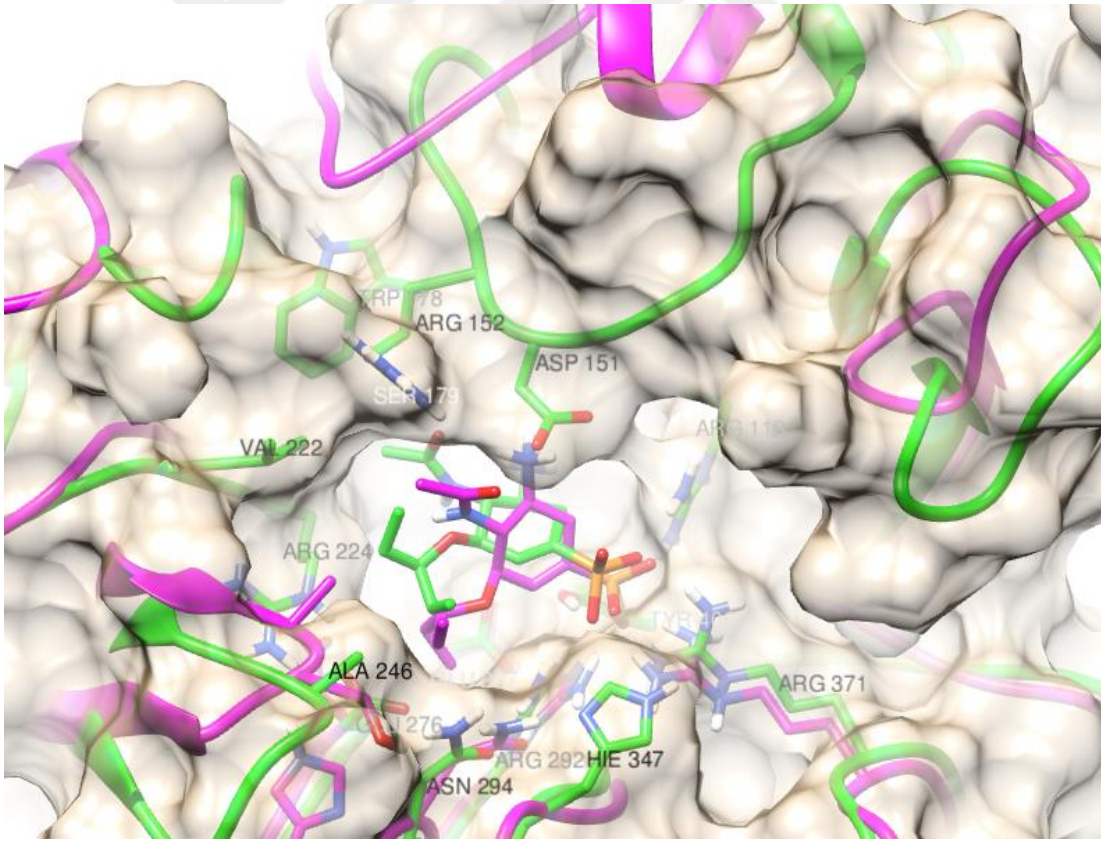
Şekil 4.121 4B7R$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,157 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



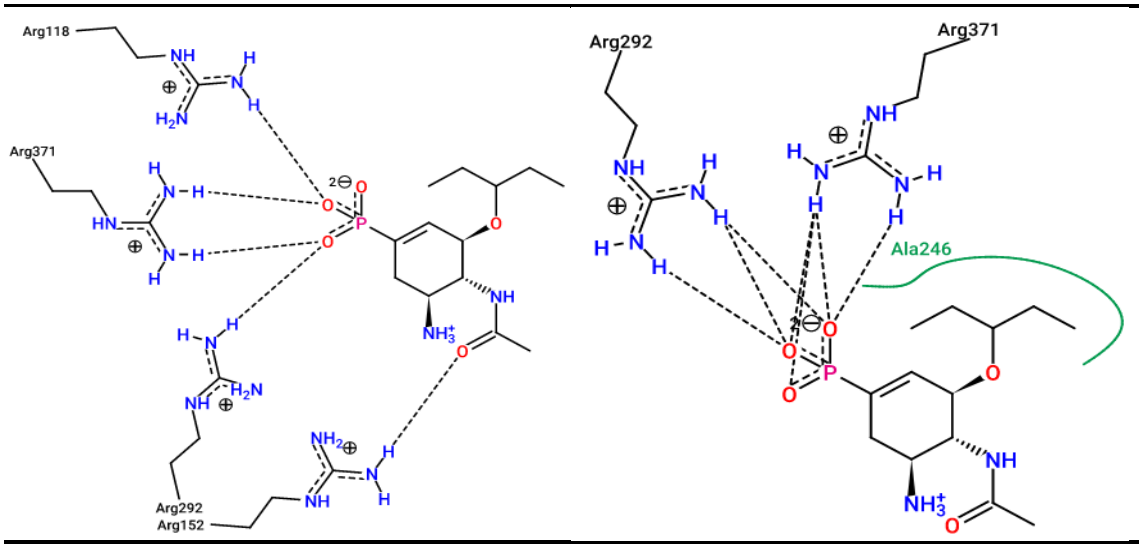
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.122 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,223 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.123'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD en düşük enerjili konformasyonu anında büyük konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 gibi katalitik bölge amino asitlerinin konformasyonlarına etki ettiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.124'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 aminoasidinin -NHAc grubu ile etkileşimde olmadığı görülmektedir.



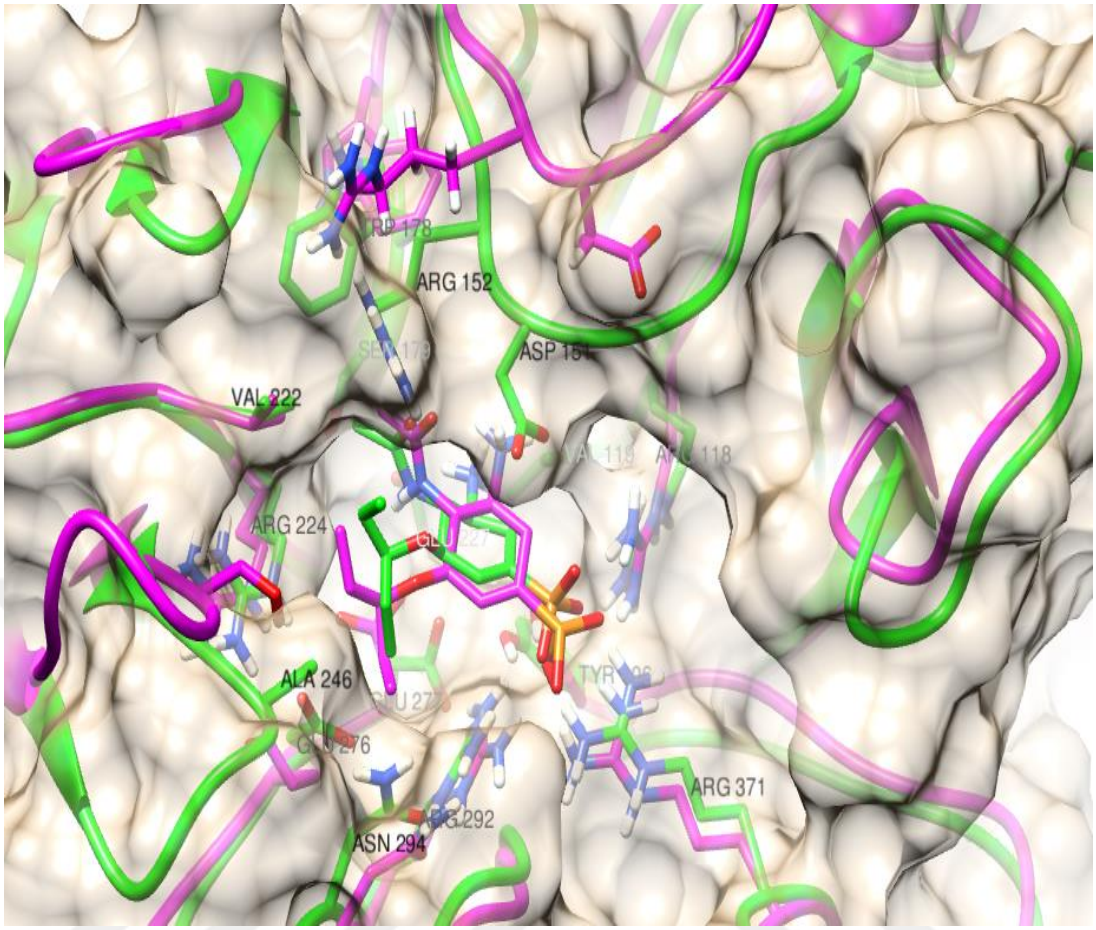
Şekil 4.123 $4GZQ_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,223 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



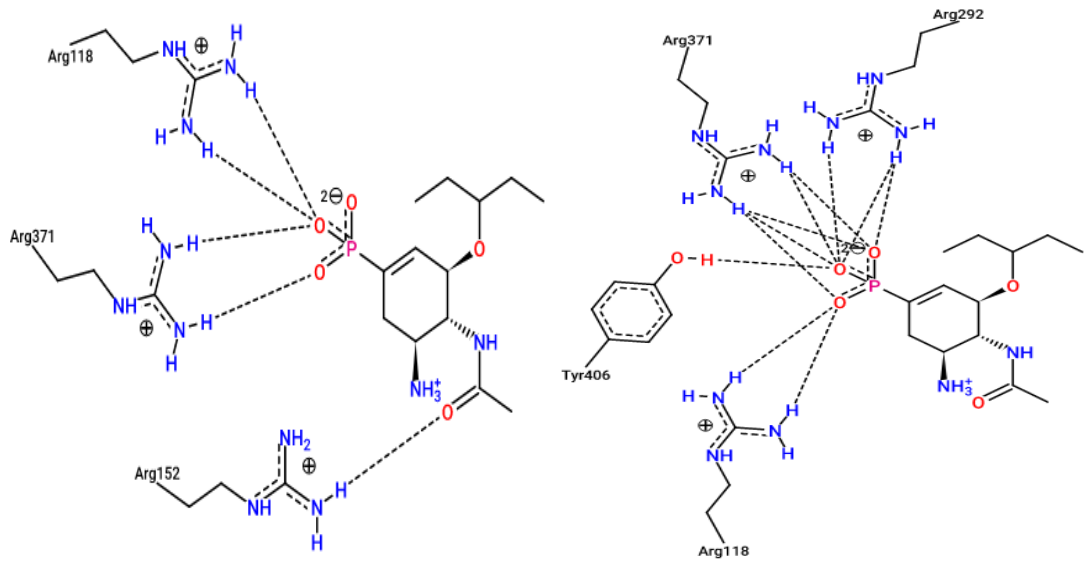
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.124 4GZQ$_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

3TIA$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birine ait konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,151 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.125'te gösterilmiştir. Şekilde 3TIA$_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD en düşük enerjili konformasyon oluştuğu anda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Asp151 amino asidinin ve Arg152 konformasyonunun oldukça değiştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.126'da verilmiştir. Şekile göre MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -PO_3^{2-} grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg292 ve Tyr406 artıklarının ise -PO_3^{2-} ile hidrojen bağı etkileşimi yaptığı, 150 ilmeğin oyuktan dışa doğru yerdeğiştirmesiyle Arg152 amino asit artığının -NHAc grubuile etkileşiminin oluşmadığı görülmektedir.



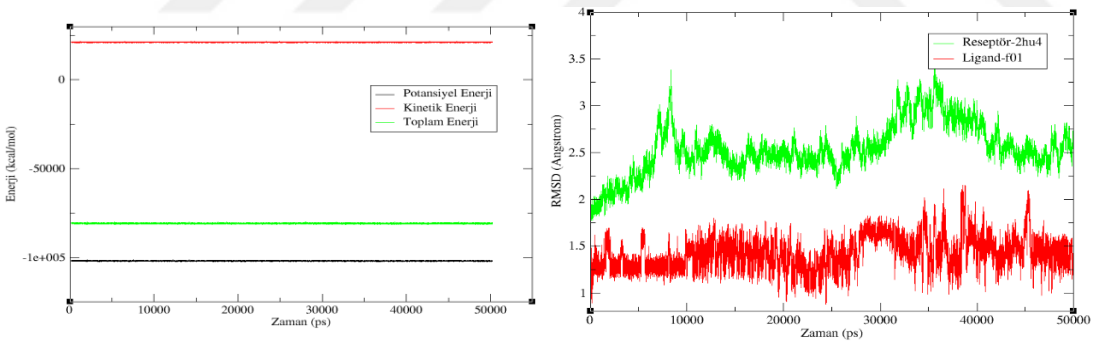
Şekil 4.125 3TIA$_{MT}$ proteinine vo1 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,151 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



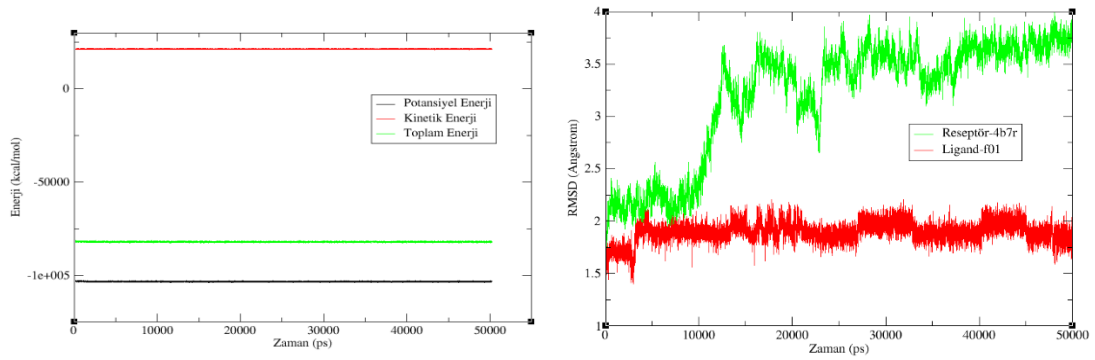
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.126 3TIA$_{MT}$ reseptörü ve vo1 ligandının etkileşimleri

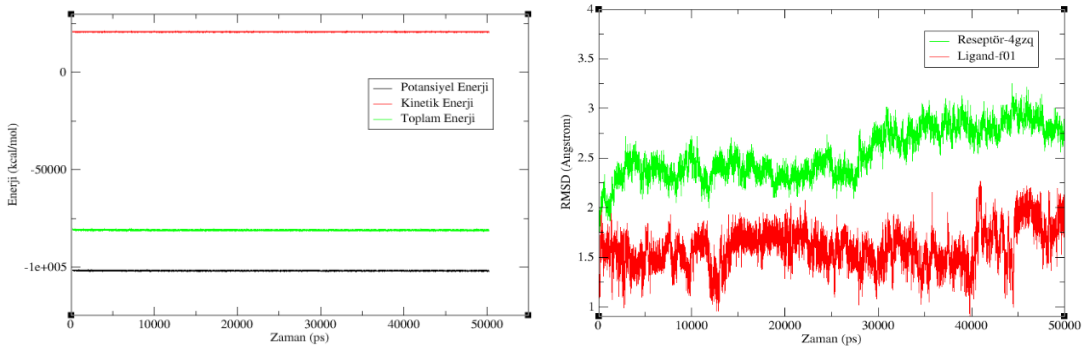
$2HU4_{WT}$ proteinine, f01 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.127-4.130'da verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.127'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği 2,5 Å civarına indiği görülmektedir. f01 ligandı RMSD değerinin ise genelde durağan olduğuı görülmektedir. Şekil 4.128'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin yükseldiği sonra 3,8 Å seviyesinde durağanlaştığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 1,8 Å seviyesinde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı olduğunu göstermektedir. Şekil 4.129'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra tekrar yükseldiği ve durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1,8 Å seviyesinde durağan seyrettiği görülüyor. Şekil 4.130'da RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 1,8 Å seviyesinde durağanlığa ulaştığı görülüyor.



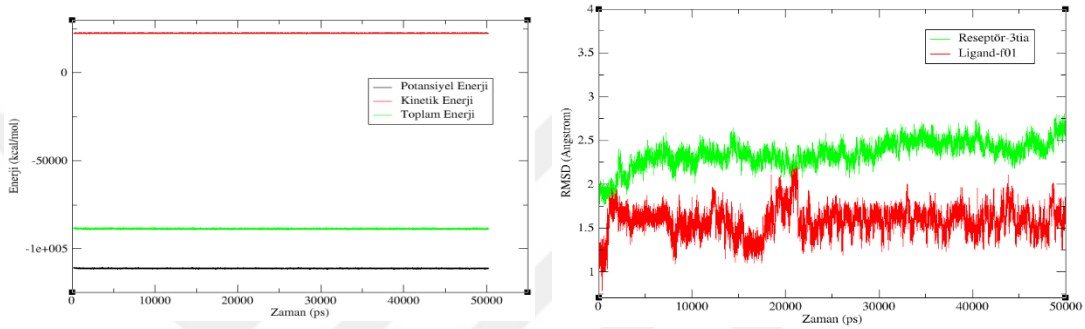
Şekil 4.127 $2HU4_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.128 $4B7R_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi.



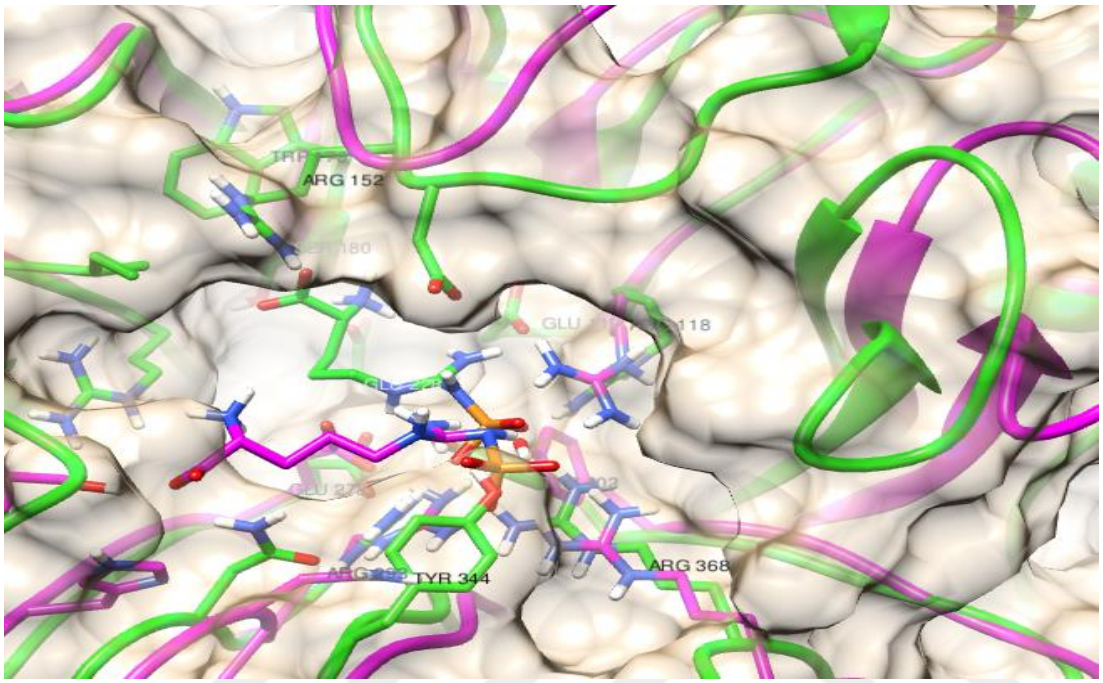
Şekil 4.129 $4GZQ_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



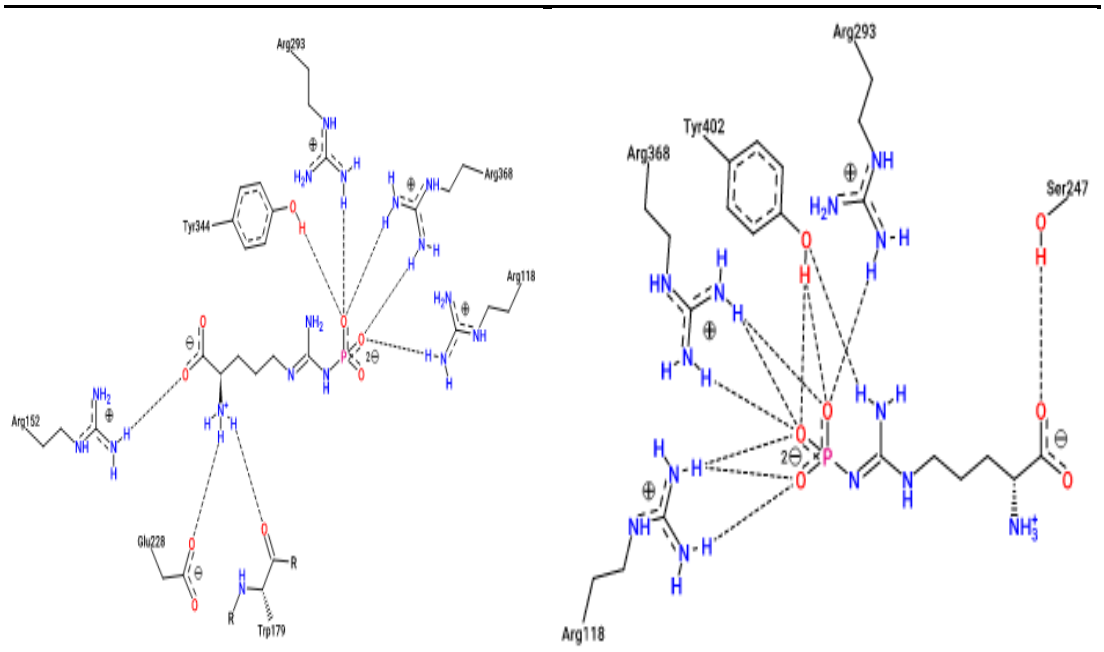
Şekil 4.130 $3TIA_{WT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,252 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.131'de gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda oyuğu saran ilmeklerde konformasyonel olarak değişimler olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu biraz değiştirdiği, f01 ligandının ise özellikle $-PO_3^{2-}$ grubunun konumu ve konformasyonun pek değişmediği ancak ligandın öteki ucunun oyuktan dışa doğru yeniden konumlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.132'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Trp179 ve Glu228 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152'nın guanidyum fonksiyonunun ise ligandın $-COO^-$ grubu ile hidrojen

bağı ile etkileştiği ve bu etkileşimlerden Arg152, Glu228 ve Trp179 artıklarının ligandla olan etkileşimleri dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu görülmektedir.



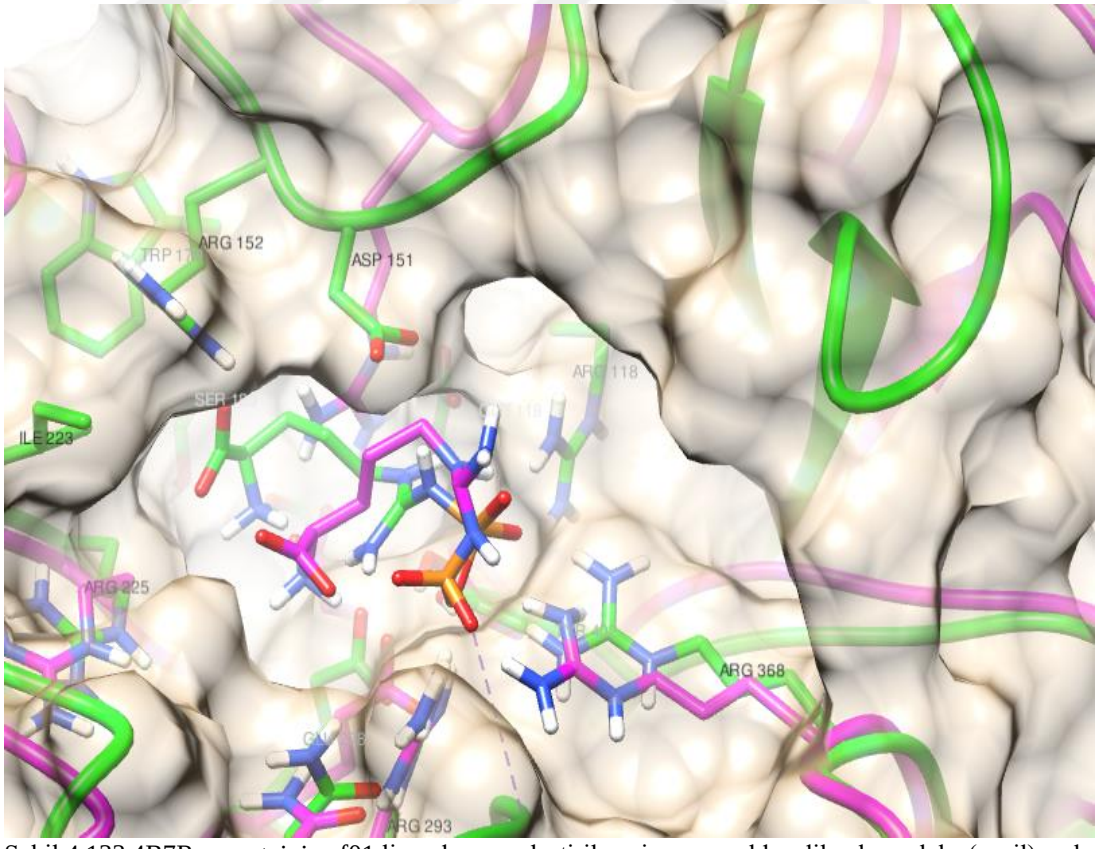
Şekil 4.131 2HU4WT proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,252 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



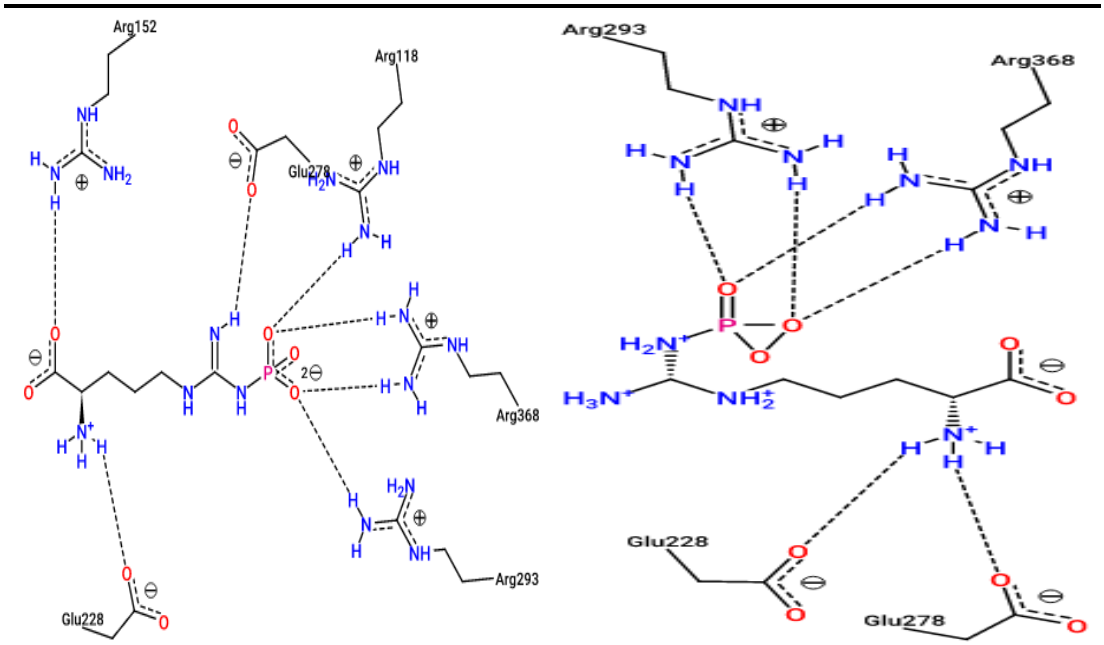
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.132 2HU4$_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekі başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,182 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.133'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sürecinde oluşan en düşük enerjili konformasyon sırasında başlangıç anına göre oldukça değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru esnediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.134'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu228 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın $-COO^-$ grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg118 artığının $-PO_3^{-2}$ grubu ile etkileşimde olmadığı, Glu228 ve Glu278 artıklarının $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimde olduğu görülüyor.



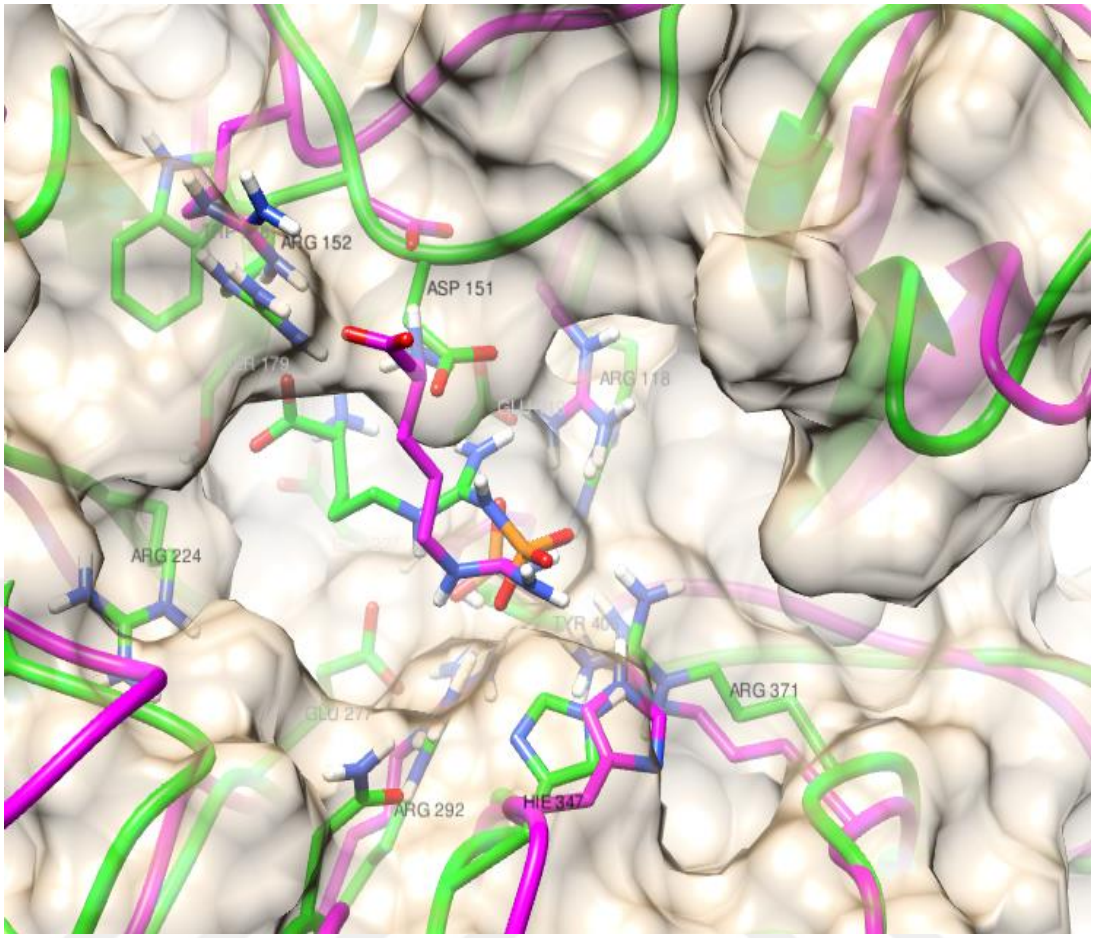
Şekil 4.133 $4B7R_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,182 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



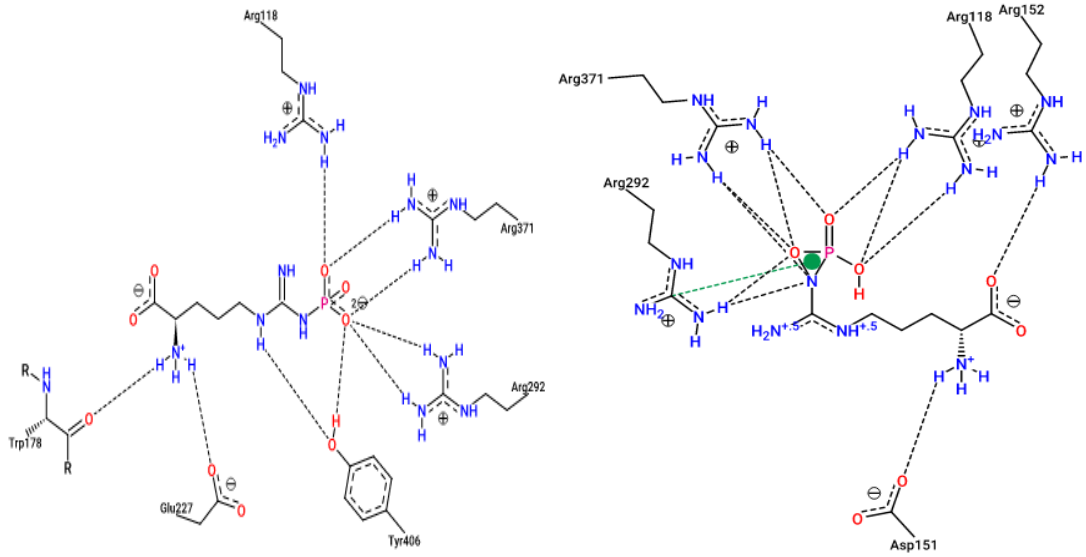
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.134 $4B7R_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,360 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.135'te gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sırasında en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuk etrafındaki ilmeklerde konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Ligandın ise -PO_3^{2-} grubuna bağlı ucunun konumunu koruduğu –COO^- ucunun ise yeniden konumlanarak 150 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.136'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -PO_3^{-2} grubuyla tuz köprüsü, Glu227 ve Trp178 artığının ligandın -NH_3^+ grubuyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 artığının -NH_3^+ tuz köprüsü, Arg152 amino asidinin -COO^- grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



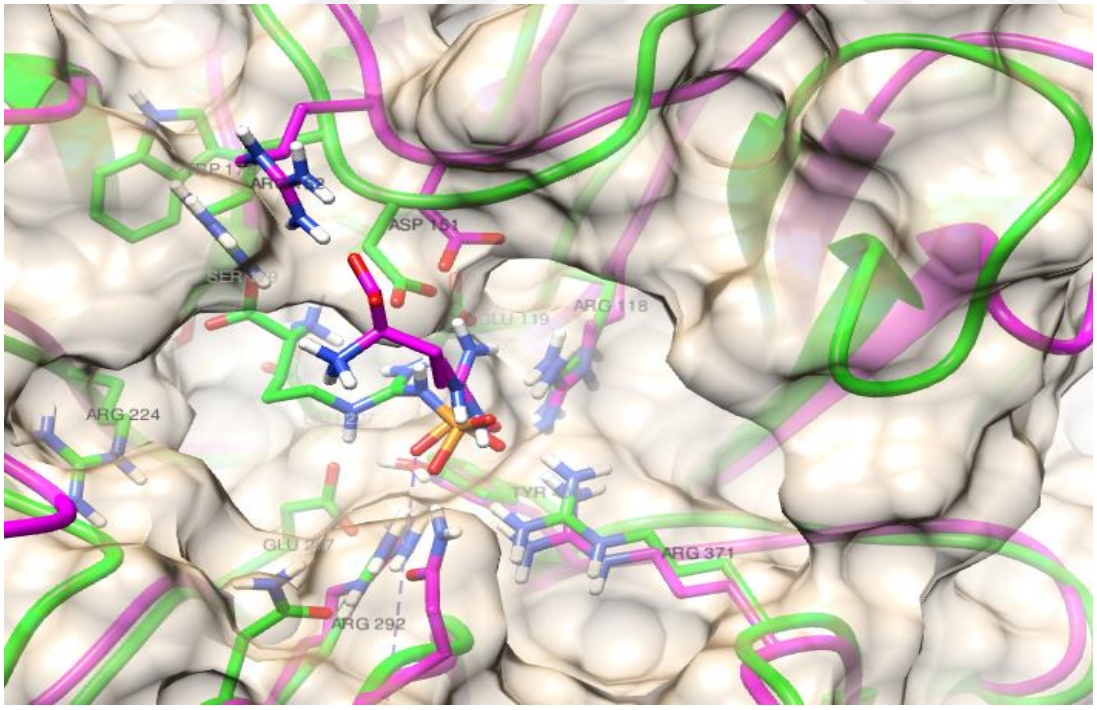
Şekil 4.135 $4GZQ_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,360 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



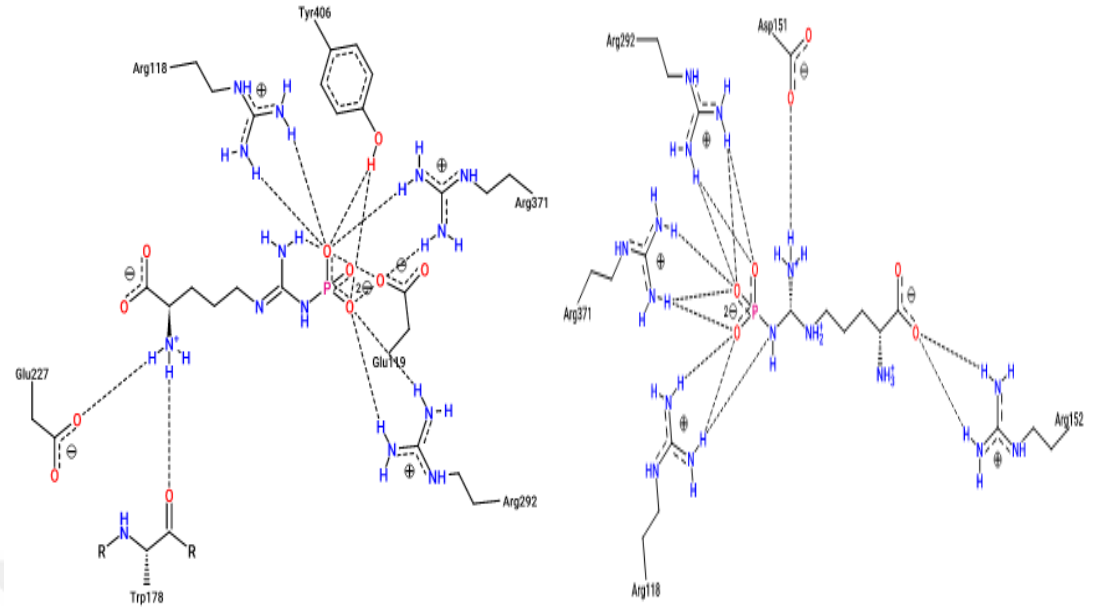
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.136 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,181 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.137'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 amino asidinin konformasyonunun pek değişmediği görülmektedir. Ligandın ise $-PO_3^{2-}$ grubuna bağlı ucunun konumunu koruduğu $–COO^-$ ucunun ise yeniden konumlanarak 150 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.138'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292, Tyr406 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu227 ve Trp178 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 artığının guanidyum grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asidinin $-COO^-$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



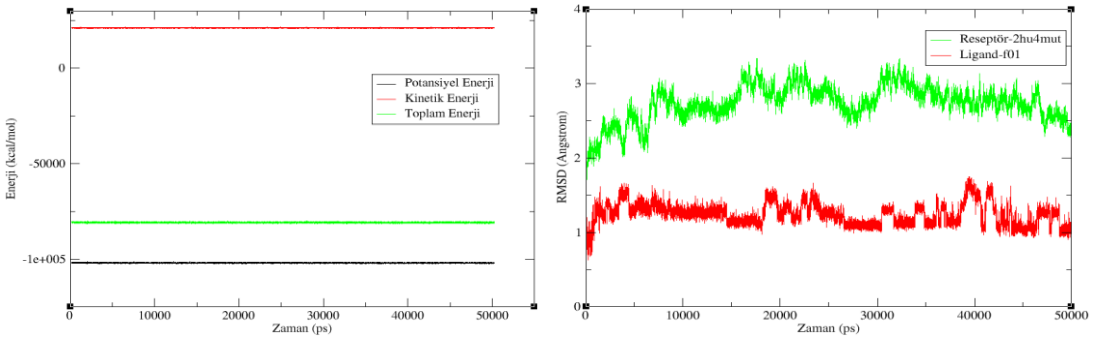
Şekil 4.137 $3TIA_{WT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,181 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



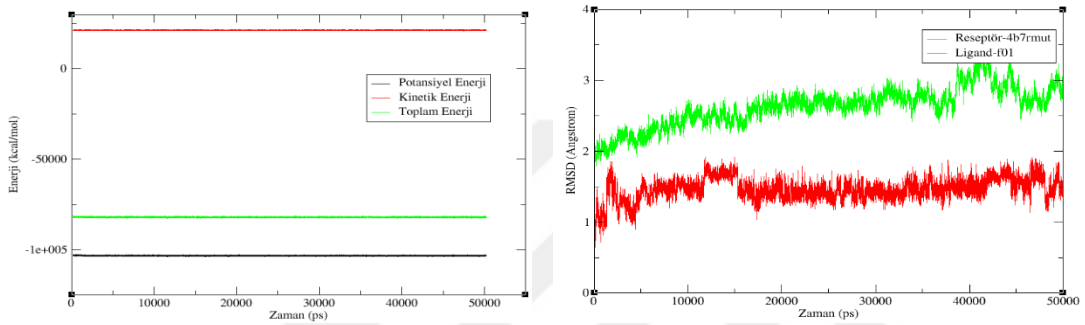
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.138 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

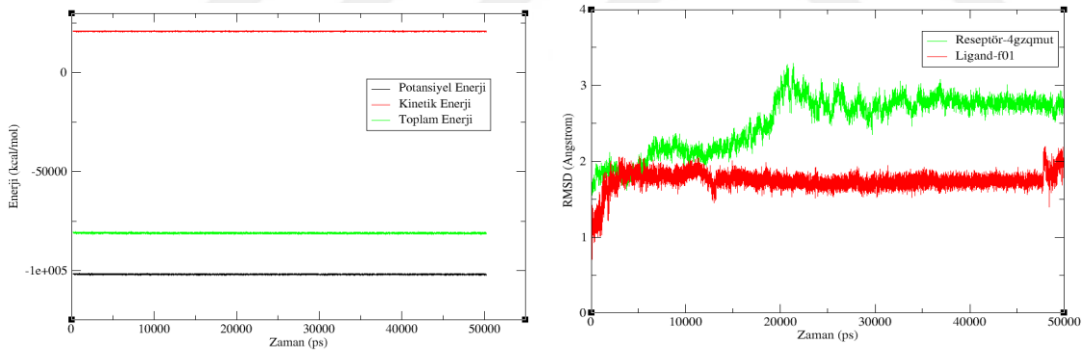
$2HU4_{MT}$ proteinine, f01 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.139-4.142'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.139'da RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra 2,5 Å civarına indiği görülmektedir. f01 ligandı RMSD değerinin ise önce yükseldiği genelde durağan olduğu görülmektedir. Şekil 4.140'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin yükseldiği sonra 3 Å seviyesinde durağanlaştığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise önce yükseldiği sonra 1,5 Å seviyesinde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı olduğunu göstermektedir. Şekil 4.141'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1,8 Å seviyesinde durağan seyrettiği görülüyor. Şekil 4.142'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 1,8 Å seviyesinde durağanlığa ulaştığı görülüyor.



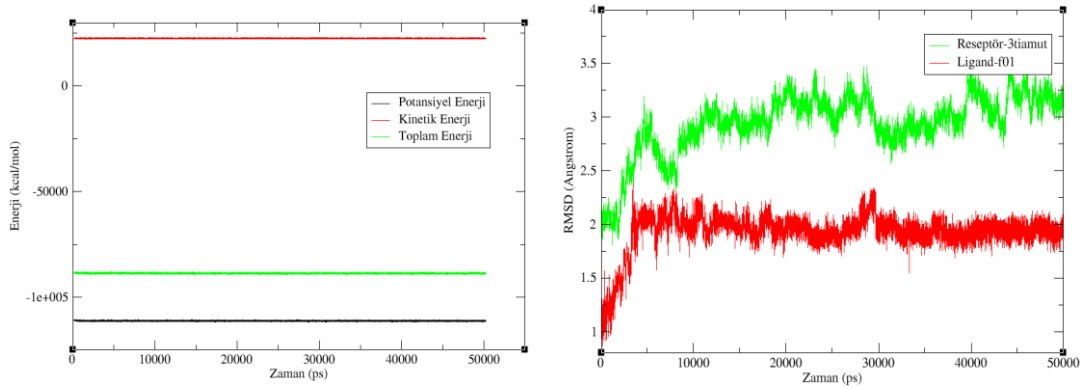
Şekil 4.139 2HU4$_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.140 4B7R$_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

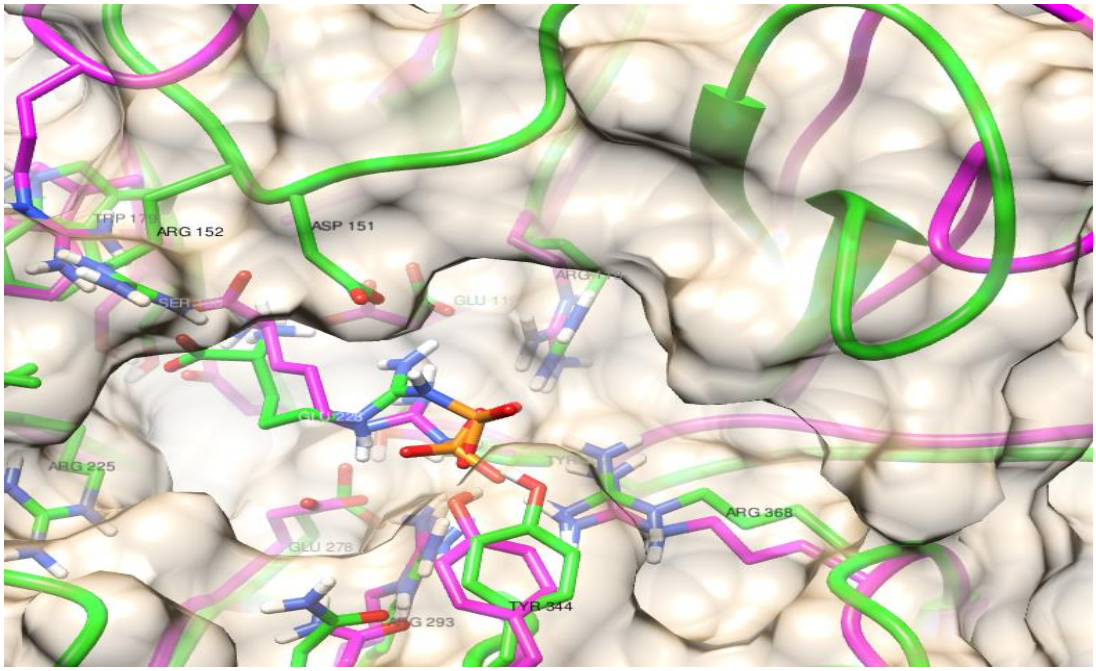


Şekil 4.141 4GZQ$_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

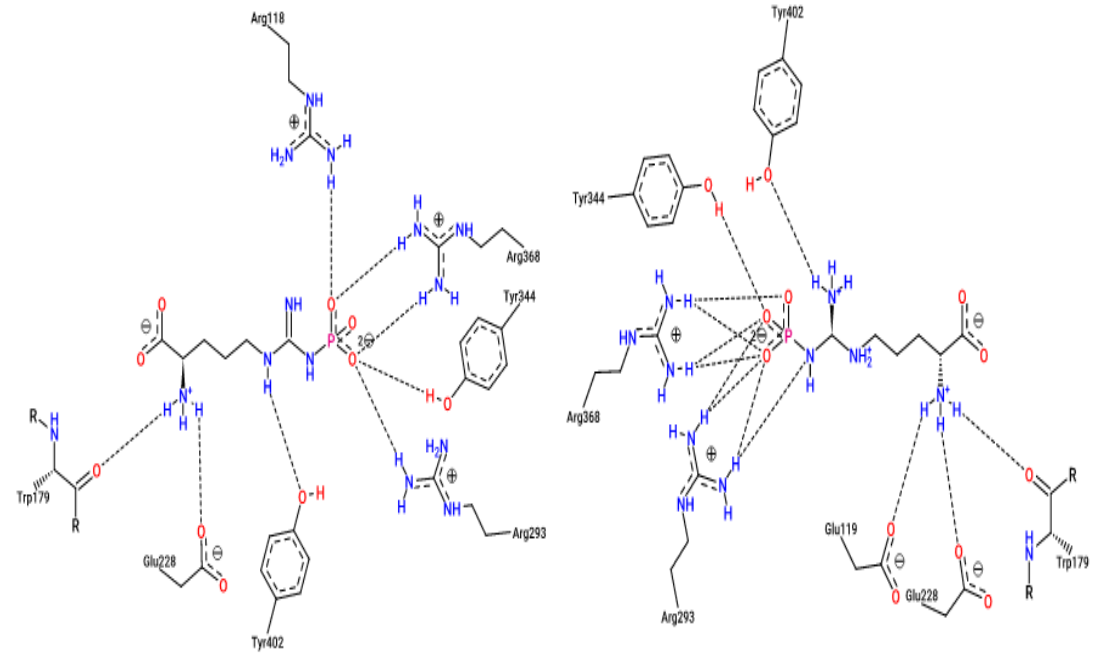


Şekil 4.142 3TIA$_{MT}$ proteinine f01 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,110 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.143'te gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün MD sırasında en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda oyuğu saran ilmeklerde konformasyonel olarak değişimler olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın da konumu ve konformasyonun pek görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.144'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da var olduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Trp179 ve Glu228 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Tyr402 amino asit artığının, guanidyum grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve bu etkileşimlerden Arg118 artıklarının ligandla olan etkileşimleri dışındaki etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da bulunduğunu görülmektedir.



Şekil 4.143 $2HU4_{MT}$ proteinine F01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,110 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

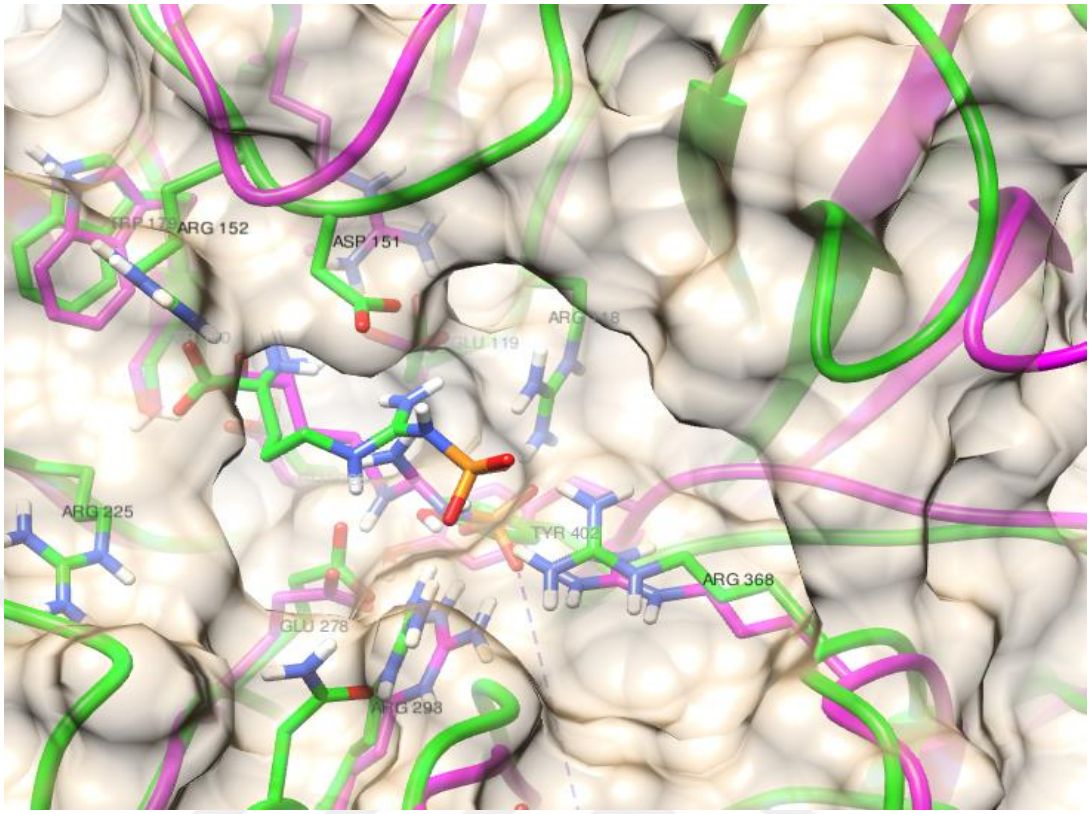


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

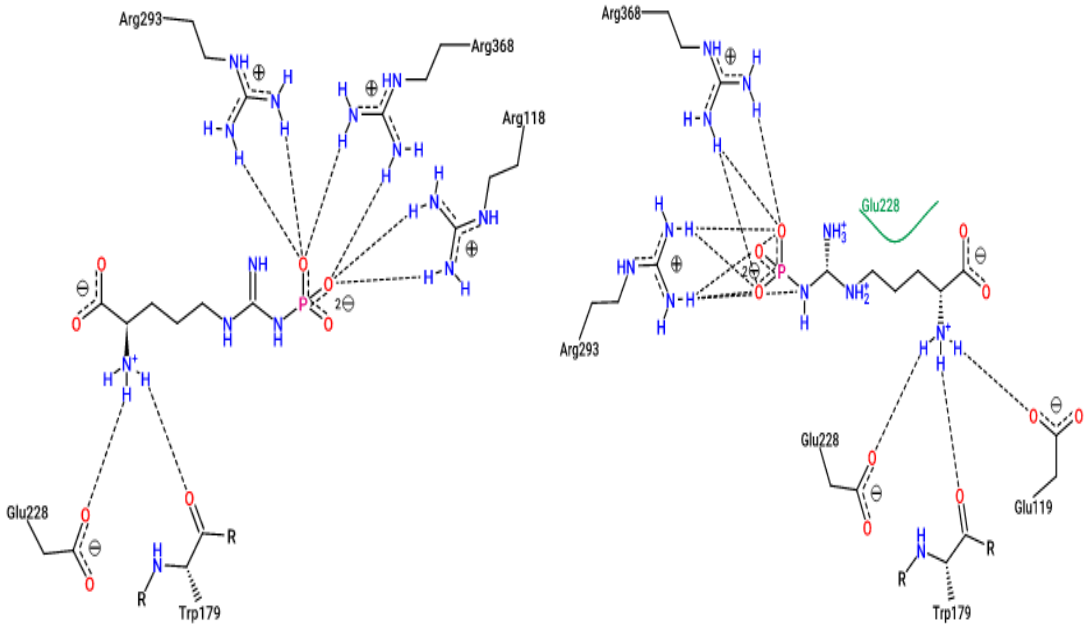
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.144 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,182 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.145'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sürecinde oluşan en düşük enerjili konformasyon sırasında başlangıç anına göre oldukça değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru esnediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.146'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{-2}$ grubuyla tuz köprüsü, Trp179 ve Glu228 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg118 artığının $-PO_3^{-2}$ grubu ile etkileşimde olmadığı, Glu228 ve Trp179 artıklarının yanısıra Glu119 artığının da $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülüyor.



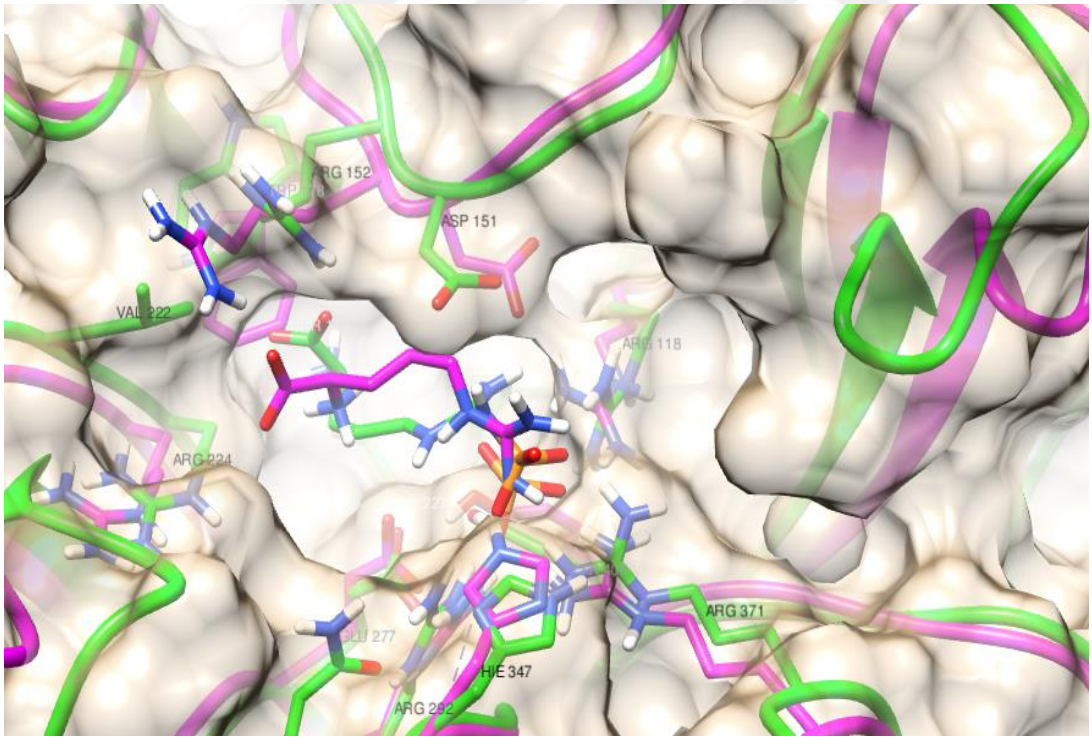
Şekil 4.145 4B7R$_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,182 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



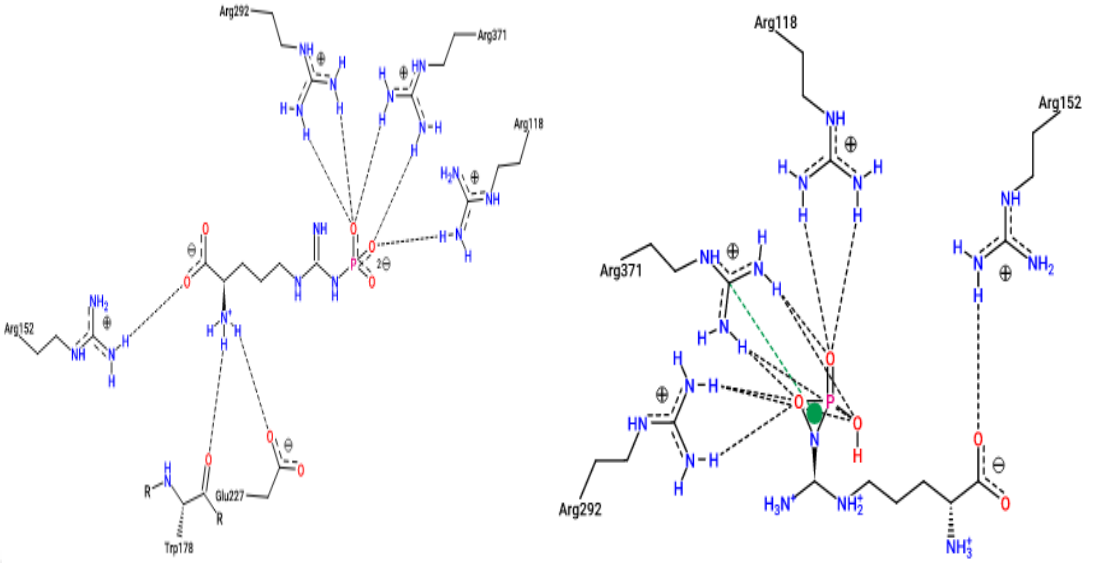
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili onformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.146 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekssteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,250 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.147'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sırasında en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuk etrafındaki ilmeklerde pek fazla konformasyonel değişim olmadığı görülmektedir. Ligandın ise $-PO_3^{2-}$ grubuna bağlı ucunun konumunu koruduğu $–COO^-$ ucunun da konumunun biraz değiştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.148'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu227 ve Trp178 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü etkileşiminin olduğu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda $-NH_3^+$ grubuyla başlangıç anında var olan etkileşimlerin olmadığı görülmektedir.



Şekil 4.147 $4GZQ_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,250 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).

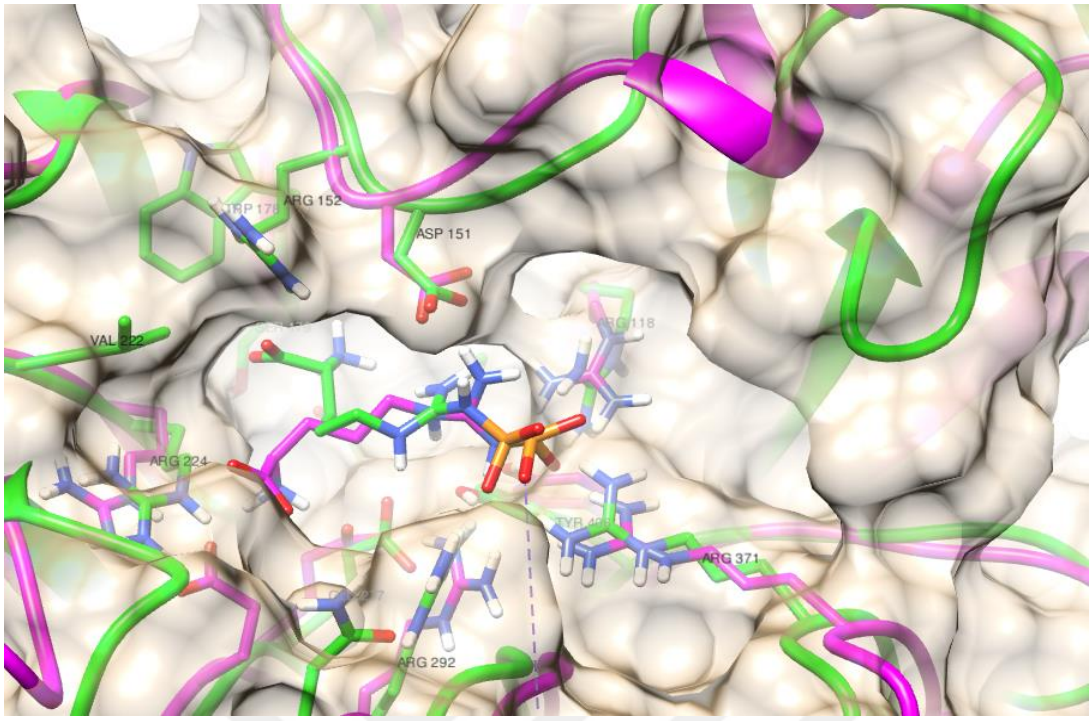


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

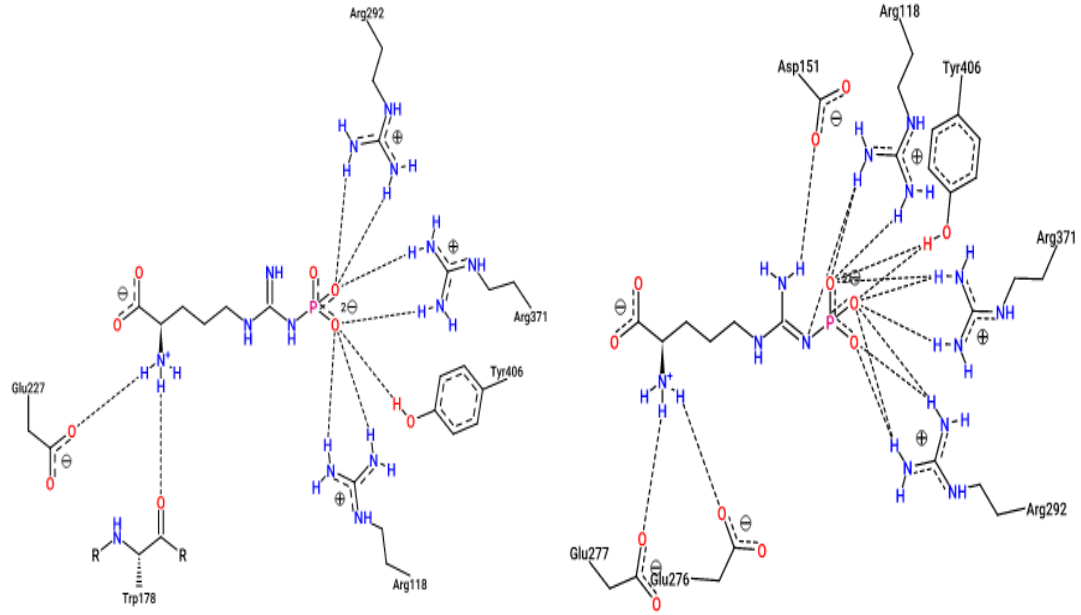
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.148 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,194 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.149'da gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeğindeki Arg152 aminoasidinin konformasyonunun pek değişmediği görülmektedir. Ligandın ise $-PO_3^{2-}$ grubuna bağlı ucunun konumunu koruduğu $-COO^-$ ucunun ise yeniden konumlanarak 150 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.150'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292, Tyr406 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-PO_3^{2-}$ grubuyla tuz köprüsü, Glu227 ve Trp178 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda ise Asp151 artığının guanidyum grubuyla, Glu276 ve Glu277 artıklarının $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.149 3TIA$_{MT}$ proteinine f01 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,194 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



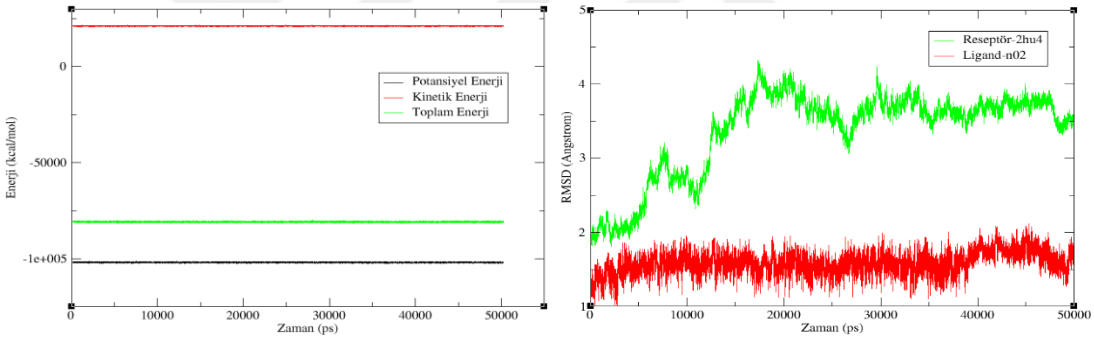
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

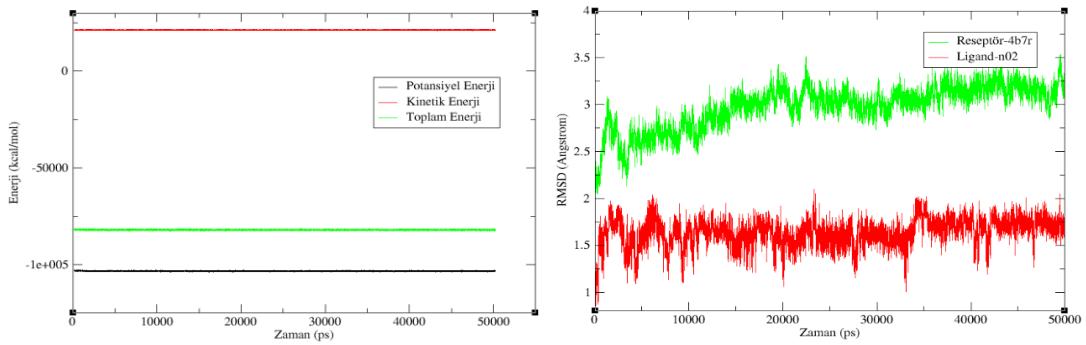
Şekil 4.150 3TIA$_{MT}$ reseptörü ve f01 ligandının etkileşimleri

2HU4$_{WT}$ proteinine, n02 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.151-4.154'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale

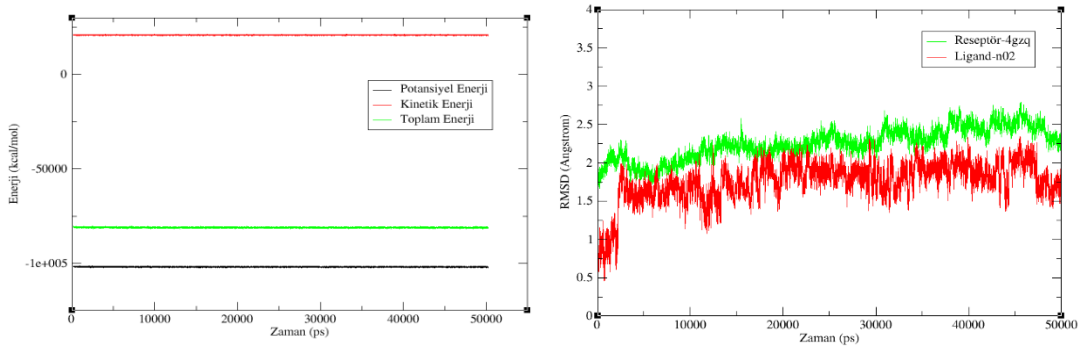
geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.151'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra 3,5 Å civarına indiği görülmektedir. n02 ligandı RMSD değerinin ise genelde 1 Å seviyesinde durağan olduğu görülmektedir. Şekil 4.152'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin yükseldiği sonra 3 Å seviyesinde durağanlaştığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 1,5 Å seviyesinde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı olduğunu göstermektedir. Şekil 4.153'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1,8 Å seviyesinde durağan seyrettiği görülüyor. Şekil 4.154'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin 1,8 Å seviyesinde durağanlığa ulaştığı görülüyor.



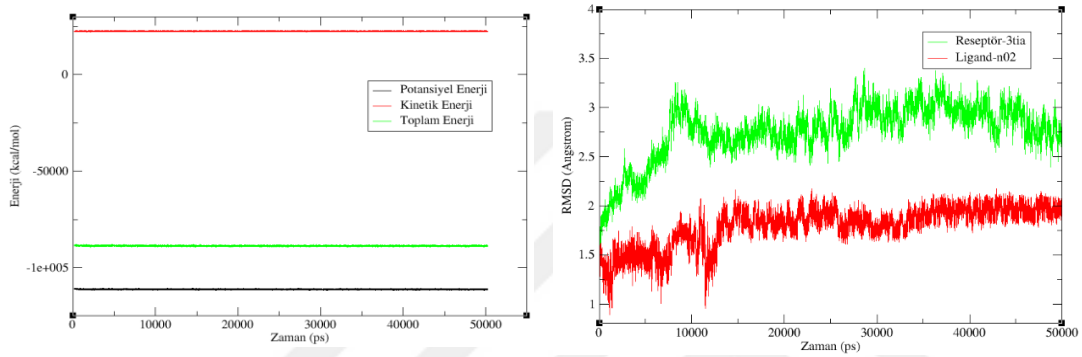
Şekil 4.151 $2HU4_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.152 $4B7R_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



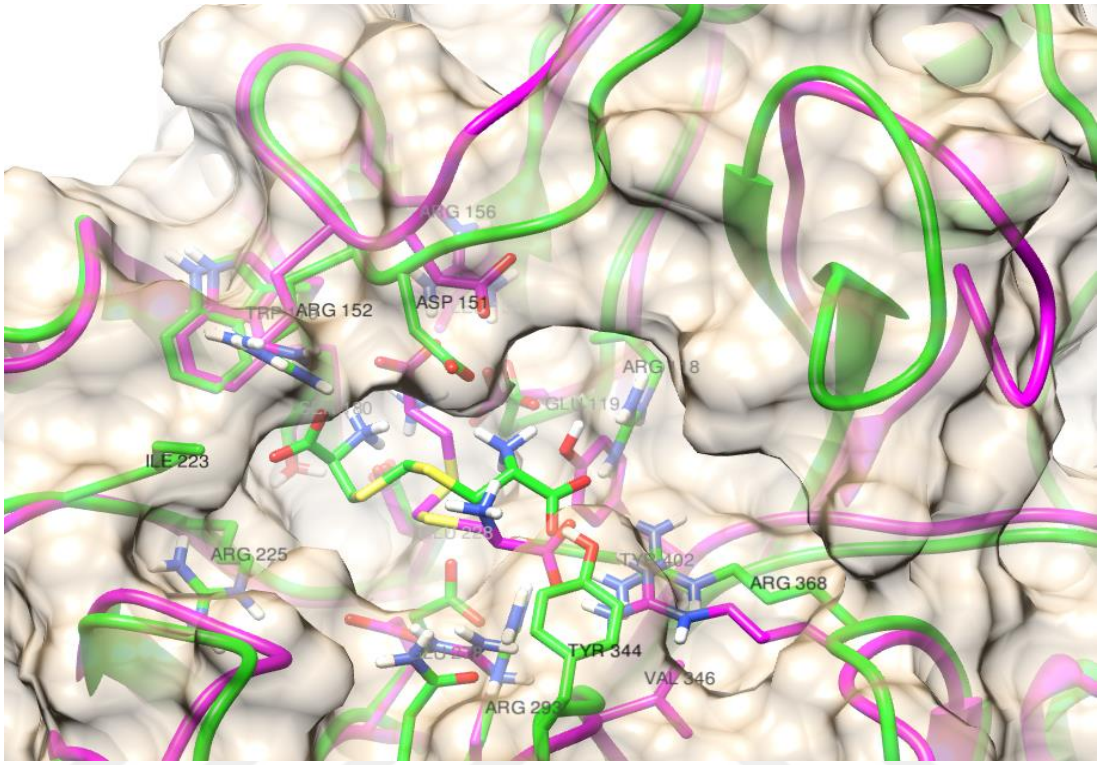
Şekil 4.153 4GZQ$_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



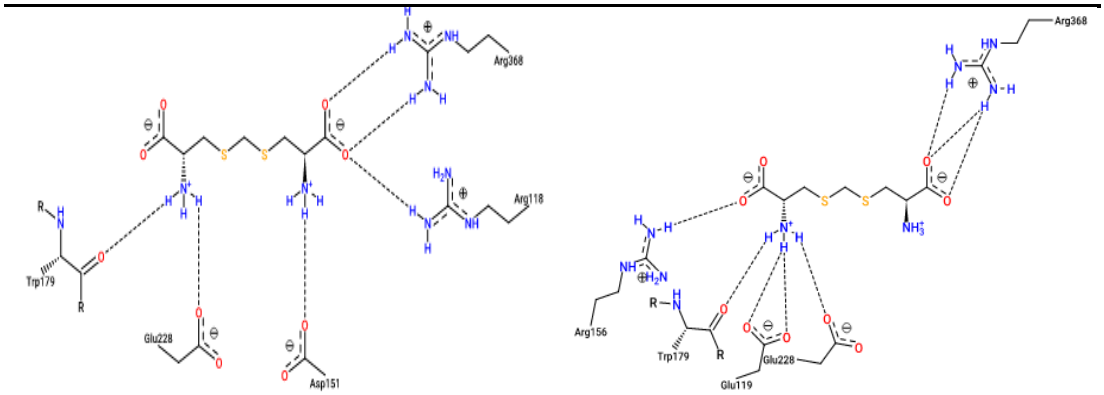
Şekil 4.154 3TIA$_{WT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,951 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.155'te gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda oyuğu saran ilmeklerde az da olsa konformasyonel olarak değişimler olduğu görülmektedir. Fakat bu konformasyon değişiminin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu biraz değiştirdiği, n02 ligandının ise Arg368 artığıyla etkileşimde olan -COO^- grubunun konumu ve konformasyonun pek değişmediği ancak ligandın öteki ucunun oyuktan içe doğru yeniden konumlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.156'da verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında Arg118, Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 amino asit artıklarının ligandın -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü, Glu228 ve Trp179 artıklarının ligandın diğer -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü etkileşimleri olduğu MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks

konformasyonunda ise ligandın oyukta daha derinde bulunan Arg156, Glu119 artıklarıyla etkileşimde bulunduğunu görülmektedir.



Şekil 4.155 2HU4$_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,951 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).

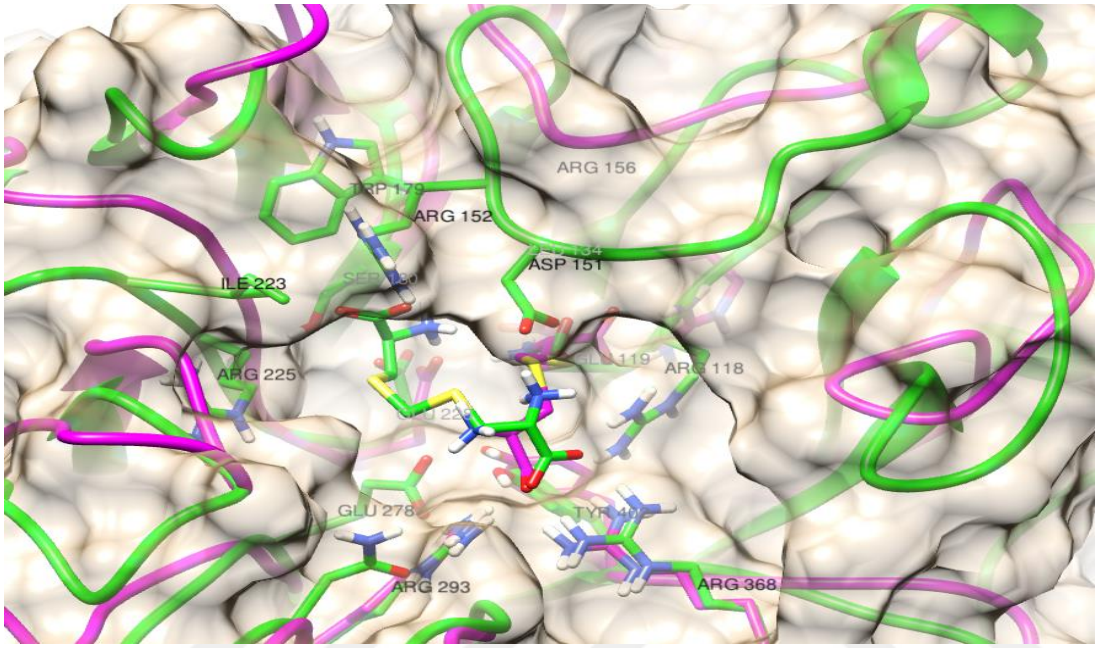


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.156 2HU4$_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

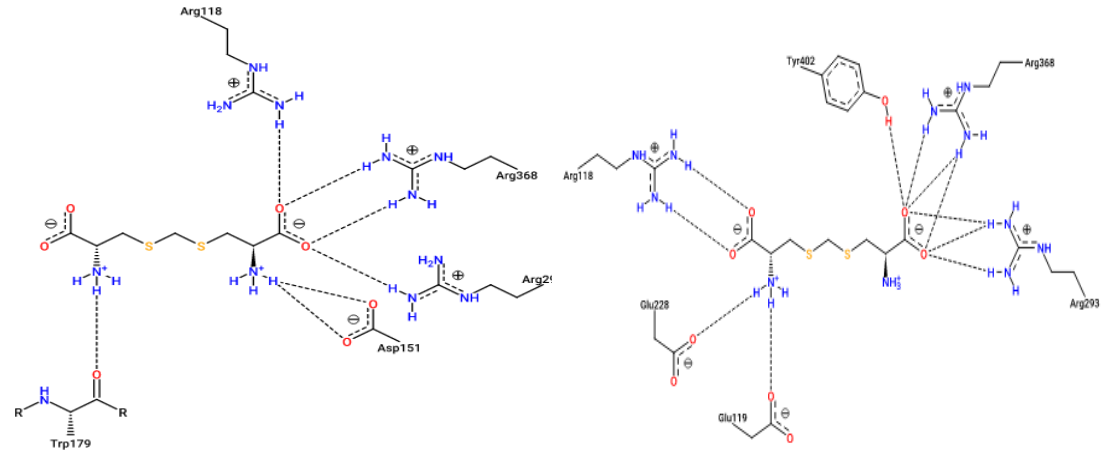
4B7R$_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekı başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD

değeri 1,173 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.157'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sürecinde oluşan en düşük enerjili konformasyon sırasında başlangıç anına göre oldukça değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru esnediği görülmektedir.



Şekil 4.157 4B7R$_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,173 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

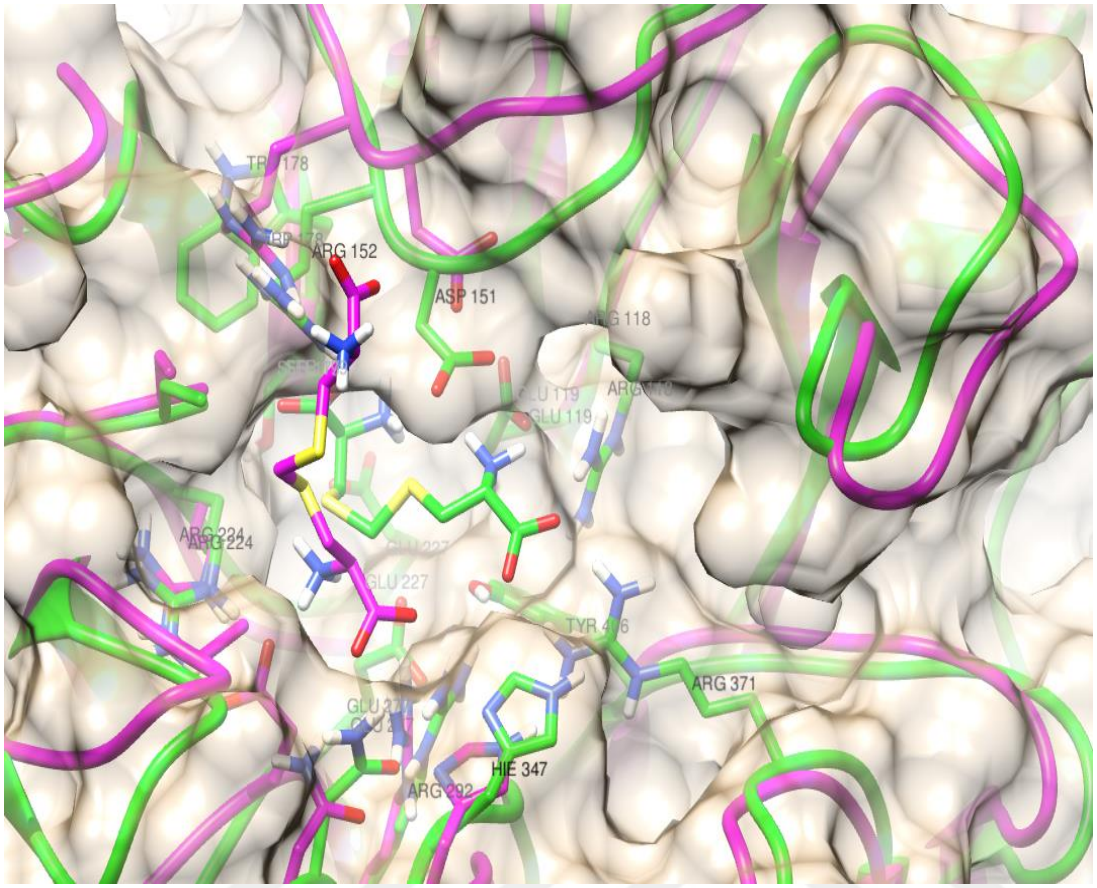
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.158'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO- grubuyla tuz köprüsü, Asp151 amino asit artıklarının ligandın -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü, Trp179 artığının ise ligandın diğer -NH_3^+ grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg118 artığının diğer -COO^- grubu ile etkileşimde olduğu, Glu228 ve Glu119 artıklarının -NH_3^+ grubu ile etkileşimde olduğu görülüyor.



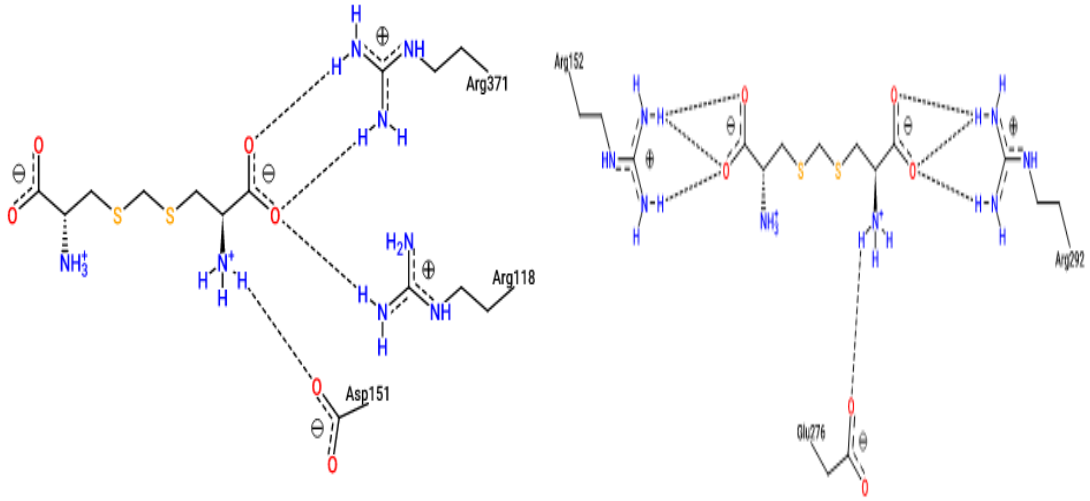
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.158 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,203 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.159'da gösterilmiştir. Şekilde 4GZQ$_{WT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sırasında en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuk etrafındaki ilmeklerde konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Ligandın yeniden konumlanarak bir ucuyla 150 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.160'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -COO-grubuyla, Asp151 artığının -NH_3^+ grubuyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda, Arg152 amino asidinin -COO^- grubu ile etkileşimde olduğu, Arg292 artığının -COO^- grubuyla ve Glu276 artığının -NH_3^+ grubuyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



Şekil 4.159 $4GZQ_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,203 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

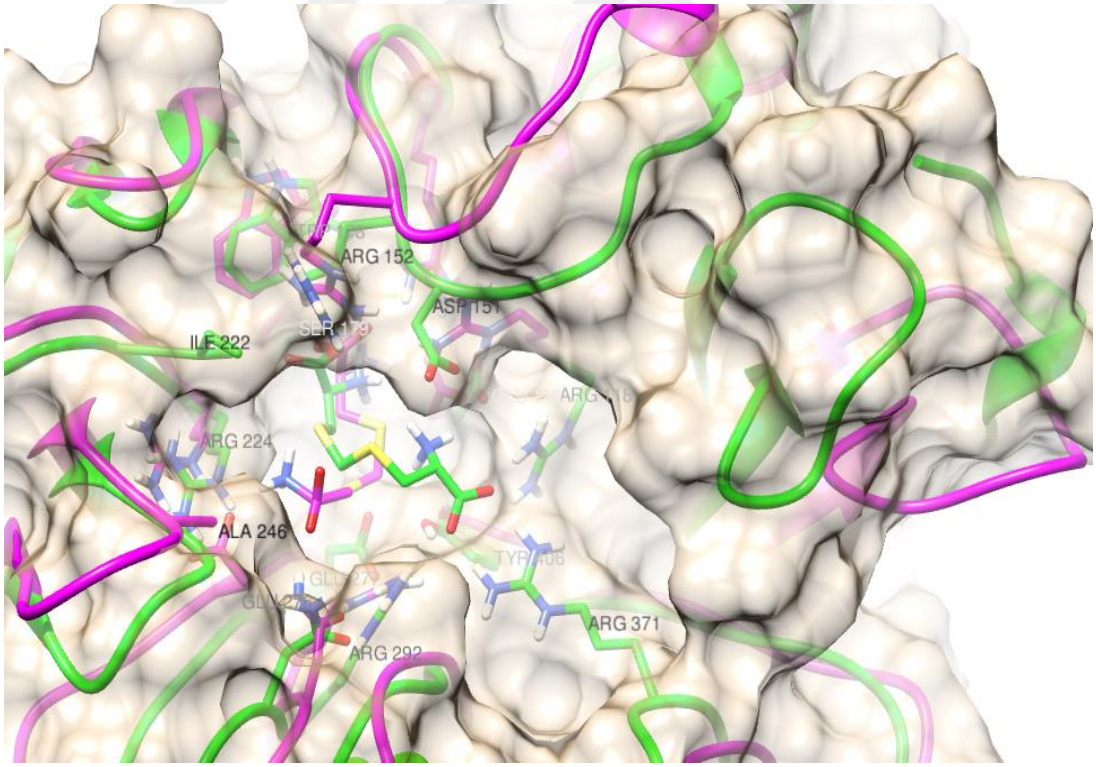


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

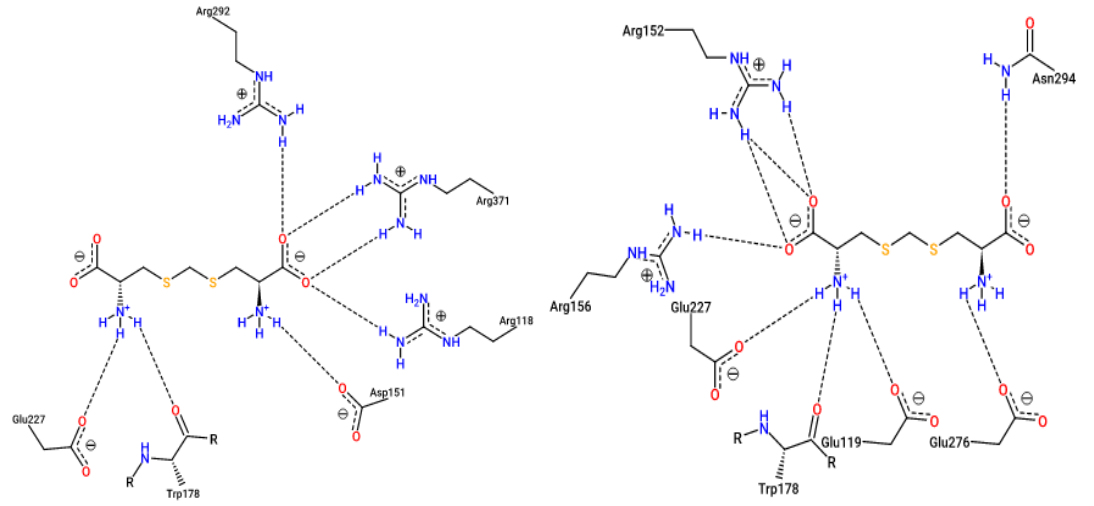
Şekil 4.160 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük

enerjili yapılarından birisine ait konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,240 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.161'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ve 430 ilmeklerinde oyuktan dışa doğru esnemenin olduğu görülmektedir. Ligandın ise yeniden konumlanarak 150 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.162'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, Asp151 artığının ve Glu227 ve Trp178 artıklarının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg152 ve Arg156 artıklarının ligandın $-COO^-$ grubu ile Glu227, Glu119 ve Trp178 ve Glu276 artığının $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



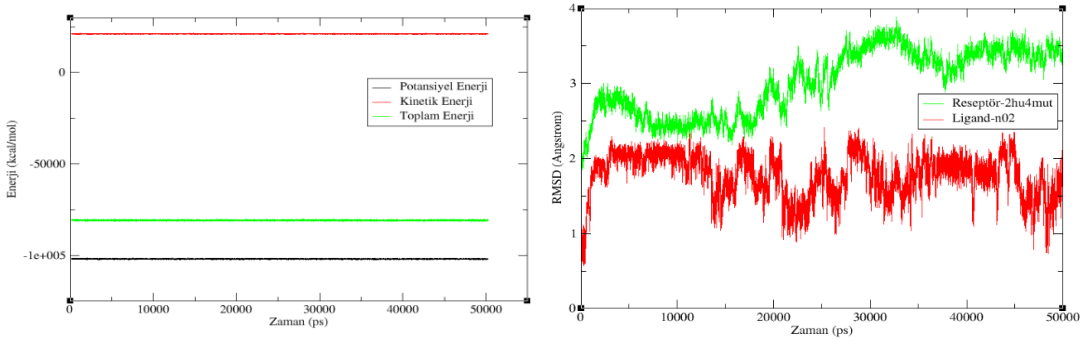
Şekil 4.161 $3TIA_{WT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,240 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



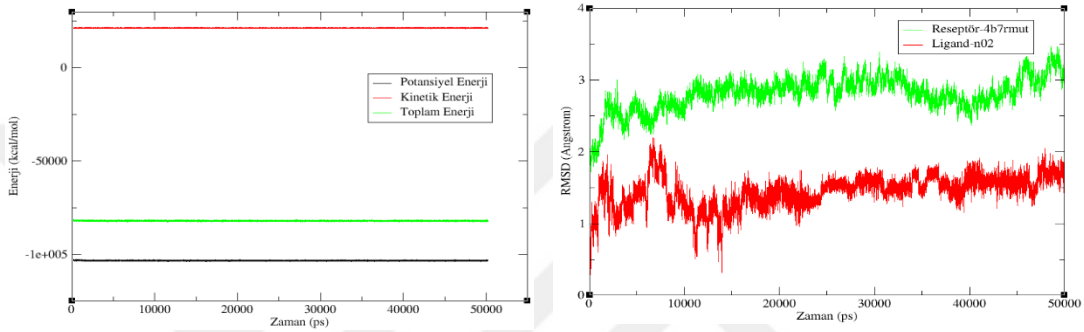
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.162 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

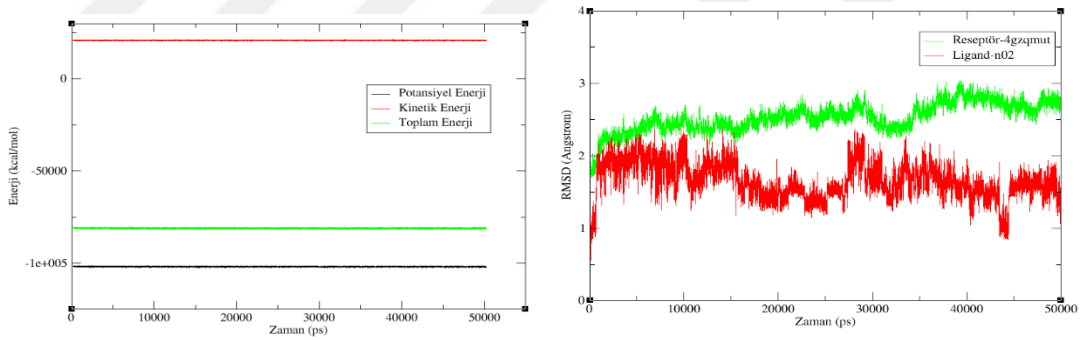
$2HU4_{MT}$ proteinine, n02 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.163-4.166'da verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.163'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra tekrar yükseldiği 3,5 Å civarında durağanlaştığı görülmektedir. n02 ligandı RMSD değerinin ise önce yükseldiği sonra inişli çıkışlı bir durağanlığı olduğu görülmektedir. Şekil 4.164'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin yükseldiği sonra 3,0 Å seviyesinde durağanlaştığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise önce yükseldiği sonra 2 Å seviyesinde inişli çıkışlı bir setir izlediği görülüyor. Şekil 4.165'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde 1,8 Å seviyesinde inişli çıkışlı seyrettiği görülüyor. Şekil 4.166'da RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin genelde durağan bir seyirde olduğu görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise önce yükseldiği sonra 1,8 Å seviyesinde durağan seyrettiği görülüyor.



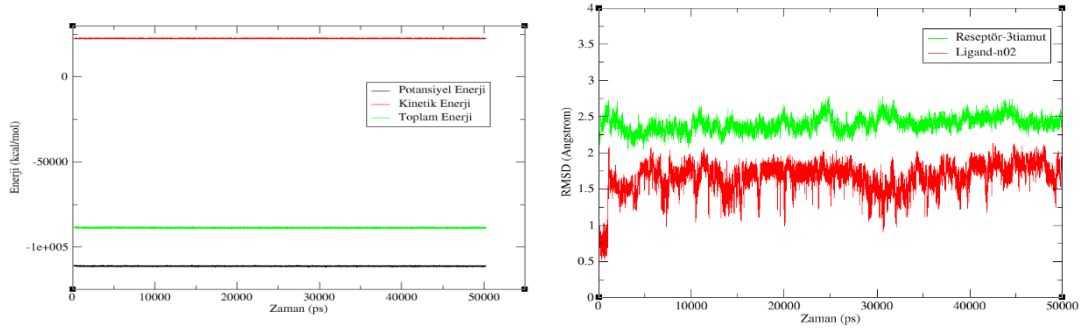
Şekil 4.163 2HU4$_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.164 4B7R$_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

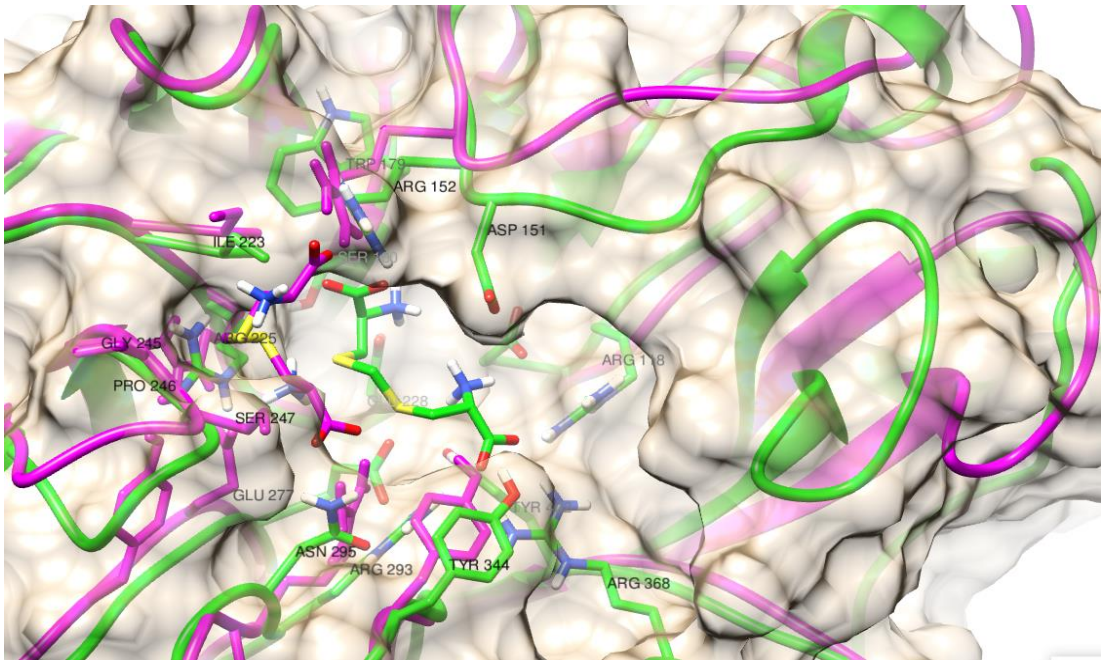


Şekil 4.165 4GZQ$_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

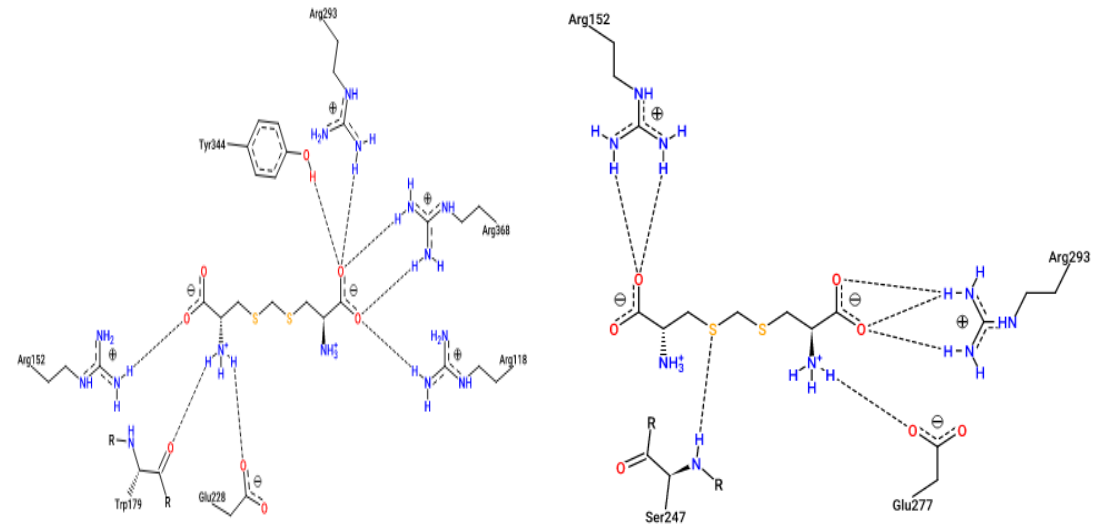


Şekil 4.166 3TIA$_{MT}$ proteinine n02 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,085 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.167'de gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün MD sırasında en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda oyuğu saran ilmeklerde konformasyonel olarak değişimler olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın oyuk içinde yeniden konumlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.168'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da var olduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın -COO-grubuyla tuz köprüsü, Trp179 ve Glu228 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asit artığının ligandın diğer ucundaki $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir. MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda ise Arg152 ve Arg293 artıklarının $-COO^-$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde iken, Glu277 artığının $-NH_3^+$ grubuyla etkileşimdedir.



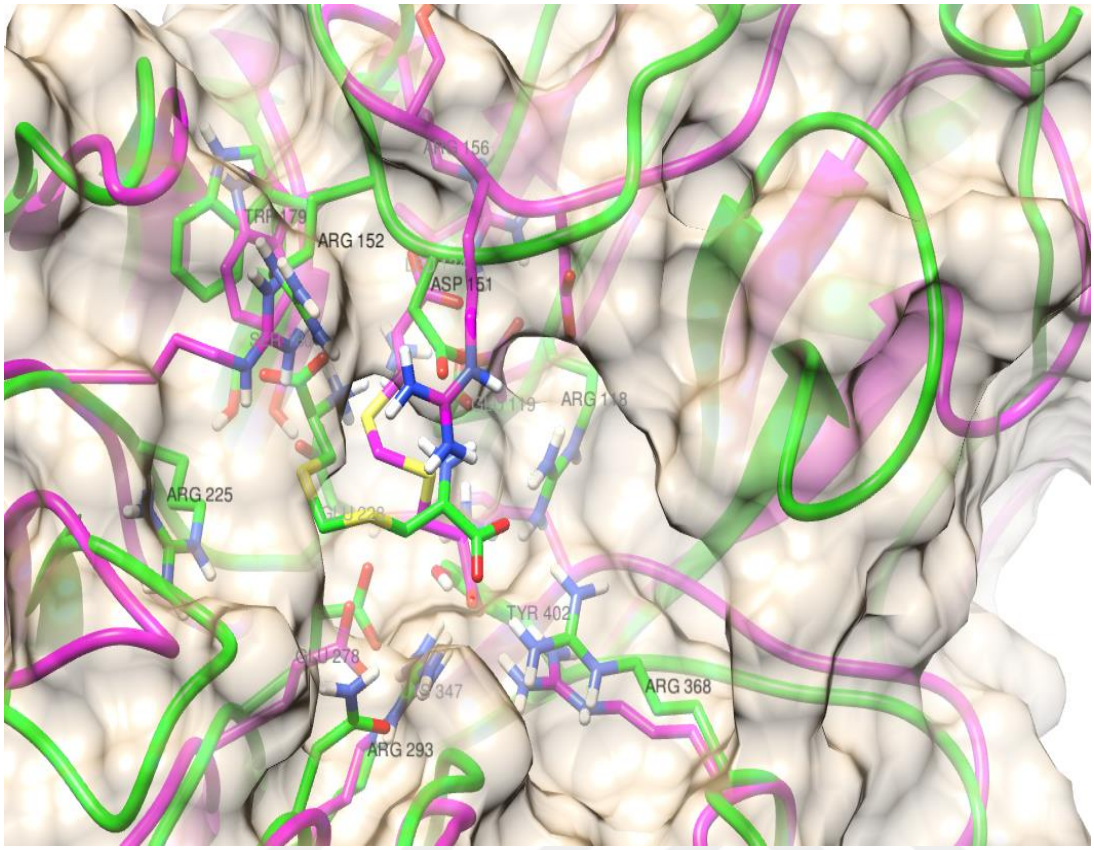
Şekil 4.167 $2HU4_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,085 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

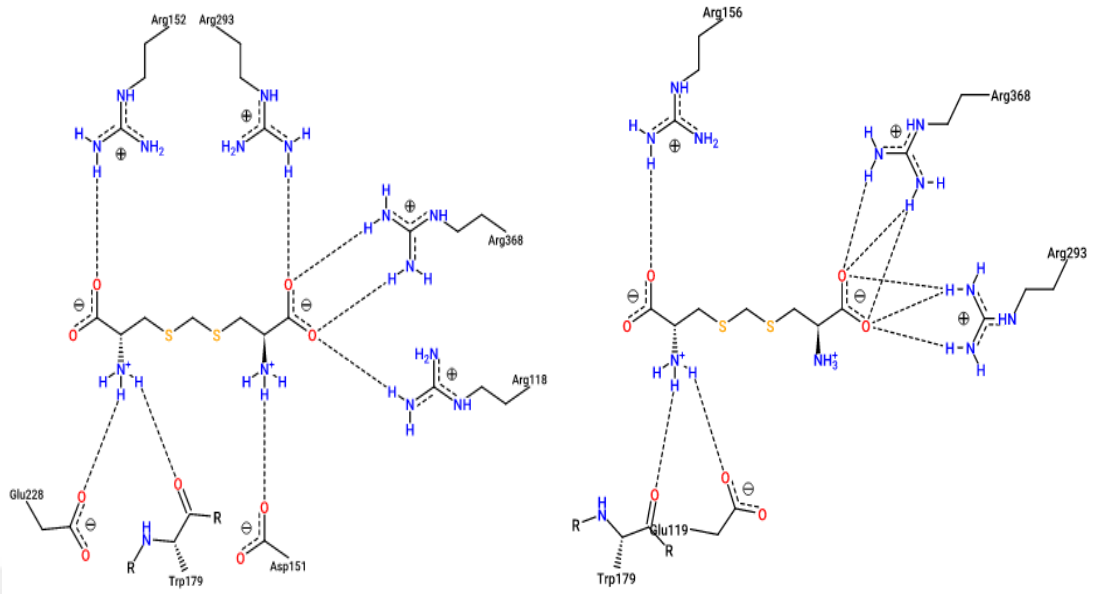
Şekil 4.168 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,176 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.169'da gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD sürecinde oluşan en düşük enerjili konformasyon sırasında başlangıç anına göre oldukça değiştiği ve reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru esnediği görülmektedir.



Şekil 4.169 4B7R$_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,176 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

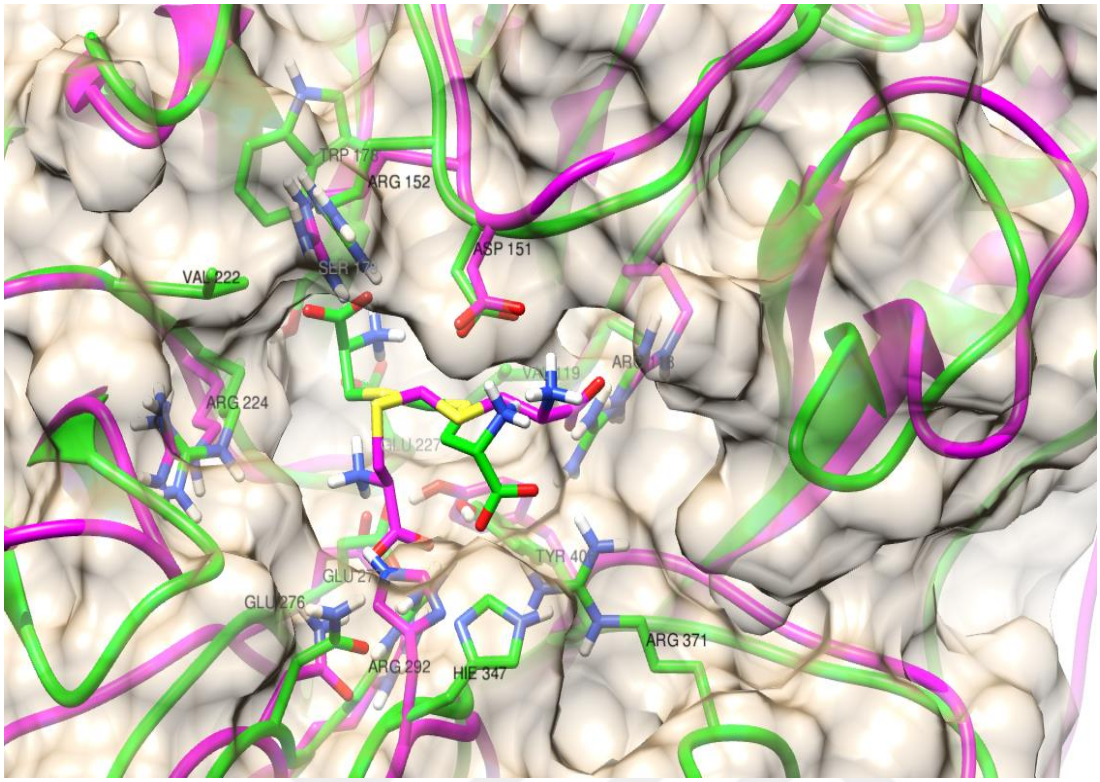
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.170'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg 293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla, Asp151 arığının ligandın -NH_3^+ grubuyla, Glu228 ve Trp179 artığının ise ligandın diğer -NH_3^+ grubu ile Arg152 artığının diğer -COO^- grubuyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg118 artığının -COO^- grubu ile etkileşimde olmadığı, Trp179 ve Glu119 artıklarının -NH_3^+ grubu ile, Arg156 artığının diğer -COO^- grubuyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu görülüyor.



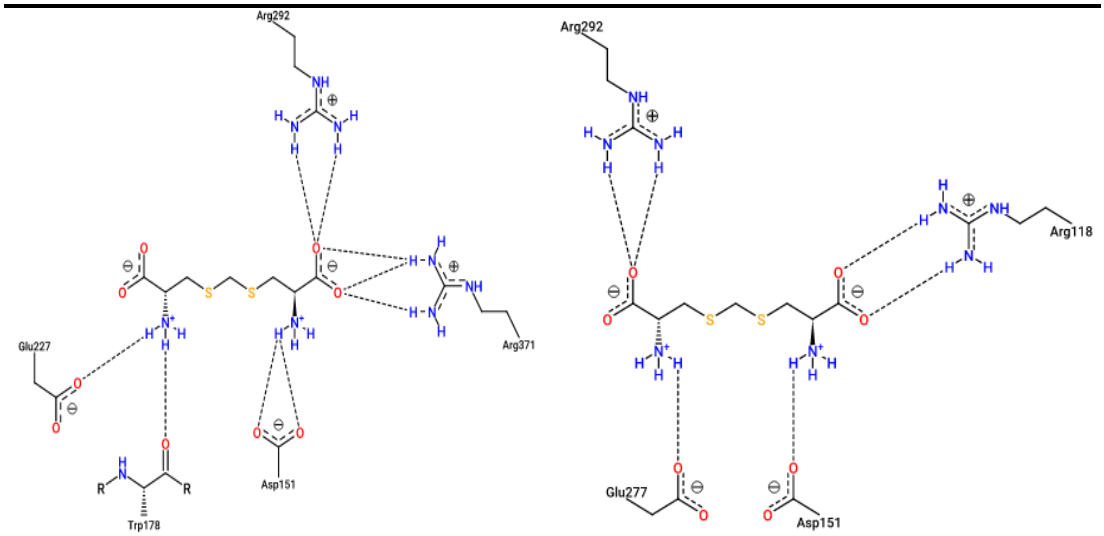
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.170 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekste başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,275 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.171'de gösterilmiştir. Şekilde 4GZQ$_{MT}$ kodlu reseptörün moleküler dinamik sırasında en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuk etrafındaki ilmeklerde nispeten az konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.172'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -COO-grubuyla, Asp151 artığının -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda, Arg118 amino asidinin -COO^- grubu ile, Arg292 artığının diğer -COO^- grubuyla ve Glu277 artığının -NH_3^+ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



Şekil 4.171 $4GZQ_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,275 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

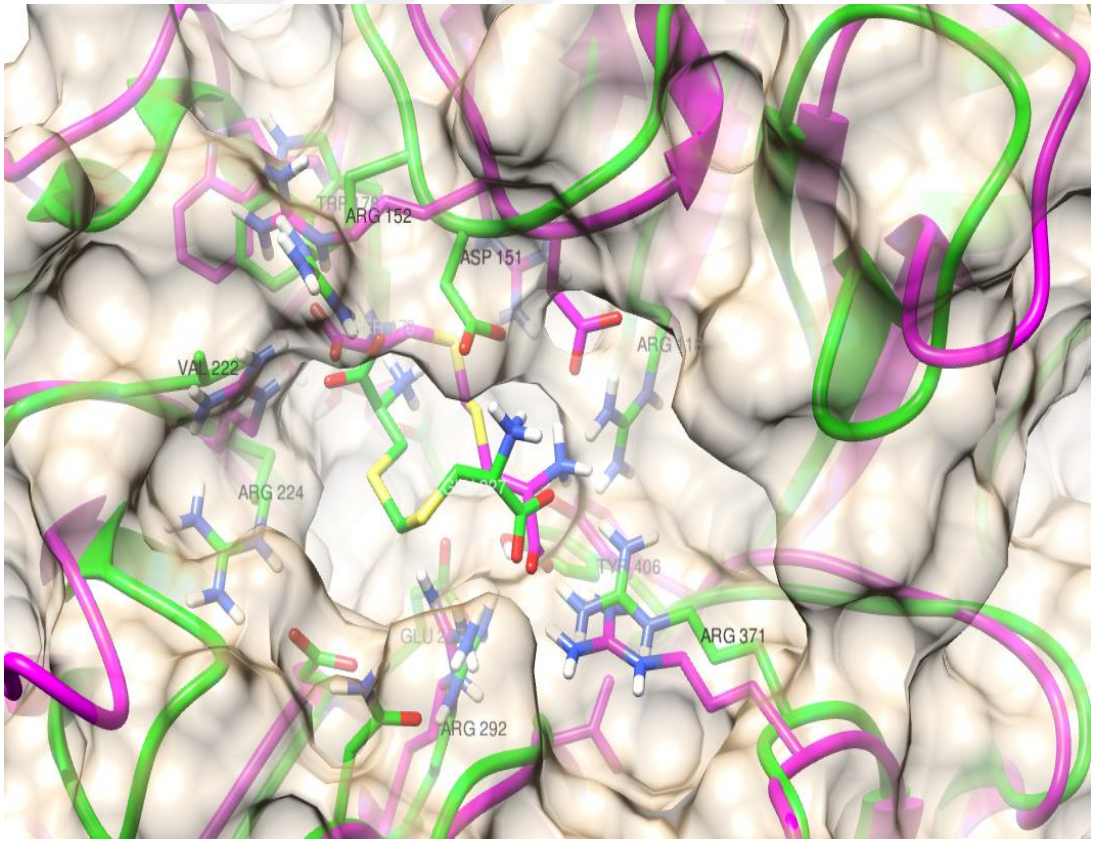


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

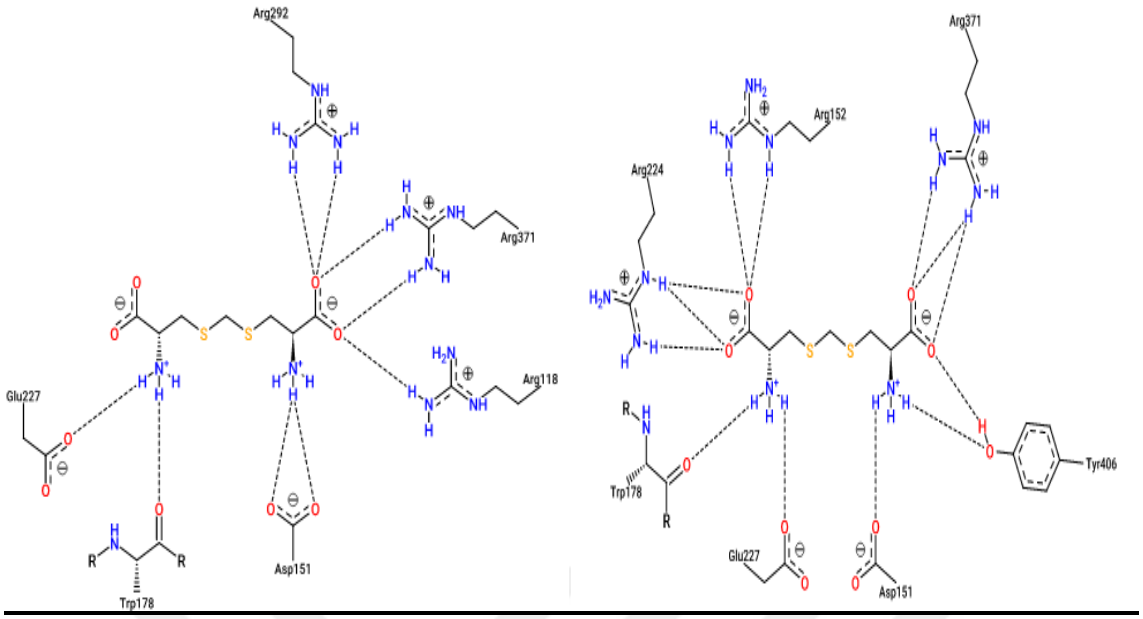
Şekil 4.172 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekі başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD

değeri 1,283 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.173'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği ve reseptörde bulunan 150 ve 430 ilmeklerinde oyuktan dışa doğru esnemenin olduğu görülmektedir. Ligandın ise yeniden konumlanarak 430 ilmeğindeki artıklara bağlandığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.174'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -COO-grubuyla, Asp151 artığının ve Glu227 ve Trp178 artıklarının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg371 ve Tyr406 artıklarının ligandın $-COO^-$ grubu ile Asp151, Glu227 ve Trp178 artıklarının $-NH_3^+$ gruplarıyla Arg152 ve Arg224 artıklarının diğer $-COO^-$ gruplarıyla tuz köprüsü ve hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



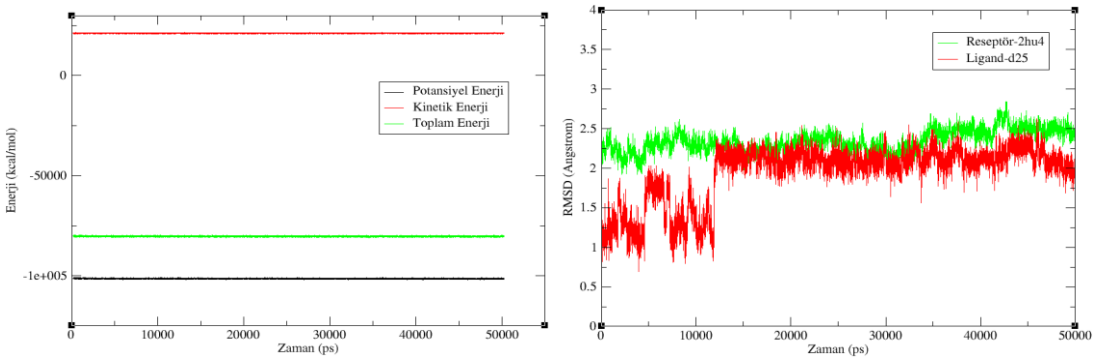
Şekil 4.173 $3TIA_{MT}$ proteinine n02 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,293 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



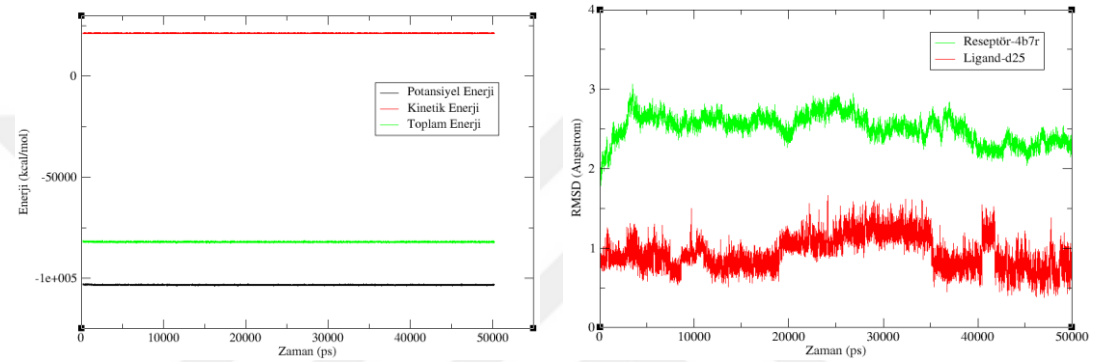
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.174 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve n02 ligandının etkileşimleri

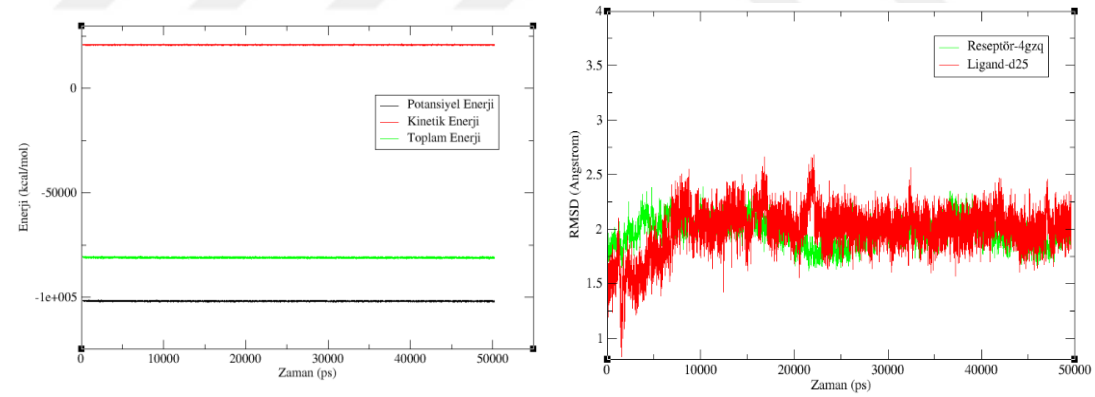
$2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.175-4.178'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.175'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin 2,5 Å civarında kararlı bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.176'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise biraz dalgalanmalarla 1 Å civarında kararlı olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.177'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselmeden sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de biraz yükselmeden sonra genelde 2 Å aralığında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.178'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde durağan bir seyirde olduğu görülüyor.



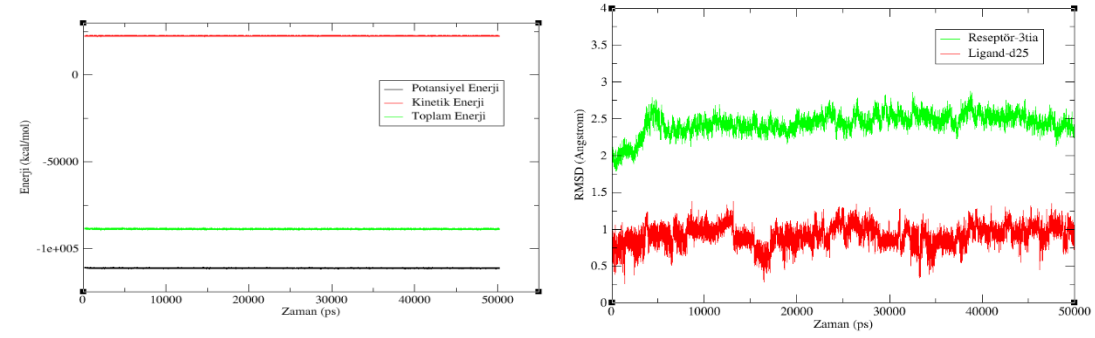
Şekil 4.175 $2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.176 $4B7R_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

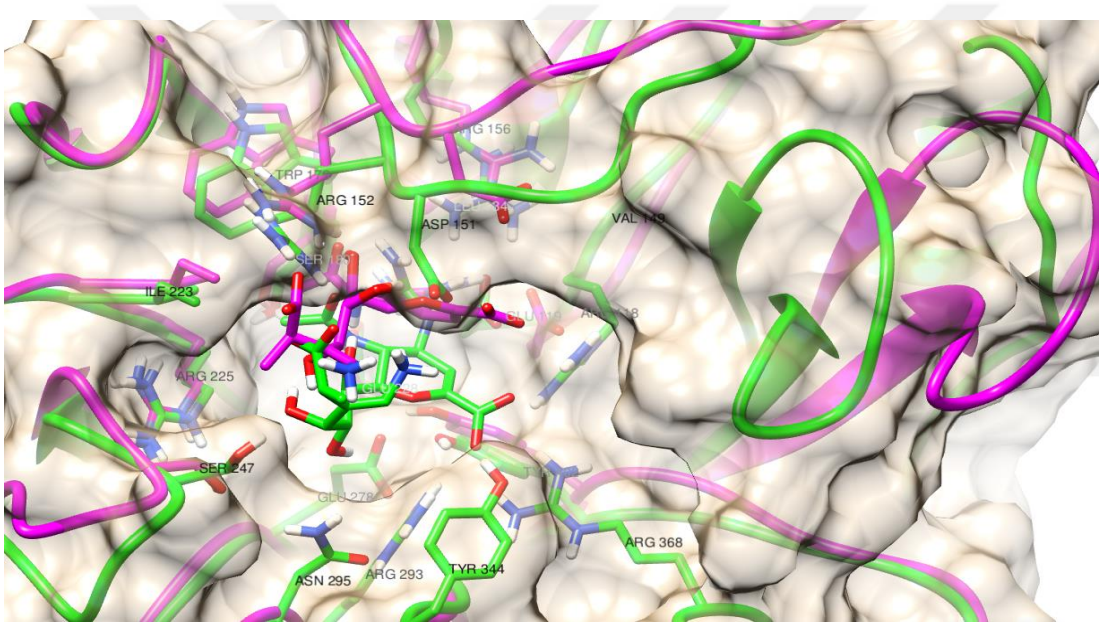


Şekil 4.177 $4GZQ_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.178 $3TIA_{WT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

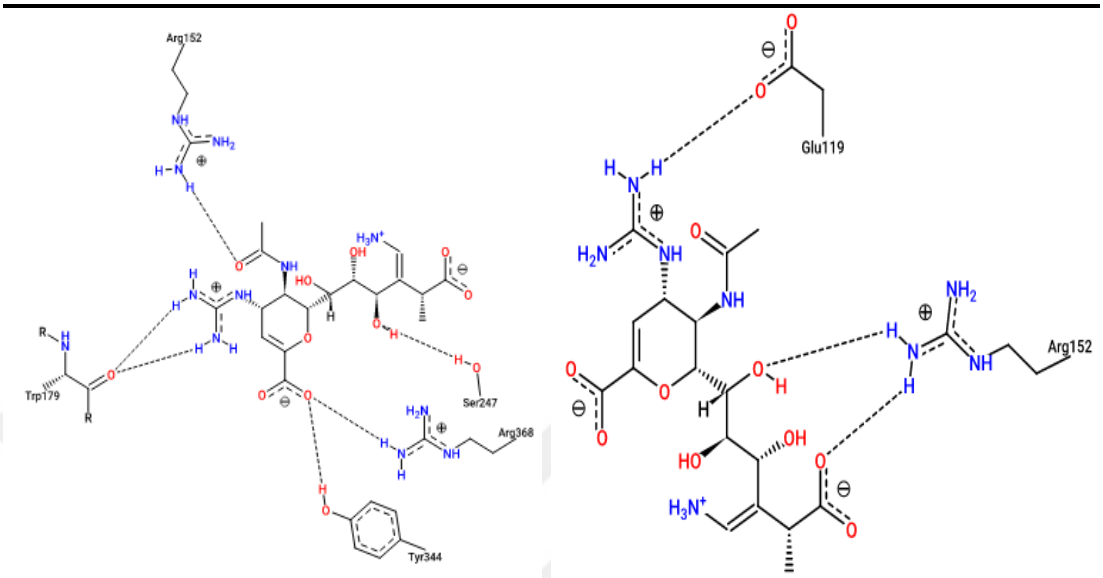
$2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisine ait konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,968 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.179'da gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Bu değişimin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu etkilediği, d25 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının farklılaştığı görülmektedir.



Şekil 4.179 $2HU4_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,968 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.180'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Trp179 artığının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asit artığının ise ligandın diğer -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Arg152 amino asit artığının

etkileşimi devam ederken, guanidyum grubu Glu119 etkileşiminin o anda var olduğu görülmektedir.

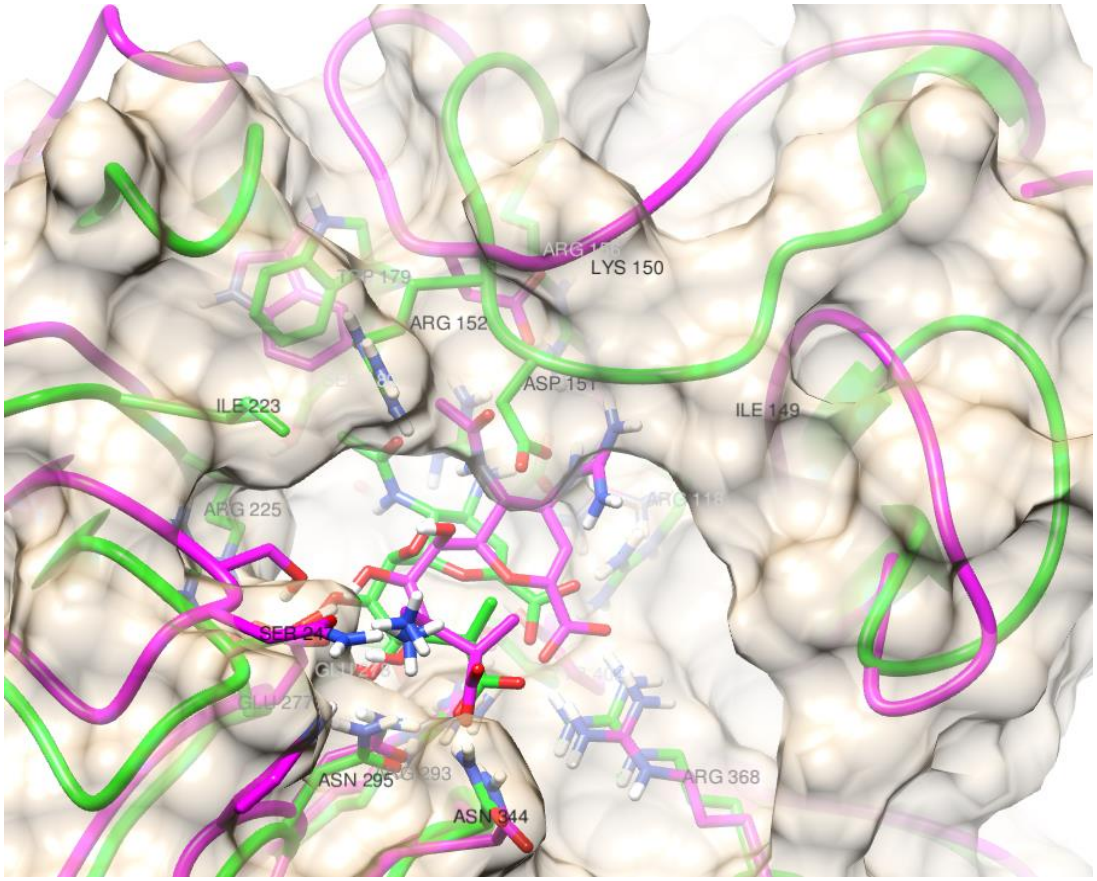


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

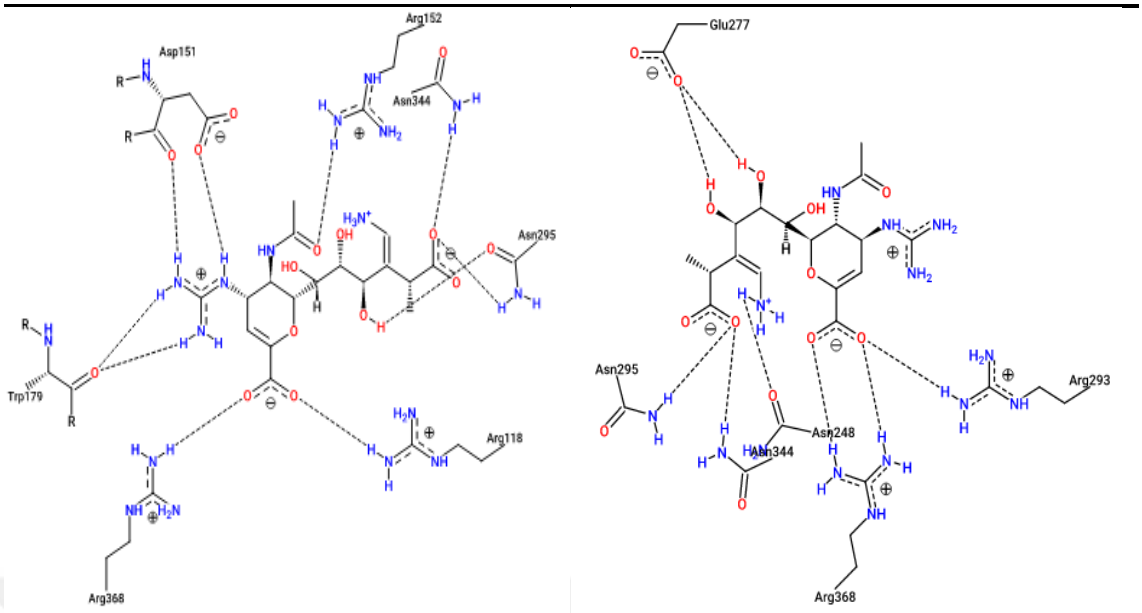
Şekil 4.180 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekі başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,130 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.181'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde büyük konformasyonel sapmaların olmadığı, reseptörde bulunan 150 ilmeğinde pek değişim yokken ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.182'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Asp151 ve Trp179 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile ikinci $-NH_3^+$ grubunun Glu277 amino asit artığıyla, Asn344 ve Asn295 artıklarının -COO- ve -OH gruplarıyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda da başlangıç etkileşimlerinin var olduğu ancak bunlara ek olarak Arg293 amino asidinin $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü, iki -OH

grubunun Glu277 ile Asn248 artığının $-NH_3^+$ grubuyla hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.181 $4B7R_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,130 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

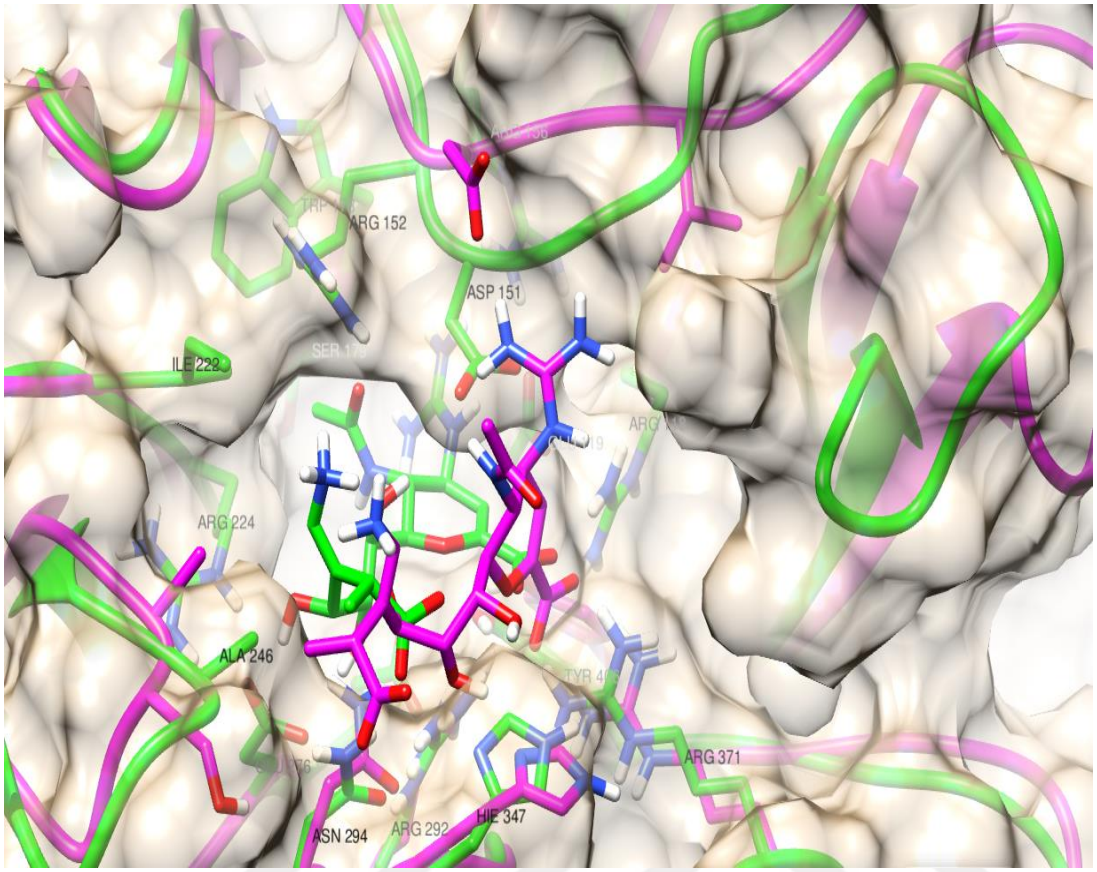


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

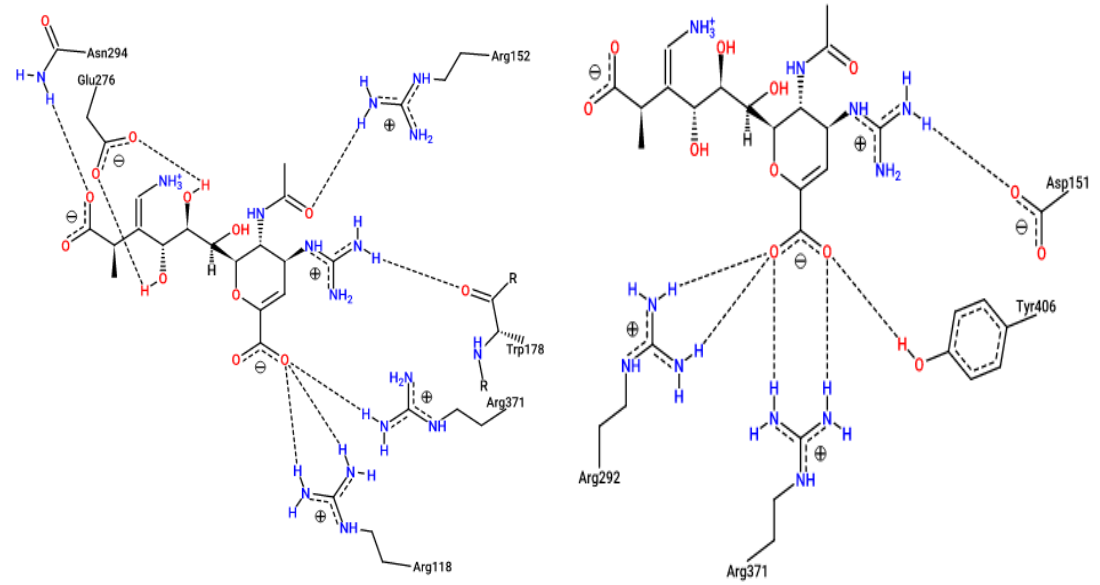
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.182 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekseki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,118 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.183'te gösterilmiştir. Şekilde 4GZQ$_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.184'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın -COO$^-$ grubuyla, Trp178 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Glu276 ve Asn294 artığının -OH gruplarıyla hidrojen bağı, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin guanidyum grubu ile, Arg292 ve Arg371 artığının -COO$^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.183 $4GZQ_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,118 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).

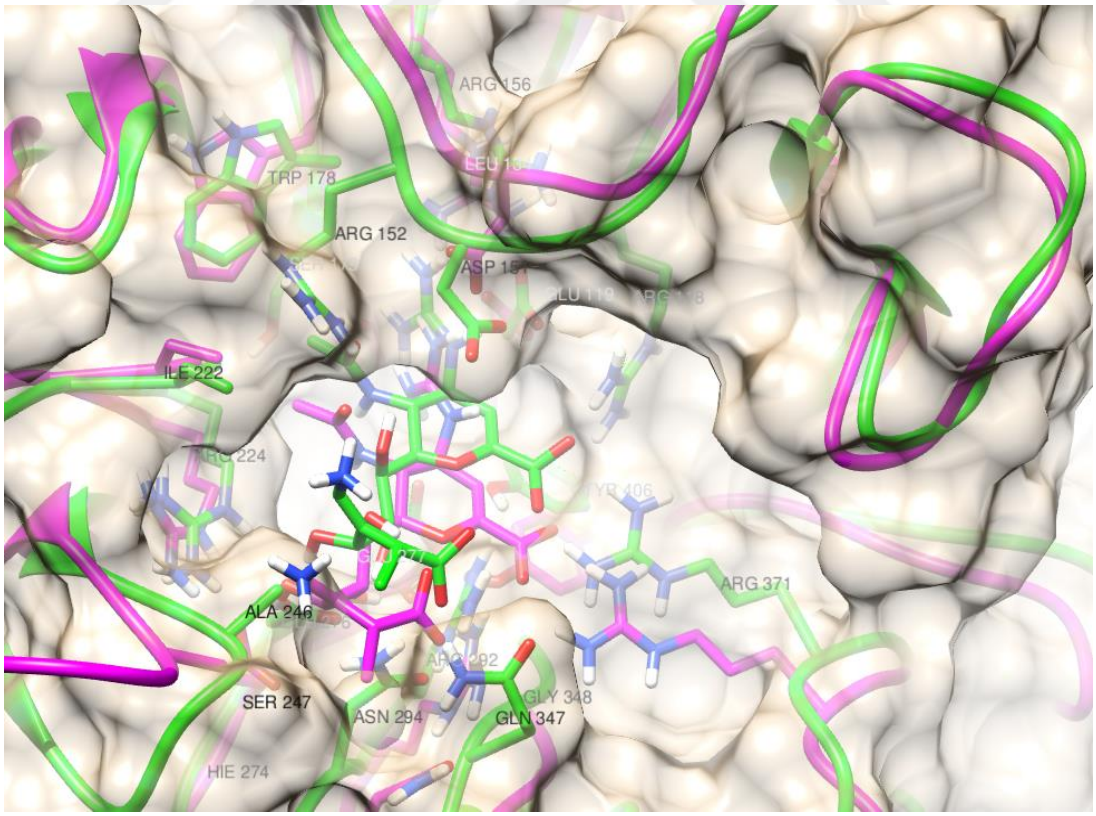


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

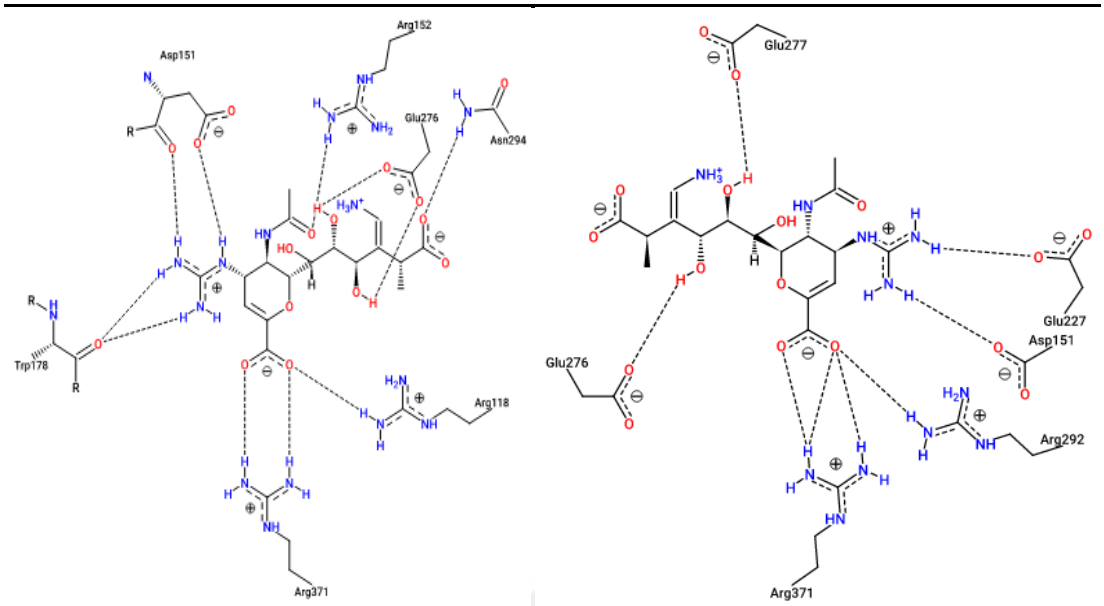
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.184 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,225 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.185'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.186'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Trp178 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Asn294 ve Glu276 amino asit artıklarının ikinci -OH grubuyla hidrojen bağı, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu227 ve Asp151 amino asidinin guanidyum grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile tuz köprüsü etkileşimi yaptığı görülmektedir.



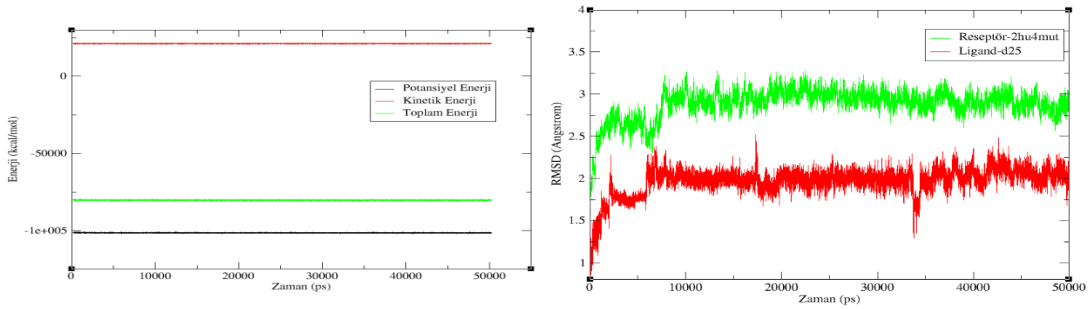
Şekil 4.185 $3TIA_{WT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



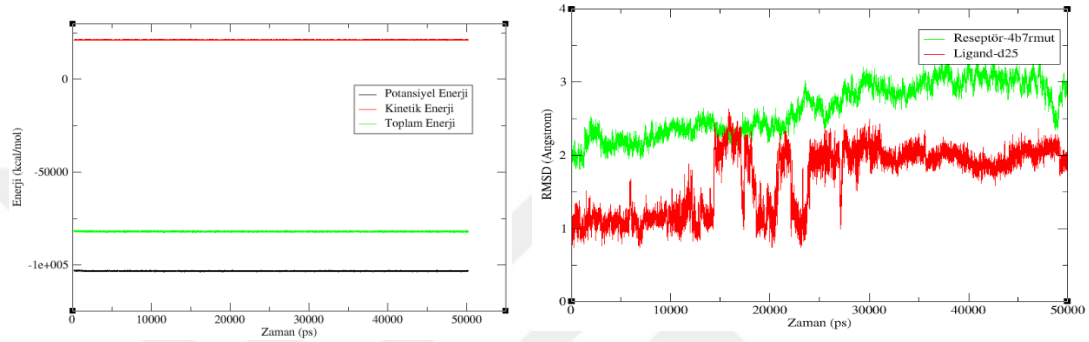
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.186 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

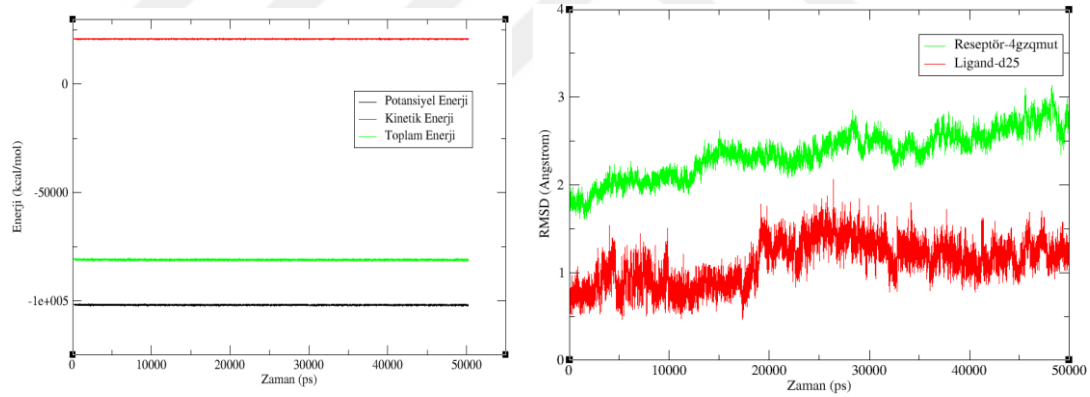
$2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.187-4.190'da verilmiştir. Bu Şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.187'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği 3 Å civarında kararlı bir hal aldığı görülmektedir. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.188'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise 30 ns sonrasında stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.189'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselme durumunda olduğu görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de biraz yükselmeden sonra stabil seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.190'da RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselme durumunda olduğu görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de az bir yükselme durumunda olduğu son anlarda durağan olduğu görülüyor.



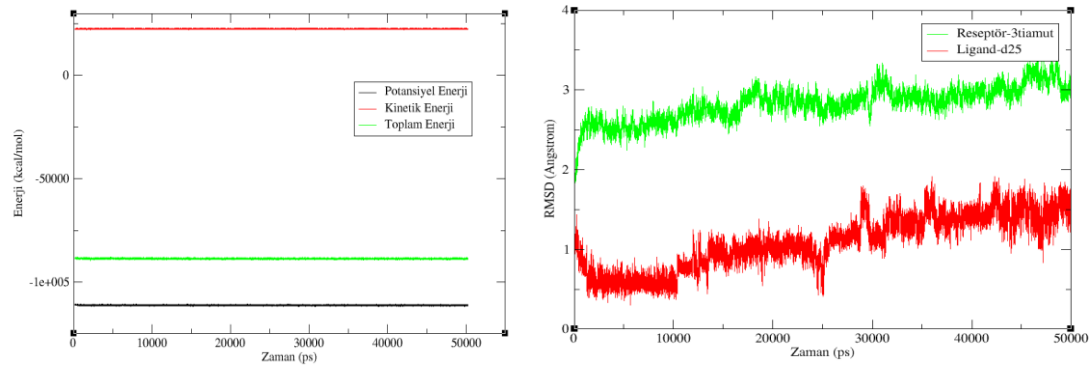
Şekil 4.187 $2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.188 $4B7R_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

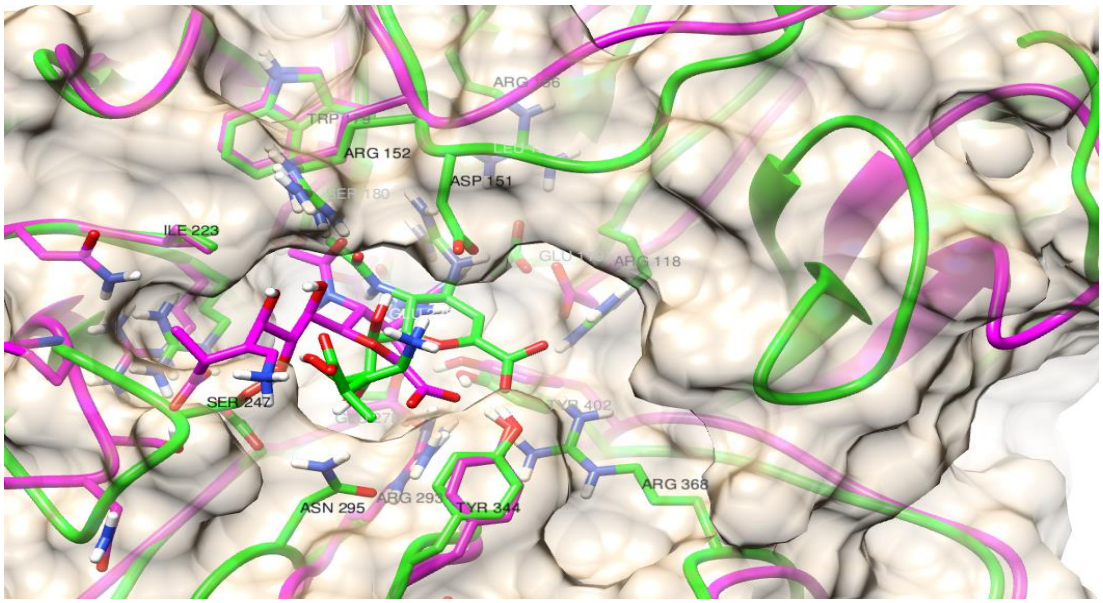


Şekil 4.189 $4GZQ_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

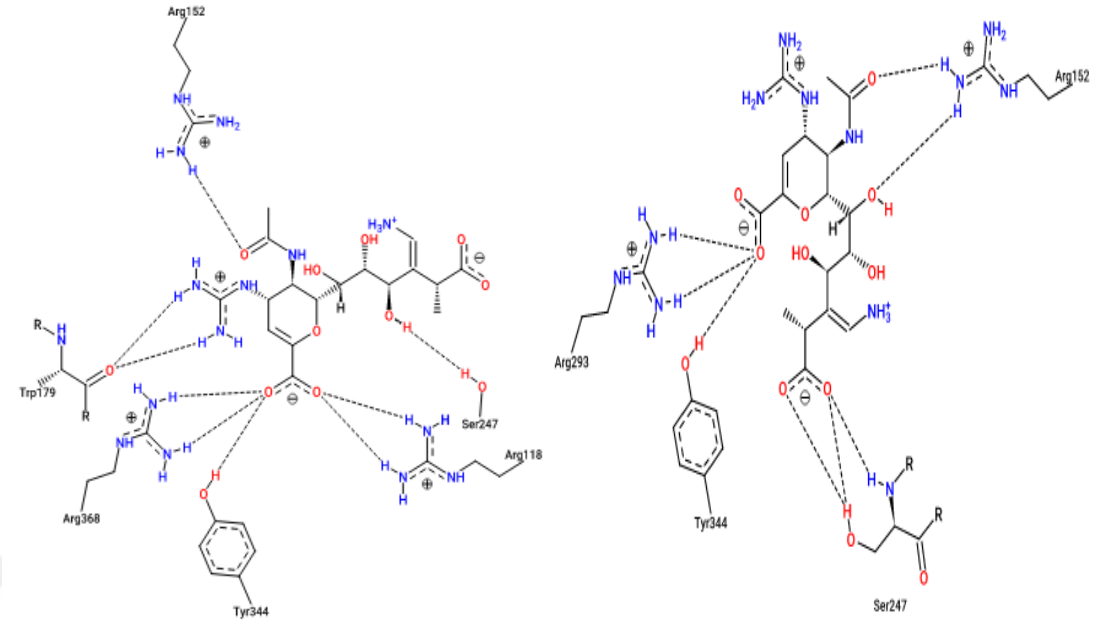


Şekil 4.190 $3TIA_{MT}$ proteinine d25 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,138 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.191'de gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı ve d25 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.192'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Trp179 artığının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asit artığının ise ligandın diğer -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Arg368 ve Tyr344 artıklarının tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimi varken ikinci $-COO^-$ grubunun Ser247 amino asit artığı ilehidrojen bağı etkileşimi olduğu görülmektedir.



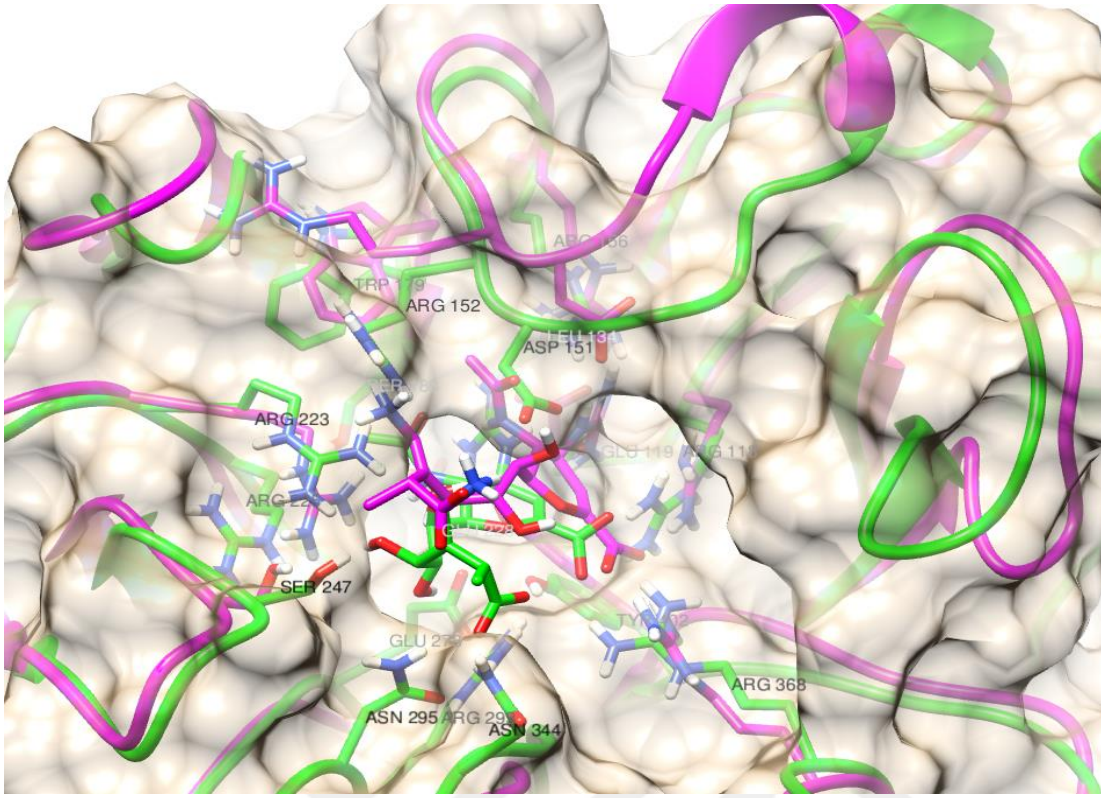
Şekil 4.191 $2HU4_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,138 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



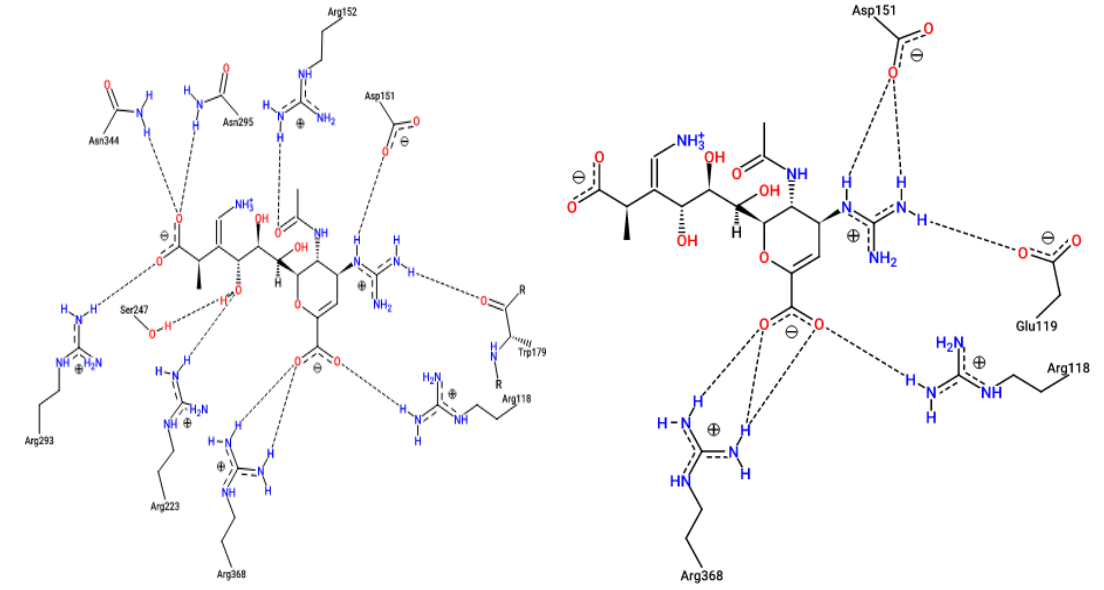
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.192 2HU4$_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

4B7R$_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,258 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.193'te gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinden 150 ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.194'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO$^-$ grubuyla, Asp151 ve Trp179 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asiti guanidyum grubunun ise ligandın -NHAc grubu ile Ser247, Arg223, Arg293, Asn344 ve Asn295 artıklarının -COO$^-$ ve -OH gruplarıyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda başlangıç etkileşimlerinden Arg118, Arg368, Glu119 ve Asp151 artıklarının ligandla etkileşiminin var olduğu görülmektedir.



Şekil 4.193 4B7R$_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,258 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir

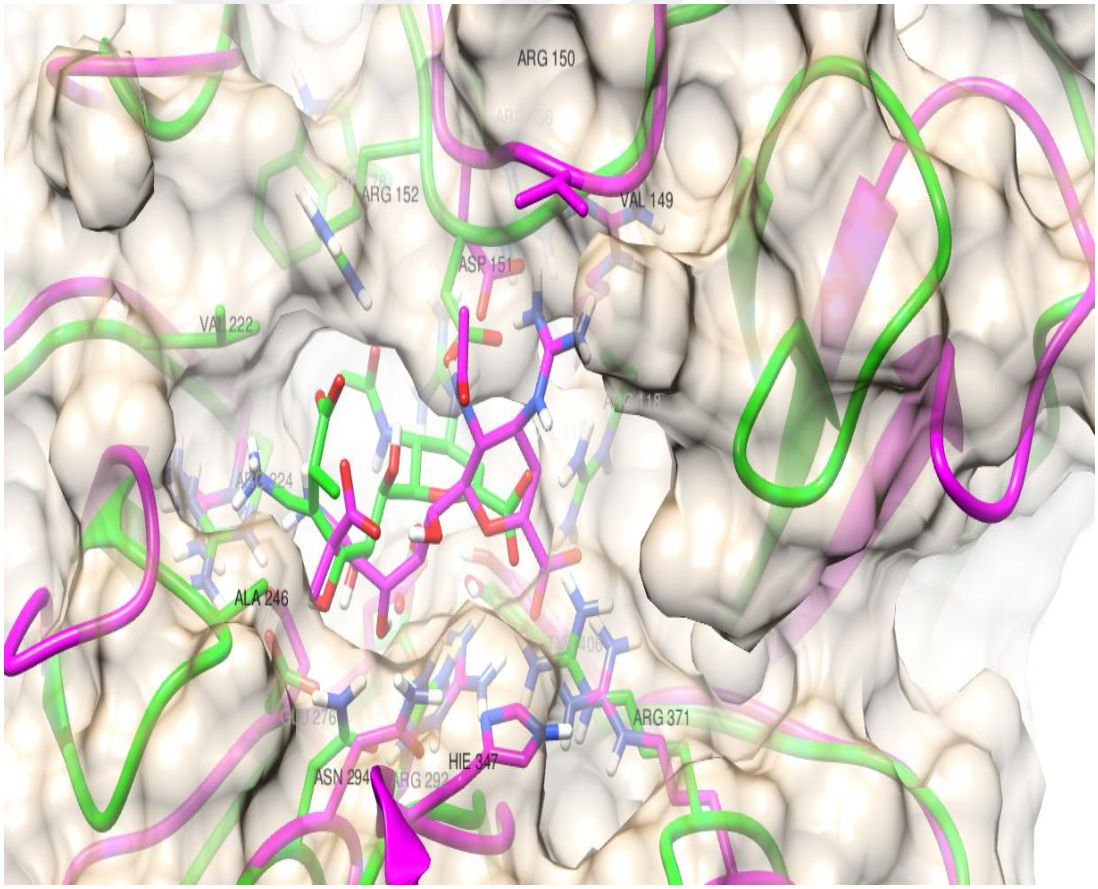


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

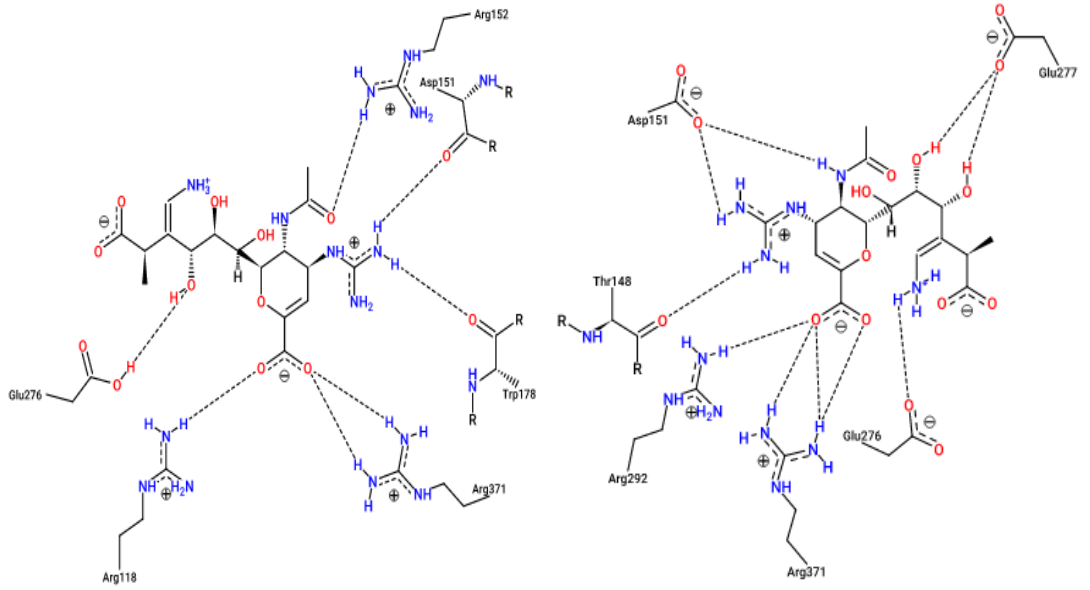
Şekil 4.194 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük

enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,272 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.195'te gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyon anında değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.196'da verilmiştir. Burada MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü oluşturarak, Asp151 ve Trp178 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla tuz köprüsü ve hidrojen bağı vasıtasıyla, Glu276 artığı -OH grubuyla hidrojen bağı yaparak, Arg152 amino asitinin guanidyum grubu ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı ile etkileştikleri ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 amino asidinin guanidyum grubu ile, Glu277 artığı -OH grubuyla, Arg292 ve Arg371 $-COO^-$ grubuyla etkileştileri görülmüştür.



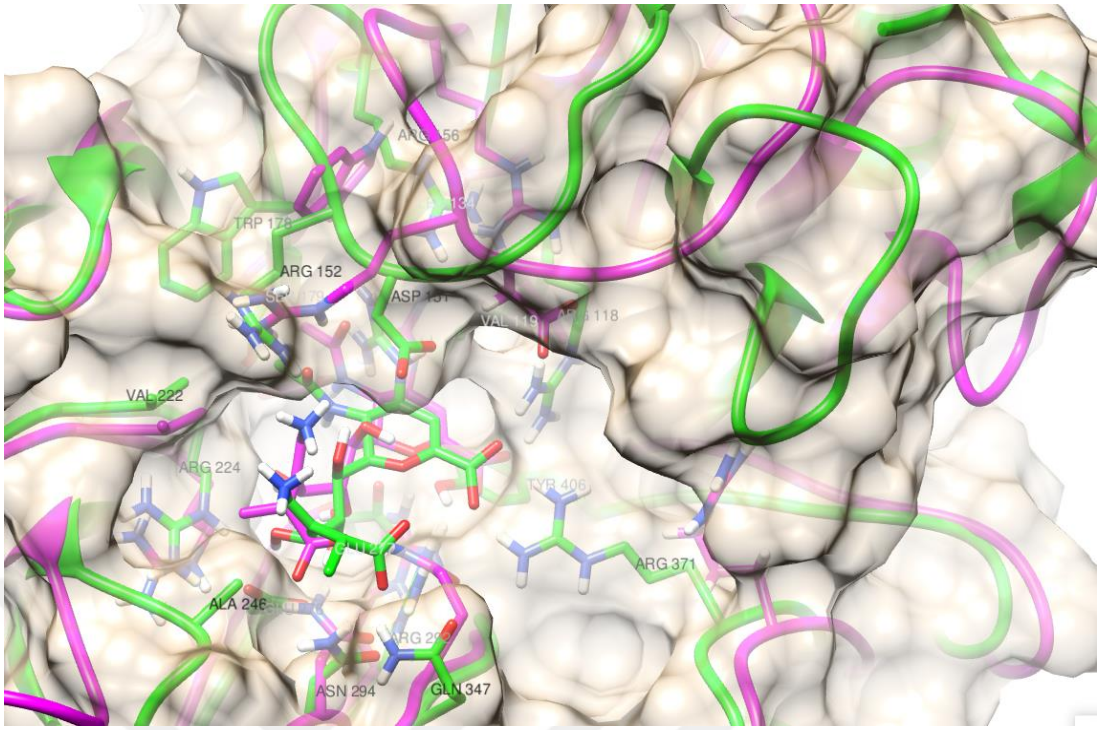
Şekil 4.195 $4GZQ_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,272 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



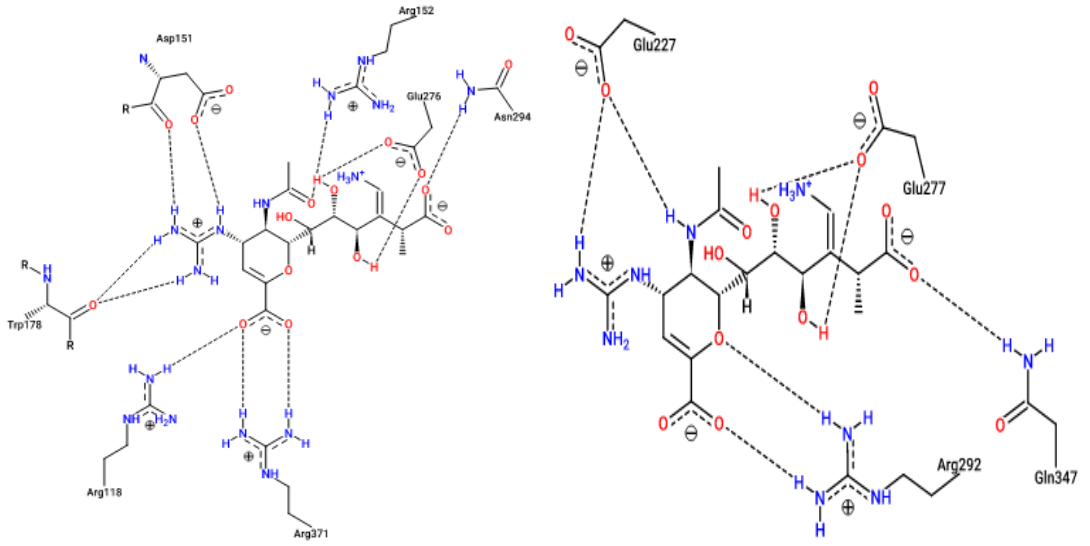
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.196 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,306 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.197'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin olduğu görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.198'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp178 ve Asp151 amino asit artıklarının ligandın guanidyum grubuyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla, Asn294 ve Glu276 amino asit artıklarının ikinci -OH grubuyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu227 aminoasidinin guanidyum grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşim yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.197 $3TIA_{MT}$ proteinine d25 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,306 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

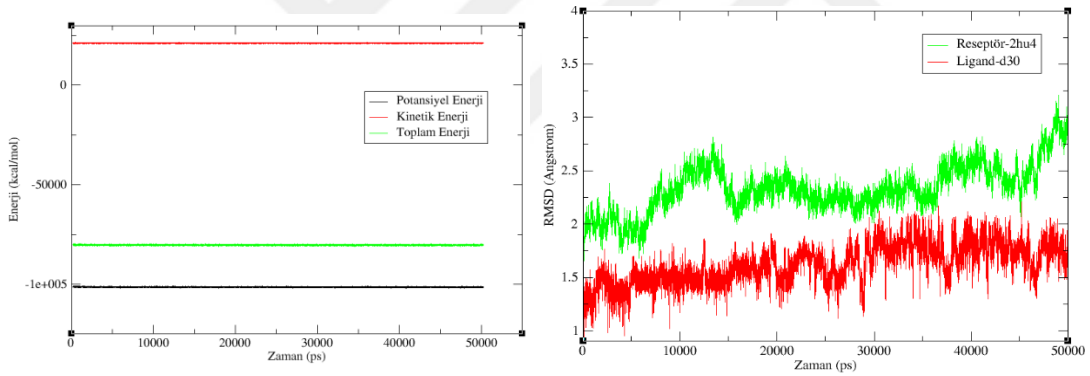


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

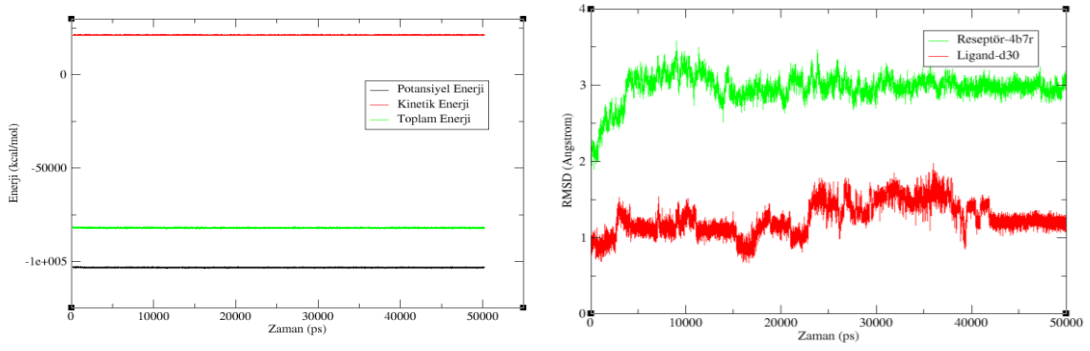
Şekil 4.198 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve d25 ligandının etkileşimleri

$2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.199-4.202'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.199'da RMSD

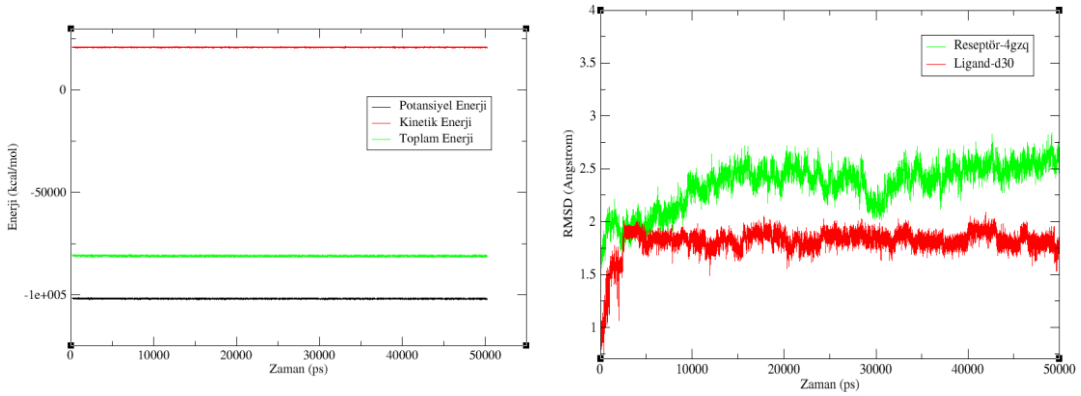
grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin 2,5 Å civarında stabil bir hal aldığı sonra yükseldiği son anlarda düştüğü görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.200'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin ise genelde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.201'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselmeden sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de biraz yükselmeden sonra genelde 1,8 Å civarında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.202'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de keskin bir yükselmeden sonra genelde stabil bir seyirde olduğu görülüyor.



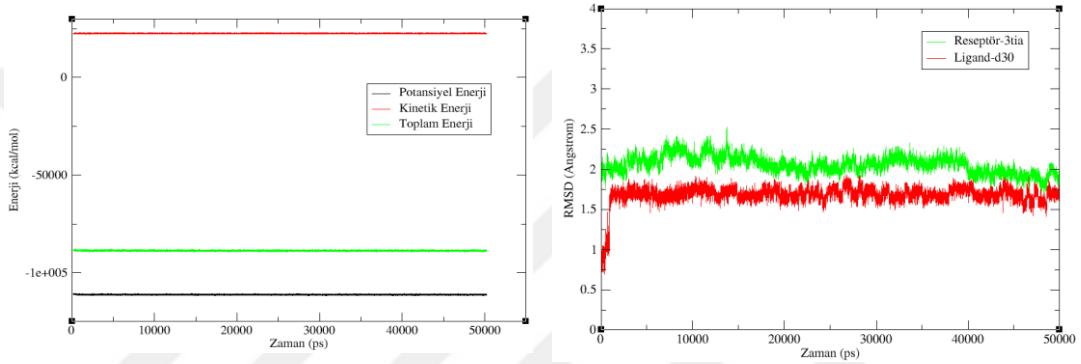
Şekil 4.199 $2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.200 $4B7R_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

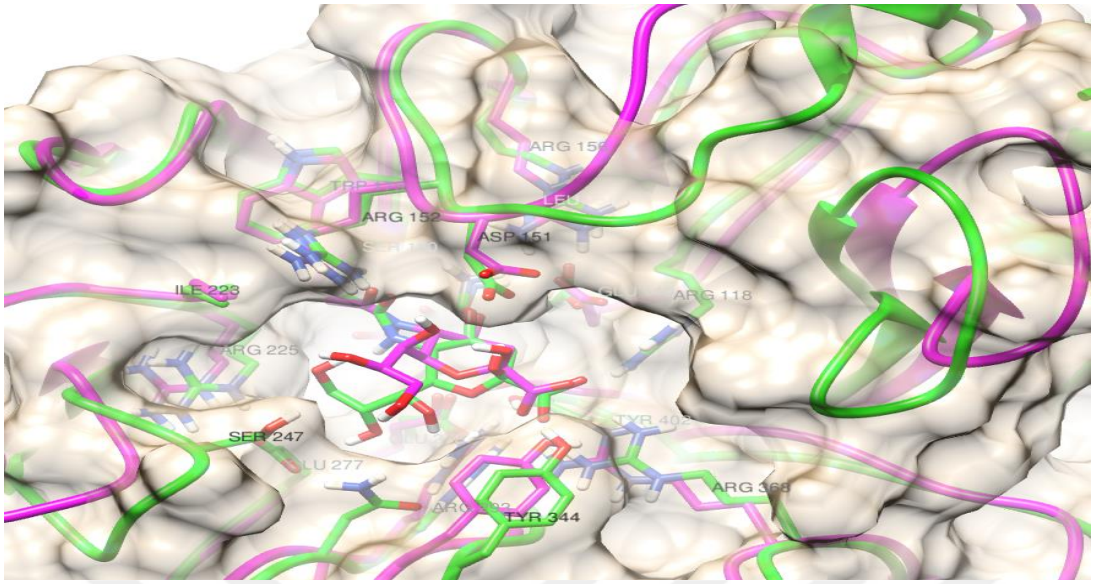


Şekil 4.201 $4GZQ_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



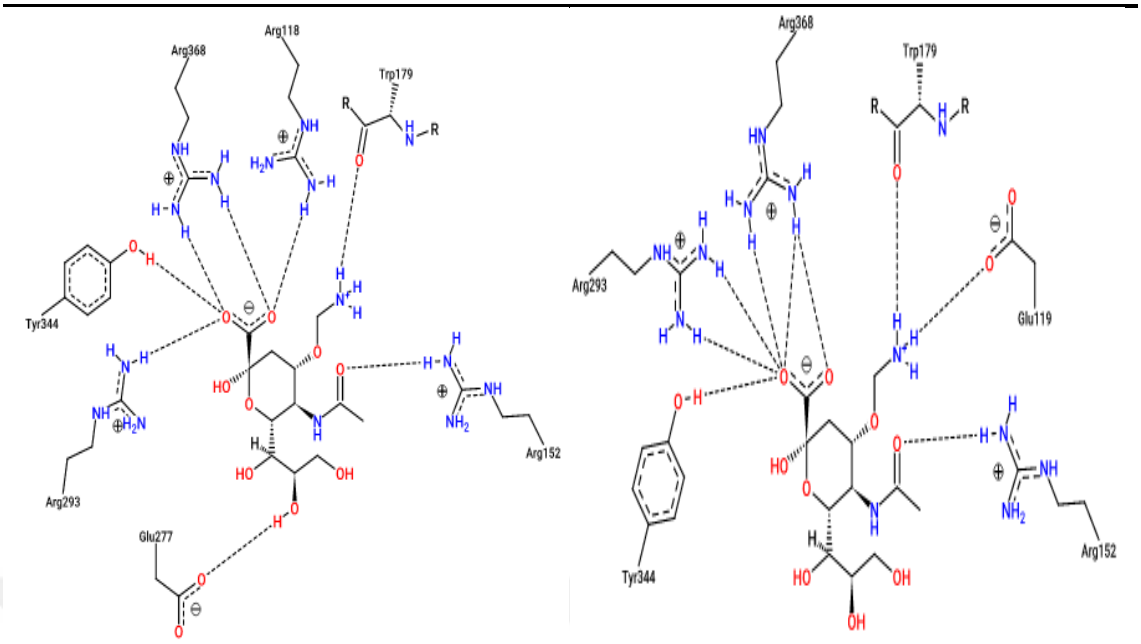
Şekil 4.202 $3TIA_{WT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

$2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,981 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.203'te gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru genişlemiş bir hal aldığı görülmektedir. Bu değişimin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu pek etkilemediği, d30 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir.



Şekil 4.203 $2HU4_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,981 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

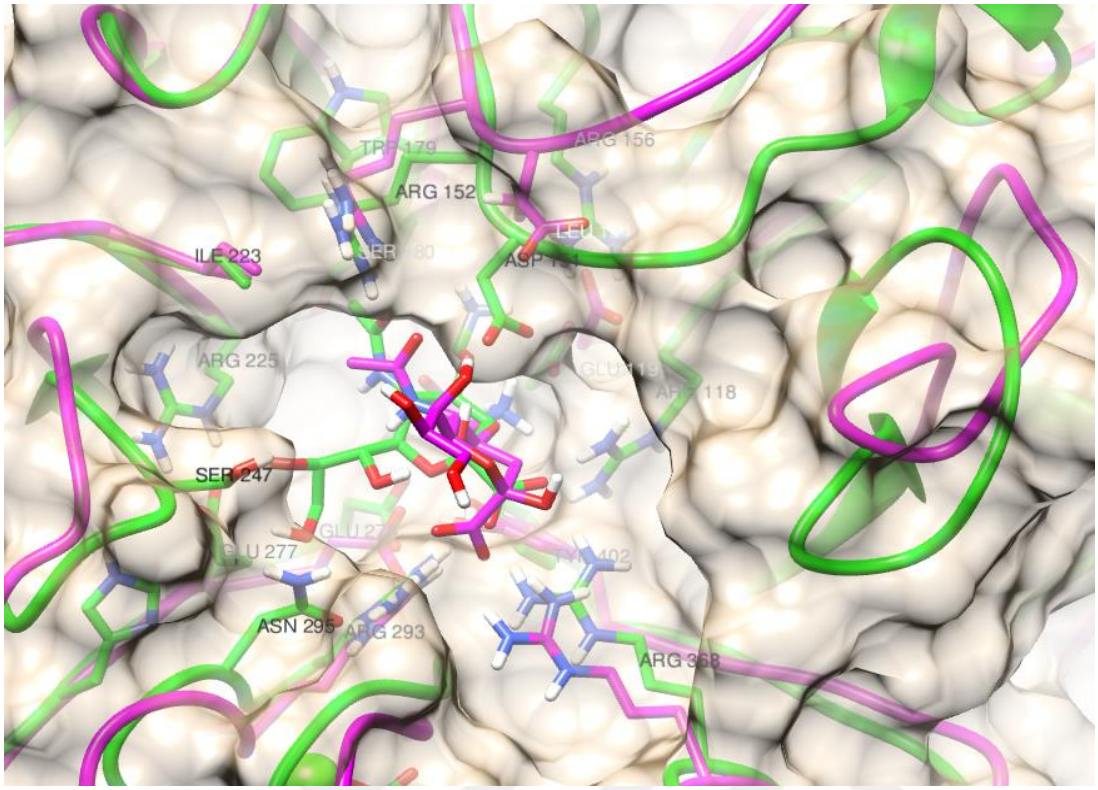
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.204'te verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Trp179 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asit artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Arg118 artığı dışındaki başlangıç etkileşimlerin var olduğu, $-NH_3^+$ grubu Glu119 tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin o anda var olduğu görülmektedir.



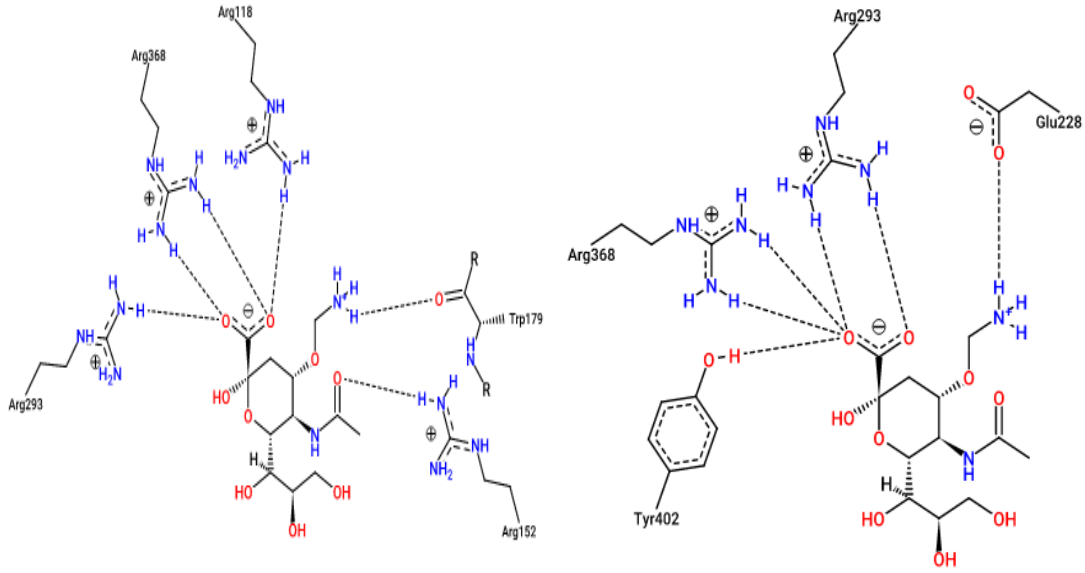
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.204 2HU4$_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

4B7R$_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstеki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,215 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.205'te gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde değişimler olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.206'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp179 artığının ligandın -NH_3^+grubuyla hidrojen bağı, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda Tyr402 artığının -COO- ile Glu228 artığının -NH_3^+ ile hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.205 4B7R$_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,215 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

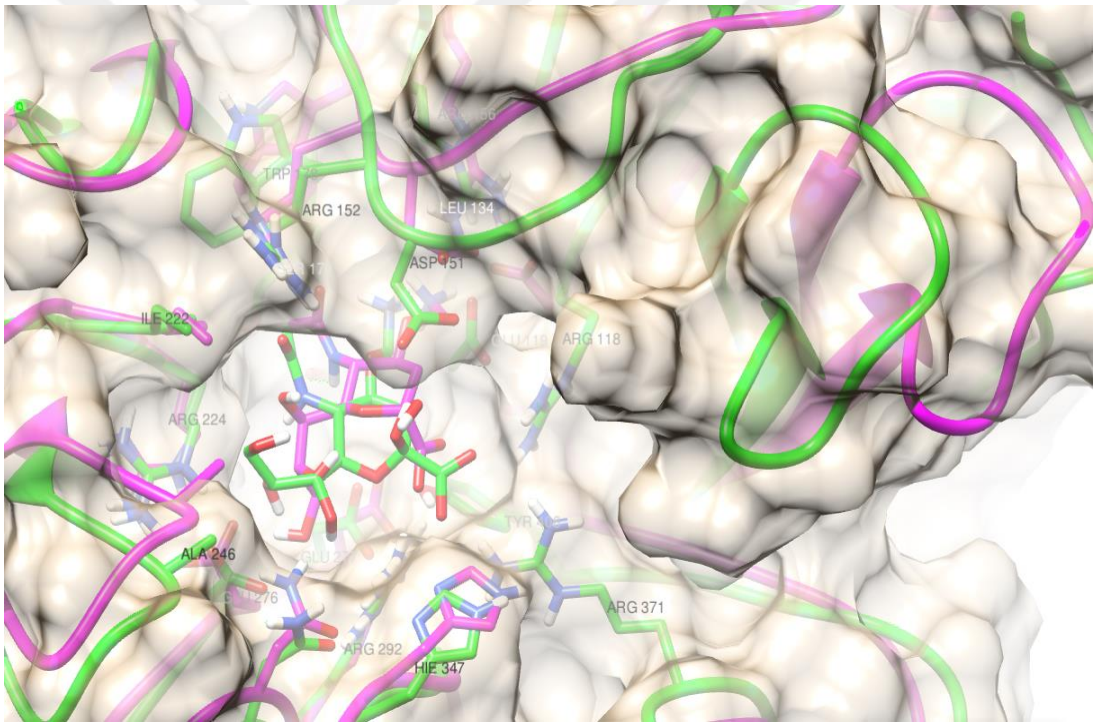


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

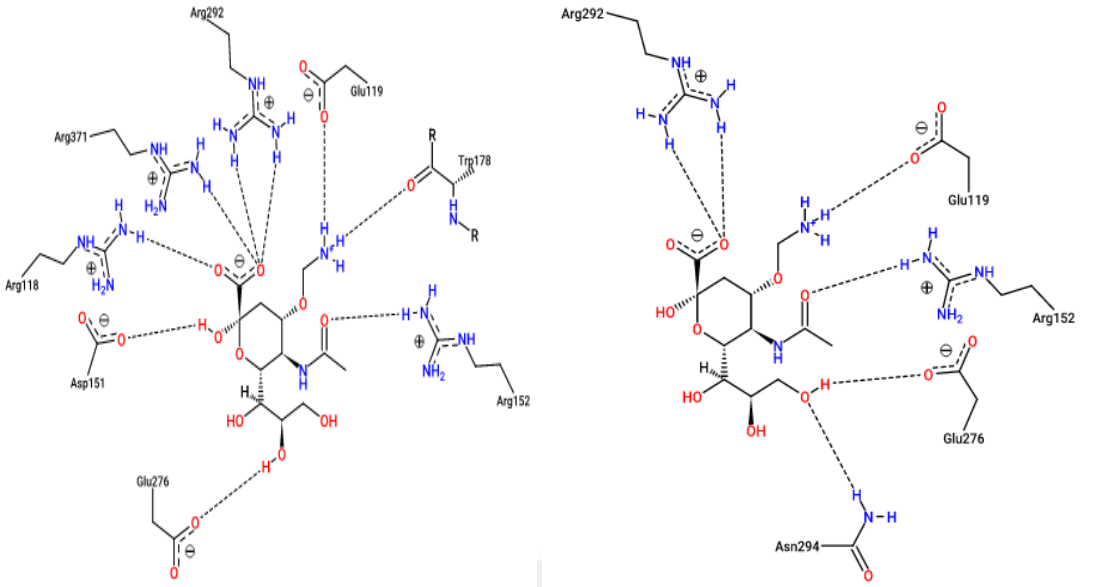
Şekil 4.206 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekı başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük

enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,298 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.207'de gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.208'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Glu119 ve Trp178 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Asp151 artığının -OH gruplarıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu276 ve Asn294 aminoasidinin -OH grubu ile etkileşimde olduğu, Arg292 artığının $-COO^-$ grubuyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



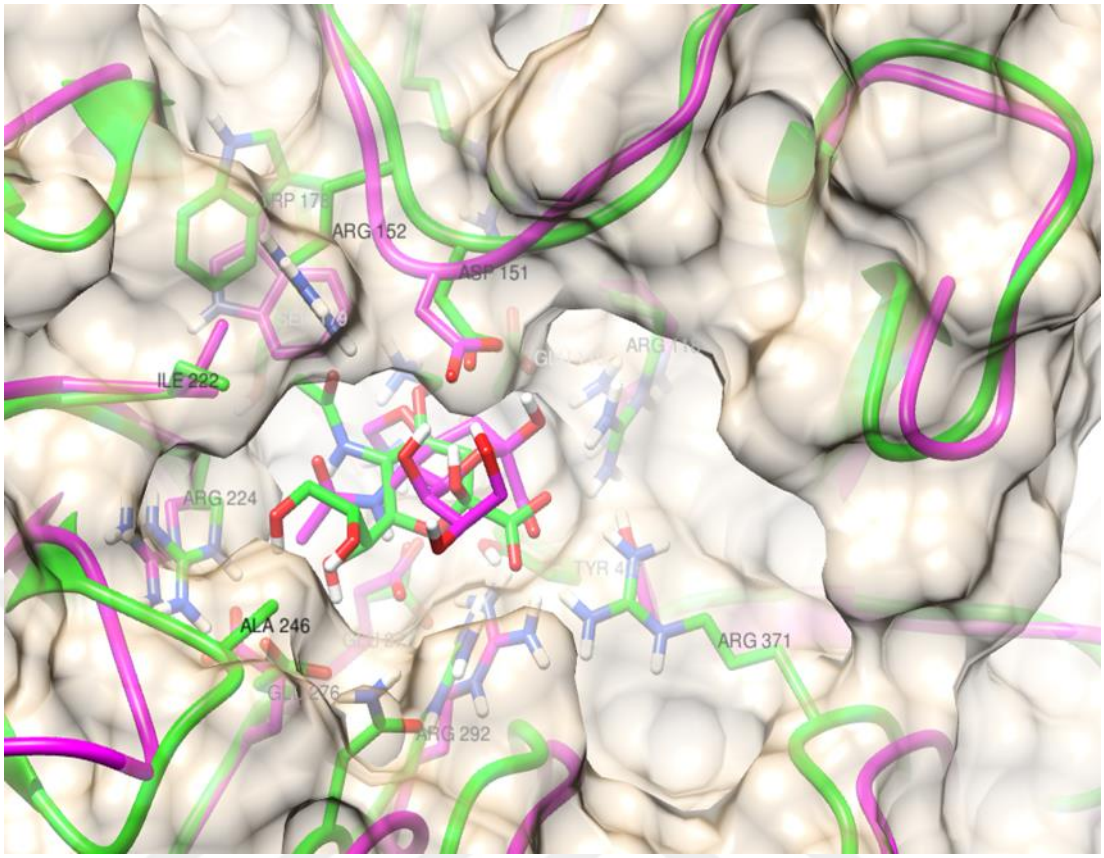
Şekil 4.207 $4GZQ_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,298 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



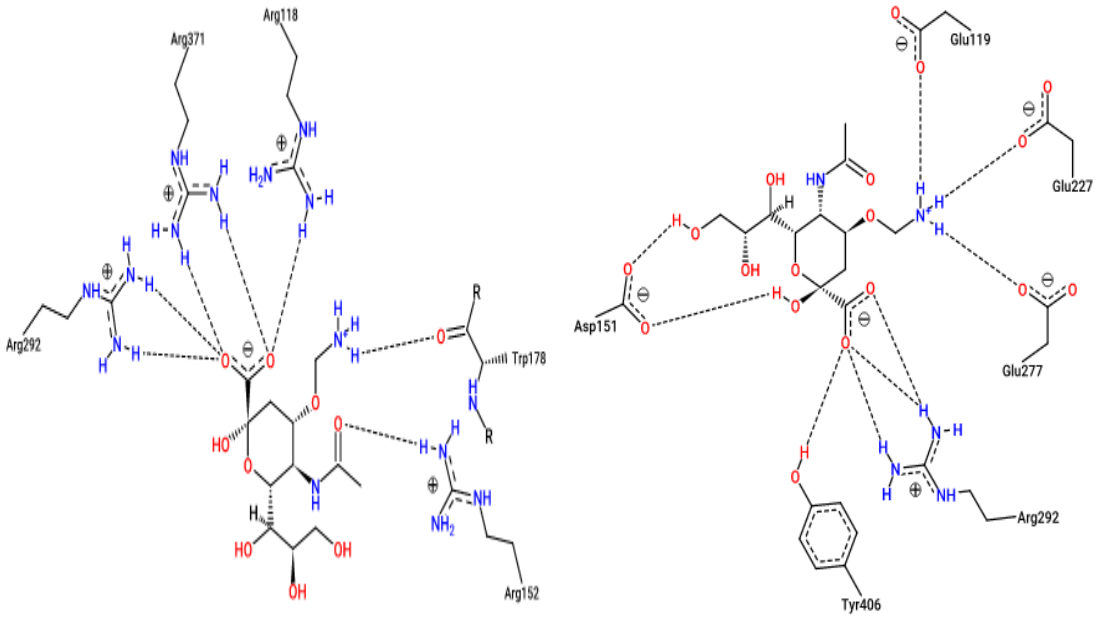
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.208 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,282 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.209'da gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.210'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp178 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu119, Glu227 ve Glu277 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 ve Tyr406 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşim yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.209 $3TIA_{WT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,282 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

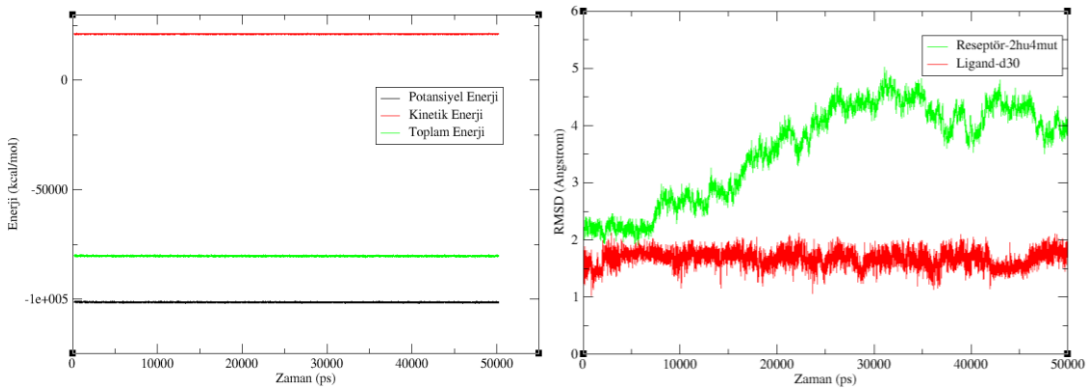


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

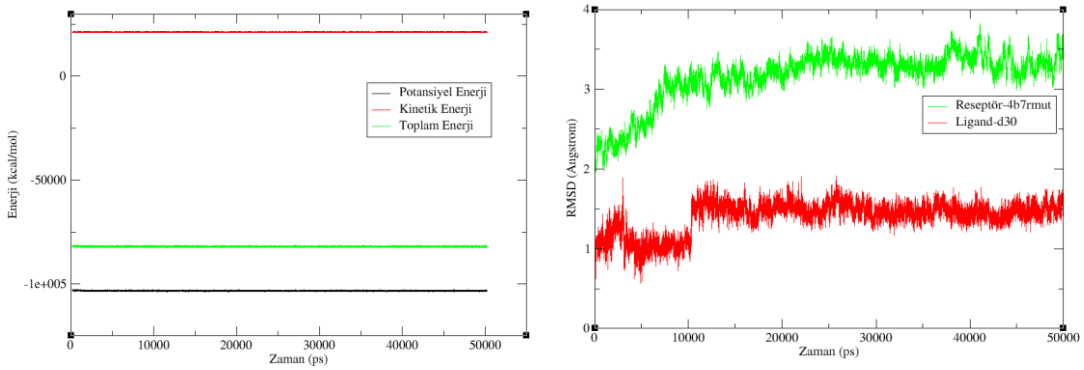
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.210 $3TIA_{WT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

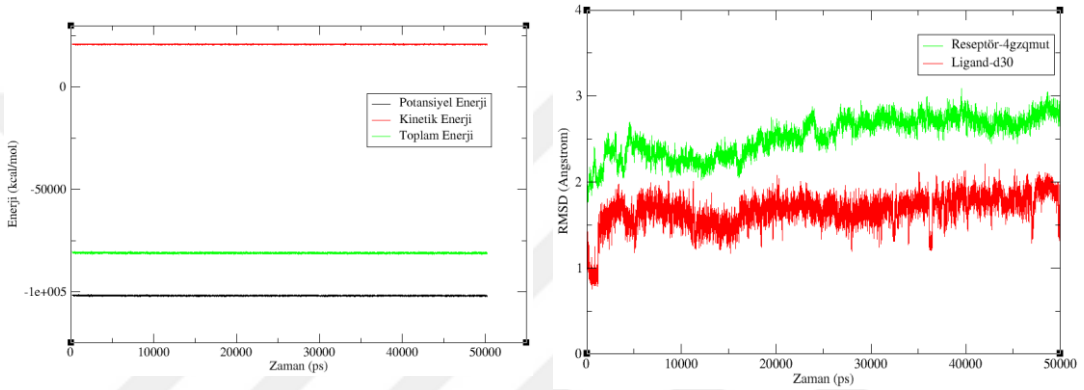
$2HU4_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.211-4.214'de verilmiştir. Bu Şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.211'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin 4,5 Å civarında durağan bir hal aldığı sonra yükseldiği son anlarda düştüğü görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce çok az yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.212'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra genelde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.213'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselmeden sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de biraz yükselmeden sonra genelde 1,8 Å civarında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.214'te RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de keskin bir yükselmeden sonra genelde stabil bir seyirde olduğu görülüyor.



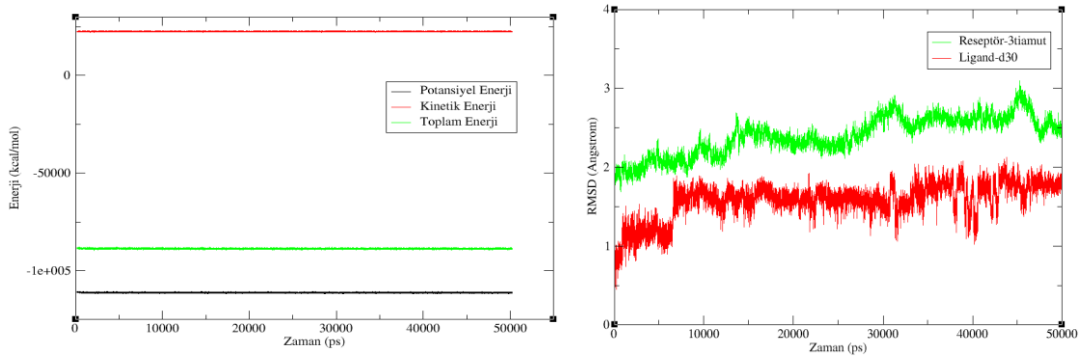
Şekil 4.211 $2HU4_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.212 4B7R$_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



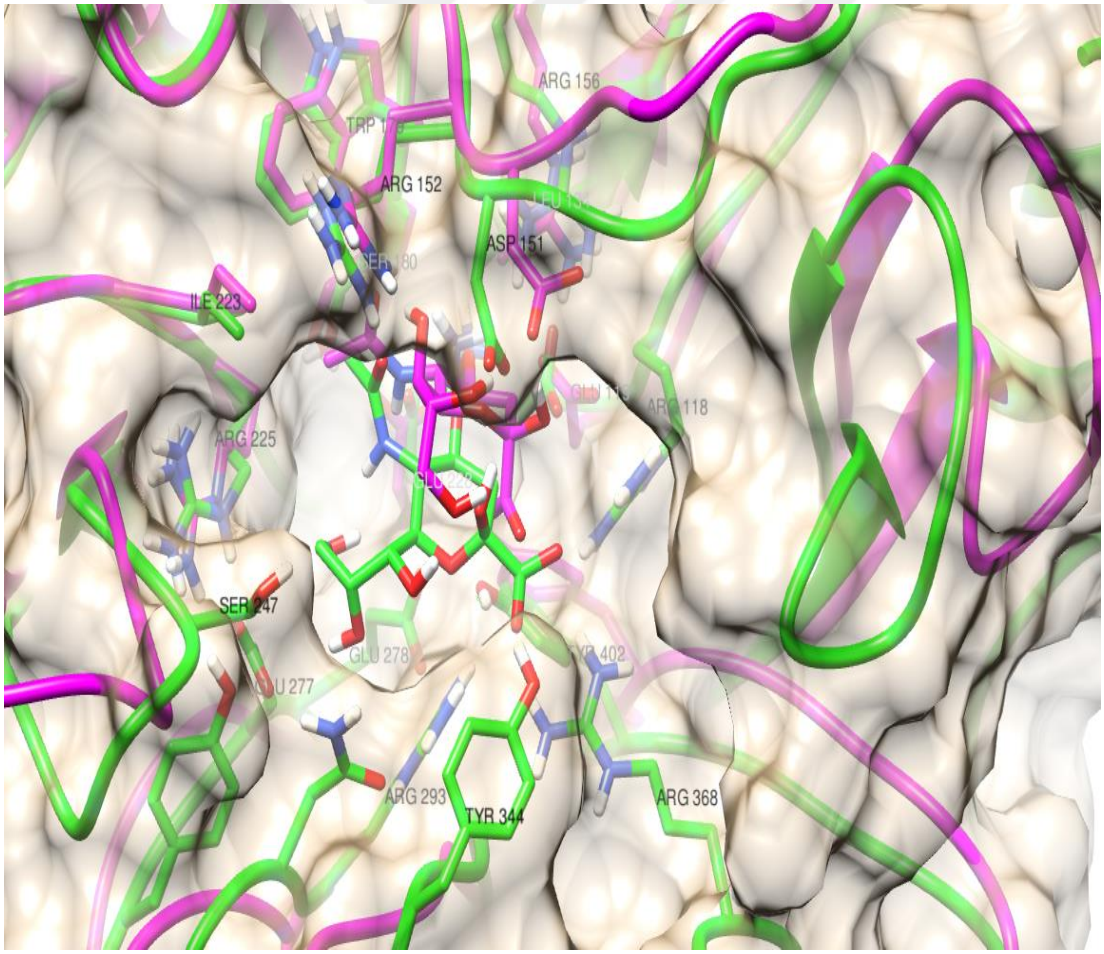
Şekil 4.213 4GZQ$_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



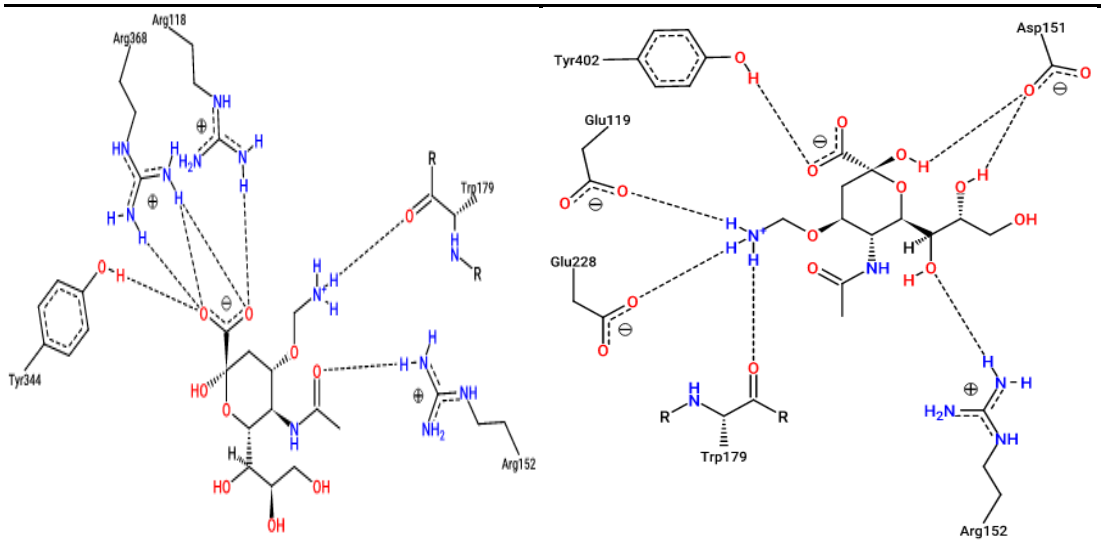
Şekil 4.214 3TIA$_{MT}$ proteinine d30 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,153 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.215'te gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{MT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinden 150 ilmeği ve 430 ilmeklerinin oyuktan dışa doğru biraz esnemiş hal aldığı görülmektedir.

Bu değişimin 150 ilmeği üzerinde bulunan amino asitlerin konformasyonunu pek etkilemediği, d30 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.216'da verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp179 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Arg152 amino asit artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Tyr402 artığı hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu, $-NH_3^+$ grubuyla Glu119, Glu228 ve Trp179 etkileşimlerinin o anda var olduğu görülmektedir.



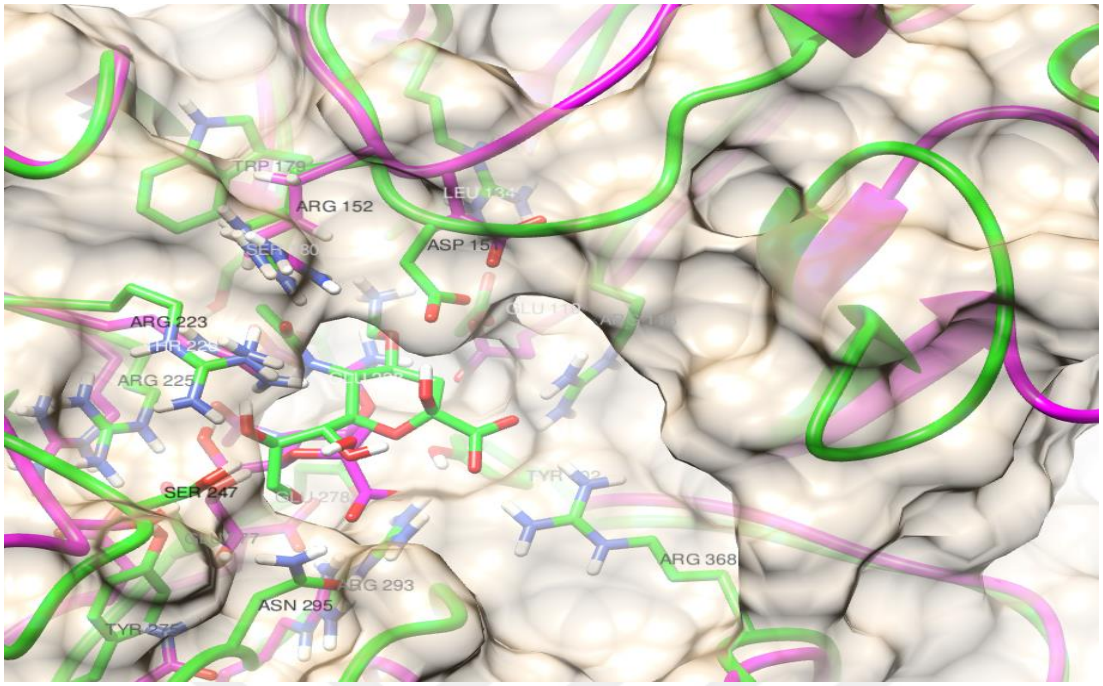
Şekil 4.215 $2HU4_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,153 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



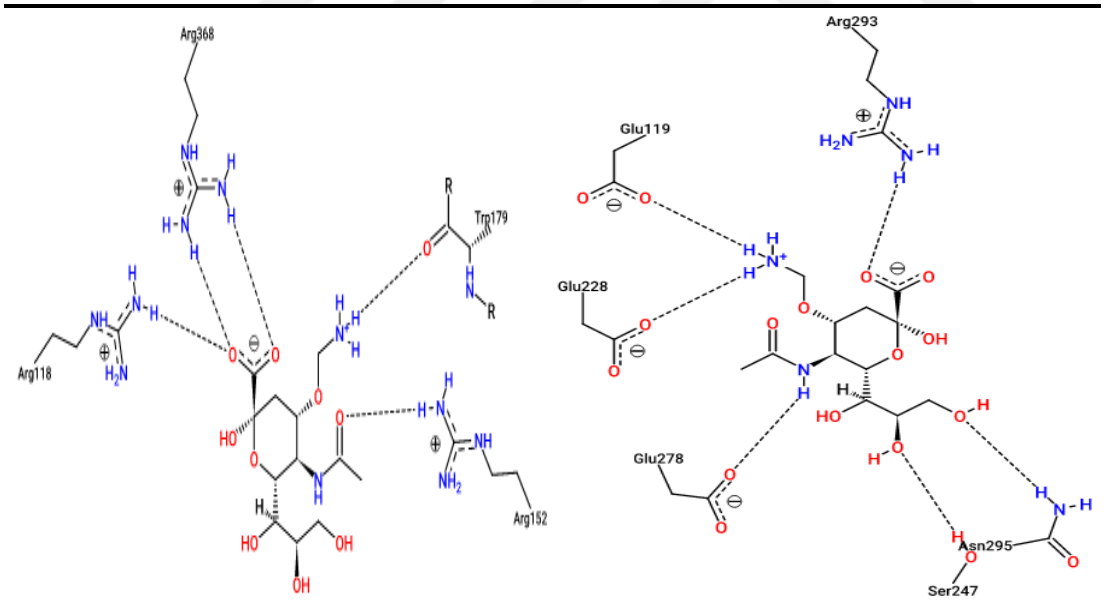
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.216 2HU4$_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

4B7R$_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,281 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.217'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde değişimler olduğu, reseptörde bulunan 150 ilmeği ve 430 ilmeğinin oyuktan dışa doğru genişlediği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.218'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın -COO$^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp179 artığının ligandın -NH_3^+ grubuyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı ile etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda Arg293 artığının -COO- ile Glu119, Glu228 artıklarının -NH_3^+ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



Şekil 4.217 4B7R$_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,281 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

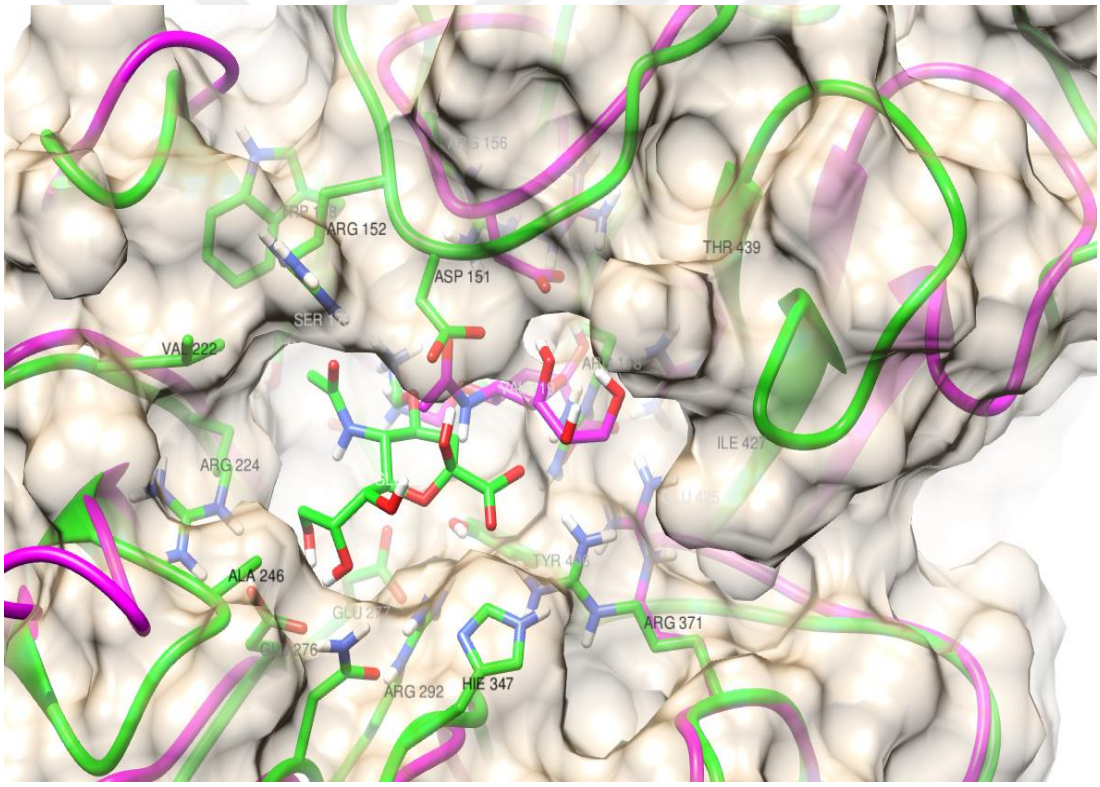


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

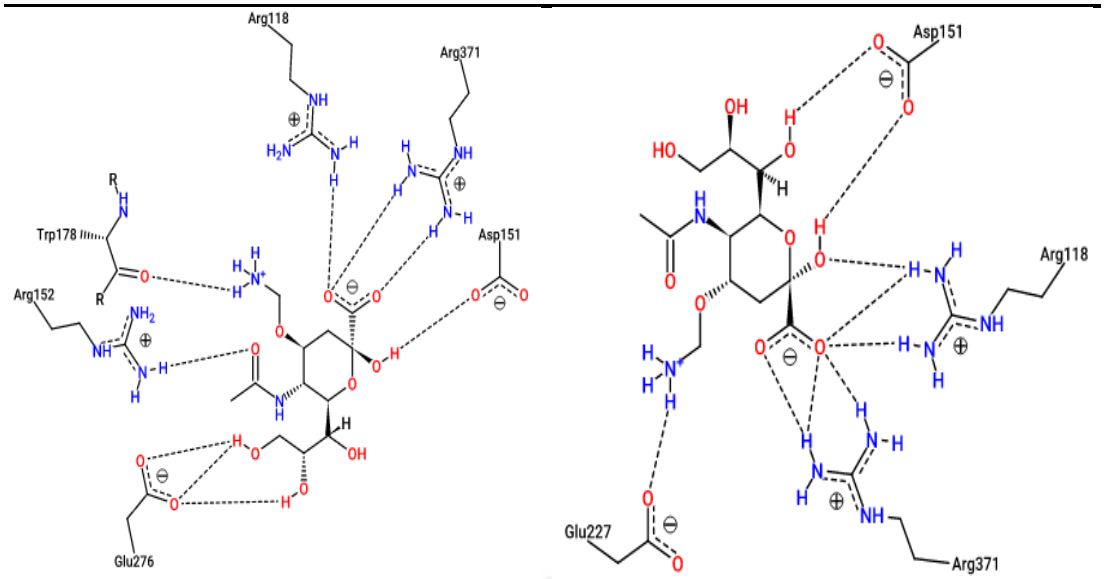
Şekil 4.218 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

4GZQ$_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,117 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.219'da gösterilmiştir.

Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde MD sırasındaki en düşük enerjili kompleks konformasyonunun olduğu anda değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.220'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp178 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Asp151 artığının -OH gruplarıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin -OH grubu ile hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu, Arg118 ve Arg371 artığının $-COO^-$ grubuyla, Glu227 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



Şekil 4.219 $4GZQ_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,117 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).

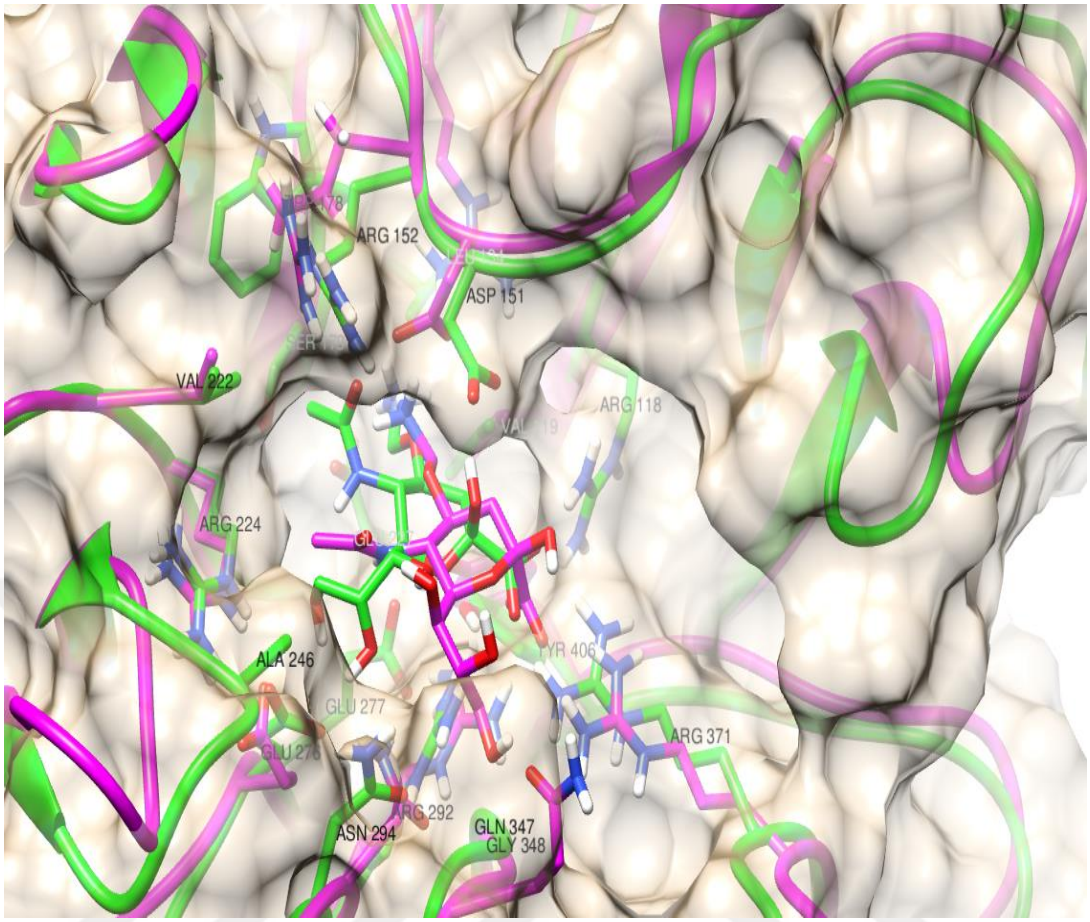


Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler

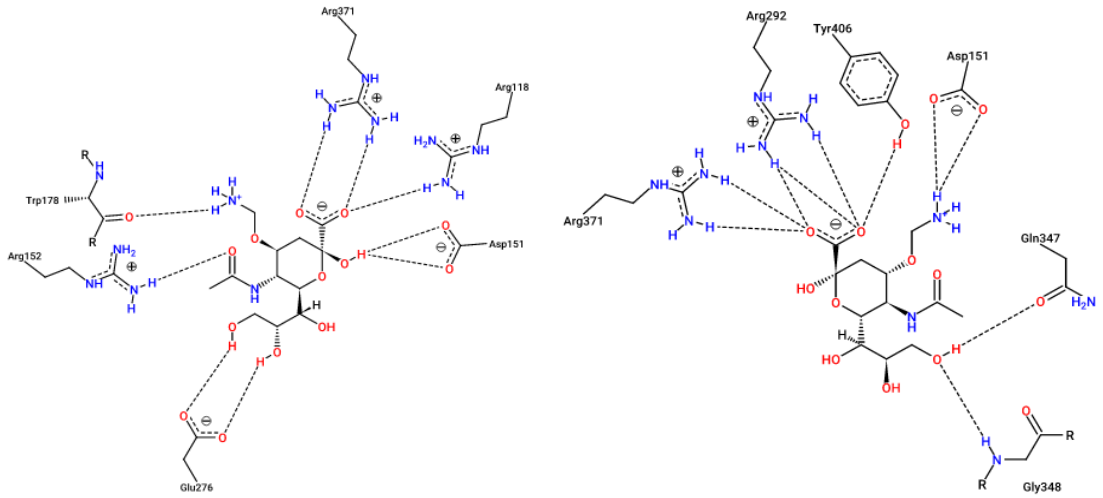
MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.220 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,030 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.221'de gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel değişimlerin nispeten daha az görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.222'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Trp178 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Asp151 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 ve Arg371 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşim yaptığı görülmektedir.



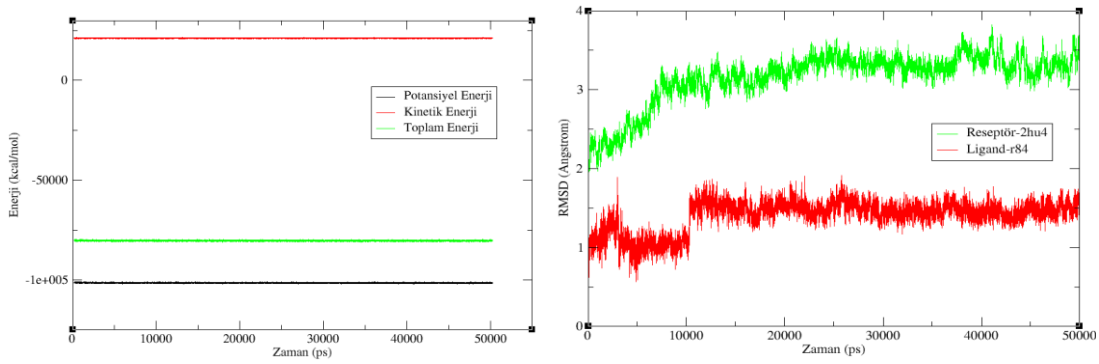
Şekil 4.221 $3TIA_{MT}$ proteinine d30 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,030 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



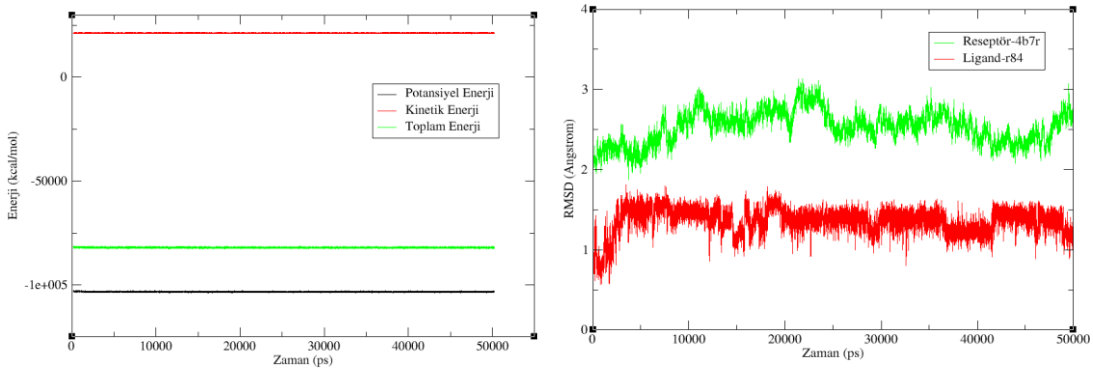
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.222 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve d30 ligandının etkileşimleri

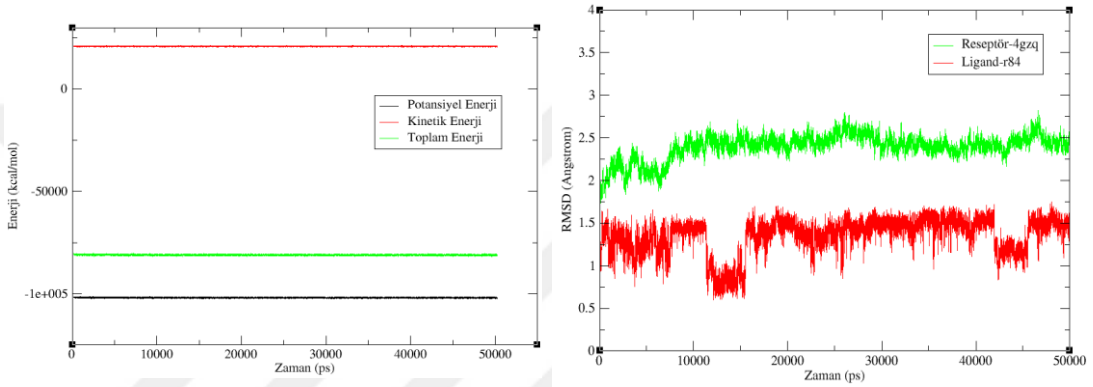
Tüm mutant olmayan tip proteinlere r84 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.223-4.226'da verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.223'te RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin 3,5 Å civarında stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.224'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra genelde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.225'te RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin az bir yükselmeden sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de genelde 1,5 Å civarında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.226'da RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{WT}$ reseptörü RMSD değerinin önce çok az yükseldiği sonra stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de keskin bir yükselmeden sonra genelde stabil bir seyirde olduğu görülüyor.



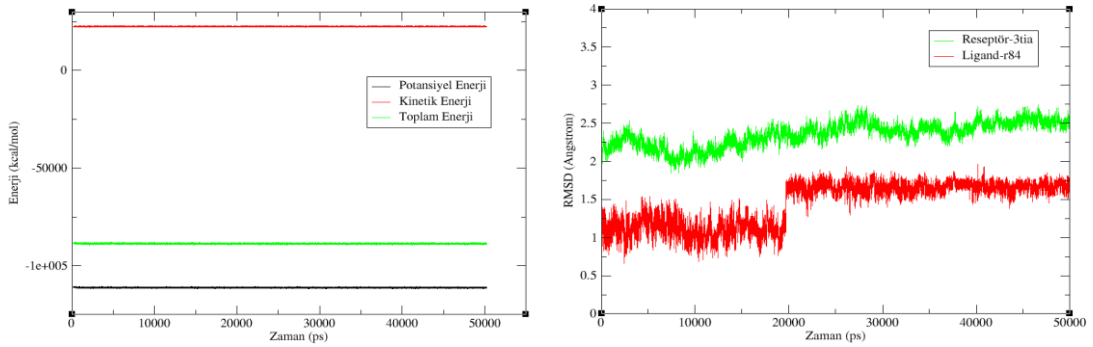
Şekil 4.223 $2HU4_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.224 4B7R$_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



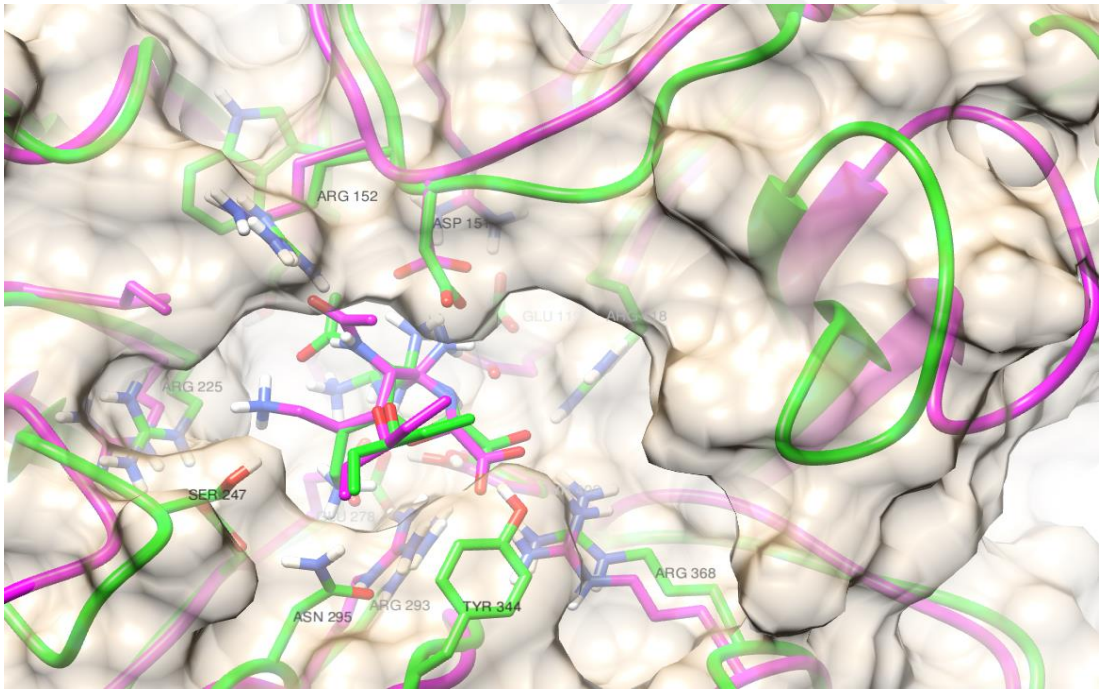
Şekil 4.225 4GZQ$_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



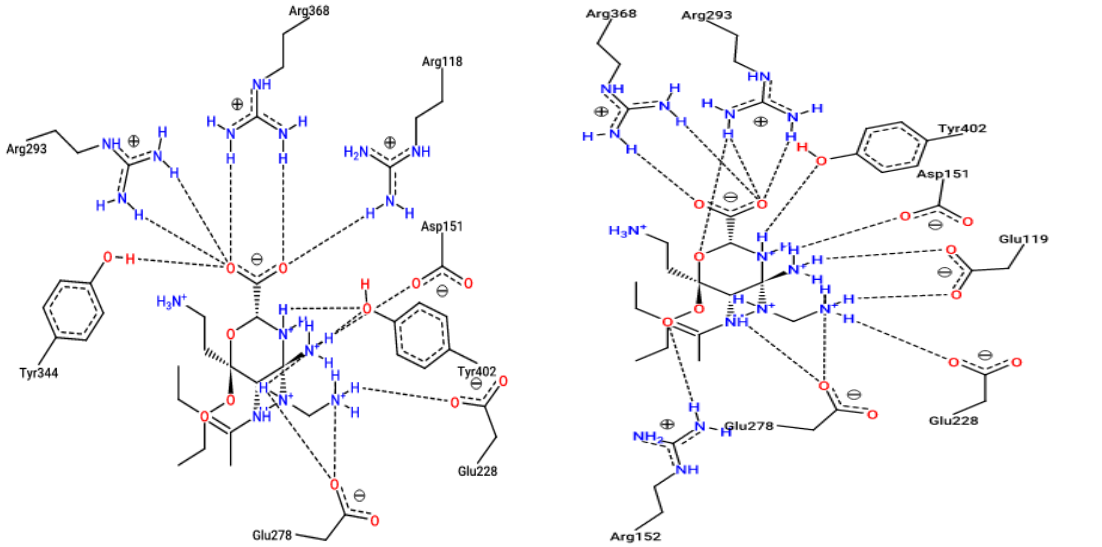
Şekil 4.226 3TIA$_{WT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

2HU4$_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 0,998 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.227'de gösterilmiştir. Şekilde 2HU4$_{WT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinin protein esnekliği kapsamında biraz değişiklik olduğu görülmektedir. r84 ligandının ligandın

oyukta konumlanmasının çok az farklılaştığı görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.228'de verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. MD başlangıcında Arg118, Arg293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın -COO^- grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Asp151 artığının ligandın -NH_3^+ grubuyla, Tyr402 artığının halkada bulunan amin grubuyla, Glu228 ve Glu278 artıklarının -NH_3^+ grubuyla, Arg152 amino asit artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın -COO^- grubu ile Arg293 ve Arg368 artıkları tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimlerinin var olduğu, -NH_3^+ grupları ile Glu119, Glu228 ve Glu278 tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimlerinin, Arg152 amino asit artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu var olduğu görülmektedir.



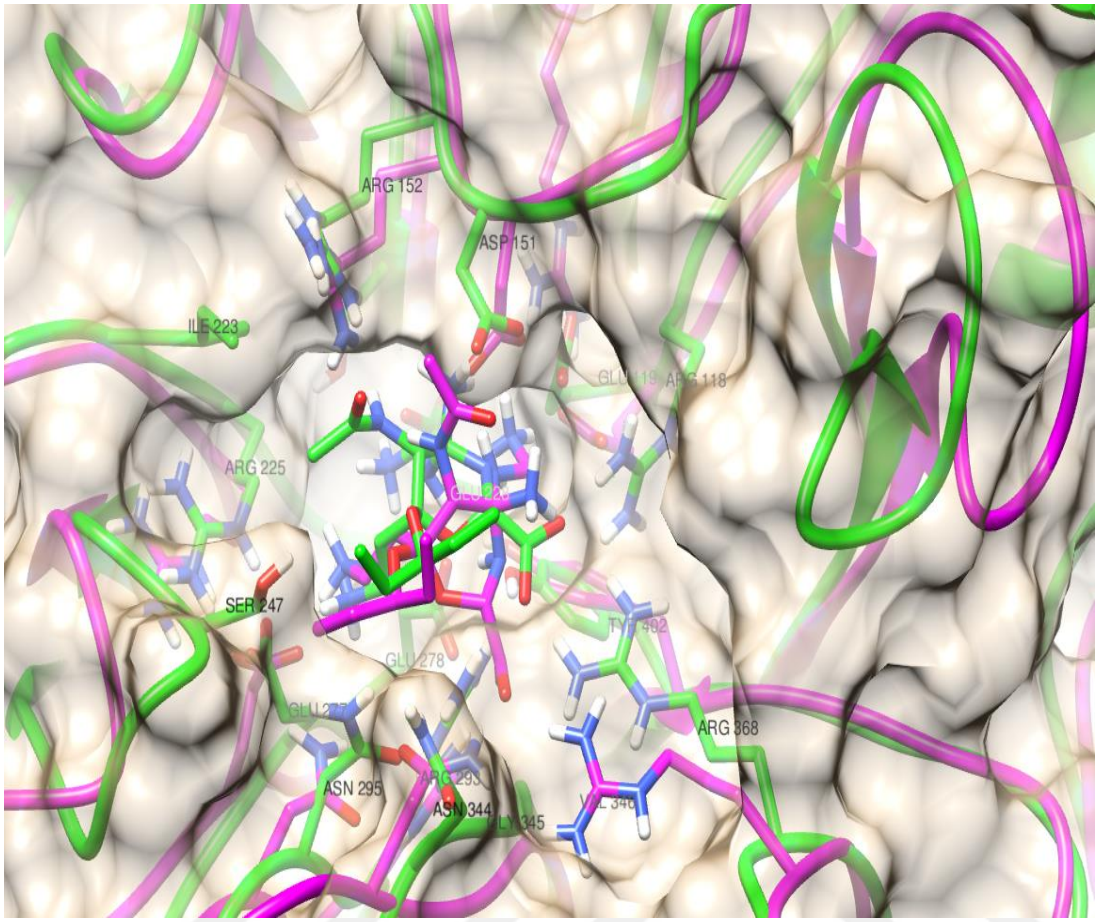
Şekil 4.227 $2HU4_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=0,998 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



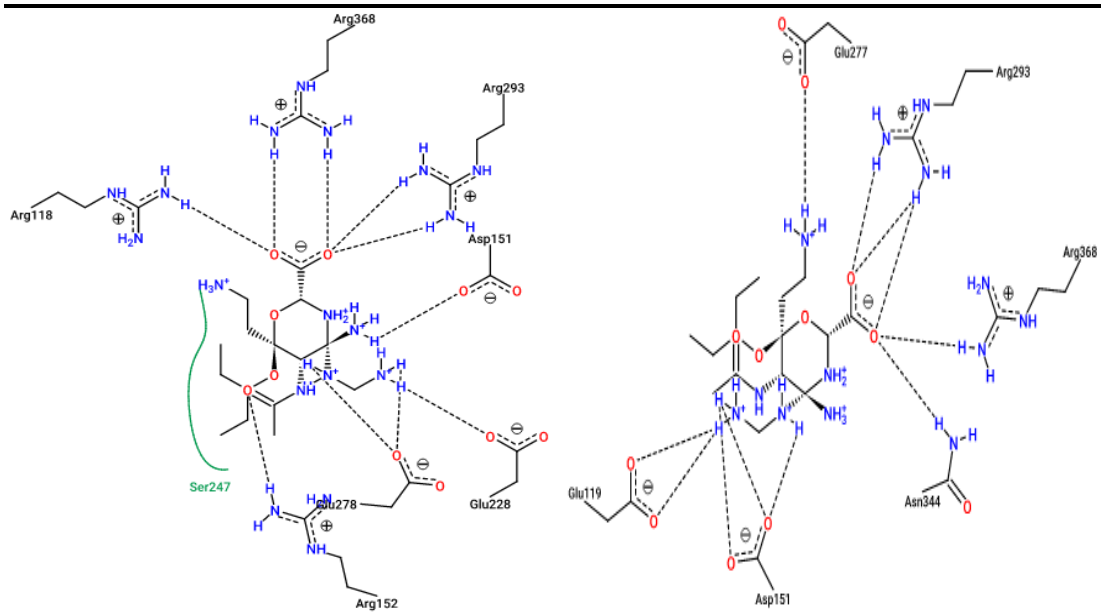
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.228 $2HU4_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,341 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.229'da gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde nisbeten az değişimler olduğu görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.230'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg293 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Asp151, Glu228 artıklarının ligandın $-NH_3^+$gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda Asn344 artığının $-COO^-$ ile, Glu119, Glu277 artıklarının $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



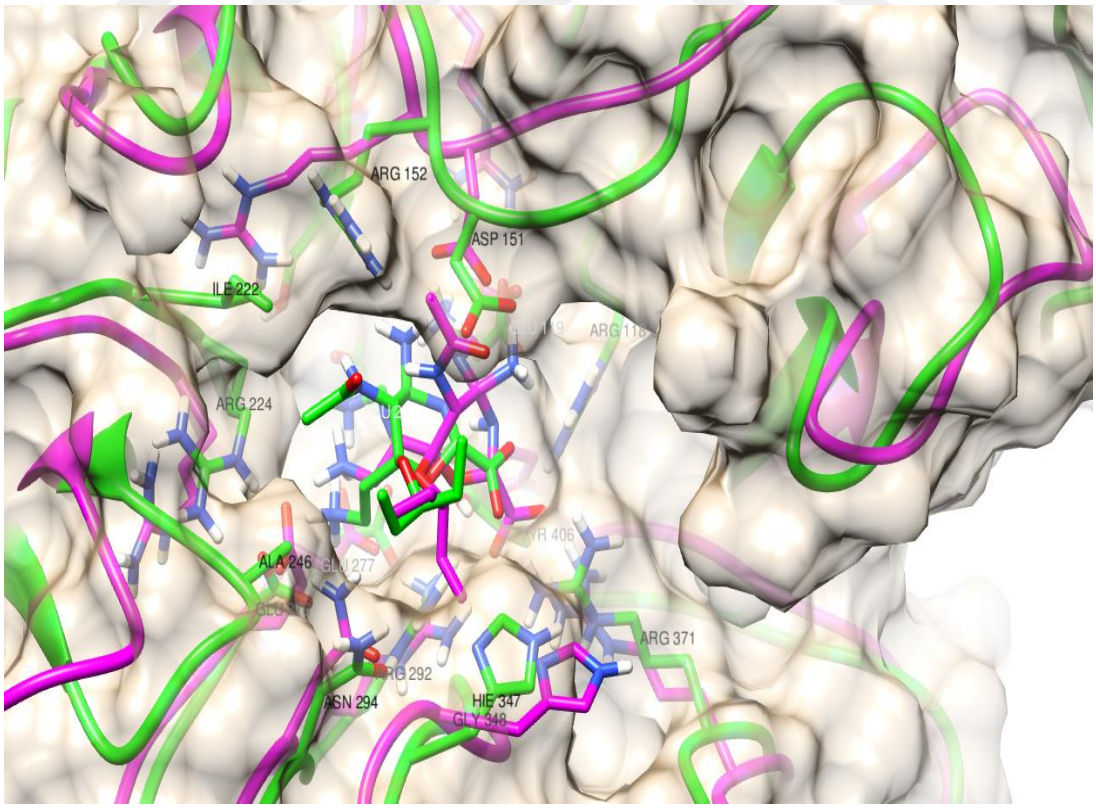
Şekil 4.229 4B7R$_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,341 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



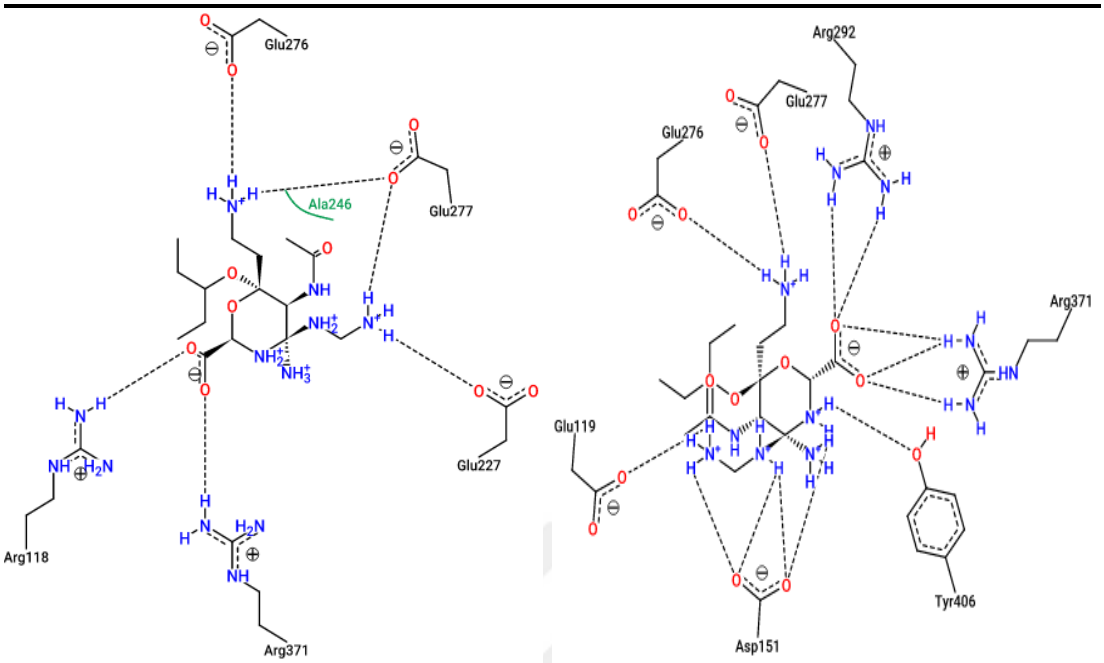
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.230 4B7R$_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,225 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.231'te gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda azda olsa konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.232'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Glu227, Glu277 ve Glu278 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu276 ve Asn294 aminoasidinin -OH grubu ile hidrojen bağı vasıtasıyla etkileşimde olduğu, Arg292 artığının $-COO^-$ grubuyla, Asp151 ve Glu119 artıklarının $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



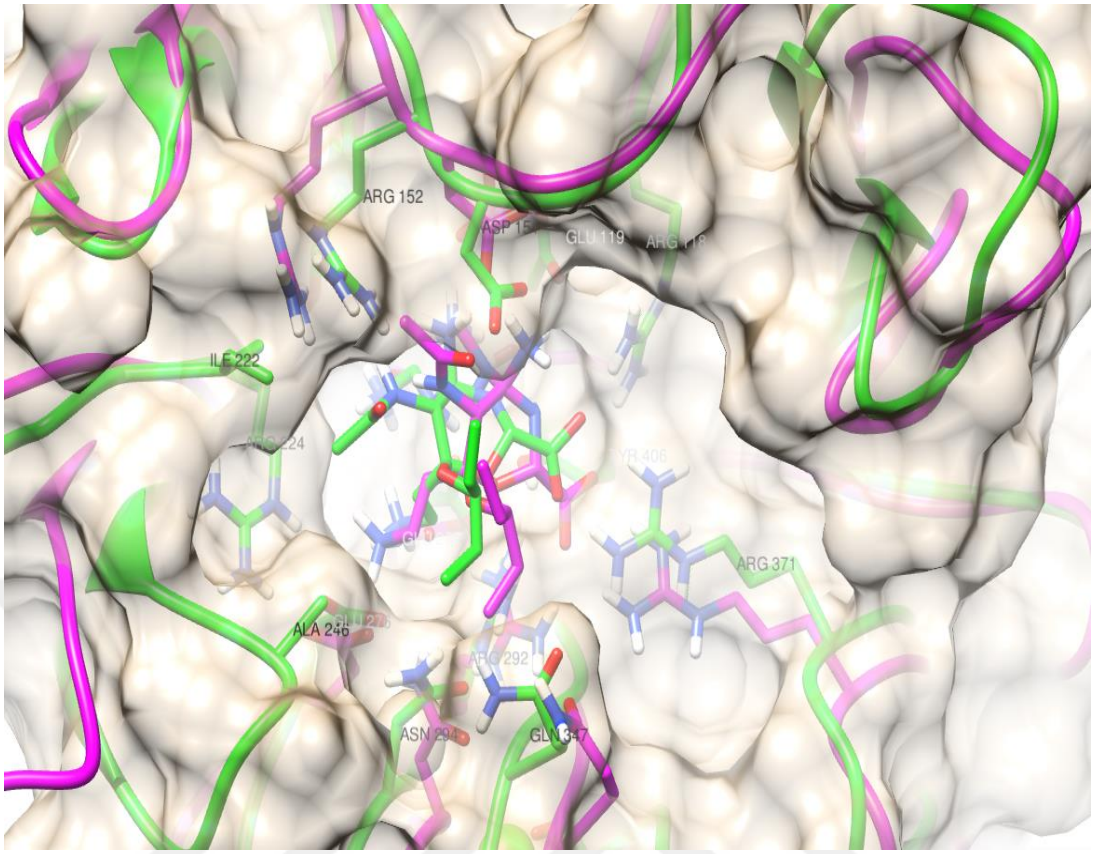
Şekil 4.231 $4GZQ_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,225 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



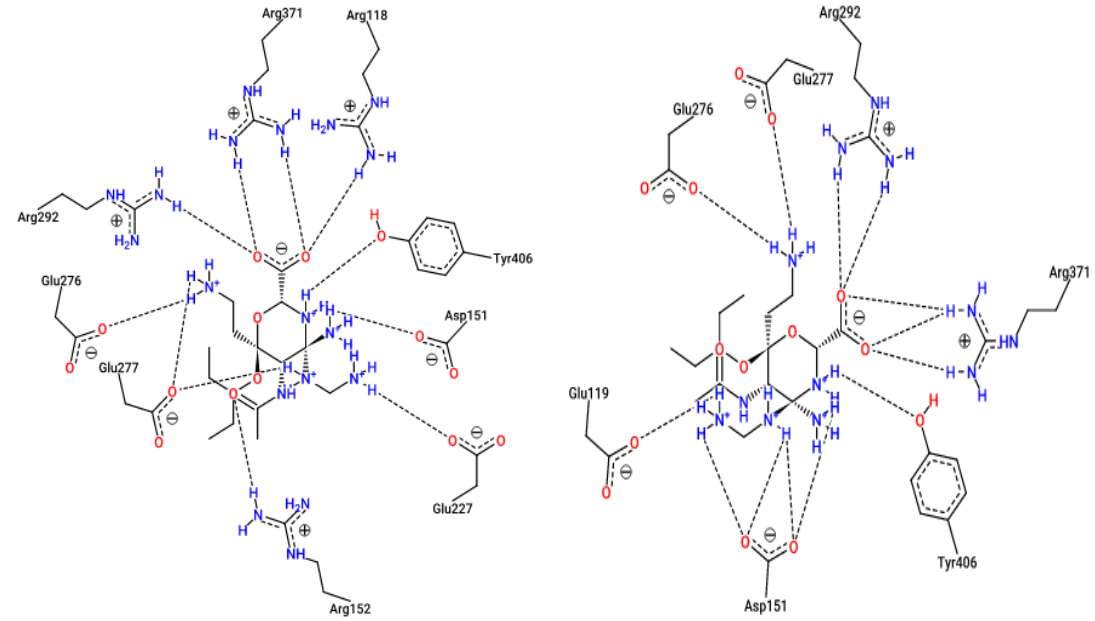
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.232 $4GZQ_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,276 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.233'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{WT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sonucunda konformasyonel az da olsa konformasyonel değişimlerin görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.234'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Glu227, Glu276, Glu277 artığının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu119, Glu227 ve Glu277 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 ve Arg371 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşim yaptığı görülmektedir.



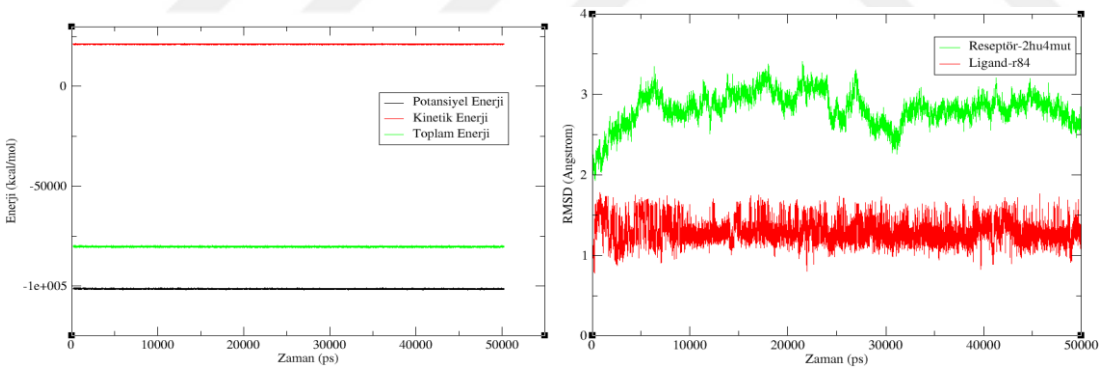
Şekil 4.233 3TIA$_{WT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,276 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir).



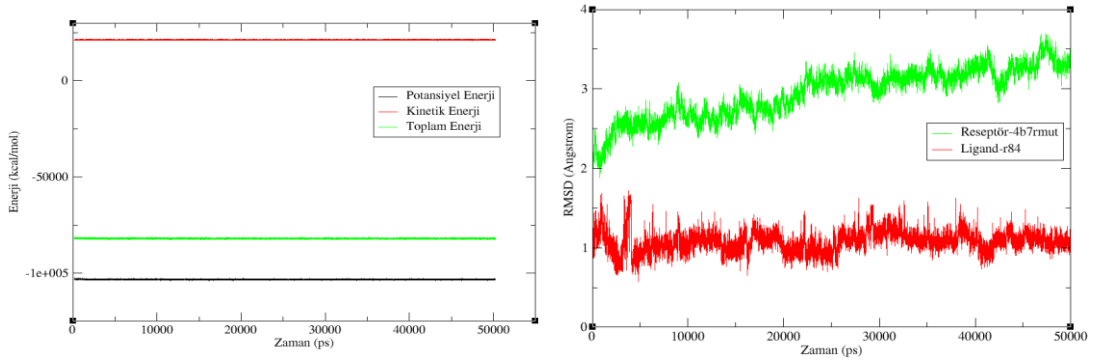
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.234 3TIA$_{WT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

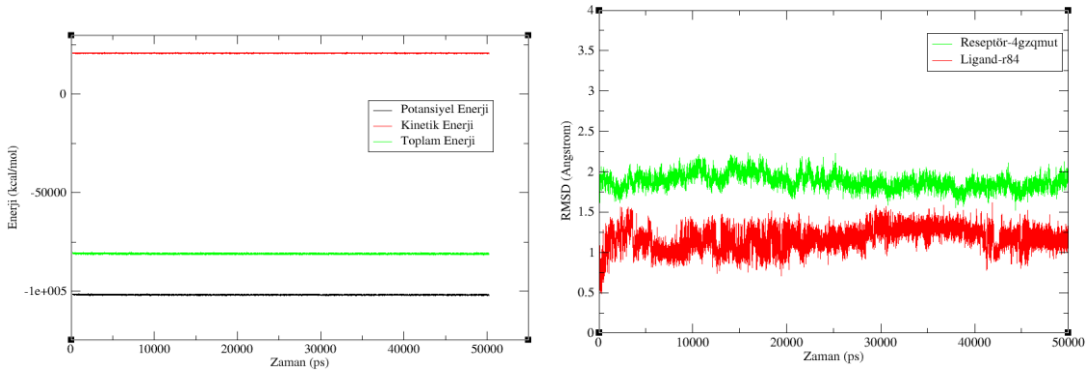
$2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle elde edilen kompleksin zamana karşı enerji ve RMSD değişimleri Şekil 4.235-4.238'de verilmiştir. Bu şekillerin hepsinde enerji-zaman grafiklerinde potansiyel enerji değerinin düşerek stabil hale geldiği ve toplam enerjinin de negatif olduğu görülmektedir. Şekil 4.235'de RMSD grafiği dikkate alındığında $2HU4_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin önce yükseldiği sonra 3 Å civarında durağan bir hal aldığı görülmektedir. Ligand RMSD değerinin de önce yükseldiği sonra stabil hale geldiği görülmektedir. Şekil 4.236'da RMSD grafiği dikkate alındığında $4B7R_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin yükseldiği sonra nisbeten stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin genelde stabil olduğu görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.237'de RMSD grafiği dikkate alındığında $4GZQ_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin genelde stabil bir hal aldığı görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de genelde 1,5 Å civarında seyrettiği görülüyor. Bu da yapının kararlı bir hale ulaştığını göstermektedir. Şekil 4.238'de RMSD grafiği dikkate alındığında $3TIA_{MT}$ reseptörü RMSD değerinin genelde stabil olduğu görülmektedir. Ligandın ise RMSD değerinin de biraz yükselmeden sonra genelde stabil bir seyirde olduğu görülüyor.



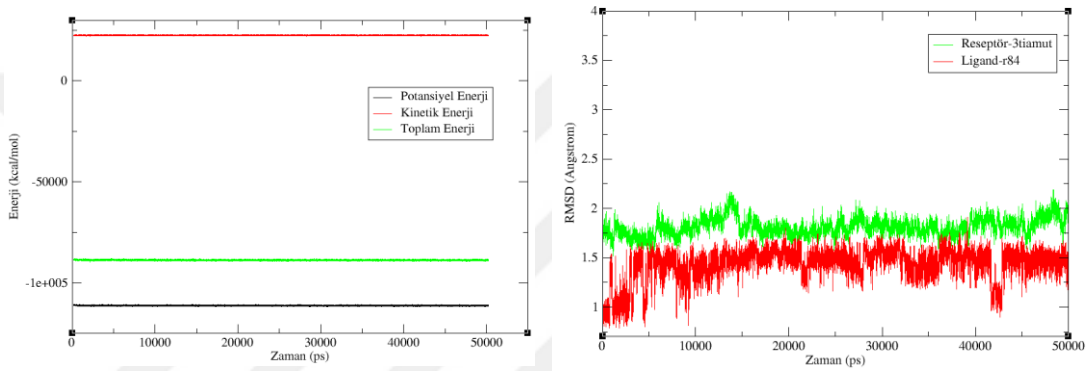
Şekil 4.235 $2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



Şekil 4.236 $4B7R_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi

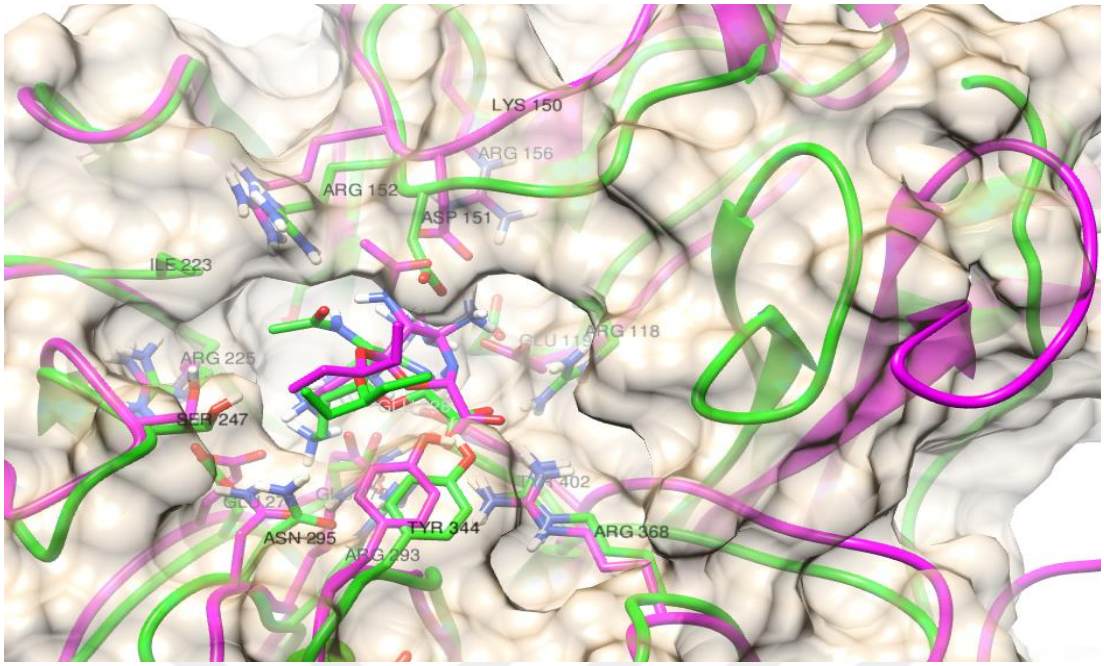


Şekil 4.237 $4GZQ_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi



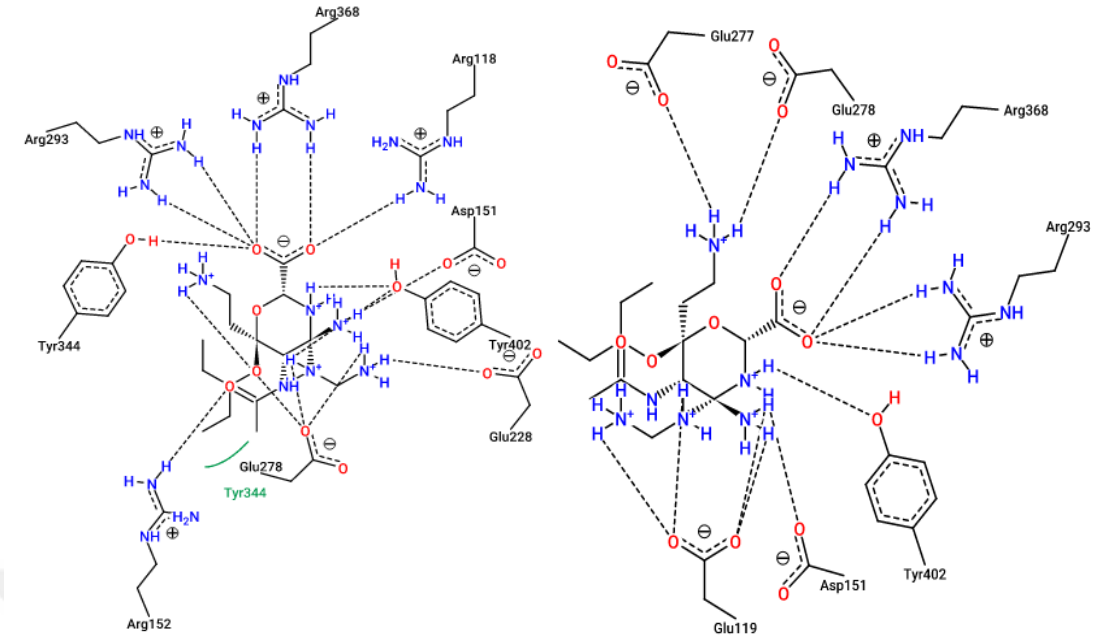
Şekil 4.238 $3TIA_{MT}$ proteinine r84 ligandının kenetlenmesiyle oluşan kompleksin MD hesaplamaları sonucu zamana karşı enerji (sol) ve RMSD (sağ) değişimi.

$2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleks ile bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonu üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,094 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.239'da gösterilmiştir. Şekilde $2HU4_{MT}$ kodlu reseptörün MD sırasında oluşan en düşük enerjili konformasyonda MD başlangıcındaki konformasyonuna göre katalitik bölgeyi saran ilmeklerinin konformasyonunda değişiklik olduğu görülmektedir. r84 ligandının ligandın oyukta konumlanmasının biraz farklılaştığı görülmektedir.



Şekil 4.239 $2HU4_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,094 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)

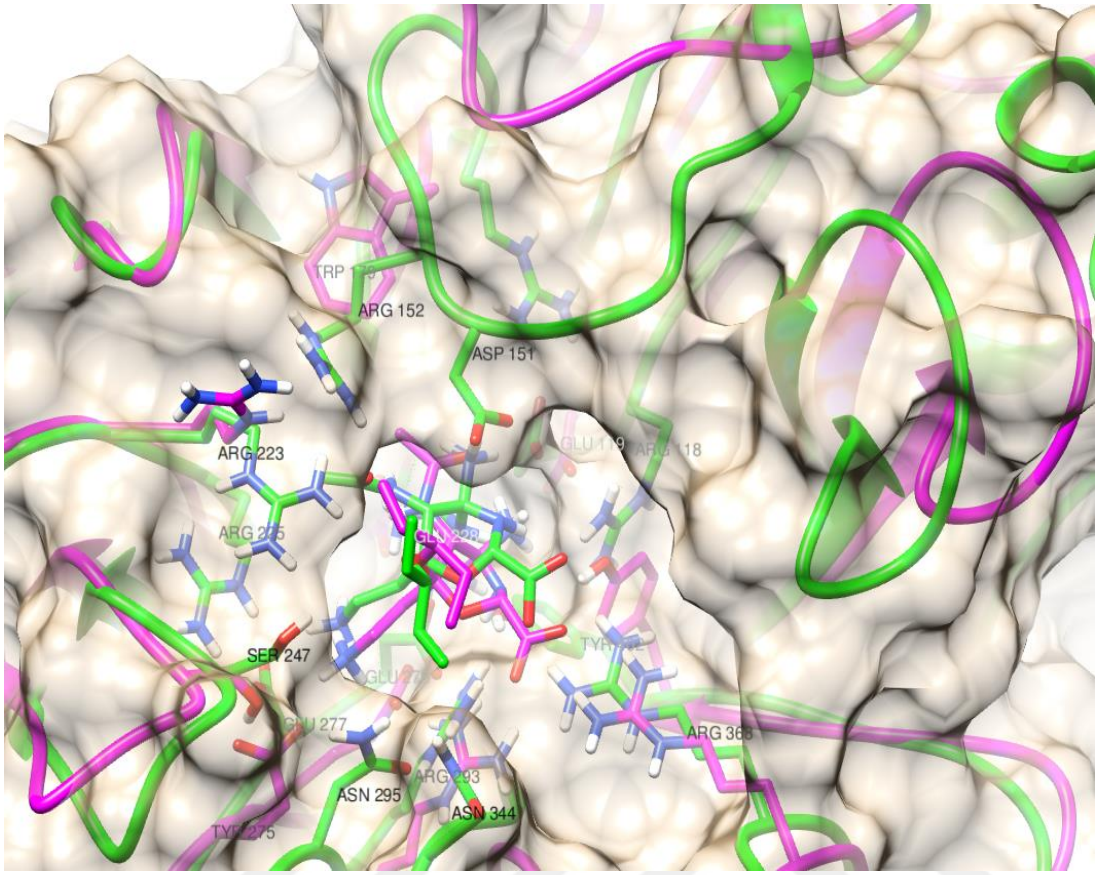
Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.240'ta verilmiştir. Bu şekilde ise MD başlangıcında ligand ile reseptör arasında bulunan etkileşimlerin MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da korunduğu görülmektedir. Görseller bize MD başlangıcında Arg118, Arg293, Arg368 ve Tyr344 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Asp151 artığının ligandın $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Tyr402 artığının halkada bulunan amin grubuyla hidrojen bağı, Glu228 ve Glu278 artıklarının $-NH_3^+$ grubuyla tuz köprüsü, Arg152 amino asit artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğu ve MD süresince oluşan en düşük enerjili kompleks konformasyonunda da ise ligandın $-COO^-$ grubu ile Arg293 ve Arg368 artıklarının tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimlerinin olduğu, $-NH_3^+$ grupları ile Asp151, Glu119, Glu228 ve Glu278 hidrojen bağı ve tız köprüsü etkileşimlerinin olduğu görülmektedir.



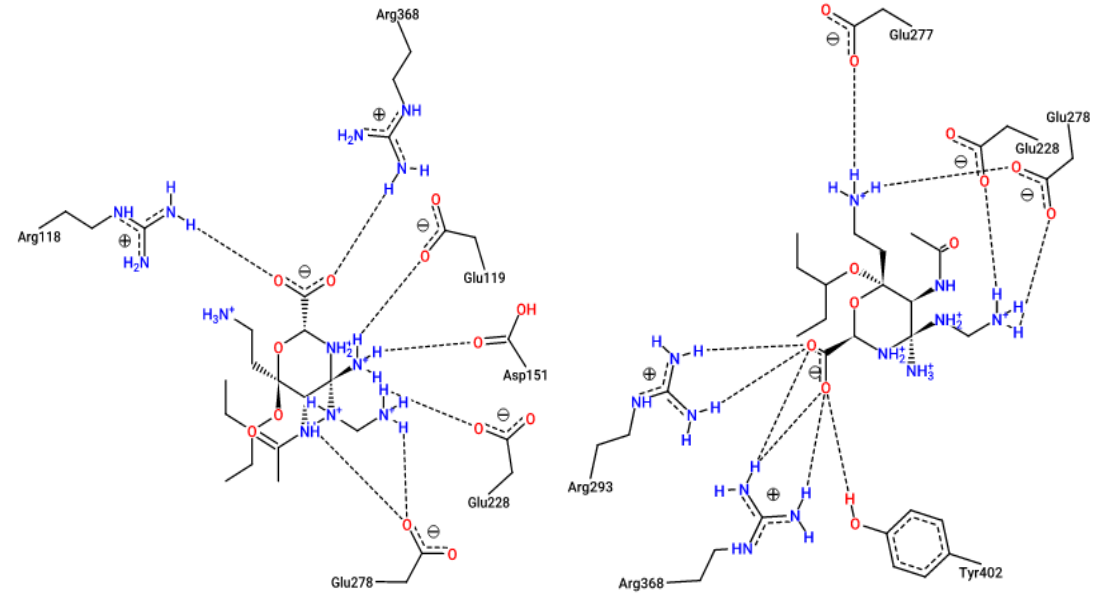
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.240 $2HU4_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$4B7R_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,236 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.241'de gösterilmiştir. Şekilde 4B7R kodlu reseptörün MD simülasyonda en düşük enerjili konformasyon anında aktif oyuğu saran zincir ilmeklerinde değişmeler olduğu görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.242'de verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg368 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Asp151, Glu228, Glu278 artıklarının ligandın $-NH_3^+$gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu, MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda Arg293 ve Tyr402 artığının $-COO^-$ ile hidrojen bağı, Glu228, Glu277, Glu278 artıklarının $-NH_3^+$ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimde olduğu görülmektedir.



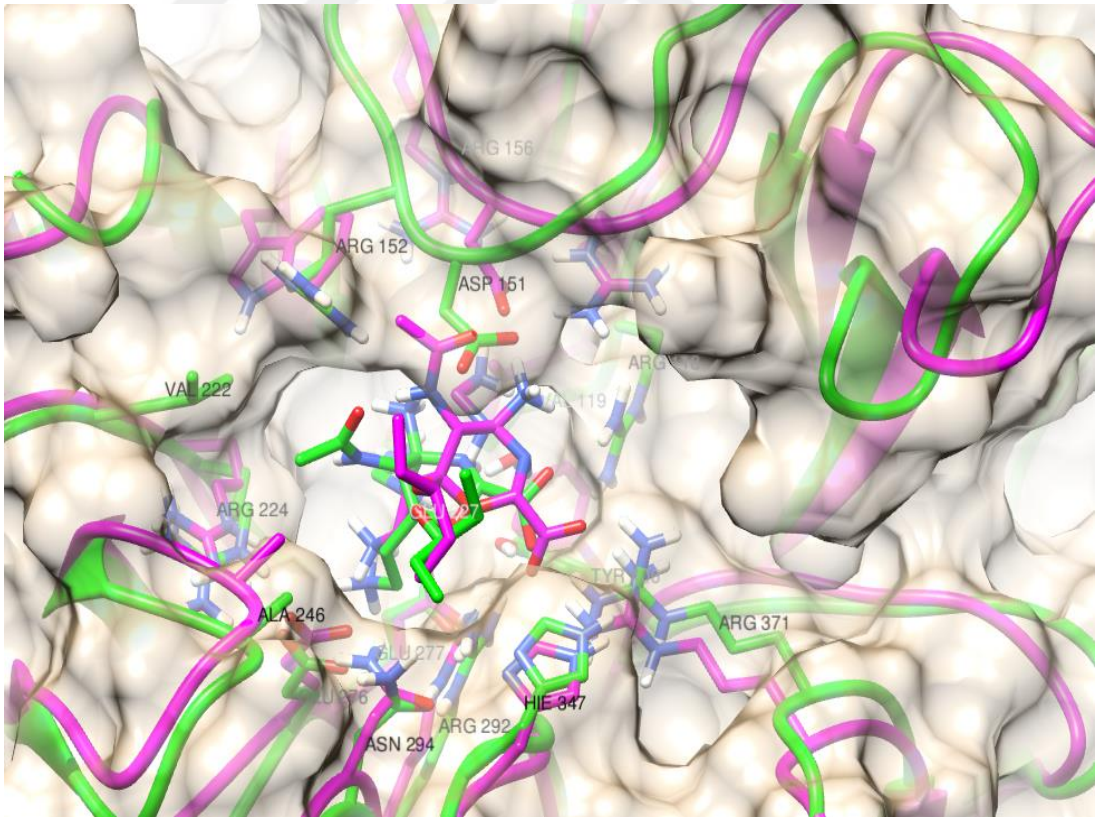
Şekil 4.241 4B7R$_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,236 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



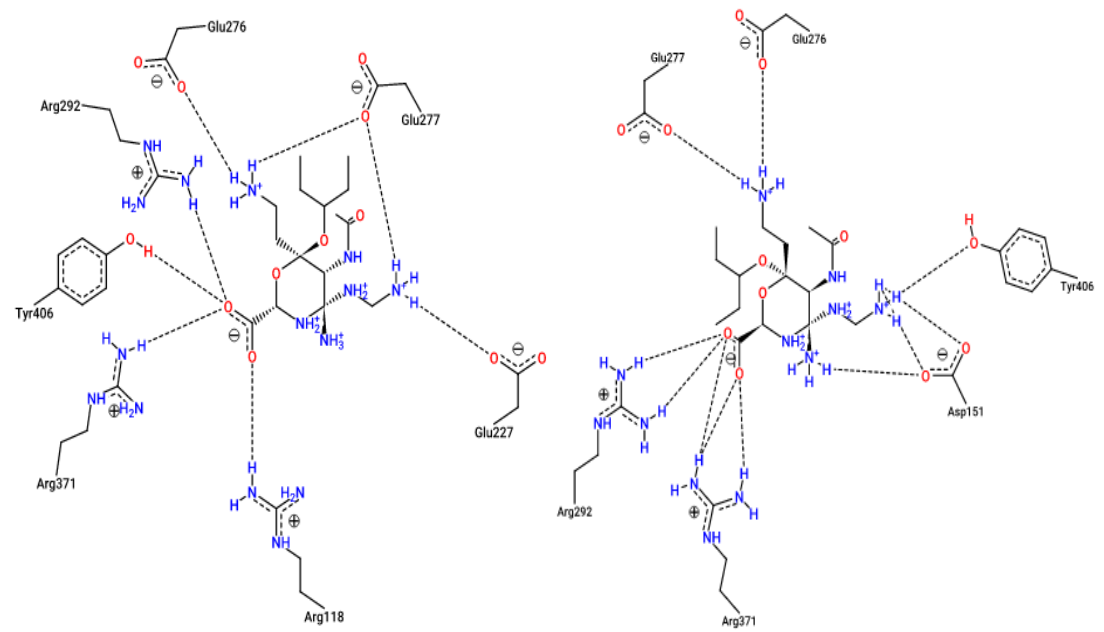
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.242 4B7R$_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$4GZQ_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan kompleksteki başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,176 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.243'te gösterilmiştir. Şekilde $4GZQ_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda azda olsa konformasyonel değişimlerin gerçekleştiği görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.244'te verilmiştir. MD başlangıcında Arg118, Arg292, Arg371ve Tyr406 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Glu227, Glu276 ve Glu277 amino asit artıklarının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Arg292 ve Arg371 artıklarının $-COO^-$ grubuyla, Asp151, Glu276, Glu277 ve Tyr406 artıklarının $-NH_3^+$ gruplarıyla hidrojen bağı ve tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşiminin olduğu görülmektedir.



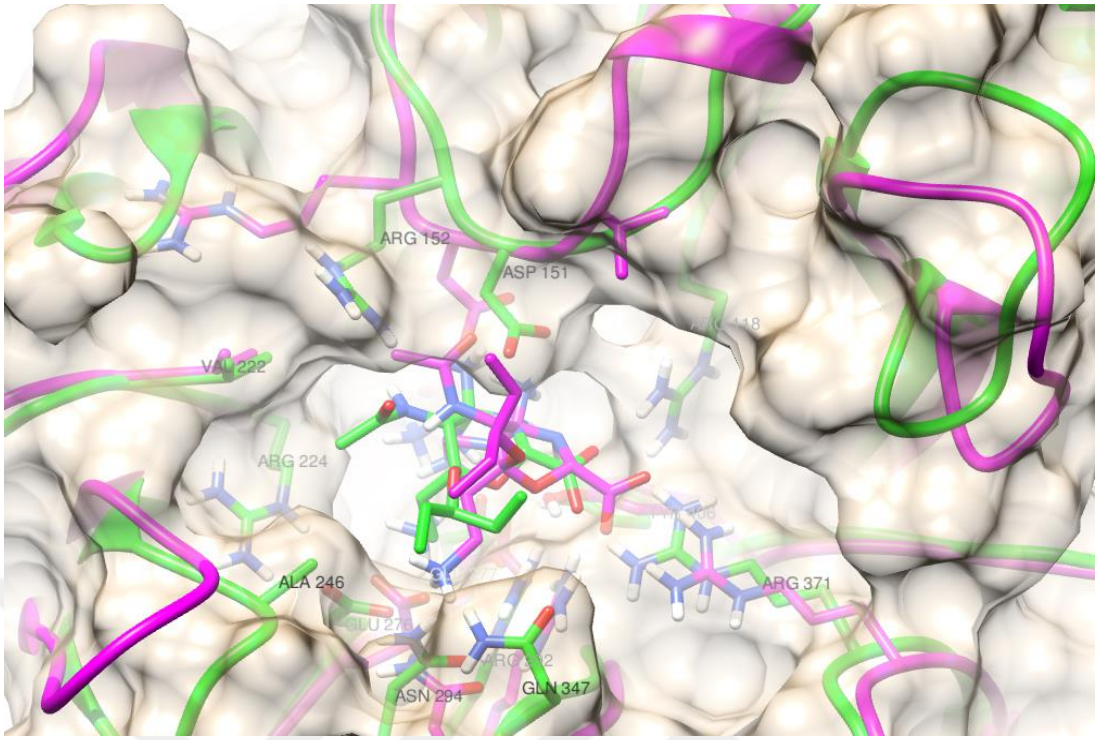
Şekil 4.243 $4GZQ_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,176 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



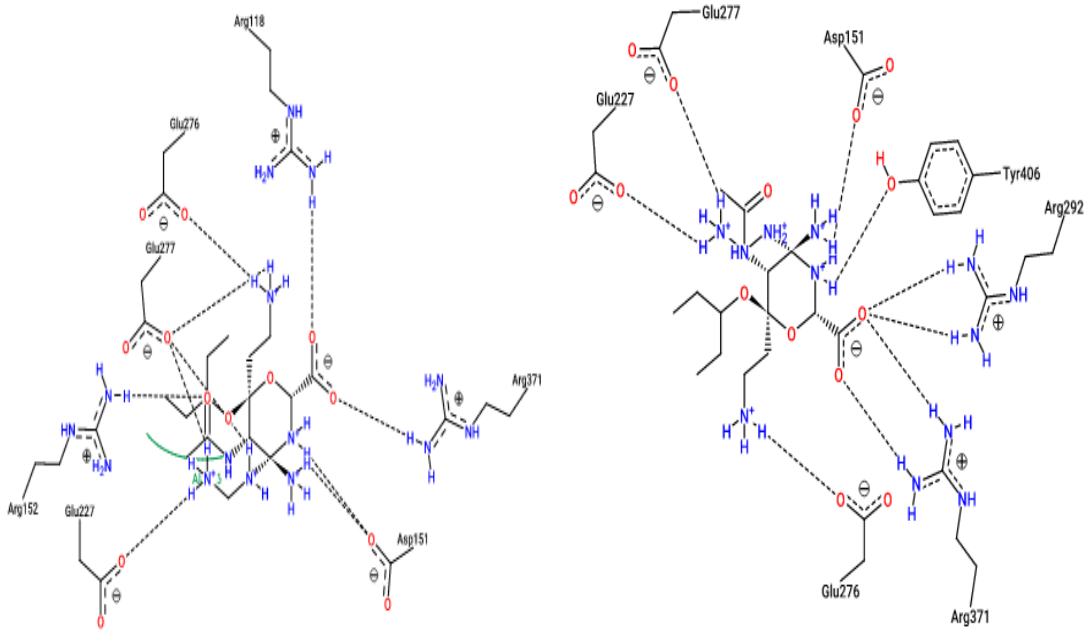
Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.244 $4GZQ_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

$3TIA_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesiyle oluşan komplekstekı başlangıç konformasyonu, bu kompleksin MD hesaplamaları sonucu elde edilen en düşük enerjili yapılarından birisindeki konformasyonunun üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1,194 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.245'te gösterilmiştir. Şekilde $3TIA_{MT}$ kodlu reseptörün aktif oyuğu etrafındaki ilmeklerde moleküler dinamik sırasındaki en düşük enerjili konformasyonun oluştuğu anda az da olsa konformasyonel değişimlerin olduğu görülmektedir. Bu komplekslerin reseptör-ligand etkileşimleri ise Şekil 4.246'da verilmiştir. MD başlangıcında Arg118 ve Arg371 amino asit artıklarının ligandın $-COO^-$ grubuyla, Glu227, Glu276, Glu277 artığının ligandın $-NH_3^+$ gruplarıyla tuz köprüsü vasıtasıyla, Arg152 amino asiti guanidyum artığının ise ligandın -NHAc grubu ile hidrojen bağı etkileşiminin olduğunu ancak MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonda Glu119, Glu227 ve Glu277 aminoasidinin $-NH_3^+$ grubu ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşimi varken Arg152 etkileşiminin olmadığı, Arg292 ve Arg371 amino asit artığının ise $-COO^-$ ile tuz köprüsü vasıtasıyla etkileşim yaptığı görülmektedir.



Şekil 4.245 $3TIA_{MT}$ proteinine r84 ligandının yerleştirilmesi sonucu elde edilen kompleks (yeşil) ve bu kompleksin MD hesaplamaları süresince elde edilen en düşük potansiyel enerji değerine tekabül eden kompleksin (mor) üst üste çakışma görüntüsü (RMSD=1,194 Å) (Gösterilen yüzey yeşil renkli MD başlangıç konformasyonuna aittir)



Reseptör ve ligand arasında dock işlemi sonucunda (MD başında) oluşan etkileşimler	MD minimum enerjili konformasyonda reseptör ve ligand arasında etkileşimler

Şekil 4.246 $3TIA_{MT}$ reseptörü ve r84 ligandının etkileşimleri

4.4. MM-PB(GB)/SA Hesaplamaları

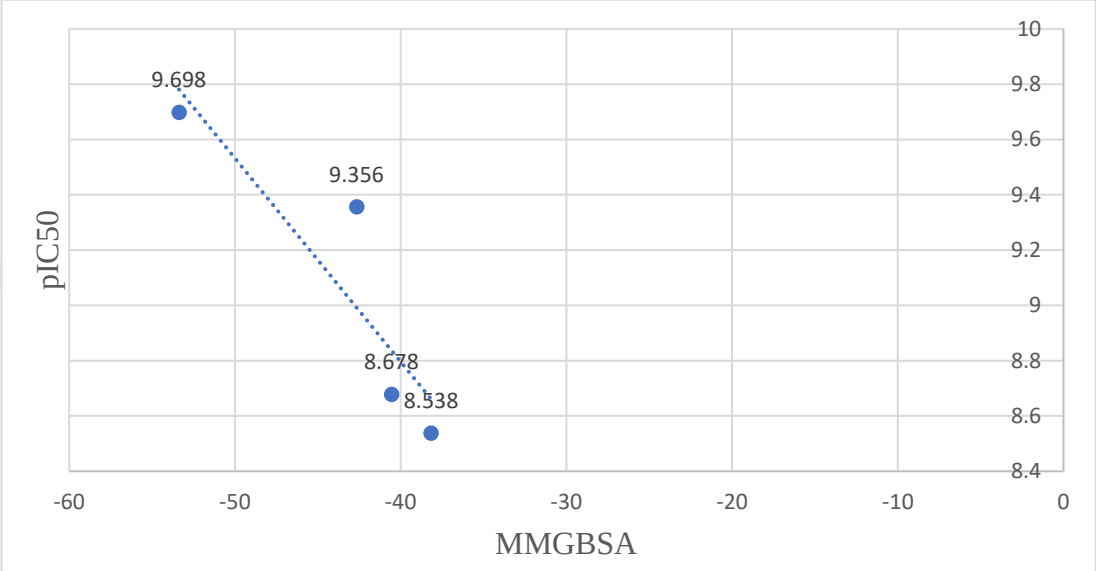
4.4.1. Ligandların Bağlanma Serbest Enerjileri Bulguları

Ligandların Dock6 programı ile reseptörlerin katalitik öz bölgesine yerleştirilmesi ile hazırlanan komplekslerin MD hesaplamaları sonucu moleküler mekanik-genelleştirilmiş Born yüzey alanı (molecular mechanics-generalized Born surface area -MM-GBSA) ve moleküler mekanik- Poisson Born yüzey alanı (molecular mechanics-Poisson Born surface area- MM-PBSA) ile bulunan bağlanma enerjileri, bu enerjilere elektrostatik ve van der Waals etkileşimlerinin katkısı EK 8'de verilmiştir.

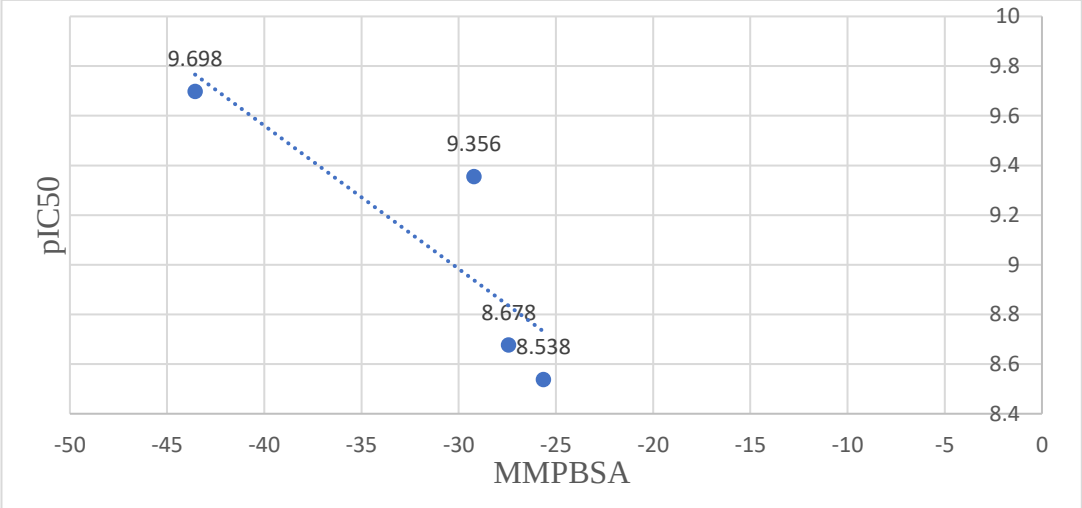
Oseltamivire ait MM-PB(GB)/SA ve pIC50 verileri Tablo 4.2'de verilmiştir. Bu verilere ait grafikler Şekiller 4.247-4.248'de gösterilmiştir. Tablo ve grafiklerin hazırlanması için literatürden OSC ligandına ait IC50 değerleri bulmak amacıyla literatür taraması yapılmış ancak 0,1'den 817 nanomolara kadar değişen değerlerle karşılaşılmıştır. Çalışmalarda IC50 sonuçlarının geniş sayı aralığında elde edilmiş olması çoğunlukla her bir çalışma grubunun farklı bir NA suşuyla ve bunların mutant proteinleriyle çalışmasından kaynaklanmaktadır. Bunlar içinde bu çalışmada kullandığımız proteinlerin soyu ile aynı soya sahip proteinlere ait IC50 değerleri bulunmaya çalışılmış ve bulunan değerler Tablo 4.2'de yazılmıştır. Bu tabloya ait grafiklerden (Şekiller 4.247-4.248) de anlaşılacağı üzere çalışmamızda bulduğumuz MM-PB(GB)/SA sonuçları deneysel IC50 değerleriyle uyumludur. pIC50 değeri büyük olan komplekslerin MM-PB(GB)/SA bağlanma serbest enerjileri sayısal değer olarak düşük olduğu görülmektedir.

Tablo 4.2 OSC ligandının bağlanma serbest enerjileri (MM-PB(GB)/SA) ve IC50 değerleri

Kompleks	MM/PBSA	MM/GBSA	IC50	pIC50	DOI-Referans
2HU4-OSC	-43,56	-53,375	0,20	9,698	10.1128/AAC.01667-08
4GZQ-OSC	-29,22	-40,549	0,44	9,356	10.1021/jm401492x
3TIA-OSC	-25.64	-42,652	0,79	8,538	10.1371/journal.ppat.1002249
4B7R-OSC	-27.43	-38,160	2,10	8,678	10.1021/acs.jmedchem.8b00929

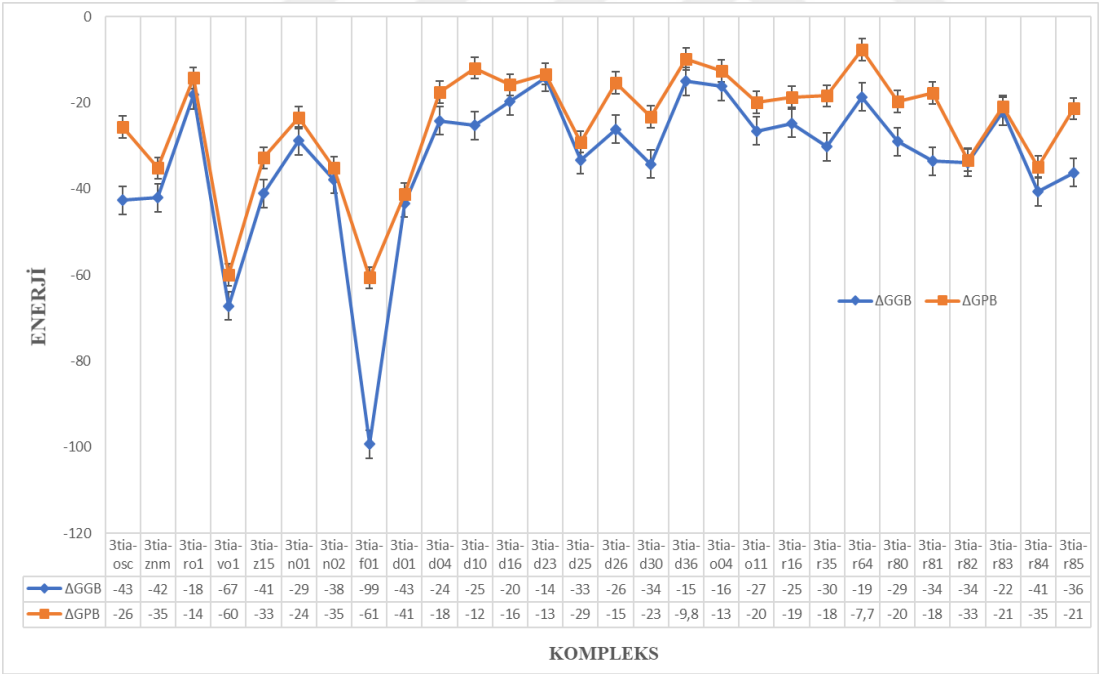


Şekil 4.247 OSC ligandının seçilen proteinlere yerleştirilmesiyle hazırlanan komplekslerin MD hesaplamaları sonucu kcal/mol cinsinden MM/GBSA ile bulunun bağlanma enerjilerine karşılık literatürden bulunan IC50 değerlerinin (nanomolar) eksi logaritması alınarak oluşturulan pIC50 değerlerinin grafiği



Şekil 4.248 OSC ligandının seçilen proteinlere yerleştirilmesiyle hazırlanan komplekslerin MD hesaplamaları sonucu kcal/mol cinsinden MM-PB/SA ile bulunan bağlanma enerjilerine karşılık literatürden bulunan IC50 değerlerinin (nanomolar) eksi logaritması alınarak oluşturulan pIC50 değerlerinin grafiği

Daha önce belirtildiği gibi tüm ligandların tüm reseptörlerle oluşturduğu komplekslerin MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamalarını yapmak kapsam ve zaman bakımından çalışmanın sınırlarını aşacağından önce FDA onaylı OSC ve ZMR moleküllerinin ve dock aşamasında diğer moleküllere göre nispeten daha başarılı bulunan ro1, vo1, z15, n01, n02, f01, d01, d04, d16, d23, d25, d26, d30, d36, o04, o11, d16, r35, r64, r80, r81, r82, r83, r84, r85 moleküllerinin 3TIA proteini ile MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapılmıştır. Ligandların önce 3TIA reseptörü ile oluşturduğu komplekslerin MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapılmış ve hesaplama skorları EK 8'de verilmiştir. Elde edilen bu skorların grafiğinden (Şekil 4.249) daha net görüleceği üzere bazı ligandların skorları halihazırda FDA onaylı ilaç olarak kullanılan OSC ve ZNM ligandlarıyla yarışabilecek değerdedir. Bu ligandlardan vo1, z15, n02, f01, d25, d30, r84 ligandları OSC ve ZNM ligandlarıyla birlikte diğer 3 reseptörle ve 4 mutant reseptörle oluşturduğu komplekslerin MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapılmış ve elde edilen skorlar EK 8'de sunulmuştur.

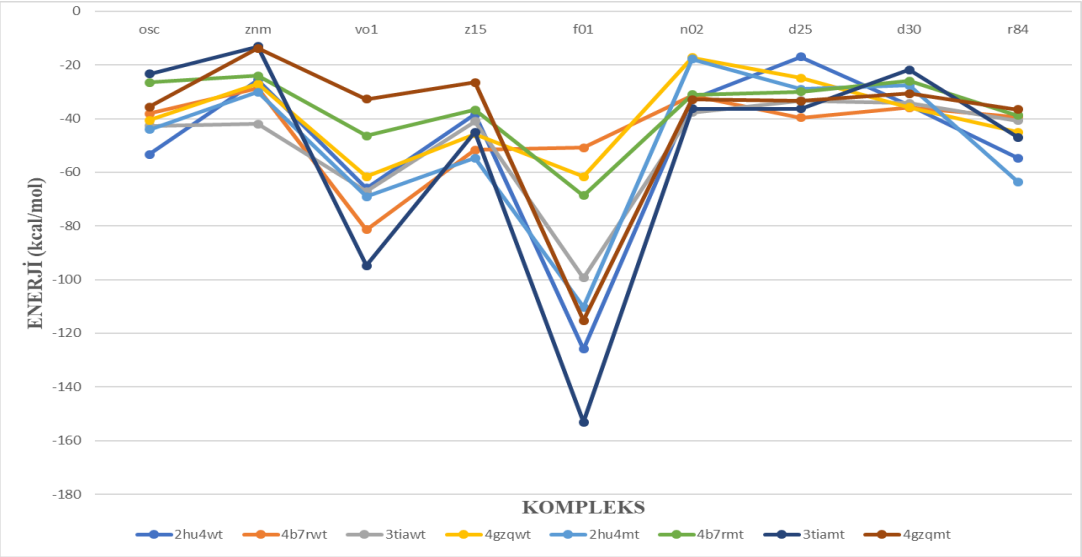


	3tia-osc	3tia-znm	3tia-ro1	3tia-vo1	3tia-z15	3tia-n01	3tia-n02	3tia-f01	3tia-d01	3tia-d04	3tia-d10	3tia-d16	3tia-d23	3tia-d25	3tia-d26	3tia-d30	3tia-d36	3tia-o04	3tia-o11	3tia-r16	3tia-r35	3tia-r64	3tia-r80	3tia-r81	3tia-r82	3tia-r83	3tia-r84	3tia-r85
ΔGGB	-43	-42	-18	-67	-41	-29	-38	-99	-43	-24	-25	-20	-14	-33	-26	-34	-15	-16	-27	-25	-30	-19	-29	-34	-34	-22	-41	-36
ΔGPB	-26	-35	-14	-60	-33	-24	-35	-61	-41	-18	-12	-16	-13	-29	-15	-23	-9,8	-13	-20	-19	-18	-7,7	-20	-18	-33	-21	-35	-21

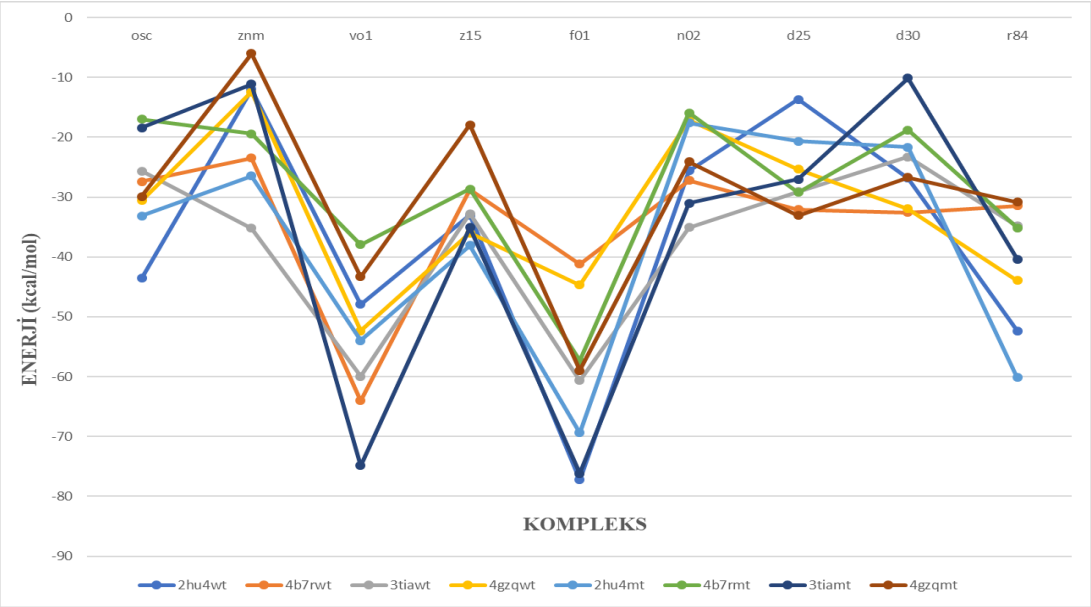
Şekil 4.249 3TIA proteininin seçilmiş ligandlarla olan komplekslerinin MM-GB/SA, MM-PB/SA skorları

3TIA ile hesaplama sonuçları olumlu bulunarak seçilmiş OSC, ZNM, vo1, z15, n02, f01, d25, d30, r84 ligandlarının tüm reseptörlerle oluşturduğu komplekslerin MM-GB/SA MM-PB/SA bağlanma serbest enerjileri Şekil 4.250 ve Şekil 4.251'de gösterilmiştir. Grafiklerde de görüleceği gibi bu ligandların reseptörlerin çoğunda

bağlanma serbest enerji değerleri OSC ve ZNM ilaçlarının değerlerinden daha düşüktür. Ayrıca OSC ve ZNM ligandlarının mutant tip (MT) reseptörlerle oluşturduğu komplekslerde bağlanma serbest enerji değerleri mutant olmayan tip (WT) reseptörlerdeki değerlerinden daha düşük iken, seçilen ligandların MT reseptörlerdeki değerleri WT reseptörlerdeki bağlanma serbest enerjisi değerlerinde olduğu gibi yüksektir. Bu değerler özellikle sonuçları oldukça düşük olan f01, vo1, r84 ligandlarının anti nöraminidaz etkilerinin yüksek olabileceğini göstermektedir.



Şekil 4.250 MM-PB(GB)/SA hesaplamaları için seçilmiş ligandların tüm reseptörlerle ΔG_{GB} skorları grafiği

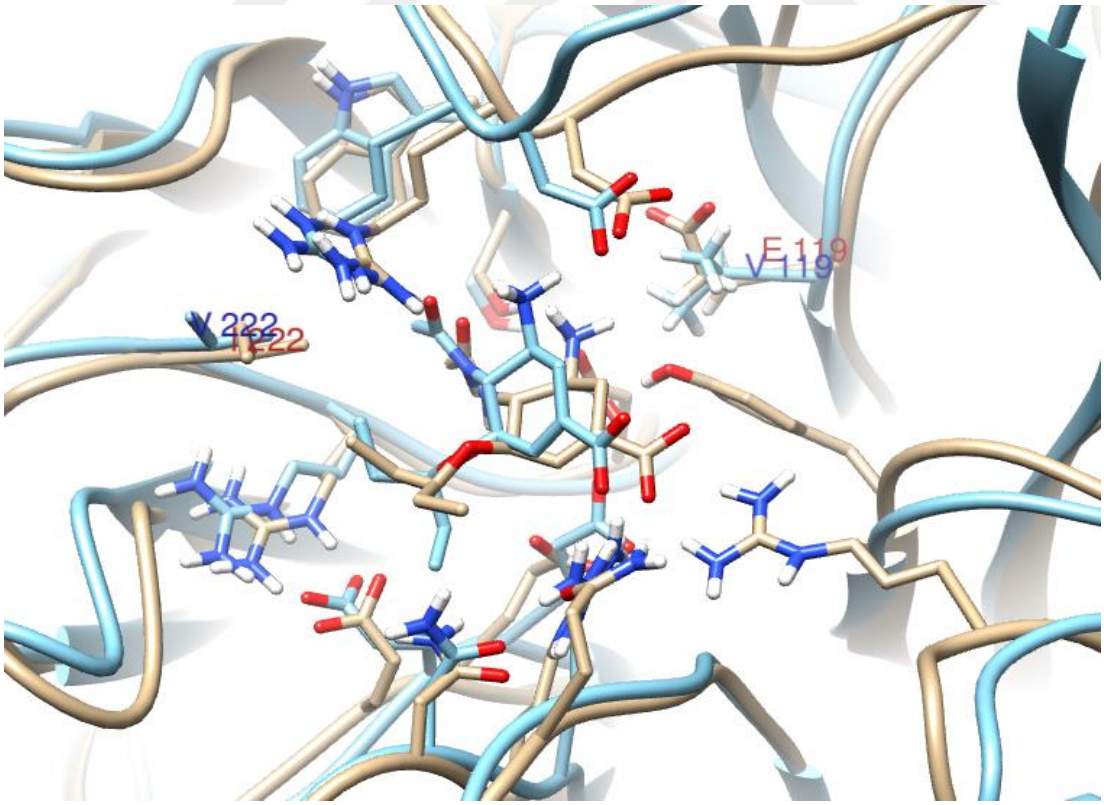


Şekil 4.251 MM-PB(GB)/SA hesaplamaları için seçilmiş ligandların tüm reseptörlerle ΔG_{PB} skorları grafiği

4.5. Tartışma

MM-PB(GB)/SA hesaplamalarına dahil edilen ligandların seçiminde 3TIA reseptörü ile başarılı sonuç verenlerden seçildiğinden bu aşamada tüm proteinlerin MD sonuçlarına değil çoğunlukla 3TIA reseptörünün sonuçlarına yer verilmiştir.

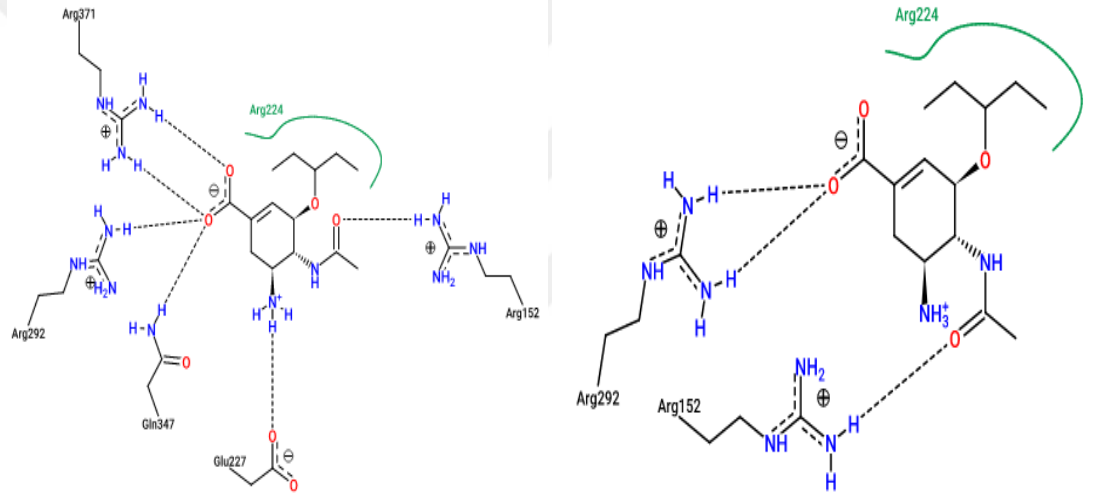
$3TIA_{WT}$ ve bu reseptörde I222V ve E119V nokta mutasyonları ile oluşmuş mutant $3TIA_{MT}$ reseptörlerinin OSC ligandıyla komplekslerinin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyonları üst üste çakıştırıldığında RMSD değeri 1.217 Å olarak hesaplanmış ve oluşan görüntü Şekil 4.252'de gösterilmiştir. Şekilden de görüldüğü gibi I222V mutasyonu özelikle değişen izolösin (I) ve valin (V) aminoasit artıklarının benzerliği sebebiyle bağlanmalar üzerinde pek bir etkiye sebep olmadığı ancak E119V mutasyonu glutamik asit (E) artığındaki $-COO^-$ grubunun apolar valin artığıyla değişmiş olması indüktif yolla diğer etkileşimlerde de değişmelere sebep olduğu görülmektedir. OSC molekülündeki NH_3^+ grubu mutant reseptörde oyuktan dışarı doğru yöneldiği görülmektedir.



Şekil 4.252 OSC ligandının $3TIA_{WT}$ (bej) ve $3TIA_{MT}$ (mavi) respetörlerinin MD simülasyonlarından alınmış en düşük potansiyel enerjili yapılarının üst üste çakıştırılması (RMSD=1,217 Å)

$3TIA_{WT}$ ve $3TIA_{MT}$ proteinlerinin OSC molekülü ile MD simülasyonlarının en düşük enerjili konformasyon anındaki etkileşim desenleri Şekil 4.253'te verilmiştir. Buna göre en düşük enerjili konformasyon anında OSC molekülünün $-COO^-$ grubu $3TIA_{WT}$ proteininin Arg371, Arg292, Gln347 amino asit artıkları ile tuz köprüsü kurmuşken mutant varyantta aynı grubun sadece Arg292 amino asit artığıyla tuz köprüsü oluşturduğu, Arg152 amino asiti guanidyum artığının her iki komplekste de OSC molekülü -NHAc grubu ile hidrojen bağı yaptığı ama OSC molekülü NH_3^+ grubunun mutant olmayan proteinde Arg227 amino asit artığı ile oluşturduğu tuz köprüsünün mutant proteinde kurulmadığı görülmektedir.

$3TIA_{WT}$ -OSC etkileşimleri	$3TIA_{MT}$- OSC etkileşimleri

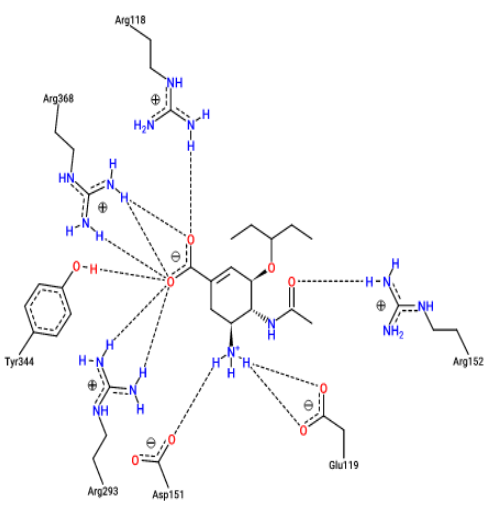
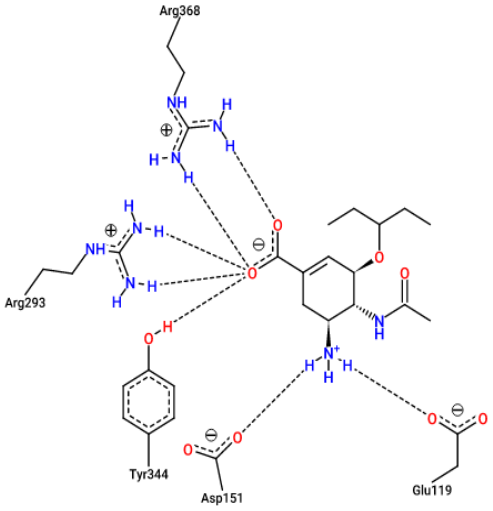
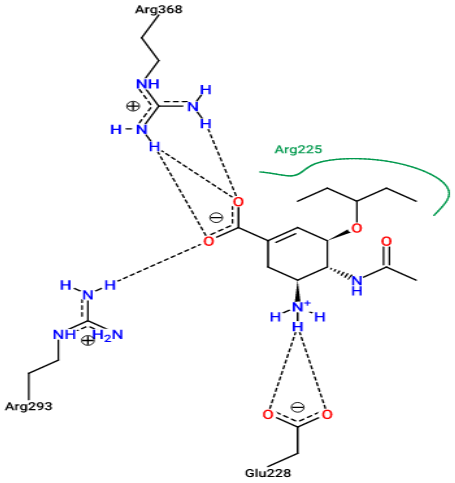
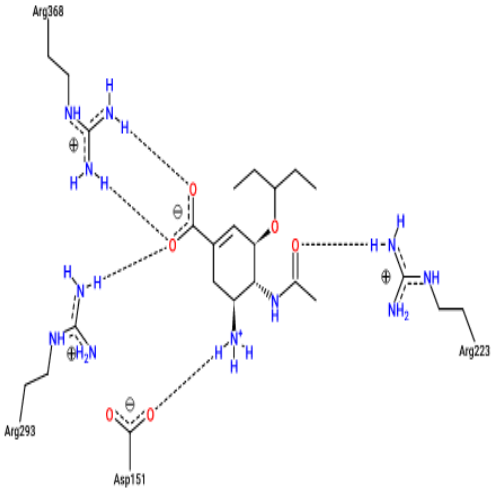
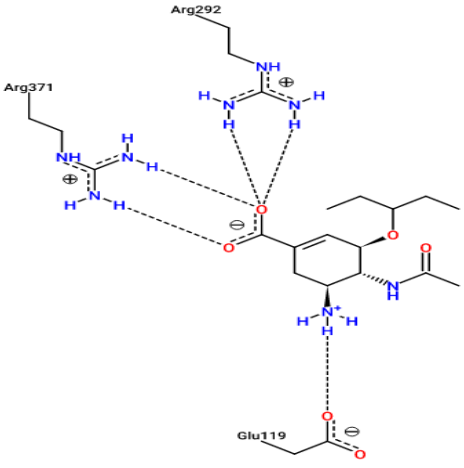
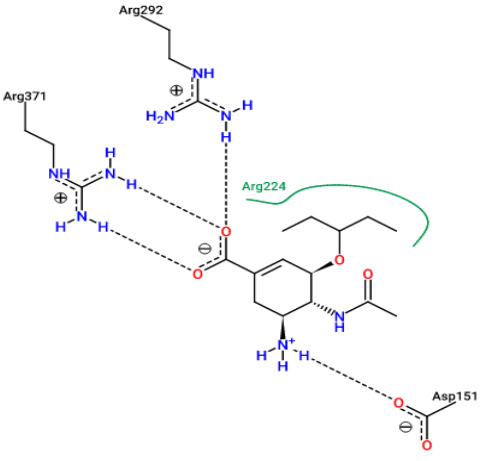


Donör	**Akseptör**	**Uzunluk (Å)**	**Donör**	**Akseptör**	**Uzunluk (Å)**
ARG 152 NH1	OSC O3	1,839	ARG 152 NH1	OSC O3	1,797
ARG 292 NH2	OSC O1	1,856	ARG 292 NH1	OSC O1	2,104
GLN 347 NE2	OSC O1	2,344	ARG 292 NH2	OSC O1	1,757
ARG 371 NH1	OSC O1	2,279	OSC N	ASP 151 OD2	1,756
ARG 371 NH1	OSC O2	2,190	OSC N	OSC O3	2,029
ARG 371 NH2	OSC O1	1,715			
OSC N	GLU 227 OE2	1,656			

Şekil 4.253 $3TIA_{WT}$ OSC etkileşimleri (sol) $3TIA_{MT}$ OSC etkileşimleri (sağ)

3TIA proteininin mutant olmayan varyantı ve mutant varyantında görüldüğü gibi OSC molekülü mutant olmayan reseptörle daha çok ve daha etkili etkileşimler oluştururken mutant reseptörle daha az ve daha etkisiz etkileşimler kurmaktadır. Bu sonuç EK 8'deki tabloda verilen MMPBSA sonuçlarına göre $3TIA_{WT}$-OSC kompleksi için -25,64 kcal/mol iken $3TIA_{MT}$-OSC kompleksi için -18,40 kcal/mol ile uyumludur. Bu bulgular literatürde verilen (WHO 2018) E119V ve I222V nokta mutasyonları

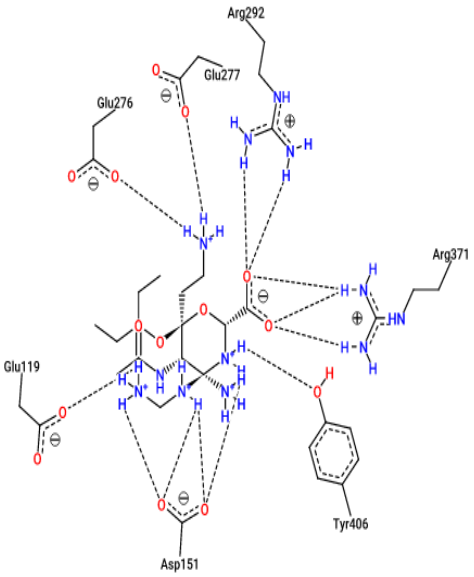
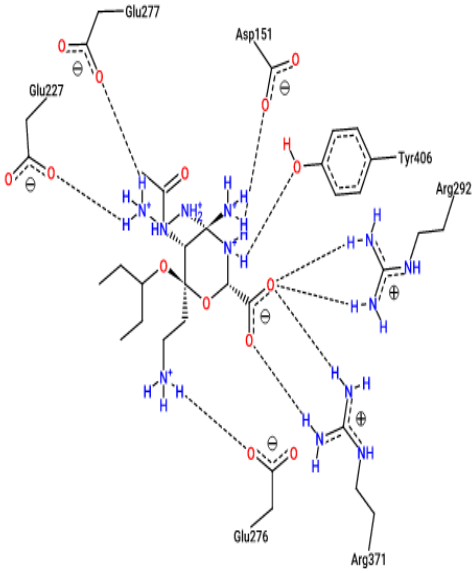
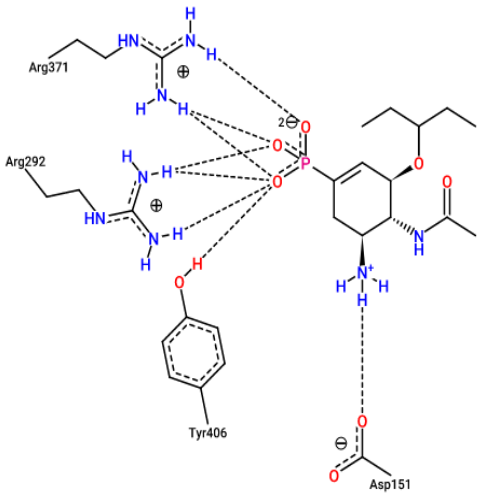
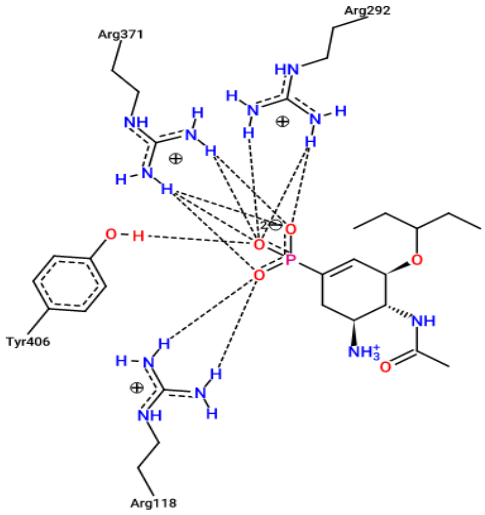
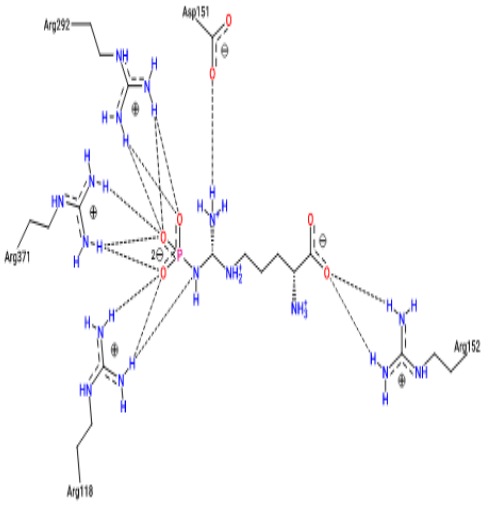
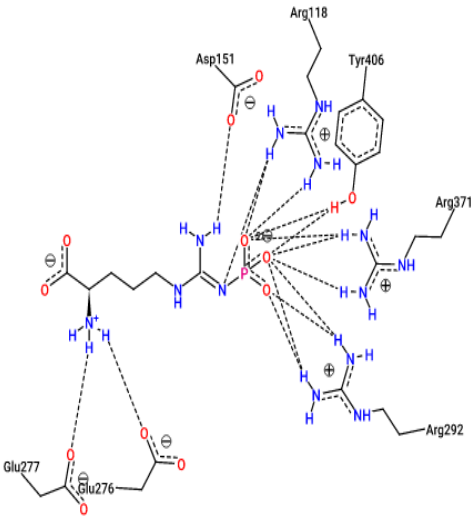
sebebiyle OSC molekülüne karşı oluşmuş 293-2286 kat arasındaki direnci desteklemektedir. Benzer şekilde diğer reseptörlerin ve mutant varyantlarının MD sırasındaki en düşük enerjili yapılarının iki boyutlu etkileşim desenleri incelendiğinde (Şekil 4.254) tamamında OSC ligandının mutant varyantlarda daha az veya daha etkisiz bağlanmalar oluşturduğu görülmekte ve bu sonuçlar EK 8'de verilen tablodaki MM-PB(GB)/SA enerji değerleri ile örtüşmektedir.

	Mutant olmayan reseptör-OSC etkileşimleri	Mutant reseptör-OSC etkileşimleri
2HU4		
4B7R		
4GZQ		

Şekil 4.254 Mutant olmayan reseptör ve mutant reseptörlerin OSC komplekslerinin MD sırasında oluşmuş en düşük enerjili konformasyonlarının iki boyutlu desenleri

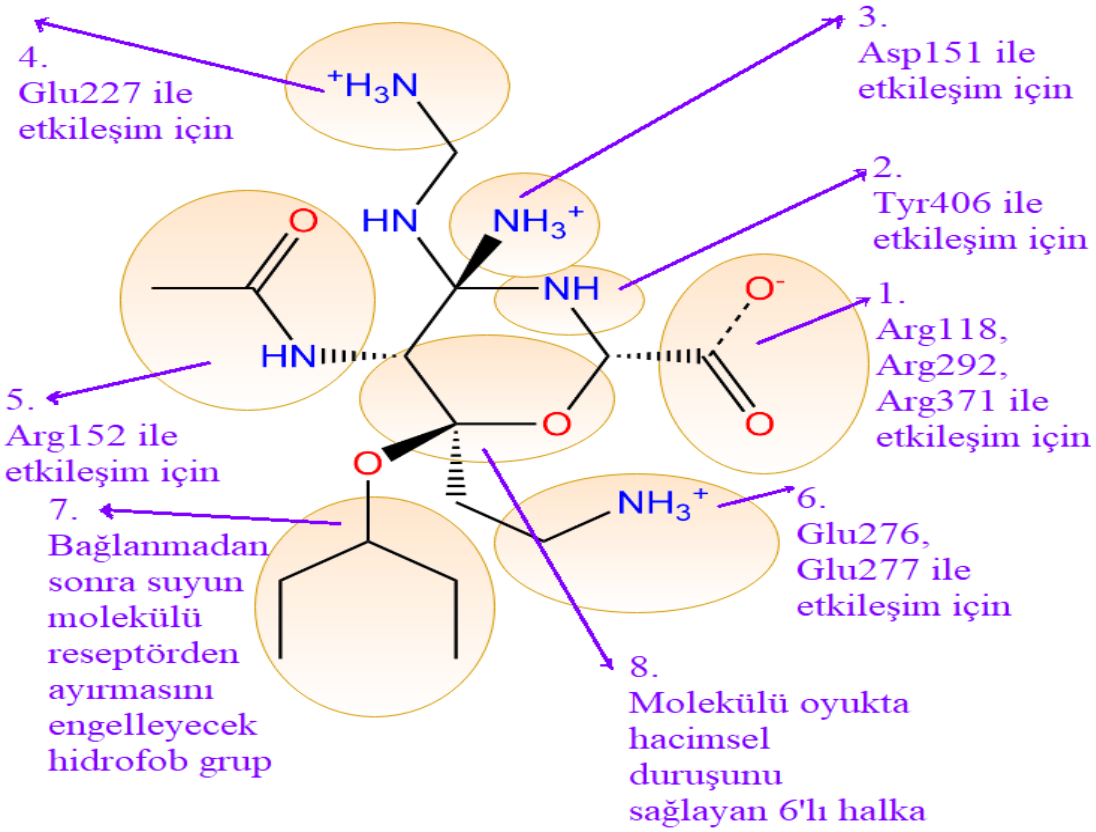
Bu çalışmada kullanılan r84, f01 ve vo1 moleküllerinin $3TIA_{WT}$ ve $3TIA_{MT}$ proteinleri ile oluşturduğu komplekslerin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyon

anındaki iki boyutlu etkileşim desenleri Şekil 4.255'te verilmiştir. Buna göre bu moleküllerin hem mutant olmayan proteinle hem de mutant proteinlerle etkileşim desenleri çok sayıda tuz köprüsü ve hidrojen bağı içermekte ve bu yönüyle yukarıda OSC ligandında görülen mutant proteinlerdeki etkinlik azalmasını göstermeyecekleri fikrini desteklemektedir. Gerçekten de EK 8'de verilen tablodaki MM-PB(GB)/SA sonuçları incelenirse mutant olmayan 3TIA proteini r84, f01, vo1 enerjileri sırasıyla -34,84; -60,66; -59,99; mutant 3TIA proteini için ise yine aynı sıraya göre -40,40; -58,93; -76,19 olduğu görülmekdedir. Skorlardan da görüldüğü gibi bu moleküller hem $3TIA_{WT}$ proteinine hem de $3TIA_{MT}$ proteinine yüksek MM-PB(GB)/SA skorlarıyla bağlanmıştır. Etkileşim desenleri ve MM-PB(GB)/SA enerji değerleri birbiriyle örtüşmekte ve bu moleküller FDA onaylı OSC molekülüne ait enerji değerleri daha başarılı sonuçlar vermektedir.

	Mutant olmayan reseptör-OSC etkileşimleri	Mutant reseptör-OSC etkileşimleri
3TIAr84		
3TIAvo1		
3TIAf01		

Şekil 4.255 r84, f01 ve vo1 moleküllerinin $3TIA_{WT}$ ve $3TIA_{MT}$ proteinleri ile oluşturduğu komplekslerin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyon anındaki iki boyutlu etkileşim desenleri

Yukarıda antinöraminidaz etkinlik potansiyeli yüksek öngörülen moleküllerden vo1 ZINC15 veritabanı sanal taramasında nöraminidaz geni (NA) üzerinden only *in vitro* filtresi uygulanarak, f01 molekülü ise ZINC15 sanal taramasında foodDB kataloğu üzerinden sanal tarama ile bulunmuştu. r84 molekülü ise rasyonel olarak protein katalitik oyuğunda tasarlandı. Katalitik bölgede bulunan ve tüm NA proteinlerinde korunan Arg118, Asp151, Arg152, Arg224, Glu276, Arg292, Arg371 ve Tyr406 artıklarıyla etkileşime girebilecek molekül tasarlanmaya çalışıldı. Bu amaçla MD simülasyonları izlenerek OSC molekülü üzerinde modifikasyonlar yapıldı. Tasarlanan moleküllerin çok sayıda türevi çizilerek bunlar Dock6 programı ile incelediğimiz 8 proteindeki kenetlenme durumları ve sonuçları karşılaştırılarak modifikasyonda optimizasyon yapılmaya çalışıldı. Rasyonel tasarladığımız moleküllerin bir kısmının bazı proteinlerde dock skorları ve kenetlenme örüntüleriyle FDA onaylı OSC ve ZMR moleküllerinden daha başarılı olduğu görüldü. Ancak hem dock hem de MD hesaplamalarında incelediğimiz sekiz proteinde de başarılı sonuçlar veren r84 molekülü modifikasyonlar Şekil 4.256'da gösterilmiştir.

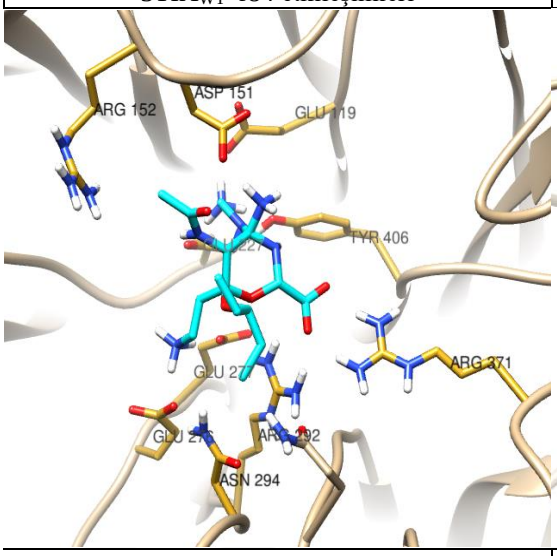


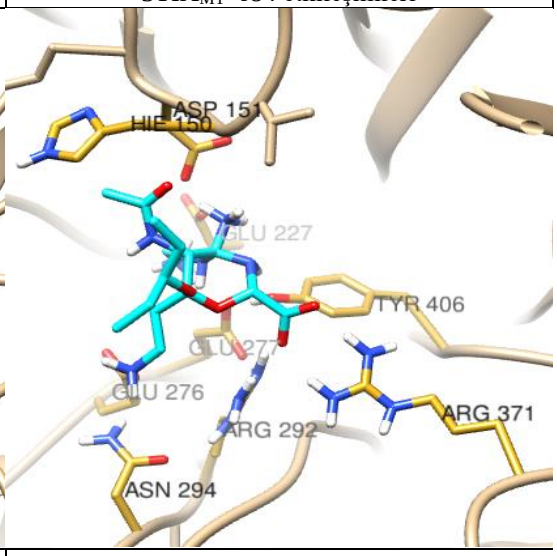
Şekil 4.256 r84 molekülünün rasyonel tasarımı

Yapılan modifikasyonların şöyle açıklanabilir. OSC molekülünde özellikle nöraminidaz sübstratı olan sialik asitte de var olan COO^- (Şekil 17 de 1 numara ile gösterildi) grubu ve oyuğun hacimsel boşluğunu iyi dolduran ve sübstituentlerin oyukta iyi konumlanmasını sağlayan altılı halka (8 numara) korundu. WT ve MT tüm incelenen proteinlerde var olan Tyr406 amino asit artığıyla hidrojen bağı yapabilmesi için halkaya azot atomu yerleştirildi (2 numara). 150 ilmeğinin açılıp molekülün oyuktan kolay ayrılmasını önlemek için 150 ilmeği üzerinde bulunan Asp151 amino asit artığıyla tuz köprüsü oluşturabilecek NH_3^+ (3 numara) grubu yerleştirildi. Katalitik bölge oyuğunda, 150 ilmeği izdüşümünde derinde bulunan Glu227, Glu228 amino asitleri ile tuz köprüsü kurması ve ZMR molekülündeki guanidyum grubu avantajlarını sağlaması için $-NHCH_2NH_3^+$ grubu (4 numara) yerleştirildi. Sialik asitte de var olan ve genelde Arg152 ile hidrojen bağı oluşturan -NHAc grubu (5 numara) korundu. Oyukta derinde bulunan ve negatif yük yoğunluğu ile göze çarpan genelde Glu276 ve Glu277 amino asitlerini bulunduran bölge ile tuz köprüsü kurması için $-CH_2CH_2NH_3^+$ grubu (6 numara) yerleştirildi. Molekülün polarlığını ve dolayısıyla hidrofilliğini düşürmek ve su tarafından kolayca çekilip oyuktan ayrılmasını engellemek için hidrofob grup (7 numara) korundu.

Etkileşim desenleri Şekil 4.255'te en üstte verilen WT ve MT 3TIA proteinleri r84 molekülü MD hesaplamaları sırasındaki en düşük enerji anındaki konformasyonları Şekil 4.257'de gösterilmiştir. Görüldüğü gibi r84 çizimleri sırasında yapılan modifikasyonların çoğu MD sırasında karşılığını bulmuş ve molekül protein ile amaçlanan etkileşimlerin çoğunu oluşturmuştur.

$3TIA_{WT}$ -r84 etkileşimleri	$3TIA_{MT}$- r84 etkileşimleri



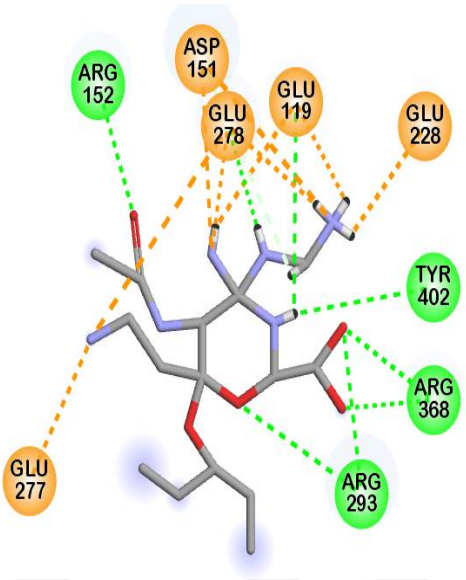
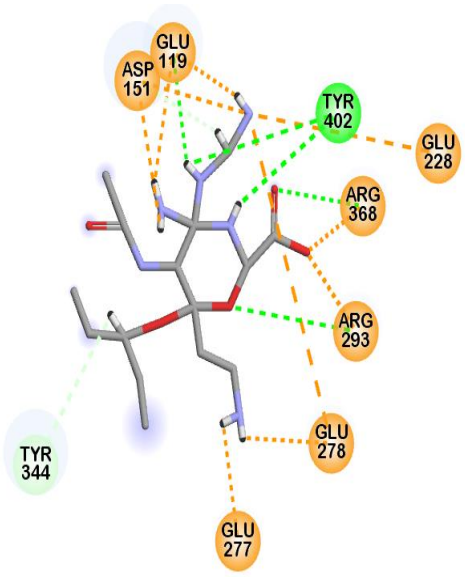
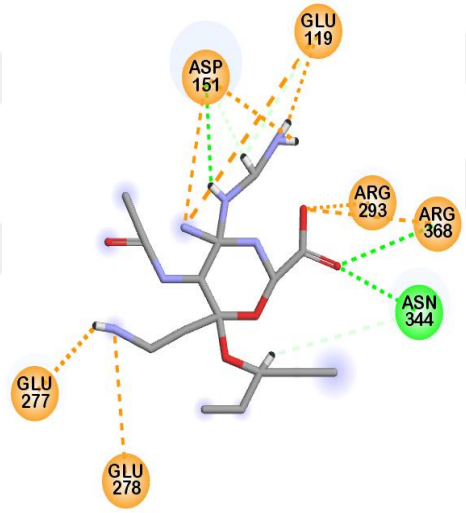
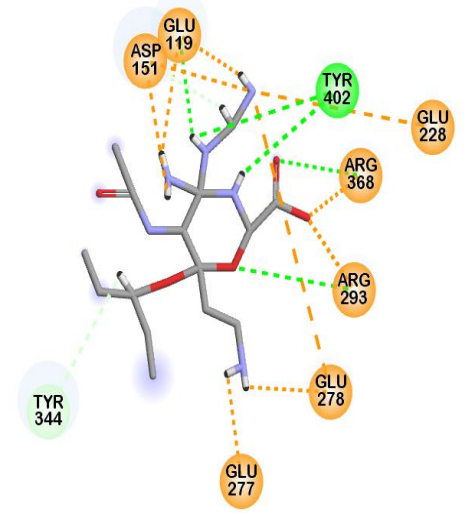
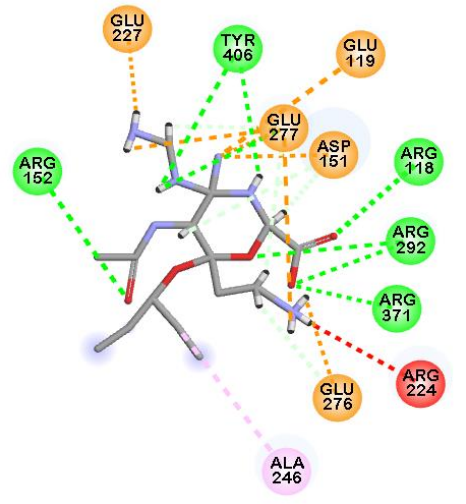
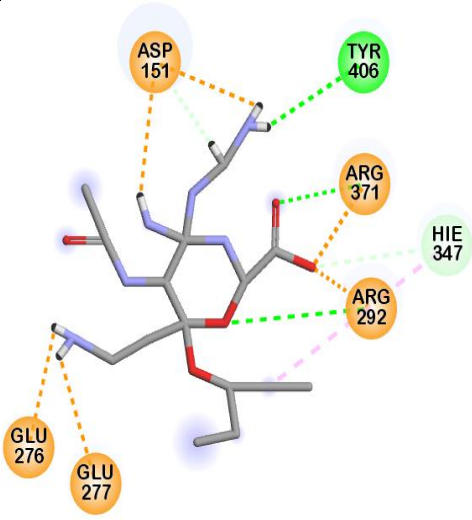


Donör	**Akseptör**	**Uzunluk(Å)**
ARG 292 NH1	r84 O1	1,907
ARG 292 NH1	r84 O4	2,563
ARG 292 NH2	r84 O1	1,829
ARG 371 NH1	r84 O1	2,483
ARG 371 NH1	r84 O2	2,038
ARG 371 NH2	r84 O1	2,098
r84 N	ASP 151 OD2	1,659
r84 N2	GLU 276 OE1	1,622
r84 N2	GLU 277 OE2	1,744
r84 N5	GLU 119 OE2	1,843
r84 N5	GLU 227 OE1	1,937
r84 N5	TYR 406 OH	2,104

Donör	**Akseptör**	**Uzunluk(Å)**
ASP 151 N	r84 O3	1,841
ARG 292 NH1	r84 O1	1,942
ARG 292 NH2	r84 O1	1,959
ARG 371 NH1	r84 O1	2,5
ARG 371 NH1	r84 O2	1,822
ARG 371 NH2	r84 O1	2,188
r84 N	ASP 151 OD1	1,699
r84 N2	GLU 276 OE1	1,735
r84 N3	TYR 406 OH	1,852
r84 N5	GLU 227 OE2	1,756
r84 N5	GLU 277 OE2	1,723

Şekil 4.257 $3TIA_{WT}$ OSC etkileşimleri (sol) $3TIA_{MT}$ OSC etkileşimleri (sağ)

Diğer WT ve MT proteinlerin r84 molekülü ile etkileşim desenleri ise Şekil 4.258'de gösterilmiştir. Oluşan desenler r84 molekülü OSC molekülünde olduğu gibi sadece WT proteinlerde değil hem WT hem de MT proteinlerde çok sayıda etkili bağlanmalar oluşturduğunu gösterir. Bu sonuç EK 8'deki MM-PB(GB)/SA sonuçlarıyla uyumludur. EK 8'deki tablo incelenirse r84 komplekslerinde bağlanma serbest enerjisinin $2HU4_{WT}$ için -52,33; $2HU4_{MT}$ için -60,15; $4B7R_{WT}$ için -31,46; $4B7R_{MT}$ için -35,13; $4GZQ_{WT}$ için -43,93; $4GZQ_{MT}$ -30,83 kcal/mol olduğu görülür.

	Mutant olmayan reseptör-r84 etkileşimleri	Mutant reseptör-r84 etkileşimleri
2HU4r84		
4B7Rr84		
4GZQr84		

Şekil 4.258 r84 molekülünün 2HU4, 4B7R ve 4GZQ proteinlerinin WT ve MT yapıları ile oluşturduğu komplekslerin MD sırasındaki en düşük enerjili konformasyon anındaki iki boyutlu etkileşim desenleri (sarı tuz köprüsü, yeşil hidrojen bağı, pembe Van der Waals, kırmızı itme kuvvetlerini göstermektedir)

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnfluenza ekonomik ve sağlık alanındaki etkileri ile sosyal ve toplumsal hayatı küresel çapta etkilemeye devam etmektedir. İnfluenza salgını kısa nesil süresi ile hızla yayılan, erken ve tamamlanmamış verilerle önlem almayı gerektiren bir hastalıktır. Olası bir pandemide elimizde hazır çalışmaların bulunması bu sebeple önemlidir. Bu çalışmamızda CADD teknikleri kullanılarak influenza yüzey glikoproteinlerinden NA'ları bloke ederek terapötik etki oluşturabilecek potansiyel moleküller bulunmaya çalışılmıştır.

Bu amaçla son yüzyılda pandemi oluşturan nöraminidaz alt tiplerine (H1N1, H1N5, H2N2, H3N2) ait proteinler (sırasıyla 4B7R, 2HU4, 3TIA, 4GZQ) alınmış ve bu proteinlerde FDA onaylı ilaçlara karşı direnç oluşturan yaygın nokta mutasyonlar uygulanarak mutant reseptörler oluşturulmuştur. Hedef alınan bu sekiz proteine karşı ZINC veri tabanı üzerinden sanal tarama ile nöraminidaz geni, doğal bileşikler ve yiyecek katalogları taranmış, denovo dizayn ile nöraminidaz aktif oyuğunda sialik asit, oseltamivir karboksilat ve zamanivir şablon alınarak moleküller türetilmiş ve rasyonel tasarım ile aktif oyuktaki katalitik ve yöresel amino asitleri hedef alacak moleküller tasarlanmaya çalışılmıştır. Belirlenen yaklaşık 30 bin molekülden önce kanserojen, tümorojen, irritant etki gibi etkiler gösterenler elenmiş ve kalanlar sekiz proteine dock edilmiştir. FDA onaylı OSC ve ZMR moleküllerinin yanı sıra dock aşamasında diğer moleküllere göre nispeten daha başarılı bulunan ro1, vo1, z15, n01, n02, f01, d01, d04, d16, d23, d25, d26, d30, d36, r01, r02, d16, r35, r64, r80, r81, r82, r83, r84, r85 önce 3TIA proteini ile MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapılmıştır. Bu işlemlerde olumlu sonuçlar veren ro1, vo1, z15, f01, d25, d30, r84 moleküllerinin diğer yedi proteinle de MD ve MM-PB(GB)/SA hesaplamaları yapılmıştır. Sonuçta vo1, f01 ve r84 kodlu moleküllerin etkileşim desenleri, dock skorları, bağlanma serbest enerjilerine göre hem WT hem de MT proteinlerde potansiyel NAI etkisine sahip olabileceği görülmüştür. Bu moleküllerin in vitro deneylerle nöraminidaza karşı etkinliği test edilebilir. Ayrıca bu çalışmada olumlu sonuç veren moleküllerin in siliko yolla türevleri oluşturulup daha iyi sonuç veren moleküller elde edilebilir.

KAYNAKLAR

Air, G. M. (2012). Influenza neuraminidase. *Influenza and other respiratory viruses, 6*(4), 245-256.

Allen, J. D. ve Ross, T. M. (2018). H3N2 influenza viruses in humans: Viral mechanisms, evolution, and evaluation. *Human Vaccines and Immunotherapeutics, 14*(8), 1840-1847.

Amaro, R. E., vd., (2011). Mechanism of 150-cavity formation in influenza neuraminidase. *Nature Communications, 2*, 388.

Anderson, A. C. (2003). The process of structure-based drug design. *Chemistry and Biology, 10*(9), 787-797.

Andricopulo, A. D., vd., (2009). Structure-based drug design strategies in medicinal chemistry. *Current Topics in Medicinal Chemistry, 9*(9), 771-790.

Asha, K. ve Kumar, B. (2019). Emerging Influenza D Virus Threat: What We Know so Far! *Journal of Clinical Medicine, 8*(2).

Baig, M. H., vd., (2016). Computer Aided Drug Design: Success and Limitations. *Curr Pharm Des, 22*(5), 572-581.

Baker, A. T., vd., (1987). Three-dimensional structure of neuraminidase of subtype N9 from an avian influenza virus. *Proteins, 2*(2), 111-117.

Ballinger, M. N. ve Standiford, T. J. (2010). Postinfluenza bacterial pneumonia: host defenses gone awry. *Journal of Interferon & Cytokine Research, 30*(9), 643-652.

Baz, M., vd., (2006). Characterization of multidrug-resistant influenza A/H3N2 viruses shed during 1 year by an immunocompromised child. *Clin Infect Dis, 43*(12), 1555-1561.

Berman, H. M., vd., (2000). The Protein Data Bank. *Nucleic Acids Research, 28*(1), 235-242.

BIOVIA, D. S. (2019). Discovery Studio Visualizer (Version v20.1.0.19295). San Diego, Accelrys Software Inc.

Bossart-Whitaker, P., vd., (1993). Three-dimensional structure of influenza A N9 neuraminidase and its complex with the inhibitor 2-deoxy 2,3-dehydro-N-acetyl neuraminic acid. *Journal of Molecular Biology, 232*(4), 1069-1083.

Bouvier, N. M. ve Palese, P. (2008). The biology of influenza viruses. *Vaccine, 26 Suppl 4*, D49-53.

Bright, R. A., vd., (2005). Incidence of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses isolated worldwide from 1994 to 2005: a cause for concern. *Lancet, 366*(9492), 1175-1181.

Bryan-Marrugo, O. L., vd., (2015). History and progress of antiviral drugs: From acyclovir to direct-acting antiviral agents (DAAs) for Hepatitis C. *Medicina Universitaria, 17*(68), 165-174.

Burmeister, W. P., vd., (1992). The 2.2 A resolution crystal structure of influenza B neuraminidase and its complex with sialic acid. *EMBO Journal, 11*(1), 49-56.

Bush, R. M., vd., (1999). Predicting the evolution of human influenza A. *Science, 286*(5446), 1921-1925.

Cabezas, J. A. (1991). Some questions and suggestions on the type references of the official nomenclature (IUB) for sialidase(s) and endosialidase. *Biochemical Journal, 278 (Pt 1)*, 311-312.

Carrat, F., vd., (2008). Time lines of infection and disease in human influenza: a review of volunteer challenge studies. *American Journal of Epidemiology, 167*(7), 775-785.

Case, D. A., vd., (2016). AMBER 16. San Francisco: University of California.

Centers for Disease Control and Prevention. (2019). Flu Symptoms ve Complications. Retrieved from, shorturl.at/uDLV6. (Erişim tarihi: 21.10.2021).

Centers for Disease Control and Prevention. (2006). High levels of adamantane resistance among influenza A (H3N2) viruses and interim guidelines for use of antiviral agents United States, 2005-06 influenza season. *Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), 55*(2), 44-46.

Cerqueira, N. M., vd., (2015). Receptor-based virtual screening protocol for drug discovery. *Archives of Biochemistry and Biophysics, 582*, 56-67.

Cheng, T., vd., (2012). Structure-based virtual screening for drug discovery: a problem-centric review. *The AAPS Journal, 14*(1), 133-141.

Collin, E. A., vd., (2015). Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle. *Journal of Virology, 89*(2), 1036-1042.

Colman, P.M. (1989). Neuraminidase. The Influenza Viruses. *The Viruses*. Springer, Boston, MA.

Colman, P. M. (1994). Influenza virus neuraminidase: structure, antibodies, and inhibitors. *Protein Science, 3*(10), 1687-1696.

Colman, P. M., vd., (1983). Structure of the catalytic and antigenic sites in influenza virus neuraminidase. *Nature, 303*(5912), 41-44.

Drake, J. W. (1993). Rates of Spontaneous Mutation among Rna Viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 90(9), 4171-4175.

Drews, J. (2000). Drug discovery: A historical perspective. *Science, 287*(5460), 1960-1964.

Dünya Sağlık Örgütü. (2006). *Avian influenza ("bird flu") fact sheet*. Retrieved, fromshorturl.at/efk28. (Erişim tarihi: 27 Aralık 2017).

Dünya Sağlık Örgütü. (2009). *Fact sheet No 211, influenza (seasonal)*. Retrieved from, shorturl.at/dgEPU. (Erişim tarihi: 27 Aralık 2017).

Dyason, J. C. ve von Itzstein, M. (2001). Anti-influenza virus drug design: Sialidase inhibitors. *Australian Journal of Chemistry, 54*(11), 663-670.

Eccles, R. (2005). Understanding the symptoms of the common cold and influenza. *Lancet Infectious Diseases, 5*(11), 718-725.

Edmond, J., vd., (1966). The inhibition of neuraminidase and antiviral action. *British Journal of Pharmacology and Chemotherapy, 27*(2), 415-426.

Eshaghi, A., vd., (2014). Multiple Influenza A (H3N2) Mutations Conferring Resistance to Neuraminidase Inhibitors in a Bone Marrow Transplant Recipient. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 58*(12), 7188-7197.

Esposito, F., vd., (2007). Antiviral drug discovery: HIV-1 RNase H, the next hit target. *Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology,* FORMATEX, 799-809.

Ewald, P. P. (1921). Die Berechnung optischer und elektrostatischer Gitterpotentiale. *Annalen der Physik, 369*(3), 253-287.

Fahrrolfes, vd., (2017). ProteinsPlus: a web portal for structure analysis of macromolecules. *Nucleic Acids Research, 45*(W1), W337-W343.

Ferguson, N. M., vd., (2005). Strategies for containing an emerging influenza pandemic in Southeast Asia. *Nature, 437*(7056), 209-214.

Fouchier, R. A., vd., (2004). Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proceedings of the National Academy of Sciences, U S A,* 101(5), 1356-1361.

Fricker, P. C., vd., (2004). Automated drawing of structural molecular formulas under constraints. *Journal of Chemical Information and Computer Sciences, 44*(3), 1065-1078.

Frisch, M. J., vd., (2009). Gaussian 09. Wallingford CT: Gaussian Inc.

Garman, E. ve Laver, G. (2005). The Structure, Function, and Inhibition of Influenza Virus Neuraminidase. In W. B. Fischer (Ed.), *Viral Membrane Proteins: Structure, Function, and Drug Design* (s. 247-267). Boston, MA: Springer US.

Ghebrehewet, S., vd., (2016). Influenza. *BMJ, 355*, i6258.

Ghedin, E., vd., (2005). Large-scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature, 437*(7062), 1162-1166.

Glasgow, J. F. ve Middleton, B. (2001). Reye syndrome--insights on causation and prognosis. *Archives of disease in childhood, 85*(5), 351-353.

Gottschalk, A. (1957). Neuraminidase: the specific enzyme of influenza virus and Vibrio cholerae. *Biochimica et Biophysica Acta, 23*(3), 645-646.

Grinter, S. Z. ve Zou, X. (2014). Challenges, applications, and recent advances of protein-ligand docking in structure-based drug design. *Molecules, 19*(7), 10150-10176.

Gubareva, L. V. (2004). Molecular mechanisms of influenza virus resistance to neuraminidase inhibitors. *Virus Research, 103*(1-2), 199-203.

Hanwell, M. D., vd., (2012). Avogadro: an advanced semantic chemical editor, visualization, and analysis platform. *Journal of Cheminformatics, 4*(1), 17.

Hay, A. J., vd., (2001). The evolution of human influenza viruses. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 356*(1416), 1861-1870.

Hilleman, M. R. (2002). Realities and enigmas of human viral influenza: pathogenesis, epidemiology and control. *Vaccine, 20*(25-26), 3068-3087.

Hirst, G. K. (1942). The quantitative determination of influenza virus and antibodies by means of red cell agglutination. *The Journal of experimental medicine, 75*(1), 49-64.

Holmes, E. C. (2010). Evolution in health and medicine Sackler colloquium: The comparative genomics of viral emergence. *Proceedings of the National Academy of Sciences U S A,* 107, 1, 1742-1746.

Hung, C. L. ve Chen, C. C. (2014). Computational approaches for drug discovery. *Drug Development Research, 75*(6), 412-418.

Hurt, A. C., vd., (2006). Resistance to anti-influenza drugs: adamantanes and neuraminidase inhibitors. *Expert Review of Anti-infective Therapy, 4*(5), 795-805.

Ilyushina, N. A., vd., (2005). Detection of amantadine-resistant variants among avian influenza viruses isolated in North America and Asia. *Virology, 341*(1), 102-106.

International Committee on Taxonomy of Viruses. (2016). *The Universal Virus Database, version 4:* Influenza A.

Jedrzejas, M. J., vd., (1995). Structures of aromatic inhibitors of influenza virus neuraminidase. *Biochemistry, 34*(10), 3144-3151.

Jorgensen, W. L. (2004). The many roles of computation in drug discovery. *Science, 303*(5665), 1813-1818.

Kalyaanamoorthy, S. ve Chen, Y. P. (2011). Structure-based drug design to augment hit discovery. *Drug Discovery Today, 16*(17-18), 831-839.

Kash, J. C., vd., (2006). Hijacking of the host-cell response and translational control during influenza virus infection. *Virus Research, 119*(1), 111-120.

Khaperskyy, D. A., vd., (2016). Selective Degradation of Host RNA Polymerase II Transcripts by Influenza A Virus PA-X Host Shutoff Protein. *PLoS Pathog, 12*(2), e1005427.

Kim, C. U., vd., (1997). Influenza neuraminidase inhibitors possessing a novel hydrophobic interaction in the enzyme active site: design, synthesis, and structural analysis of carbocyclic sialic acid analogues with potent anti-influenza activity. *Journal of the American Chemical Society, 119*(4), 681-690.

Klenk, H. D., vd., (2008). Avian Influenza: Molecular Mechanisms of Pathogenesis and Host Range. *Molecular Biology of Animal Viruses*, 253-301.

Kore, P. P., vd., (2012). Computer-Aided Drug Design: An Innovative Tool for Modeling. *Open Journal of Medicinal Chemistry,* 139-148, 02(04).

Krammer, F., vd., (2018). Influenza. *Nature Reviews Disease Primers, 4*(1), 3.

Kutchukian, P. S. ve Shakhnovich, E. I. (2010). De novo design: balancing novelty and confined chemical space. *Expert Opinion on Drug Discovery, 5*(8), 789-812.

Lakadamyali, M., vd., (2003). Visualizing infection of individual influenza viruses. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* U S A, *100*(16), 9280-9285.

Lamb, R. A. ve Choppin, P. W. (1983). The gene structure and replication of influenza virus. . *Annual Review of Biochemistry, 52*, 467-506.

Lamblin, G., vd., (1984). Carbohydrate chains from human bronchial mucus glycoproteins: a wide spectrum of oligosaccharide structures. *Biochemical Society Transactions, 12*(4), 599-600.

Lampejo, T. (2020). Influenza and antiviral resistance: an overview. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 39*(7), 1201-1208.

Lang, P. T., vd., (2009). DOCK 6: combining techniques to model RNA-small molecule complexes. *RNA, 15*(6), 1219-1230.

Laurie, A. T. ve Jackson, R. M. (2006). Methods for the prediction of protein-ligand binding sites for structure-based drug design and virtual ligand screening. *Current Protein and Peptide Science, 7*(5), 395-406.

Lavecchia, A. ve Di Giovanni, C. (2013). Virtual screening strategies in drug discovery: a critical review. *Current Medicinal Chemistry, 20*(23), 2839-2860.

Laver, W. G. (1964). Structural Studies on the Protein Subunits from Three Strains of Influenza Virus. *Journal of Molecular Biology, 9*, 109-124.

Laver, W. G. (1978). Crystallization and peptide maps of neuraminidase "heads" from H2N2 and H3N2 influenza virus strains. *Virology, 86*(1), 78-87.

Leelananda, S. P. ve Lindert, S. (2016). Computational methods in drug discovery. *Beilstein journal of organic chemistry, 12*, 2694-2718.

Leeuwenhoek, A. V. (1700). IV. Part of a letter from Mr Antony Van Leeuwenhoek, concerning the worms in Sheeps livers, Gants and animalcula in the excrements of Frogs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, 22*(261), 509-518.

LeGoff, J., vd., (2012). I223R Mutation in Influenza A(H1N1) pdm09 Neuraminidase Confers Reduced Susceptibility to Oseltamivir and Zanamivir and Enhanced Resistance with H275Y. *PLoS One, 7*(8), e37095.

Li, Q., vd., (2010). The 2009 pandemic H1N1 neuraminidase N1 lacks the 150-cavity in its active site. *Nature Structural & Molecular Biology, 17*(10), 1266-1268.

Lionta, E., vd., (2014). Structure-based virtual screening for drug discovery: principles, applications and recent advances. *Current Topics in Medicinal Chemistry, 14*(16), 1923-1938.

Liu, C., vd., (1995). Influenza type A virus neuraminidase does not play a role in viral entry, replication, assembly, or budding. *Journal of Virology, 69*(2), 1099-1106.

Lynch, J. P., vd., (2007). Influenza: evolving strategies in treatment and prevention. . *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine, 28*(2), 144-158.

Macalino, S. J., vd., (2015). Role of computer-aided drug design in modern drug discovery. *Archives of Pharmal Research, 38*(9), 1686-1701.

Maier, J. A., vd., (2015). ff14SB: Improving the Accuracy of Protein Side Chain and Backbone Parameters from ff99SB. *Journal of Chemical Theory and Computation, 11*(8), 3696-3713.

Marvin. (1998). Marvin, was used for drawing, displaying and characterizing chemical structures, substructures and reactions (Version 21.08.0).

Meindl, P. ve Tuppy, H. (1969). [2-Deoxy-2,3-dehydrosialic acids. II. Competitive inhibition of Vibrio cholerae neuraminidase by 2-deoxy-2,3-dehydro-N-acylneuraminic acids]. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie, 350*(9), 1088-1092.

Meindl, P., vd., (1974). Inhibition of neuraminidase activity by derivatives of 2-deoxy-2,3-dehydro-N-acetylneuraminic acid. *Virology, 58*(2), 457-463.

Melo-Filho, C. C. vd., (2014). 3D-QSAR approaches in drug design: perspectives to generate reliable CoMFA models. *Current Computer-Aided Drug Design, 10*(2), 148-159.

Molinari, N. A., vd., (2007). The annual impact of seasonal influenza in the US: measuring disease burden and costs. *Vaccine, 25*(27), 5086-5096.

Morgan, H. L. (1965). The Generation of a Unique Machine Description for Chemical Structures-A Technique Developed at Chemical Abstracts Service. *Journal of Chemical Documentation, 5*(2), 107-113.

Mouritz, A. A. S. M. (1921). The flu : a brief history of influenza in U.S. America, Europe, Hawaii. Honolulu, Hawaii, U.S. America: *Advertiser Publishing Company*.

Murray, C. J. L., vd., (2006). Estimation of potential global pandemic influenza mortality on the basis of vital registry data from the 1918-20 pandemic: a quantitative analysis. *Lancet, 368*(9554), 2211-2218.

Nayak, D. P., vd., (2004). Assembly and budding of influenza virus. *Virus Research, 106*(2), 147-165.

Oberg, B. (1971). Interaction of formate esters with viral RNA and viral polymerase. *Biochimica et Biophysica Acta, 232*(1), 107-116.

Ogawa, S., vd., (1992). Synthesis of a carbocyclic analogue of N-acetylneuraminic acid (pseudo-N-acetylneuraminic acid). *Jubilee of the Chemical Society* (5), 406-408.

Ohuchi, M., vd., (1995). Neuraminidase is essential for fowl plague virus hemagglutinin to show hemagglutinating activity. *Virology, 212*(1), 77-83.

Oxford, J. S., vd., (2003). Treatment of epidemic and pandemic influenza with neuraminidase and M2 proton channel inhibitors. *Clinical Microbiology and Infection, 9*(1), 1-14.

Palese, P., vd., (1974). Characterization of temperature sensitive influenza virus mutants defective in neuraminidase. *Virology, 61*(2), 397-410.

Pappas, G., vd., (2008). Insights into infectious disease in the era of Hippocrates. *International Journal of Infectious Diseases, 12*(4), 347-350.

Parrish, C. R. ve Kawaoka, Y. (2005). The origins of new pandemic viruses: The acquisition of new host ranges by canine parvovirus and influenza A viruses. *Annual Review of Microbiology, 59*, 553-586.

Parry, J. (2005). Use of antiviral drug in poultry is blamed for drug resistant strains of avian flu. *BMJ, 331*(7507), 10.

Pensaert, M., vd., (1981). Evidence for the natural transmission of influenza A virus from wild ducts to swine and its potential importance for man. *Bulletin of the World Health Organization, 59*(1), 75-78.

Pettersen, E. F., vd., (2004). UCSF Chimera--a visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemis, 25*(13), 1605-1612.

Pinto, L. H. ve Lamb, R. A. (2006). The M2 proton channels of influenza A and B viruses. *Journal of Biological. Chemistry, 281*(14), 8997-9000.

Plotkin, J. B., vd., (2002). Hemagglutinin sequence clusters and the antigenic evolution of influenza A virus. *The Proceedings of the National Academy of Sciences, U S A, 99*(9), 6263-6268.

Potter, C. W. (2001). A history of influenza. *Journal of Applied Microbiology, 91*(4), 572-579.

Principi, N. ve Esposito, S. (2018). Protection of children against influenza: Emerging problems. *Human Vaccines & Immunotherapeutics, 14*(3), 750-757.

Rodrigues, T. ve Schneider, G. (2014). Flashback Forward: Reaction-Driven De Novo Design of Bioactive Compounds. *Synlett, 25*(02), 170-178.

Rogers, G. N. ve Paulson, J. C. (1983). Receptor determinants of human and animal influenza virus isolates: differences in receptor specificity of the H3 hemagglutinin based on species of origin. *Virology, 127*(2), 361-373.

Russell, R. J., vd., (2006). The structure of H5N1 avian influenza neuraminidase suggests new opportunities for drug design. *Nature, 443*(7107), 45-49.

Ryckaert, J. P., vd., (1977). Numerical integration of the cartesian equations of motion of a system with constraints: molecular dynamics of n-alkanes. *Journal Of Computatıonal. Physıcs, 23*(3), 327-341.

Sander, T., vd., (2015). Data Warrior: An Open-Source Program For Chemistry Aware Data Visualization And Analysis. *Journal of Chemical Information and Modeling, 55*(2), 460-473.

Sautto, G. A., vd., (2018). Towards a universal influenza vaccine: different approaches for one goal. *Virology Journal, 15*(1), 17.

Schauer, R. (1982). Chemistry, metabolism, and biological functions of sialic acids. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry, 40*, 131-234.

Schoning-Stierand, K., vd., (2020). ProteinsPlus: interactive analysis of protein-ligand binding interfaces. *Nucleic Acids Research, 48*(W1), W48-W53.

Schwartz, B., ve Wortley, P. (2006). Mass vaccination for annual and pandemic influenza. *Current Topics in Microbiology and Immunology, 304*, 131-152.

Shinya, K., vd., (2006). Avian flu: influenza virus receptors in the human airway. *Nature, 440*(7083), 435-436.

Shtyrya, Y. A., vd., (2009). Influenza virus neuraminidase: structure and function. *Acta Naturae, 1*(2), 26-32.

Sidwell, R. vd., (1972). Broad-spectrum antiviral activity of Virazole: 1-beta-D-ribofuranosyl-1,2,4-triazole-3-carboxamide. *Science, 177*(4050), 705-706.

Simon, P., vd., (2011). The I222V Neuraminidase Mutation Has a Compensatory Role in Replication of an Oseltamivir-Resistant Influenza Virus A/H3N2 E119V Mutant. *Journal of Clinical Microbiology, 49*(2), 715-717.

Singh, S., vd., (1995). Structure-based inhibitors of influenza virus sialidase. A benzoic acid lead with novel interaction. *Journal of Medicinal Chemitry, 38*(17), 3217-3225.

Smith, A. E. ve Helenius, A. (2004). How viruses enter animal cells. *Science, 304*(5668), 237-242.

Smith, B. J., vd., (2002). Structural studies of the resistance of influenza virus neuramindase to inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry, 45*(11), 2207-2212.

Srinivasan, J., vd., (1998). Continuum solvent studies of the stability of DNA, RNA, and phosphoramidate - DNA helices. *Journal of the American Chemical Society, 120*(37), 9401-9409.

Stanley, W. M. ve Lauffer, M. A. (1939). Disintegration of Tobacco Mosaic Virus in Urea Solutions. *Science, 89*(2311), 345-347.

Steinhauer, D. A. (1999). Role of hemagglutinin cleavage for the pathogenicity of influenza virus. *Virology, 258*(1), 1-20.

Stephenson, I., ve Nicholson, K. G. (1999). Chemotherapeutic control of influenza. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 44*(1), 6-10.

Sterling, T., ve Irwin, J. J. (2015). ZINC 15-Ligand Discovery for Everyone. *Journal of Chemical Information and Modeling, 55*(11), 2324-2337.

Stierand, K., vd., (2006). Molecular complexes at a glance: automated generation of two-dimensional complex diagrams. *Bioinformatics, 22*(14), 1710-1716.

Sudbeck, E. A., vd., (1997). Guanidinobenzoic acid inhibitors of influenza virus neuraminidase. *J Mol Biol, 267*(3), 584-594.

Sullivan, S. J., vd., (2010). 2009 H1N1 influenza. *Mayo Clinic Proceedings, 85*(1), 64-76.

Suzuki, Y. (2005). Sialobiology of influenza: molecular mechanism of host range variation of influenza viruses. *Biol Pharm Bull, 28*(3), 399-408.

Tao, A. X., vd., (2019). ezCADD: A Rapid 2D/3D Visualization-Enabled Web Modeling Environment for Democratizing Computer-Aided Drug Design. *Journal of Chemical Information and Modeling, 59*(1), 18-24.

Taylor, M. E. ve Drickamer, K. (2006). *Introduction to Glycobiology* (2 ed.): Oxford University Press 117-118.

Taylor, N. R. ve von Itzstein, M. (1994). Molecular modeling studies on ligand binding to sialidase from influenza virus and the mechanism of catalysis. *Journal of Medicinal Chemistry, 37*(5), 616-624.

Thompson, J. D., vd., (1994). Improved sensitivity of profile searches through the use of sequence weights and gap excision. *Computer applications in the biosciences, 10*(1), 19-29.

Us, A. D. (2010). Pandemik influenza infeksiyonunda etyopatogenez ve laboratuvar tanı yöntemleri. *Hacettepe Tıp Dergisi, 41*, 13-27.

Van Drie, J. H. (2007). Computer-aided drug design: the next 20 years. *Journal of Computer Aided Molecular Design, 21*(10-11), 591-601.

Varghese, J. N., vd., (1983). Structure of the influenza virus glycoprotein antigen neuraminidase at 2,9 A resolution. *Nature, 303*(5912), 35-40.

Varghese, J. N., vd., (1995). Three-dimensional structure of the complex of 4-guanidino-Neu5Ac2en and influenza virus neuraminidase. *Protein Science, 4*(6), 1081-1087.

Vemula, S. V., vd., (2016). Current Approaches for Diagnosis of Influenza Virus Infections in Humans. *Viruses, 8*(4), 96.

von Itzstein, M. (2007). The war against influenza: discovery and development of sialidase inhibitors. *Nature Reviews Drug Discovery, 6*(12), 967-974.

von Itzstein, M., vd., (1993). Rational design of potent sialidase-based inhibitors of influenza virus replication. *Nature, 363*(6428), 418-423.

von Itzstein, M. vd., (1996). A study of the active site of influenza virus sialidase: an approach to the rational design of novel anti-influenza drugs. *Journal of Medicinal Chemistry, 39*(2), 388-391.

Wade, R. C. (1997). 'Flu' and structure-based drug design. *Structure, 5*(9), 1139-1145.

Wagner, R., vd., (2000). Interdependence of hemagglutinin glycosylation and neuraminidase as regulators of influenza virus growth: a study by reverse genetics. *Journal of Virology, 74*(14), 6316-6323.

Wagner, R., vd., (2002). Functional balance between haemagglutinin and neuraminidase in influenza virus infections. *Reviews in Medicinal Virology, 12*(3), 159-166.

Wang, J., vd., (2004). Development and testing of a general amber force field. *Journal of Computational Chemistry, 25*(9), 1157-1174.

Wang, J., vd., (2006). Automatic atom type and bond type perception in molecular mechanical calculations. *Journal of Molecular Graphics ve Modelling, 25*(2), 247-260.

Webster, R. G. ve Bean, W. J. (1978). Genetics of influenza virus. *Annu Rev Genet, 12*, 415-431.

Webster, R. G., vd., (1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiological Reviews, 56*(1), 152-179.

Wilson, J. C. ve von Itzstein, M. (2003). Recent strategies in the search for new anti-influenza therapies. *Current Drug Targets, 4*(5), 389-408.

Wohlbold, T. J. ve Krammer, F. (2014). In the Shadow of Hemagglutinin: A Growing Interest in Influenza Viral Neuraminidase and Its Role as a Vaccine Antigen. *Viruses-Basel, 6*(6), 2465-2494.

Wolf, Y. I., vd., (2006). Long intervals of stasis punctuated by bursts of positive selection in the seasonal evolution of influenza A virus. *Biology Direct, 1*, 34.

Wright, P. F. a. ve Webster., R.G. . (2001). *Orthomyxoviruses* (D. M. B.N. and Knipe Ed. 4th Edition ed.). Philadelphia: Lippincott Williams ve Wilkins, 1533-1579.

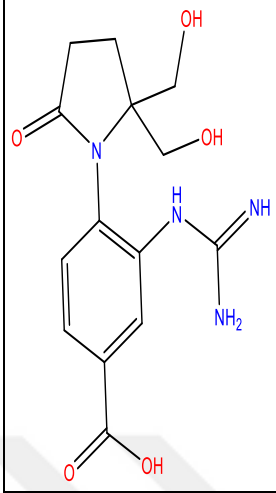
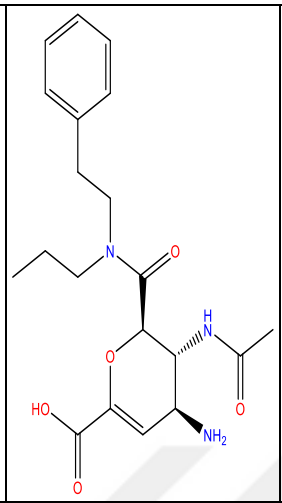
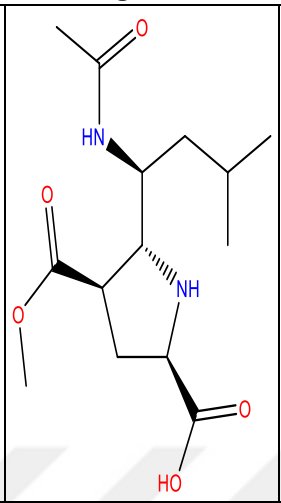
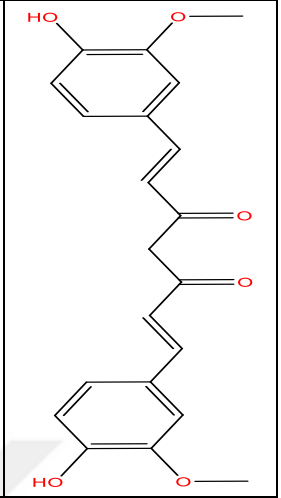
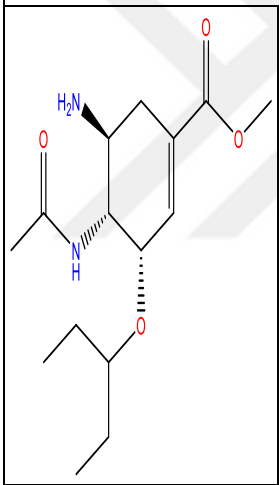
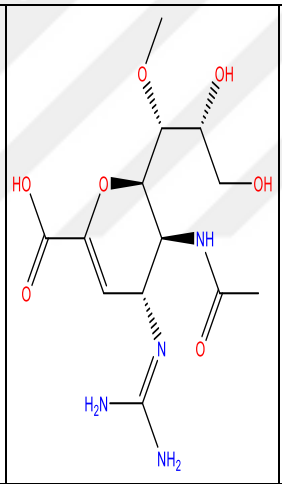
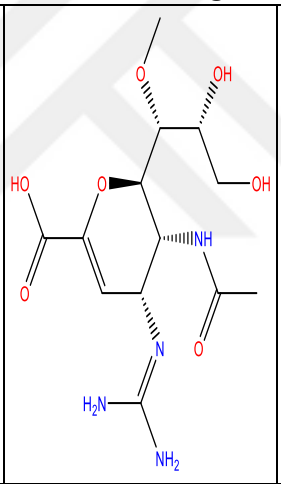
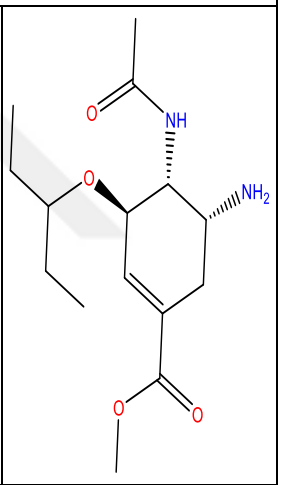
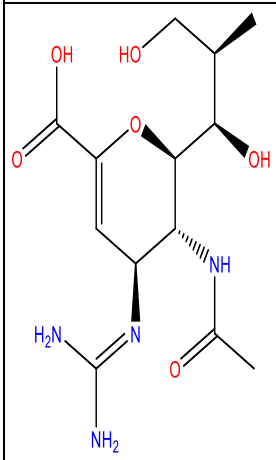
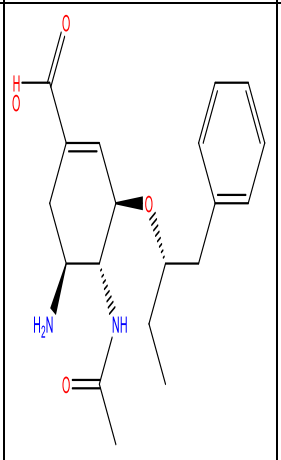
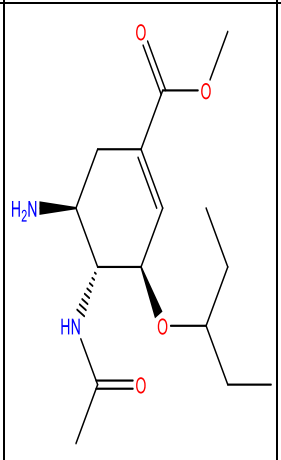
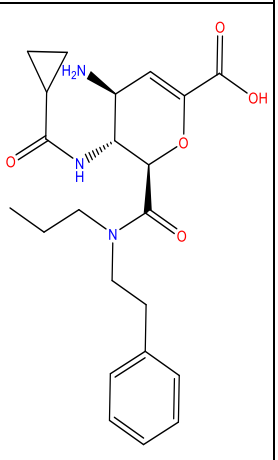
Xu, J., Davis, vd., (2012). Evolutionary history and phylodynamics of influenza A and B neuraminidase (NA) genes inferred from large-scale sequence analyses. *PLoS One, 7*(7), e38665.

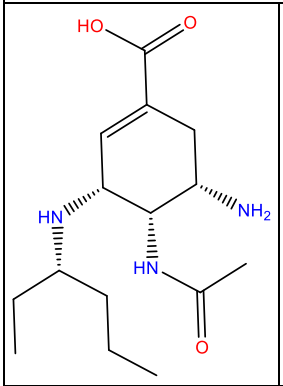
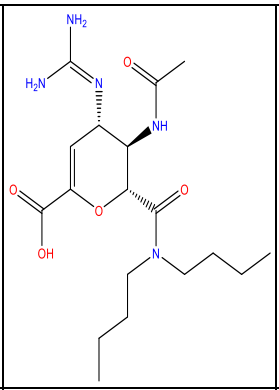
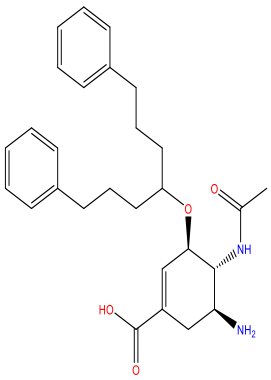
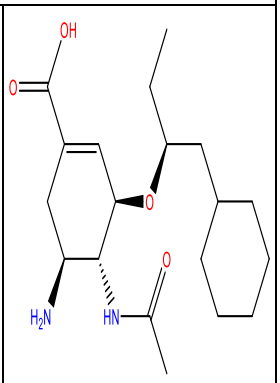
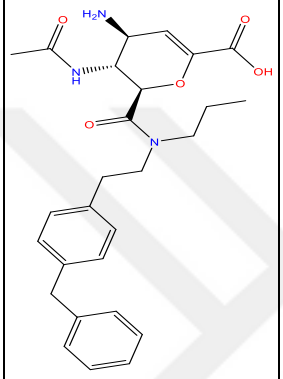
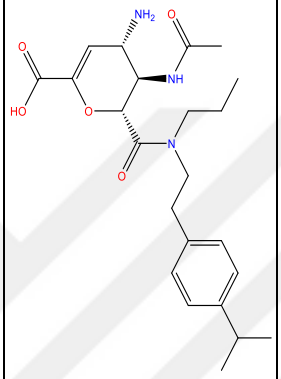
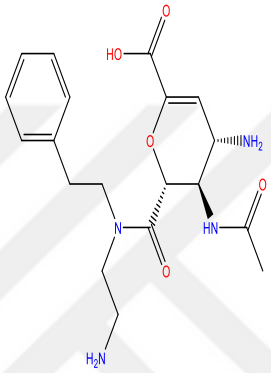
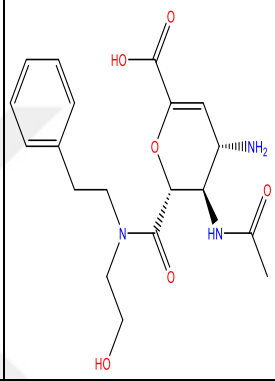
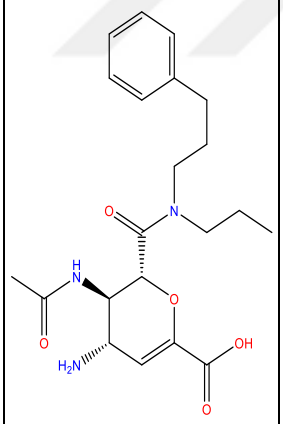
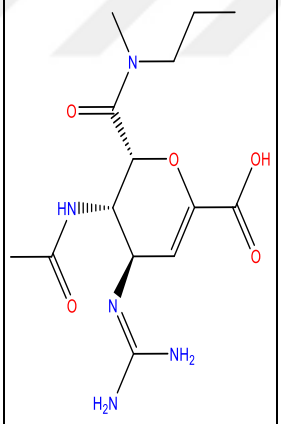
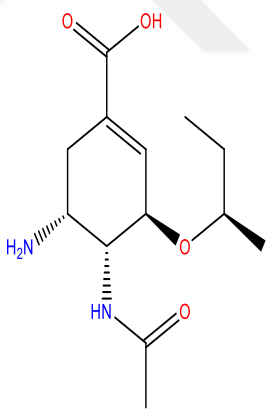
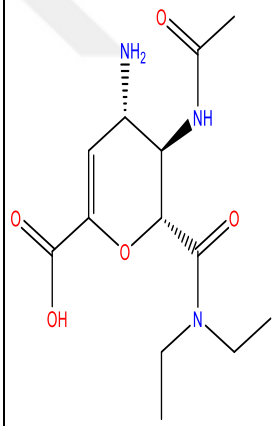
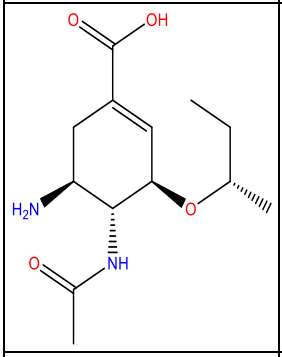
Zhang, Z., vd. (2011). Identification of cavities on protein surface using multiple computational approaches for drug binding site prediction. *Bioinformatics, 27*(15), 2083-2088.

EKLER

EK 1.

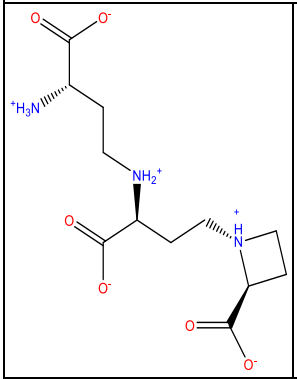
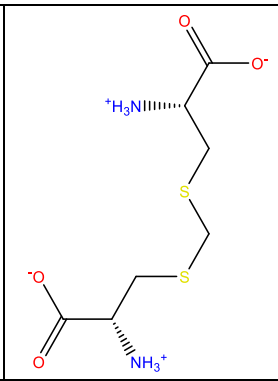
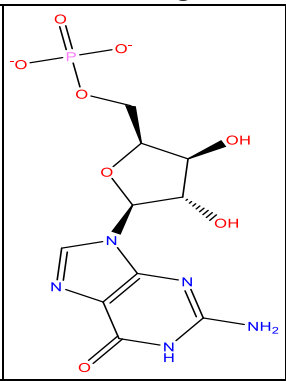
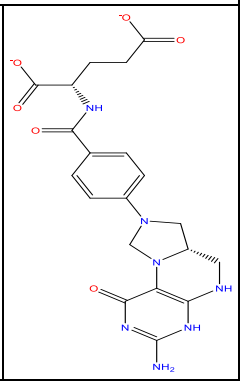
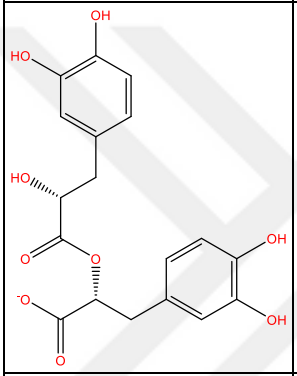
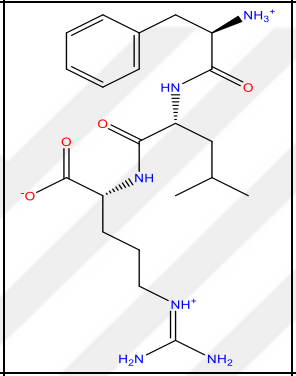
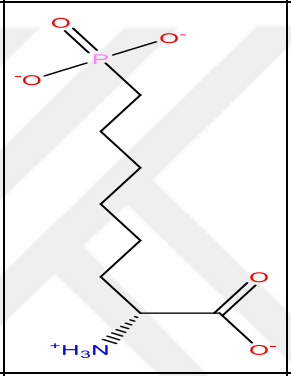
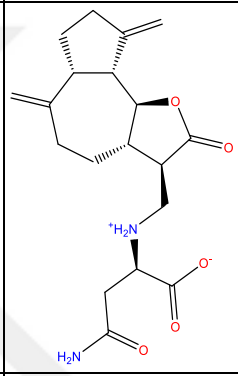
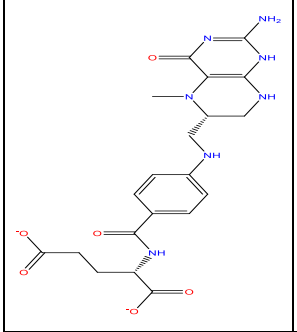
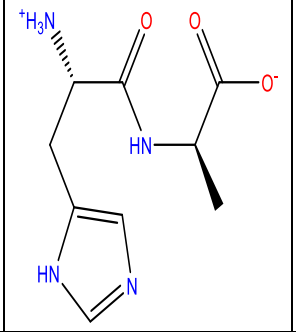
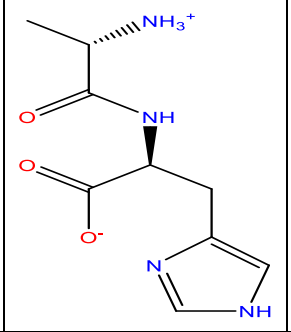
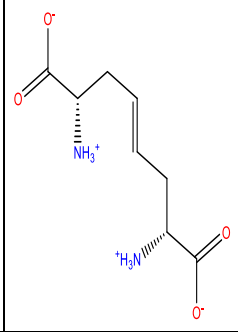
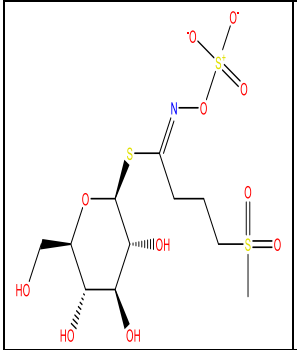
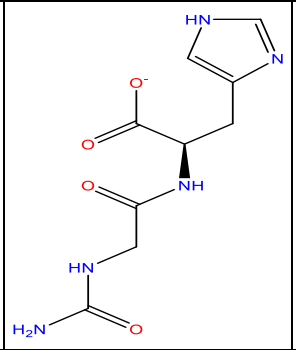
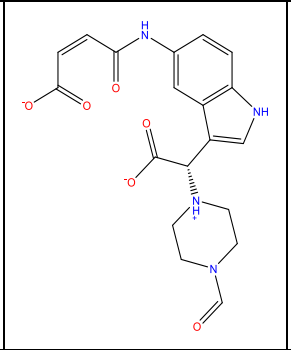
Tablo EK 1 (Devam)

Sadece *İnvitro* Çalışılmış Ligandlar			
			
ZINC000002047890	ZINC000003929021	ZINC000005962782	ZINC00100067274(ro1)
ZINC Predictions Altkümesinden Seçilen Ligandlar			
			
z01	z02	z03	z04
			
z05	z06	z07	z08

Tablo EK 1 (Devam)			
			
z09	z10	z11	z12
			
z13	z14	z15	z16
			
z17	z18	z19	z20
			
z21			

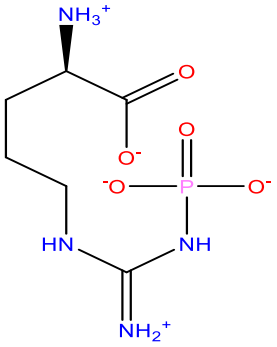
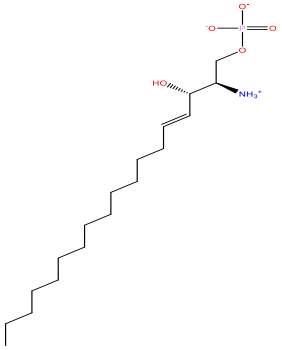
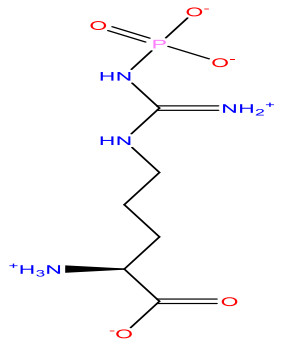
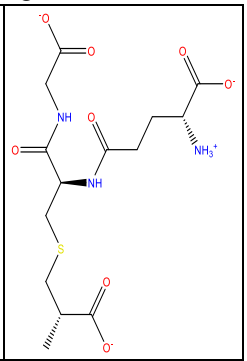
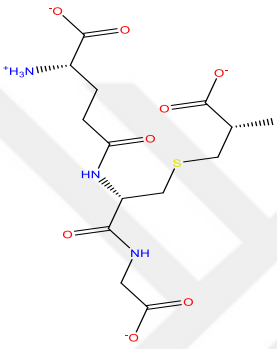
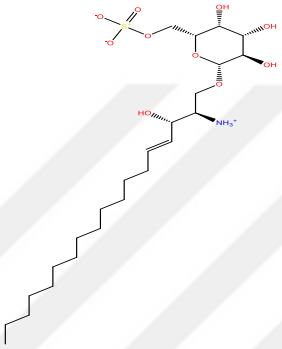
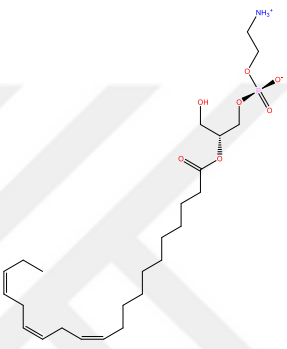
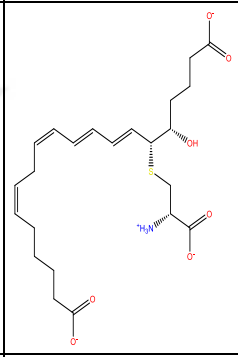
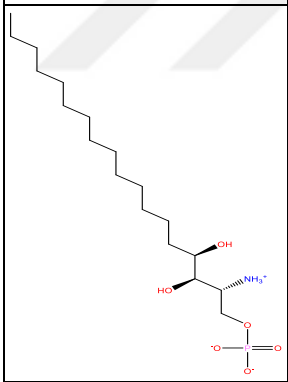
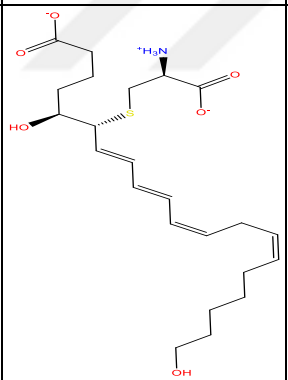
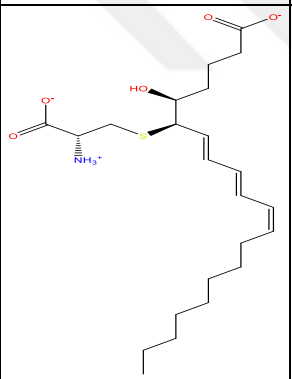
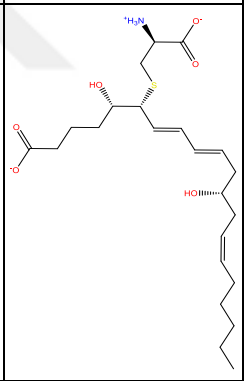
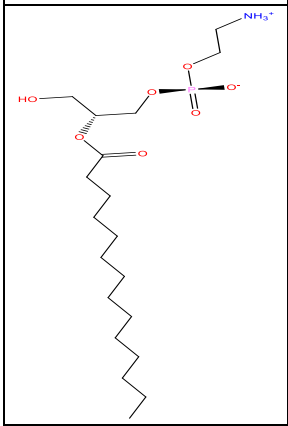
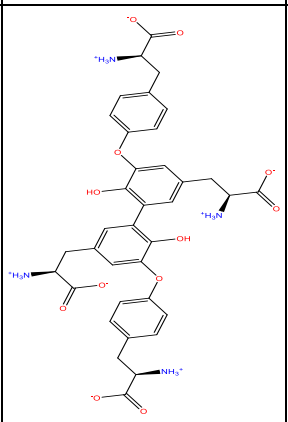
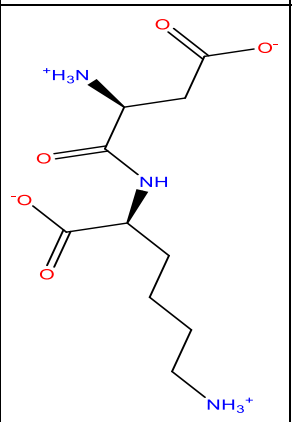
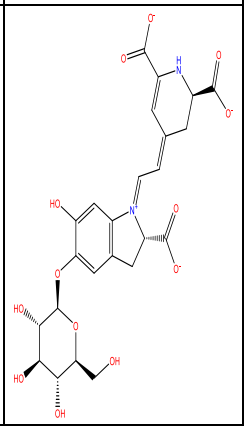
EK 2.

Tablo EK 2. Sanal tarama ile bulunan doğal ligandlar

Natural Products Altkümesinden Seçilen Ligandlar			
			
ZINC00001530134(n01)	ZINC001531043(n02)	ZINC000003073318	ZINC000004654260
			
ZINC000013431703	ZINC000061991208	ZINC000002149821	ZINC000070450983
			
ZINC000002005305	ZINC000004533523	ZINC000005115824	ZINC000003623257
			
ZINC000013549482	ZINC000035361487	ZINC000036358119	

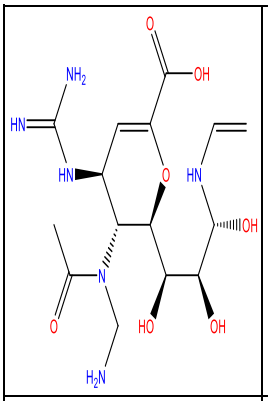
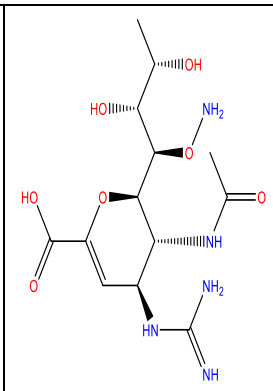
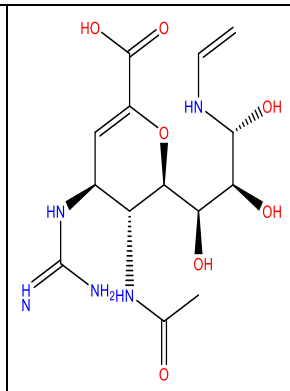
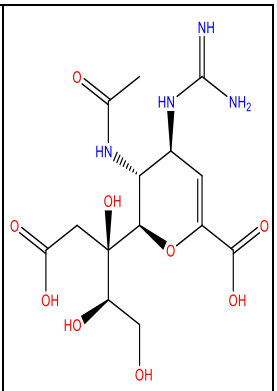
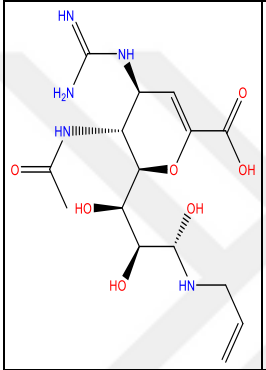
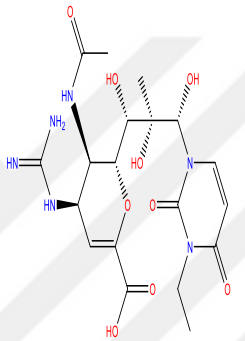
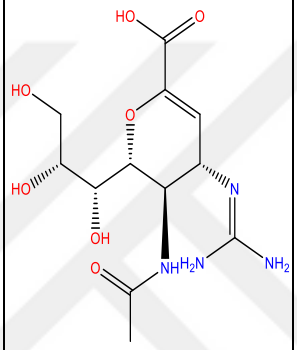
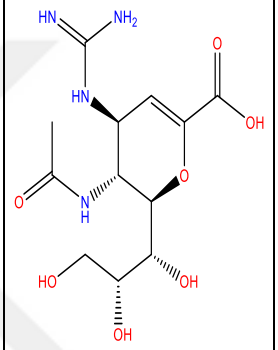
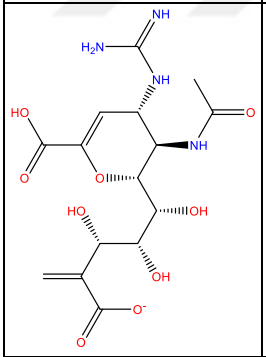
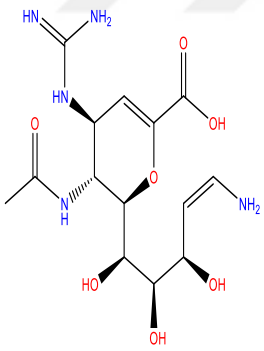
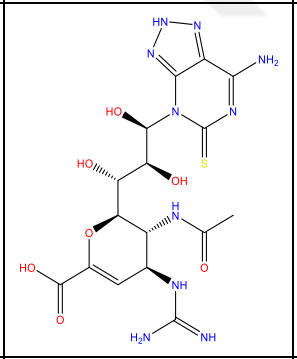
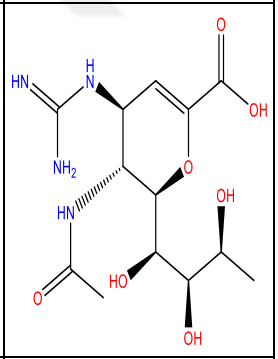
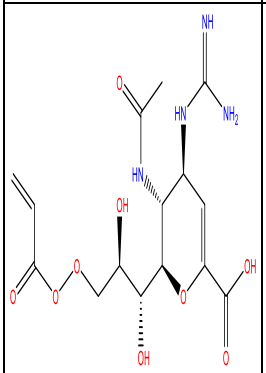
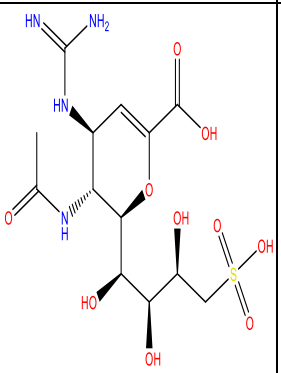
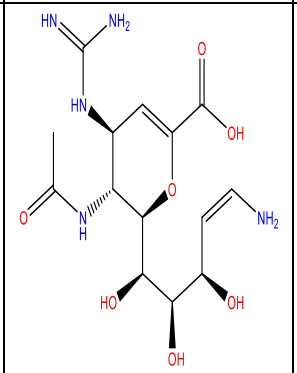
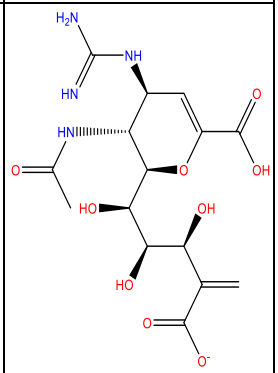
EK 3.

Tablo EK 3. Sanal tarama ile FoodDB kataloğu üzerinden bulunan ligandlar

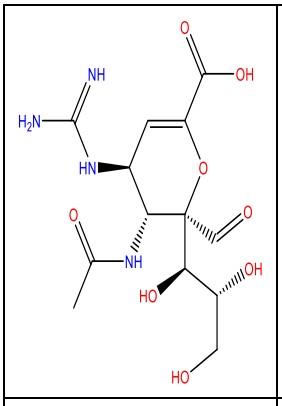
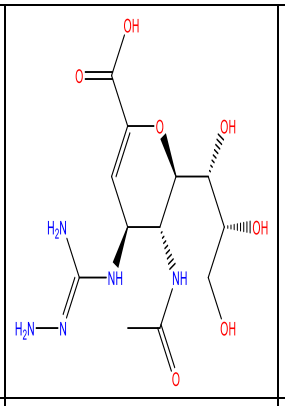
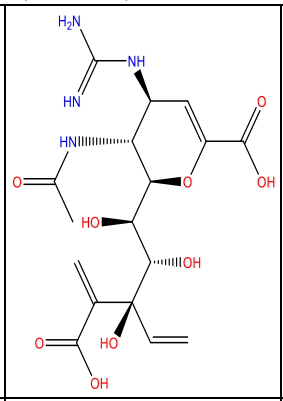
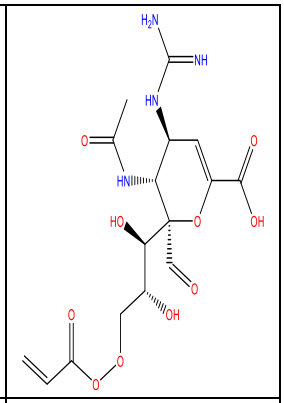
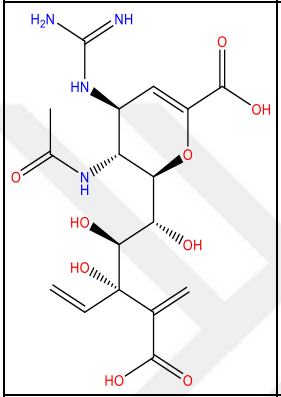
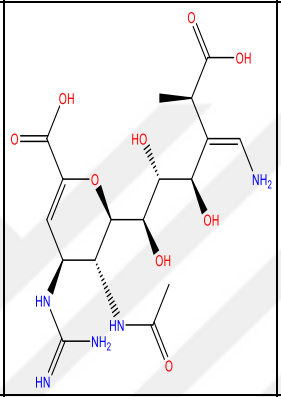
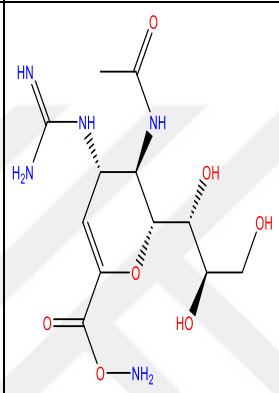
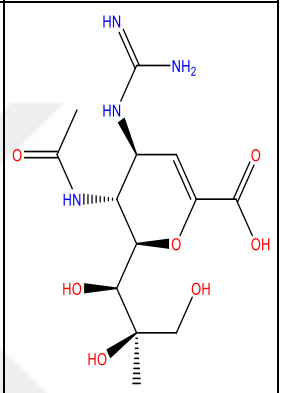
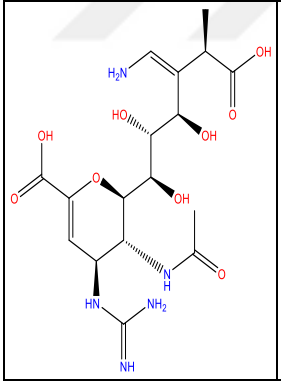
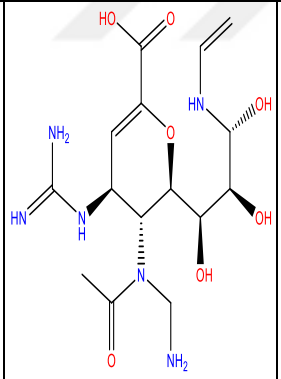
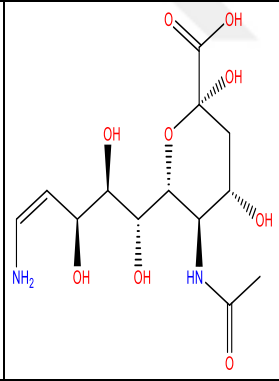
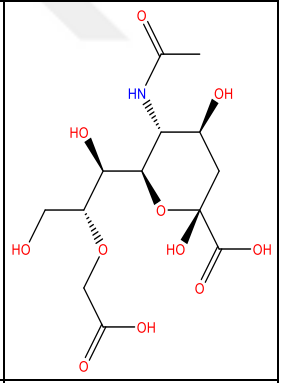
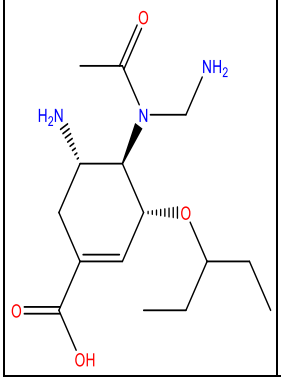
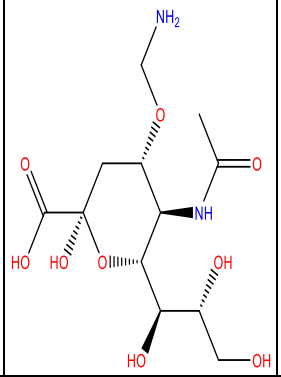
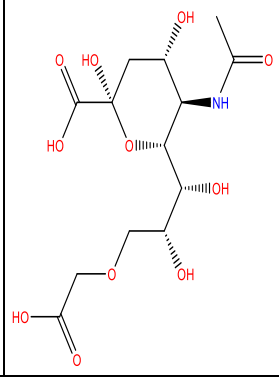
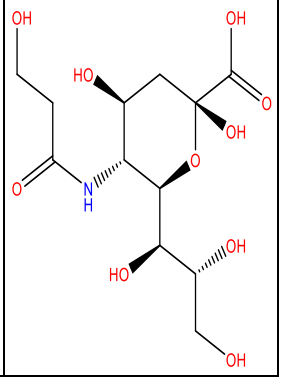
			
ZINC000001530093(f01)	ZINC000040164194	ZINC000001530092	ZINC000015261363
			
ZINC000059172212	ZINC000085589399	ZINC000040165342	ZINC000085589056
			
ZINC000040165561	ZINC000085589083	ZINC000040164380	ZINC000085588757
			
ZINC000032840577	ZINC000085641660	ZINC000002390911	ZINC000256097288

EK 4.

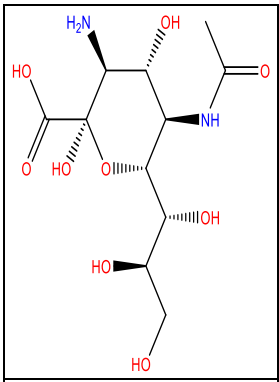
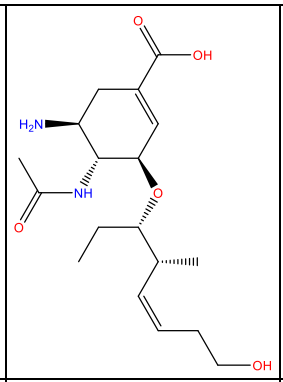
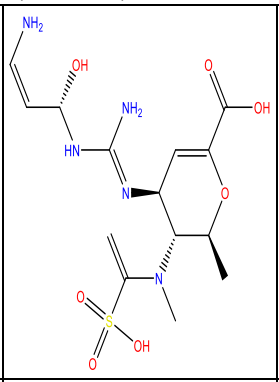
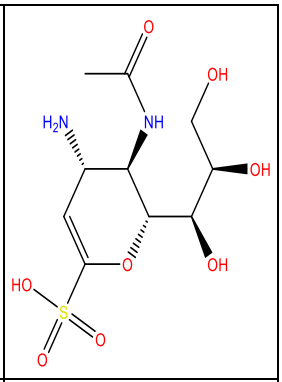
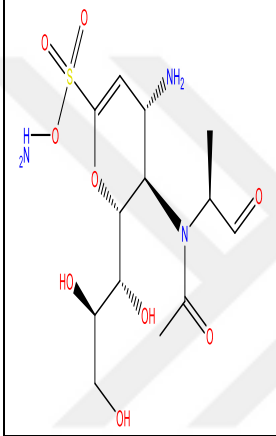
Tablo EK 4. De novo Dizayn ile oluşturulmuş liganlar (Sadece olumlu bulunanlar gösterilmiştir).

			
d01	d02	d03	d04
			
d05	d06	d07	d08
			
d09	d10	d11	d12
			
d13	d14	d15	d16

Tablo EK 4. (DEVAM)

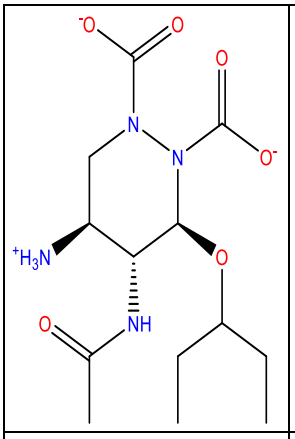
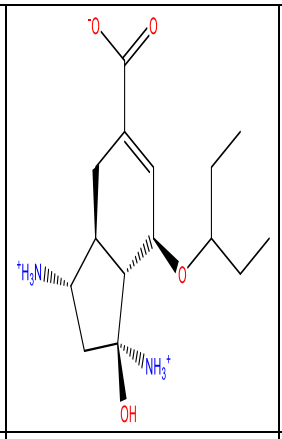
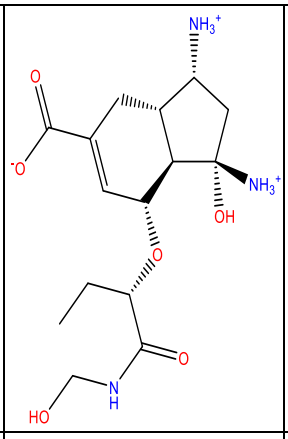
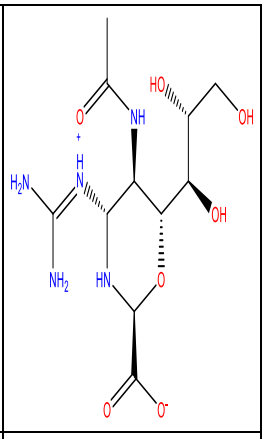
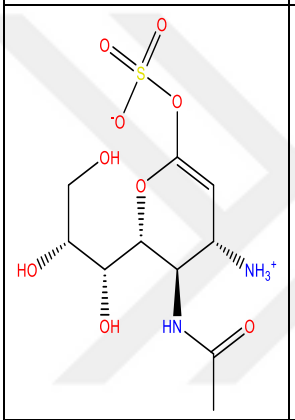
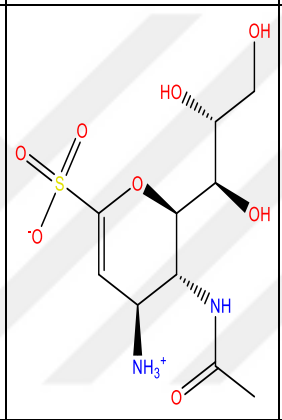
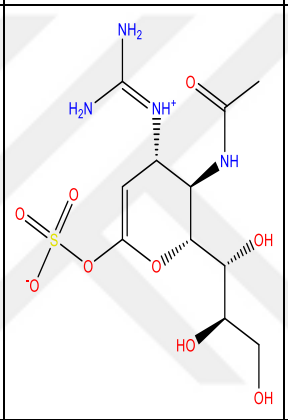
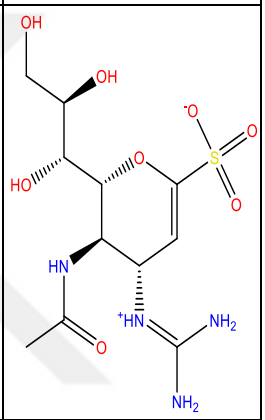
			
d17	d18	d19	d20
			
d21	d22	d23	d24
			
d25	d26	d27	d28
			
d29	d30	d31	d32

Tablo EK 4. (DEVAM)

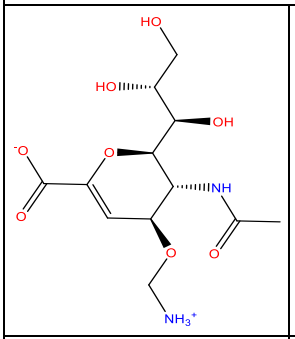
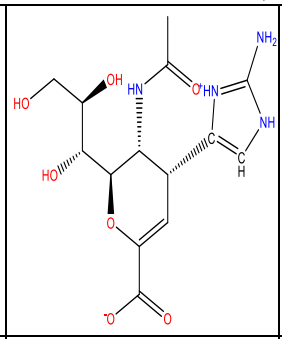
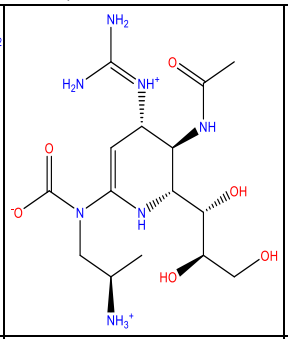
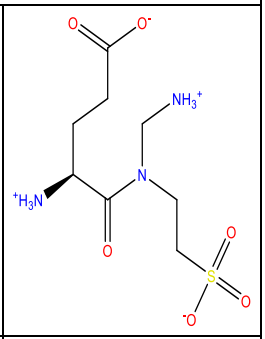
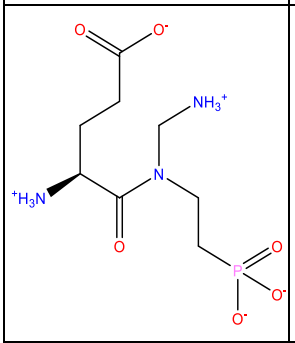
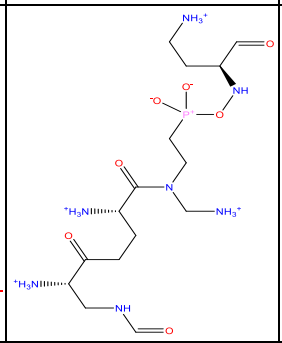
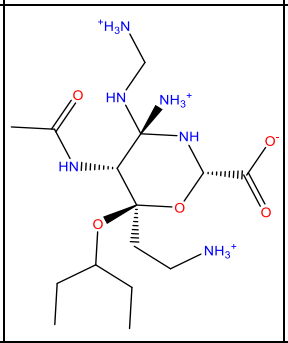
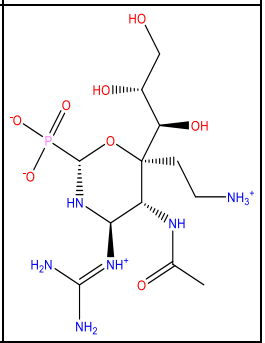
			
d33	d34	d35	d36
			
d37			

EK 5.

Tablo EK 5. Rasyonel Dizayn ile Çizilmiş Liganlar (Sadece olumlu bulunanlar gösterilmiştir)

			
r01	r02	r03	r04
			
r05	r06	r07	r08

EK 5. (Devam)

			
r09	r10	r80	r81
			
r82	r83	r84	r85

EK 6.

Tablo EK 6. Antiviral direnç risk değerlendirme sonuçları

Risk Kategorileri:

- İlaca Duyarlı (Sensitive to Drug): Dizi "normal" ilaç yanıtıyla ilişkili amino asitlere sahiptir.
- İlaca Karşı Artan Direnç (Increased Resistance to Drug): Kullanıcı dizisi, artan ilaç direnci ile ilişkili spesifik mutasyona sahiptir.
- İlaca Karşı Artan Duyarlılık (Increased Sensitivity to Drug): Kullanıcı dizisi, artan ilaç duyarlılığı ile ilişkili spesifik mutasyona sahiptir
- İlaca Yanıt Üzerindeki Bilinmeyen Etki (Unknown Effect on Response to Drug): Kullanıcı sekansı, ilaca karşı artan hassasiyet veya dirençle ilişkili olmayan mutasyona sahiptir.

2HU4	**33 Antiviral resistance mutation sequence feature variants**

17 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Oseltamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Oseltamivir
9 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Zanamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Zanamivir
7 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Peramivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Peramivir

Number of Variant Types	Position in Reference Sequence	Amino Acid in Reference Sequence	Position in User Sequence	Amino Acid in User Sequence	Phenotype(s) in User Sequence
9	116	V	34	V	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
11	117	I	35	I	Sensitive to Oseltamivir
10	119	E	37	E	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir Sensitive to Peramivir
10	119	E	37	E	Sensitive to Zanamivir Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Peramivir
8	136	Q	54	Q	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
8	136	Q	54	Q	Sensitive to Peramivir Sensitive to Zanamivir
15	149	V	67	V	Sensitive to Zanamivir
10	156	R	74	R	Sensitive to Peramivir Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
10	199	D	117	D	Sensitive to Oseltamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir
9	247	S	165	S	Sensitive to Oseltamivir
8	275	H	193	H	Sensitive to Oseltamivir
8	278	E	196	E	Sensitive to Oseltamivir
10	295	N	213	N	Sensitive to Oseltamivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir Sensitive to Peramivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Peramivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Peramivir Sensitive to Oseltamivir

Tablo EK 6 (DEVAM)

4B7R	**33 Antiviral resistance mutation sequence feature variants**

17 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Oseltamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Oseltamivir
8 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Zanamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Zanamivir
1 sequence feature variant(s) -> Unknown Effect on Response to Zanamivir
7 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Peramivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Peramivir

Number of Variant Types	Position in Reference Sequence	Amino Acid in Reference Sequence	Position in User Sequence	Amino Acid in User Sequence	Phenotype(s) in User Sequence
9	116	V	34	V	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
11	117	I	35	I	Sensitive to Oseltamivir
10	119	E	37	E	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir Sensitive to Peramivir
10	119	E	37	E	Sensitive to Zanamivir Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Peramivir
8	136	Q	54	Q	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
8	136	Q	54	Q	Sensitive to Peramivir Sensitive to Zanamivir
15	149	V	67	I	Unknown Effect on Response to Zanamivir
10	156	R	74	R	Sensitive to Peramivir Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
10	199	D	117	D	Sensitive to Oseltamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir
12	223	I	141	I	Sensitive to Oseltamivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir Sensitive to Peramivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Peramivir
17	223,297	IH	141,215	IH	Sensitive to Peramivir Sensitive to Oseltamivir
9	247	S	165	S	Sensitive to Oseltamivir
8	275	H	193	H	Sensitive to Oseltamivir
8	278	E	196	E	Sensitive to Oseltamivir
10	295	N	213	N	Sensitive to Oseltamivir

3TIA	**11 Antiviral resistance mutation sequence feature variants**

7 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Oseltamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Oseltamivir
4 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Zanamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Zanamivir

Tablo EK 6 (DEVAM)

Number of Variant Types	Position in Reference Sequence	Amino Acid in Reference Sequence	Position in User Sequence	Amino Acid in User Sequence	Phenotype(s) in User Sequence
10	116	V	116	V	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
9	119	E	119	E	Sensitive to Oseltamivir
9	119	E	119	E	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
17	119,222	EI	119,222	EI	Sensitive to Oseltamivir
7	136	Q	136	Q	Sensitive to Zanamivir
8	198	D	198	D	Sensitive to Oseltamivir
7	222	I	222	I	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
8	274	H	274	H	Sensitive to Oseltamivir

4GZQ **11 Antiviral resistance mutation sequence feature variants**

7 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Oseltamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Oseltamivir
4 sequence feature variant(s) -> Sensitive to Zanamivir
0 sequence feature variant(s) -> Increased Resistance to Zanamivir

Number of Variant Types	Position in Reference Sequence	Amino Acid in Reference Sequence	Position in User Sequence	Amino Acid in User Sequence	Phenotype(s) in User Sequence
10	116	V	40	V	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
9	119	E	43	E	Sensitive to Oseltamivir
9	119	E	43	E	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
7	136	Q	60	Q	Sensitive to Zanamivir
8	198	D	122	D	Sensitive to Oseltamivir
7	222	I	146	I	Sensitive to Oseltamivir Sensitive to Zanamivir
8	274	H	198	H	Sensitive to Oseltamivir
17	119,222	EI	43,146	EI	Sensitive to Oseltamivir

EK 7.

Tablo EK 7. Dock Skorları (kcal/mol)								
NA GRUBU→	**GRUP 1 NÖRAMİNİDAZ**				**GRUP 2 NÖRAMİNİDAZ**			
RESEPTÖRLER→ / **LİGANDLAR↓**	**2hu4**	**2hu4 H255Y**	**4b7r**	**4b7r I223R-H275Y**	**4gzq**	**4gzq E119V-I222V**	**3tia**	**3tia E119V-I222V**
	FDA onaylı ilaçlar							
ZNM	-70,11	-70,84	-74,13	-76,68	-65,47	-63,45	-69,31	-65,71
OSC	-65,43	-66,54	-68,56	-65,40	-59,88	-53,24	-58,42	-54,12
Sadece *in vivo* çalışılmış ligandlar								
ZINC000000007642	-57,80	-45,81	-50,20	-50,56	-47,86	-56,62	-41,75	-49,57
ZINC000001538308	-38,84	-40,06	-35,42	-36,95	-40,51	-38,12	-37,69	-36,31
ZINC000003588277	-63,11	-63,39	-63,82	-65,83	-52,26	-50,97	-51,16	-48,86
ZINC000004096465	-56,11	-55,87	-57,37	-60,74	-55,36	-55,41	-51,74	-53,29
ZINC000005884083	-65,71	-66,61	-67,29	-69,64	-62,51	-56,22	-64,10	-57,61
ZINC000005962783	-46,44	-44,63	-50,70	-52,68	-45,24	-48,11	-41,89	-47,73
ZINC000038540546 (vo1)	-73,71	-76,92	-73,36	-76,32	-64,74	-64,88	-64,17	-62,90
ZINC000040933407	-47,36	-47,43	-47,64	-39,02	-47,38	-48,39	-47,90	-46,73
Sadece *invitro* çalışılmış ligandlar								
ZINC000002047890	-58,11	-54,47	-52,67	-43,82	-48,82	-43,97	-47,48	-44,96
ZINC000003929021	-65,02	-67,15	-68,51	-67,65	-63,24	-57,87	-64,92	-59,38
ZINC000005962782	-48,78	-48,26	-52,27	-46,52	-45,98	-47,38	-45,20	-47,49
ZINC000100067274 (ro1)	-58,65	-55,99	-54,98	-56,30	-50,73	-50,76	-56,89	-53,95
ZINC predictions altkümesinden seçilen ligandlar								
ZINC000077312077 (z01)	-57,74	-58,29	-58,56	-57,50	-52,40	-46,47	-54,99	-48,98
ZINC000255997317 (z02	-64,15	-66,06	-67,78	-62,38	-65,37	-59,51	-63,71	-59,59
ZINC000255997318 (z03)	-59,08	-59,77	-67,49	-69,45	-64,78	-61,89	-62,88	-55,73
ZINC000504544003 (z04)	-45,84	-47,03	-43,80	-44,77	-46,12	-46,74	-48,54	-47,34
ZINC000514268074 (z05)	-66,59	-67,34	-69,52	-71,98	-64,18	-60,23	-65,85	-61,93
ZINC000040863125 (z06)	-69,29	-69,32	-69,02	-61,00	-62,48	-57,45	-61,57	-55,69
ZINC000036451498 (z07)	-59,37	-59,79	-59,63	-56,75	-54,96	-47,44	-54,54	-48,41
ZINC000027736353 (z08)	-57,07	-52,70	-63,63	-58,96	-55,48	-54,64	-52,34	-57,18
ZINC000027108015 (z09)	-57,46	-60,29	-57,97	-60,98	-49,77	-50,56	-53,01	-51,45
ZINC000026748461 (z10)	-63,83	-66,49	-70,17	-73,56	-65,54	-59,96	-71,02	-69,07
ZINC000013780051 (z11)	-63,17	-62,58	-61,71	-57,87	-62,37	-67,55	-56,89	-63,93
ZINC000013780042 (z12)	-65,98	-65,85	-62,79	-51,64	-56,28	-54,32	-56,77	-51,56
ZINC000013778791 (z13)	-71,62	-70,25	-71,87	-75,94	-68,98	-62,42	-68,83	-68,79
ZINC000013778790 (z14)	-69,63	-68,72	-68,41	-71,68	-64,37	-61,42	-67,20	-62,38
ZINC000013778775 (z15)	-71,61	-73,13	-70,81	-71,97	-72,59	-66,82	-71,60	-65,29
ZINC000013778770 (z16)	-70,26	-72,47	-72,35	-73,42	-64,96	-59,85	-66,90	-62,39
ZINC000013778754 (z17)	-67,62	-66,50	-68,50	-72,17	-63,75	-62,95	-64,64	-62,37
ZINC000012503710 (z18)	-57,14	-57,83	-62,33	-56,83	-57,04	-53,71	-54,46	-47,67
ZINC000006411782hph (z19)	-62,44	-61,75	-63,98	-65,19	-57,54	-51,86	-56,39	-52,05
ZINC000006381741 (z20)	-63,80	-63,91	-65,82	-65,71	-58,04	-50,01	-59,59	-54,87
ZINC000004134486 (z21)	-61,36	-61,37	-64,33	-62,59	-56,71	-51,73	-56,63	-51,69

Tablo EK 7. (DEVAM)								
Natural Products filtresi üzerinden								
ZINC000061991208	-76,70	-76,86	-68,24	-70,32	-68,96	-67,66	-68,09	-69,67
ZINC000001530134 (n01)	-66,24	-65,31	-68,19	-71,45	-63,05	-58,88	-66,30	-59,56
ZINC000003073318	-65,16	-64,84	-61,29	-66,94	-59,29	-59,28	-52,64	-53,00
ZINC000036358119	-61,47	-62,32	-68,94	-63,36	-58,43	-61,42	-60,15	-56,37
ZINC000001531043 (n02)	-61,13	-59,98	-59,58	-62,09	-59,65	-57,23	-60,04	-56,48
ZINC000013431703	-59,58	-59,27	-59,44	-61,30	-58,59	-53,18	-53,07	-49,48
ZINC000070450983	-57,70	-58,82	-54,62	-52,54	-57,29	-55,63	-53,50	-53,33
ZINC000002149821	-55,43	-57,11	-59,56	-61,27	-56,85	-56,84	-55,13	-56,24
ZINC000013549482	-57,78	-56,89	-58,02	-57,12	-60,96	-54,46	-54,87	-58,26
ZINC000004533523	-59,30	-54,96	-59,64	-59,50	-52,47	-51,41	-57,53	-52,82
ZINC000002005305	-55,55	-54,28	-53,96	-53,30	-50,80	-48,40	-53,67	-50,90
ZINC000004654260	-53,36	-53,93	-67,88	-67,01	-51,79	-59,48	-53,90	-56,70
ZINC000003623257	-53,26	-53,25	-56,63	-57,88	-53,47	-52,78	-54,67	-53,23
ZINC000035361487	-53,08	-53,15	-52,24	-54,35	-49,13	-50,54	-49,15	-48,18
ZINC000005115824	-51,42	-47,64	-49,56	-52,06	-43,99	-43,74	-48,78	-42,69
FoodDB Kataloğu üzerinden								
ZINC000001530093 (f01)	-68,41	-69,02	-70,25	-72,68	-69,55	-66,92	-68,49	-66,03
ZINC000032840577	-80,84	-83,14	-79,92	-76,21	-75,92	-71,11	-75,89	-71,21
ZINC000040165342	-87,87	-81,57	-83,85	-86,77	-78,09	-78,12	-81,74	-79,97
ZINC000040165561	-79,36	-79,94	-83,64	-85,16	-73,77	-73,20	-75,17	-71,35
ZINC000085589399	-81,39	-79,77	-77,53	-74,19	-80,34	-89,23	-74,10	-77,85
ZINC000085589056	-75,54	-77,48	-82,88	-92,11	-74,97	-76,94	-73,82	-74,03
ZINC000040164380	-74,90	-77,37	-82,10	-84,74	-72,74	-73,45	-71,93	-68,33
ZINC000085588757	-75,09	-75,16	-74,74	-80,47	-72,95	-74,89	-72,46	-73,43
ZINC000085589083	-75,37	-74,82	-75,10	-81,94	-75,03	-71,56	-74,36	-69,40
ZINC000015261363	-73,26	-71,75	-71,88	-75,90	-67,54	-71,28	-65,04	-68,90
ZINC000002390911	-71,24	-69,39	-69,07	-66,90	-64,17	-61,56	-62,52	-62,89
ZINC000059172212	-70,48	-68,86	-70,88	-72,48	-64,18	-68,67	-61,95	-69,66
ZINC000001530092	-67,39	-67,84	-71,31	-73,55	-67,95	-67,30	-67,96	-65,00
ZINC000256097288	-67,62	-66,27	-64,43	-68,56	-58,03	-63,09	-58,19	-61,68
ZINC000085641660	-66,02	-65,29	-74,37	-58,03	-69,49	-73,03	-69,00	-70,08
ZINC000001531043	-61,13	-59,98	-59,58	-62,09	-59,65	-57,23	-60,04	-56,47
ZINC000001702537	-60,87	-59,66	-57,98	-59,64	-58,67	-56,16	-56,78	-56,00
De Novo tasarım ligandlar								
d01	-73,08	-74,97	-79,59	-75,93	-78,91	-61,40	-77,59	-76,12
d02	-62,25	-64,37	-71,85	-69,80	-63,78	-52,43	-65,68	-61,22
d03	-68,90	-68,89	-74,10	-73,24	-69,36	-53,35	-65,48	-71,12
d04	-76,13	-77,01	-81,76	-85,77	-68,99	-56,60	-76,44	-69,46
d05	-69,57	-69,67	-75,20	-78,16	-69,14	-67,41	-74,40	-68,72
d06	-57,44	-54,73	-58,59	-50,18	-57,64	-49,21	-51,70	-54,80
d07	-70,26	-70,99	-74,86	-78,08	-70,61	-64,49	-68,79	-57,96
d08	-70,37	-70,60	-75,40	-77,89	-65,15	-62,55	-68,69	-65,29

Tablo EK 7. (DEVAM)								
d09	-68,06	-68,95	-71,07	-77,63	-70,02	-54,99	-67,94	-70,55
d10	-67,00	-66,59	-71,92	-77,05	-69,53	-64,48	-71,86	-68,62
d11	-67,60	-68,24	-61,26	-65,03	-61,89	-58,35	-71,29	-58,93
d12	-64,07	-67,82	-69,60	-73,67	-67,46	-61,83	-62,56	-62,29
d13	-66,41	-71,18	-75,33	-79,54	-72,31	-58,02	-77,06	-72,05
d14	-64,04	-65,30	-72,29	-79,94	-64,70	-57,28	-73,72	-68,00
d15	-67,44	-64,62	-71,56	-76,35	-69,65	-67,70	-71,99	-68,45
d16	-66,67	-67,33	-68,62	-81,51	-68,47	-65,60	-71,97	-70,31
d17	-59,93	-59,49	-64,22	-63,97	-65,70	-60,39	-62,94	-61,95
d18	-59,66	-62,02	-71,92	-75,42	-65,41	-58,94	-62,01	-61,52
d19	-67,76	-62,10	-68,86	-71,81	-67,39	-67,29	-65,58	-65,80
d20	-67,62	-66,08	-69,44	-70,51	-70,73	-64,28	-67,79	-69,21
d21	-61,41	-57,32	-73,02	-72,59	-63,47	-54,17	-68,44	-64,66
d22	-71,99	-68,92	-76,36	-75,21	-76,81	-61,44	-81,02	-76,80
d23	-72,59	-71,60	-74,68	-75,17	-72,12	-63,69	-76,37	-65,37
d24	-69,13	-68,54	-71,64	-75,63	-68,25	-53,14	-67,67	-68,65
d25	-71,00	-68,84	-75,19	-79,99	-74,69	-71,43	-80,67	-77,71
d26	-72,08	-75,37	-80,28	-80,84	-79,67	-59,58	-81,03	-77,33
d27	-69,38	-68,92	-63,46	-67,36	-65,84	-67,59	-66,60	-61,82
d28	-71,92	-72,90	-76,15	-80,14	-61,55	-63,05	-62,81	-60,65
d29	-63,28	-64,66	-66,54	-63,10	-59,12	-53,51	-60,20	-53,67
d30	-71,32	-71,56	-74,53	-75,84	-69,56	-68,50	-70,95	-67,34
d31	-66,82	-68,21	-69,90	-77,00	-62,42	-64,95	-65,48	-63,01
d32	-64,29	-64,79	-65,36	-69,72	-57,48	-62,40	-65,09	-53,05
d33	-66,20	-66,37	-67,22	-69,60	-58,56	-51,55	-57,41	-52,701
d34	-66,24	-68,06	-67,97	-59,71	-61,19	-59,36	-62,07	-57,84
d35	-60,19	-59,95	-63,24	-62,36	-57,37	-58,43	-59,48	-58,27
d36	-69,40	-70,14	-68,16	-71,70	-64,40	-58,39	-64,43	-59,02
d37	-64,73	-66,85	-63,24	-69,38	-63,63	-55,97	-63,43	-56,38
Rasyonel tasarım ligandlar								
r01	-56,80	-55,95	-56,12	-56,86	-53,42	-50,32	-48,95	-49,56
r02	-62,34	-63,65	-67,24	-60,18	-61,56	-57,41	-63,20	-57,76
r03	-60,61	-61,09	-62,92	-62,47	-58,92	-55,26	-57,34	-54,77
r04	-70,79	-71,44	-75,44	-78,17	-66,90	-63,08	-70,73	-67,08
r05	-59,79	-60,19	-63,53	-65,37	-59,00	-52,13	-59,98	-55,37
r06	-69,54	-69,69	-67,24	-71,22	-62,12	-53,09	-65,79	-57,76
r07	-61,92	-64,44	-68,68	-69,97	-56,48	-57,66	-58,76	-60,10
r08	-72,48	-71,36	-76,96	-79,27	-64,63	-58,71	-71,56	-62,06
r09	-67,11	-67,22	-71,19	-68,06	-65,31	-52,99	-65,91	-58,79
r10	-62,16	-64,05	-69,21	-62,86	-59,75	-57,31	-57,16	-58,67
r80	-72,98	-74,72	-81,06	-82,38	-76,67	-60,61	-72,14	-68,80
r81	-66,95	-67,83	-70,37	-70,92	-64,15	-65,79	-66,07	-63,27
r82	-71,09	-68,89	-73,84	-79,96	-66,04	-68,91	-65,64	-62,14
r83	-92,13	-90,37	-87,42	-74,95	-86,55	-89,92	-83,58	-85,52
r84	-78,58	-78,57	-72,67	-67,25	-74,51	-70,67	-79,44	-72,02
r85	-72,36	-74,36	-79,32	-83,92	-79,19	-72,00	-80,47	-77,36

EK 8.

Tablo EK 8. Ligandların MM-PB(GB)/SA metodu ile elde edilen bağlanma serbest enerjileri ve bu değere enerji bileşenlerinin katkıları

Kompleks	vdWaals	EEL	EGB	ESURF	ΔG_{GB}	EPB	ΔG_{PB}
$3TIA_{WT}$-osc	-18,88±4,26	-204,66±21,00	185,37±14,89	-4,48±0,43	-42,65±7,63	197,90±16,62	-25,64±8,16
$3TIA_{WT}$-znm	-20,50±6,14	-197,81±27,20	180,91±25,16	-4,63±0,88	-42,03±8,69	183,12±28,38	-35,19±6,96
$3TIA_{WT}$-ro1	-26,81±5,35	-15,36±6,43	27,67±6,25	-3,69±0,61	-18,18±5,36	27,90±7,73	-14,26±4,85
$3TIA_{WT}$-vo1	-10,22±5,40	-350,29±25,39	297,61±19,94	-4,33±0,46	-67,22±9,93	300,51±20,96	-59,99±8,10
$3TIA_{WT}$-z15	-20,87±4,20	-316,14±38,50	300,59±32,35	-4,66±0,37	-41,07±8,75	304,20±31,43	-32,80±10,99
$3TIA_{WT}$-n01	-9,64±4,50	-165,79±49,27	149,81±45,10	-3,18±0,62	-28,80±10,17	151,93±47,86	-23,50±8,89
$3TIA_{WT}$-n02	-15,04±4,19	-174,33±23,20	155,73±16,16	-4,15±0,27	-37,78±8,09	154,29±15,49	-35,07±10,63
$3TIA_{WT}$-f01	2,73±4,94	-353,03±23,50	254,09±20,74	-3,14±0,31	-99,34±13,05	289,63±21,00	-60,66±9,43
$3TIA_{WT}$-d01	-18,62±4,85	-340,43±29,25	320,75±21,22	-5,09±0,36	-43,39±8,16	317,88±21,01	-41,17±9,03
$3TIA_{WT}$-d04	-21,27±3,83	-209,04±27,62	210,57±23,45	-4,45±0,41	-24,19±6,37	212,81±23,97	-17,51±7,93
$3TIA_{WT}$-d10	-25,04±3,91	-167,38±19,50	171,80±12,80	-4,70±0,44	-25,32±9,25	180,49±16,36	-11,92±18,05
$3TIA_{WT}$-d16	-21,35±5,04	-170,36±45,93	176,06±43,11	-4,04±0,73	-19,69±7,13	175,85±46,33	-15,85±7,74
$3TIA_{WT}$-d23	-18,41±3,43	-224,16±25,46	231,99±22,43	-3,54±0,39	-14,12±4,54	229,27±22,76	-13,30±6,31
$3TIA_{WT}$-d25	-26,26±4,09	-221,84±22,17	219,65±17,83	-4,88±0,38	-33,31±6,45	218,98±19,59	-29,10±7,32
$3TIA_{WT}$-d26	-34,64±4,81	-236,04±21,47	250,30±18,06	-5,81±0,37	-26,19±6,06	255,30±19,65	-15,38±8,23
$3TIA_{WT}$-d30	-16,51±4,04	-218,57±23,77	205,23±15,26	-4,47±0,44	-34,30±12,18	211,77±15,35	-23,30±13,98
$3TIA_{WT}$-d36	-19,34±3,81	-133,65±31,69	141,93±22,66	-3,99±0,47	-15,05±10,12	143,16±24,95	-9,83±10,48
$3TIA_{WT}$-r01	-19,43±3,44	-82,61±30,42	88,91±25,48	-3,02±0,54	-16,16±7,79	89,45±28,61	-12,59±6,64
$3TIA_{WT}$-r02	-12,19±3,89	-270,24±35,84	259,09±27,64	-3,25±0,41	-26,59±8,36	262,51±27,18	-19,92±9,95
$3TIA_{WT}$-r16	-15,10±3,65	-136,73±25,07	130,24±20,74	-3,24±0,47	-24,84±6,89	133,16±21,68	-18,67±6,81
$3TIA_{WT}$-r35	-24,13±3,45	-202,26±24,13	201,29±19,10	-5,07±0,37	-30,18±7,47	207,97±19,05	-18,42±10,25
$3TIA_{WT}$-r64	-22,64±4,61	-183,77±31,11	192,21±22,22	-4,48±0,36	-18,68±8,61	198,76±23,90	-7,65±11,91
$3TIA_{WT}$-r80	-24,01±3,56	-186,36±29,19	185,98±26,08	-4,60±0,28	-29,00±5,11	190,69±26,54	-19,67±6,74
$3TIA_{WT}$-r81	-12,53±4,12	-297,07±28,69	280,36±21,98	-4,33±0,27	-33,57±8,85	291,88±22,40	-17,72±9,67
$3TIA_{WT}$-r82	-5,08±3,97	-270,35±22,94	244,75±19,51	-3,16±0,23	-33,85±7,68	242,11±21,21	-33,33±6,87
$3TIA_{WT}$-r83	-28,40±6,93	-354,19±48,26	366,28±40,07	-5,73±0,54	-22,03±9,32	361,75±40,24	-20,83±12,17
$3TIA_{WT}$-r84	-9,81±5,06	-447,66±47,24	420,89±39,02	-4,15±0,36	-40,73±10,15	422,63±39,29	-34,84±10,95
$3TIA_{WT}$-r85	-26,93±4,01	-210,06±19,32	206,49±13,65	-5,73±0,39	-36,23±7,11	215,65±14,64	-21,34±10,47
$4GZQ_{WT}$-osc	-17,36±3,92	-184,15±24,13	165,04±18,75	-4,08±0,54	-40,55±7,98	170,93±21,85	-30,58±6,10
$4GZQ_{WT}$-znm	-23,50±3,78	-168,23±18,66	169,30±15,60	-4,66±0,42	-27,09±6,34	179,28±17,31	-12,45±7,41
$4GZQ_{WT}$-ro1	-32,19±3,13	-24,11±7,70	39,30±6,64	-4,41±0,37	-21,41±3,73	43,58±7,07	-12,73±4,04
$4GZQ_{WT}$-vo1	-14,32±4,68	-362,12±25,99	319,43±17,22	-4,63±0,28	-61,65±11,55	324,06±20,10	-52,38±8,70
$4GZQ_{WT}$-z15	-23,91±4,65	-323,73±36,66	307,46±30,77	-5,53±0,51	-45,71±9,44	311,61±30,90	-36,03±10,85
$4GZQ_{WT}$-f01	0,70±5,27	-293,47±36,18	233,85±36,02	-2,73±0,51	-61,65±17,58	248,07±38,04	-44,69±11,29
$4GZQ_{WT}$-n02	-9,74±3,69	-112,43±25,25	107,72±22,43	-2,74±0,39	-17,19±6,63	104,99±22,96	-17,17±6,79
$4GZQ_{WT}$-d25	-17,56±4,80	-129,40±33,82	125,50±36,82	-3,47±0,67	-24,92±5,76	121,64±37,47	-25,32±6,47
$4GZQ_{WT}$-d30	-16,74±4,16	-200,27±28,50	185,60±22,23	-4,33±0,47	-35,74±8,31	185,04±23,65	-31,97±9,76
$4GZQ_{WT}$-r84	-14,00±4,69	-415,11±56,35	388,63±49,75	-4,56±0,51	-45,03±9,92	385,18±50,07	-43,93±10,94
$2HU4_{WT}$-osc	-21,02±4,18	-206,69±12,56	179,13±8,68	-4,79±0,25	-53,38±5,39	184,16±10,09	-43,56±7,89
$2HU4_{WT}$-znm	-25,36±4,03	-158,12±21,55	162,73±15,99	-4,75±0,45	-25,49±7,88	171,49±17,42	-11,98±9,03
$2HU4_{WT}$-ro1	-33,93±6,60	-26,42±16,85	39,55±15,12	-4,97±0,98	-25,77±8,22	45,53±17,63	-14,82±6,34

Tablo EK 8. (DEVAM)							
2HU4$_{WT}$-vo1	-12,60±5,06	-343,23±24,59	294,56±18,54	-4,61±0,46	-65,87±9,69	307,88±17,57	-47,95±10,83
2HU4$_{WT}$-z15	-18,45±4,79	-287,84±22,45	272,77±20,04	-4,83±0,57	-38,34±6,42	273,29±20,01	-32,99±6,78
2HU4$_{WT}$-n02	-14,28±3,88	-160,18±23,04	145,72±15,02	-4,00±0,25	-32,73±8,01	148,84±16,64	-25,61±8,03
2HU4$_{WT}$-f01	1,66±5,56	-380,45±35,21	256,26±31,95	-3,31±0,57	-125,84±15,72	301,53±32,22	-77,26±8,87
2HU4$_{WT}$-d25	-24,69±5,74	-115,60±28,06	127,72±24,39	-4,44±0,50	-17,01±7,82	126,58±26,61	-13,71±9,57
2HU4$_{WT}$-d30	-21,67±3,98	-202,51±27,81	193,89±16,97	-4,69±0,45	-34,99±11,83	197,33±15,14	-26,85±14,87
2HU4$_{WT}$-r84	-13,41±4,49	-373,63±35,42	336,52±30,39	-4,14±0,32	-54,66±8,25	334,71±31,73	-52,33±7,89
4B7R$_{WT}$-osc	-19,14±3,60	-190,50±24,42	175,59±17,74	-4,12±0,31	-38,16±7,53	182,20±17,88	-27,43±8,81
4B7R$_{WT}$-znm	-19,82±3,50	-178,70±24,49	173,99±19,06	-4,01±0,36	-28,54±7,16	175,02±19,10	-23,50±8,25
4B7R$_{WT}$-ro1	-35,94±3,36	-31,34±10,28	44,23±7,94	-5,40±0,38	-28,44±4,39	52,12±7,86	-15,15±5,63
4B7R$_{WT}$-vo1	-13,36±4,62	-419,06±46,20	355,65±28,39	-4,58±0,33	-81,35±18,83	368,42±33,89	-64,00±13,26
4B7R$_{WT}$-z15	-29,98±5,89	-241,94±21,58	226,38±17,39	-6,16±0,57	-51,69±9,86	243,15±20,74	-28,77±8,42
4B7R$_{WT}$-f01	0,58±4,53	-343,47±23,68	295,01±20,33	-2,92±0,35	-50,80±8,56	301,69±23,37	-41,20±5,62
4B7R$_{WT}$-n02	-7,55±3,73	-176,63±24,16	155,76±19,48	-3,11±0,25	-31,52±7,10	156,97±18,52	-27,21±8,97
4B7R$_{WT}$-d25	-20,63±4,72	-202,60±21,09	188,15±17,10	-4,59±0,33	-39,66±7,45	191,15±17,68	-32,07±8,69
4B7R$_{WT}$-d30	-18,39±4,87	-191,11±33,22	177,63±27,18	-4,06±0,55	-35,93±8,79	176,93±28,80	-32,57±8,31
4B7R$_{WT}$-r84	-13,47±4,57	-239,61±38,41	217,92±32,15	-4,15±0,25	-39,31±7,48	221,62±32,34	-31,46±9,65
3TIA$_{MT}$-osc	-23,03±3,41	-125,21±22,05	129,25±16,48	-4,29±0,27	-23,28±6,52	129,84±18,54	-18,40±6,77
3TIA$_{MT}$-znm	-23,06±2,86	-112,41±22,88	126,39±18,97	-4,07±0,36	-13,16±5,71	124,36±20,55	-11,11±5,61
3TIA$_{MT}$- vo1	-7,21±5,98	-413,09±30,40	329,27±21,20	-3,72±0,66	-94,75±15,13	345,45±25,17	-74,85±10,43
3TIA$_{MT}$-z15	-25,95±5,46	-244,89±26,41	230,77±22,99	-4,95±0,40	-45,01±6,42	235,74±23,52	-35,10±7,54
3TIA$_{MT}$-f01	5,01±5,21	-441,25±32,94	286,64±27,68	-3,59±0,44	-153,18±14,11	360,04±28,25	-76,19±8,57
3TIA$_{MT}$-n02	-13,02±4,78	-197,74±19,49	178,85±12,56	-4,39±0,31	-36,31±7,52	179,72±12,41	-31,05±10,11
3TIA$_{MT}$-d25	-26,15±4,06	-206,33±36,14	201,74±26,68	-5,53±0,46	-36,27±11,20	205,48±27,05	-27,01±11,71
3TIA$_{MT}$-d30	-18,78±3,76	-194,33±20,63	195,33±16,71	-4,00±0,48	-21,78±6,76	202,99±18,91	-10,12±8,17
3TIA$_{MT}$-r84	-14,87±4,20	-310,13±34,84	282,36±31,04	-4,28±0,27	-46,92±6,16	284,60±29,68	-40,40±7,35
4GZQ$_{MT}$-sc	-20,27±3,49	-158,25±12,16	147,14±10,62	-4,26±0,30	-35,64±4,23	148,65±11,46	-29,87±4,67
4GZQ$_{MT}$-znm	-24,43±3,58	-112,70 ±19,04	127,534±13,85	-4,20 ±0,48	-13,79 ±7,01	131,09±14,82	-6,034±8,83
4GZQ$_{MT}$-vo1	-11,10 ±5,23	-287,21 ±24,78	268,83 ±19,98	-3,27±0,49	-32,74±7,40	254,98 ±20,89	-43,33±7,40
4GZQ$_{MT}$-z15	-20,66±3,90	-130,44±54,44	128,97±47,62	-4,32±0,53	-26,45±8,95	133,17±48,50	-17,93±9,94
4GZQ$_{MT}$-f01	-1,83 ±5,07	-381,16 ±23,33	271,57±17,97	-3,81±0,19	-115,23±18,85	324,05 ±15,88	-58,93 ±9,97
4GZQ$_{MT}$-n02	-10,35 ±4,17	-175,85 ±33,66	156,92 ±24,58	-3,63±0,37	-32,90 ±8,69	162,09 ±25,20	-24,11±9,95
4GZQ$_{MT}$-d25	-17,90 ±8,68	-193,74 ±22,39	182,53 ±25,77	-4,31±0,85	-33,41 ±11,83	178,54±31,47	-33,10±17,96
4GZQ$_{MT}$-d30	-14,46±4,20	-167,41±26,24	154,76±21,25	-3,63±0,35	-30,73±7,50	155,12±21,41	-26,73±9,28
4GZQ$_{MT}$-r84	-10,86±4,05	-250,86±34,28	228,90±29,78	-3,85±0,32	-36,66±6,66	230,89±30,93	-30,83±7,27
2HU4$_{MT}$-osc	-18,01±4,28	-178,58±13,81	156,78±10,70	-4,23 ±0,48	-44,03 ±5,35	163,45 ±11,77	-33,13±5,31
2HU4$_{MT}$-znm	-16,75±5,85	-139,82 ±27,87	130,27 ±27,78	-3,82±0,68	-30,11±5,97	130,12±31,21	-26,45±7,28
2HU4$_{MT}$-vo1	-12,94 ±4,92	-343,15 ±21,74	291,77±14,06	-4,79 ±0,37	-69,12±9,41	302,12 ±14,71	-53,97 ±10,59
2HU4$_{MT}$-z15	-27,15±4,24	-314,81±25,27	293,38±19,55	-6,15±0,25	-54,73±7,05	303,91 ±19,51	-38,04±8,79
2HU4$_{MT}$-f01	-1,04 ±5,68	-430,67±29,17	325,80 ±18,58	-4,31±0,30	-110,21±15,37	362,35±20,55	-69,36±11,96
2HU4$_{MT}$-n02	-12,29±5,13	-107,48±33,93	104,96±25,75	-2,99±0,48	-17,80±8,12	102,12±27,95	-17,64±7,86
2HU4$_{MT}$-d25	-26,25±4,12	-180,08±21,17	182,28±15,85	-4,96±0,47	-29,00±8,50	185,63±16,32	-20,69±8,70
2HU4$_{MT}$-d30	-18,51±4,10	-163,61±17,83	158,79±13,15	-4,24±0,34	-27,58±6,29	160,43±15,22	-21,69±10,31
2HU4$_{MT}$-r84	-11,23±4,90	-396,37±25,14	348,27±20,95	-4,24±0,23	-63,57±6,53	347,45±21,58	-60,15±7,37

Tablo EK 8, (DEVAM)							
4B7R$_{MT}$-osc	-23,06±3,70	-157,16±21,08	158,15±16,30	-4,48±0,26	-26,54±5,49	163,23±17,91	-16,98±8,48
4B7R$_{MT}$-znm	-13,63±4,13	-105,55±19,81	98,60±16,94	-3,46±0,31	-24,03±5,96	99,76±16,58	-19,41±7,17
4B7R$_{MT}$-vo1	-11,68±5,18	-406,07±29,88	375,54±23,64	-4,25±0,63	-46,46±11,23	379,82±26,55	-37,93±9,54
4B7R$_{MT}$-z15	-18,52±4,82	-218,77±24,40	205,41±19,81	-4,90±0,45	-36,78±8,12	208,64±20,95	-28,66±8,42
4B7R$_{MT}$-f01	-8,70±4,96	-421,04±22,82	365,20±17,00	-4,14±0,28	-68,69±11,80	372,44±19,29	-57,31±9,74
4B7R$_{MT}$-n02	-13,92±3,97	-192,01±37,78	178,91±31,40	-4,01±0,36	-31,03±9,37	189,99±34,90	-15,93±13,02
4B7R$_{MT}$-d25	-23,50±4,19	-189,13±26,29	187,55±22,08	-4,87±0,44	-29,94±6,36	183,45±21,85	-29,19±7,39
4B7R$_{MT}$-d30	-20,55±4,95	-191,54±26,04	190,38±20,21	-4,32±0,49	-26,03±8,70	193,30±21,19	-18,79±9,82
4B7R$_{MT}$-r84	-7,84±4,62	-221,27±30,25	193,89±27,84	-3,58±0,33	-38,80±7,62	193,98±28,83	-35,13±8,47

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyad, Ad	Murat Kurt
Web sayfası (Research Gate, Academia, vs.)	

Eğitim Bilgileri

Derece	Kurum	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi	2008
Lisans	Selçuk Üniversitesi	2004
Lise	Batman Anadolu Lisesi	1999

İş Deneyimi

Dönem (Yıl)	Şirket, Kurum	Görev
2004-2022	Milli Eğitim Bakanlığı	Öğretmen

Yabancı Dil

Yayınlar

1.
2.
3.
4.

Özel İlgiler

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TEZ BENZERLİK BİLDİRİMİ FORMU

Öğrencinin Adı, Soyadı	Murat KURT		
Öğrenci No	10803603A		
Ana Bilim Dalı	Kimya		
Program Türü	Proje ☐	Yüksek Lisans ☐	Doktora ☒
Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU		
(Varsa) II. Tez Danışmanı (Ünvanı, Adı, Soyadı)	Doç. Dr. Selami ERCAN		
Tez Başlığı	Hesaplamalı Kimya Destekli Anti-İnfluenza Nöraminidaz İlaç Tasarımı		
RAPOR BİLGİLERİ			
Raporlama Aşaması	Tez Savunma Sınavı Öncesi		
Sayfa Sayısı	266		
Raporlama Tarihi	23/06/2022		
Benzerlik Oranı (%)	4		

Yukarıda bilgileri verilen tez çalışmamın toplam 266 sayfalık kısmına ilişkin, 23/06/2022 tarihinde Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından TURNİTİN isimli intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı %4 olarak tespit edilmiştir.

Uygulanan filtrelemeler:

☐Başlangıç Bölümleri (Kabul ve Onay sayfası, Teşekkür sayfası, Özet/Abstract) hariç

☒Kaynaklar hariç

☐Alıntılar hariç/dâhil

☐Diğer (Açıklayınız)

Tezimin benzerlik oranı, Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü İntihal Raporu Uygulama Esaslarında belirtilen üst sınır benzerlik oranını aşmamaktadır. Benzerlik oranım üst sınır benzerlik oranının altında olsa dahi aksinin tespit edilmesi durumunda her türlü yasal sorumluğu kabul ettiğimi ve hukuki sonuçlarına razı olduğumu bildirir, gereğini arz ederim.

Öğrencinin Adı, Soyadı: Murat KURT
Tarih:23/06/2022
İmza:
Ek: Benzerlik Nihai Raporu ilk sayfa çıktısı

Danışman: Prof. Dr. Necmettin PİRİNÇÇİOĞLU İmza:

Tarih: 23/06/2022

Ana Bilim Dalı Başkanı: Prof.Dr. Berrin ZİYADANOĞULLARI İmza:

Tarih: 23/06/2022