

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**NÜKLEOBAZLAR VE NÜKLEOSİTLERDE TAUTOMER
KARARLILIĞININ MOLEKÜLER MODELLEME
YÖNTEMLERİYLE BELİRLENMESİ VE MUTASYON
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YUNUS ÇELİK

BALIKESİR, OCAK - 2016

**T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI**



**NÜKLEOBAZLAR VE NÜKLEOSİTLERDE TAUTOMER
KARARLILIĞININ MOLEKÜLER MODELLEME
YÖNTEMLERİYLE BELİRLENMESİ VE MUTASYON
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

YUNUS ÇELİK

Jüri Üyeleri : Doç. Dr. Sedat KARABULUT (Tez Danışmanı)

Doç. Dr. Onur TURHAN

Yrd. Doç. Dr. Ahmet KARAHAN

BALIKESİR, OCAK - 2016

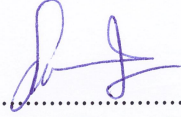
KABUL VE ONAY SAYFASI

Yunus ÇELİK tarafından hazırlanan “NÜKLEOBAZLAR VE NÜKLEOSİTLERDE TAUTOMER KARARLILIĞININ MOLEKÜLER MODELLEME YÖNTEMLERİYLE BELİRLENMESİ VE MUTASYON ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 08.01.2016 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / ~~oy~~ ~~çokluğu~~ ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

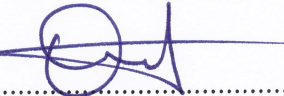
Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Sedat KARABULUT



Üye
Doç. Dr. Onur TURHAN



Üye
Yrd. Doç. Dr. Ahmet KARAHAN



Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

ÖZET

**NÜKLEOBAZLAR VE NÜKLEOSİTLERDE TAUTOMER
KARARLILIĞININ MOLEKÜLER MODELLEME YÖNTEMLERİYLE
BELİRLENMESİ VE MUTASYON ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
YUNUS ÇELİK
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
KİMYA ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. SEDAT KARABULUT)
BALIKESİR, 2016**

DNA bir dizi organik molekülün kendine has kurallarla bir araya gelmesi ile oluşan ve canlı sistemlerde başta kalıtsal bilginin aktarılması olmak üzere bir çok hayati faaliyetin yönetilmesinden sorumlu bir makro-organik moleküldür. DNA'yı meydana getiren moleküllerdeki tautomerizasyon sonucunda mutasyonlar ve DNA hasarları ortaya çıkabilir.

DNA hasarı, insanlarda kalıcı hastalıklara sebep olabilir. Bu nedenle son zamanlarda DNA hasarları ile ilgili çalışmalar giderek daha da önem kazanmaktadır.

DNA, nükleotit olarak isimlendirilen birimlerden oluşmuş iki uzun polimerden meydana gelir. Bu nükleotitler nükleobazlar, deoksiriboz şekeri ve fosfat grubunun bir araya gelmesiyle oluşur. Nükleobazlara riboz şekeri bağlandığında nükleositler, riboz şekeri ve fosfat bağlandığında nükleotidler, nükleotidlerinde bir araya gelmesiyle DNA zinciri meydana gelir. DNA'da doğal mutasyonun oluşumu bazların tautomerizasyonu ile yakından ilgilidir.

Nükleobazlar ve nükleositler ile yapılan deneylerde izolasyon ve çalışmaların yüksek maliyeti gibi dezavantajlar bulunmaktadır. Dolayısıyla bu tür biyomoleküler çalışmalar bilgisayarlı bilimlere de konu olmuşlardır.

Hesapsal çalışmalar, her ne kadar deneylerin yerini almış olmasa da, düşük maliyeti, çevreye zararsız oluşu ve bilgisayar teknolojisindeki gelişmelere bağlı olarak giderek hızlanmasıyla gün geçtikçe daha da önem kazanmaktadır.

Bu çalışma kapsamında DNA'daki nükleobazlar ve nükleositlerin olası izomerleri hesapsal olarak incelenmiş ve kararlı olanlar hem gaz hem de su ortamında tespit edilmiştir. DNA hasarına yol açması muhtemel tautomerizasyonlar irdelenmiş ve hem nükleobaz hem de nükleosit yapılarında olası tautomer arasındaki enerjileri farkları hesaplanmıştır.

DNA'yı oluşturan birimlerin nükleobaz durumunda iken sahip olduğu en kararlı tautomer ile nükleosit halindeki en kararlı tautomer yapılarının tamamen birbiriyile aynı olmadığı tespit edilmiştir.

ANAHTAR KELİMELER: DNA, nükleik asit, mutasyon, nükleobaz, nükleosit, hesapsal kimya.

ABSTRACT

DETERMINATION OF TAUTOMER STABILITY OF THE NUCLEOBASES AND NUCLEOSIDES BY MOLECULAR MODELING METHODS AND INVESTIGATION OF THE MUTATION EFFECT

MSC THESIS

YUNUS ÇELİK

BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

CHEMISTRY

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. SEDAT KARABULUT)

BALIKESİR, JANUARY 2016

DNA is a macro-organic molecule which composed by a special combination of a series of molecules and responsible from transfers of genetic information and many vital processes in living organisms. Mutations or DNA damages can occur as a result of tautomerization at the molecules which composes DNA.

DNA damage can cause permanent illnesses for humans. For this reason the studies about DNA damages are attracting more interests by the day.

DNA has been composed from two long polimers which have been named nucleotides. These nucleotides have been composed from combination nucleobases, deoxyribose sugar and a phosphate group. Nuclosides forms when ribose sugar connected to nuclobase, nucleotides form after phosphate addition and DNA forms from the connection of nucleotides. The natural DNA mutation is strongly related with the tautomerization of nucleobases.

There are some disadvantages of experiments of nucleobases and nucleosides like isolation and the cost of study. Therefore these biomolecular studies have been one of the topics of computational science.

Although the experiments have not replaced with calculations, the lower cost, antipolutant properties and increasing computational power, make computational sciences more important by the day.

The stable isomers of nucleobases and nucleosides of DNA have been detected by calculating all possible ones in gas and water. Possible tautomerizations were discussed which may cause DNA damage and the energy barrier between stable tautomers of nucleobases and nucleosides were calculated.

It has been concluded that the stable tautomers of DNA units are not same at the nucleobas state and nucleoside state.

KEYWORDS: DNA, nucleic acid, mutation, nucleobase, nucleoside, theoretical computational chemistry.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	v
TABLO LİSTESİ	vi
SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ	vii
ÖNSÖZ	viii
1. GİRİŞ	1
1.1 DNA'nın Yapısı	2
1.2 Pürin ve Pirimidin Bazları	5
1.3 Nükleotitler	7
1.4 Tautomerizasyon	9
1.5 DNA Hasarı	9
1.5.1 DNA Replikasyon Hataları	10
1.6 Moleküler Modelleme	13
1.6.1 Moleküler Modelleme ile Neler Yapılabilir	14
1.6.1.1 Moleküler Mekanik	15
1.6.1.2 Ab Initio Metodları	16
1.6.1.3 Yarı Deneysel Hesaplamaları.....	16
1.6.1.4 Moleküler Dinamik	16
1.6.1.5 Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)	17
2. ARAÇLAR VE YÖNTEM	18
2.1 Hesapsal Detaylar	18
2.2 Yöntem	18
2.3 İntput Dosyası Hazırlanması	18
3. BULGULAR	20
3.1 Nükleobazlar ve Tautomerlerinin Geometri Optimizasyonları	20
3.1.1 Adenin.....	21
3.1.2 Guanin.....	23
3.1.3 Sitozin	25
3.1.4 Timin.....	27
3.2 Nükleositler	29
3.3 Nükleositlerin İncelenmesi.....	29
3.3.1 Adenozin	30
3.3.2 Guanozin	32
3.3.3 Sitidin.....	35
3.3.4 Timidin.....	37
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	40
4.1 Adenin	41
4.2 Guanin	41
4.3 Sitozin.....	42
4.4 Timin	43
4.5 Adenozin	43
4.6 Guanozin	44
4.7 Sitidin	44

4.8	Timidin	45
5.	KAYNAKLAR.....	47

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: DNA'nın üçboyutlu yapısı	1
Şekil 1.2: Adenin tautomerizasyonu.....	2
Şekil 1.3: a-) Nükleosit yapısı (adenozin), b-) Nükleotit yapısı (adenozin fosfat)	3
Şekil 1.4: DNA ve RNA'da fosfodiester bağı	4
Şekil 1.5: DNA sarmalının yapısı.....	5
Şekil 1.6: Nükleobazların moleküler yapıları ve numaralandırılmaları	6
Şekil 1.7: Başlıca pürin ve pirimidin molekülleri ve IUPAC isimleri.....	7
Şekil 1.8: Nükleotidin birimleri.....	8
Şekil 1.9: Amino-imino ve keto-enol tautomerizasyonu.....	9
Şekil 1.10: a-) Timin amit-iminol tautomerik proton kayması b-) Sitozin amino-imino tautomerik proton kayması	11
Şekil 1.11: DNA'da meydana gelebilen tautomerik değişim	12
Şekil 1.12: Hesapsal yöntemler	14
Şekil 2.1: Adenozinin konformasyonel analizi ile hesaplanan potansiyel enerji haritası.....	19
Şekil 3.1: Adenin ve tautomerleri.....	21
Şekil 3.2: Guanin ve tautomerleri.....	23
Şekil 3.3: Sitozin ve tautomerleri	25
Şekil 3.4: Timin ve tautomerleri.....	27
Şekil 3.5: Tautomerleşme ile şekerin bağlanma ihtimalinin artması.....	29
Şekil 3.6: Adenozindeki azotların numaralandırılması	30
Şekil 3.7: Guanozindeki azotların numaralandırılması	32
Şekil 3.8: Sitidindeki azotların numaralandırılması	35
Şekil 3.9: Timidindeki azotların numaralandırılması	37
Şekil 4.1: Nükleositin bölümleri.....	40
Şekil 4.2: Guaninin A ve E tautomerleri	42

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: DNA'daki nükleobaz ve nükleositlerin adları.	8
Tablo 3.1: Adenin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	22
Tablo 3.2: Adenin elektronik potansiyel yüzeyleri.	22
Tablo 3.3: Guanin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	23
Tablo 3.4: Guanin elektronik potansiyel yüzeyleri.	24
Tablo 3.5: Sitozin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	25
Tablo 3.6: Sitozin elektronik potansiyel yüzeyleri.	26
Tablo 3.7: Timin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	27
Tablo 3.8: Timin elektronik potansiyel yüzeyleri.	28
Tablo 3.9: Adenozin nükleositleri.	30
Tablo 3.10: Adenozin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	32
Tablo 3.11: Guanozin nükleositleri.	32
Tablo 3.12: Guanozin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	35
Tablo 3.13: Sitidin nükleositleri.	36
Tablo 3.14: Sitidin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	37
Tablo 3.15: Timidin nükleositleri.	38
Tablo 3.16: Timidin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.	39

SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ

A	:	Adenin
G	:	Guanin
C	:	Sitozin
T	:	Timin
U	:	Urasil
DFT	:	Density functional theory (Yoğunluk fonksiyoneli teorisi)
AM1	:	Austin Model 1 (Yarı deneysel yöntem)
DNA	:	Deoksiribonükleik Asit
RNA	:	Ribonükleik Asit
QSAR	:	Kantitatif yapı-etki analizleri

ÖNSÖZ

Yüksek lisans tezi olarak hazırladığım bu çalışmamda, maddi ve manevi her noktada yardımlarını benden esirgemeyen, değerli hocam Doç. Dr. Sedat KARABULUT'a,

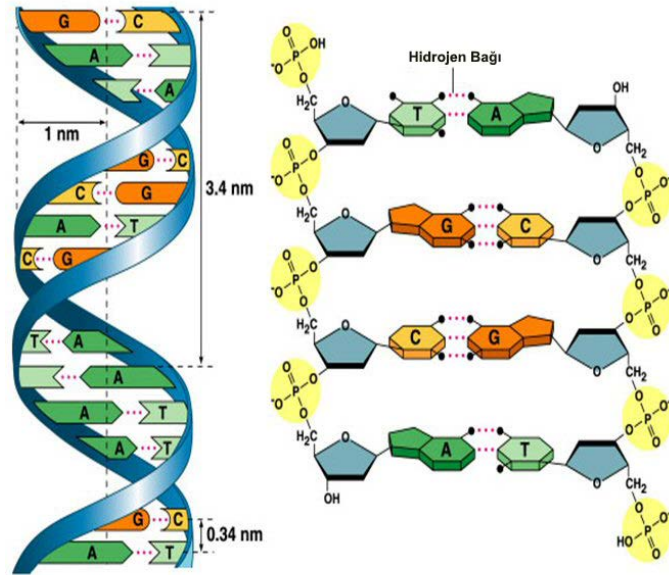
Laboratuvarda geçen güzel anılarımızdan ve maddi-manevi desteklerinden dolayı çalışma arkadaşlarıma,

TÜBİTAK 2211 Yurt İçi Lisansüstü Burs Programına eğitim ve kişisel giderlerim için sağlamış olduğu maddi desteklerinden dolayı,

Çalışmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Hilmi NAMLI ve Doç. Dr. Onur TURHAN'a, sevgi ve sabırla beni büyütüp, hiçbir fedakarlıktan kaçınmadan okutan annem Hanım ÇELİK ve babam Raif ÇELİK başta olmak üzere tüm aileme sonsuz teşekkürler...

1. GİRİŞ

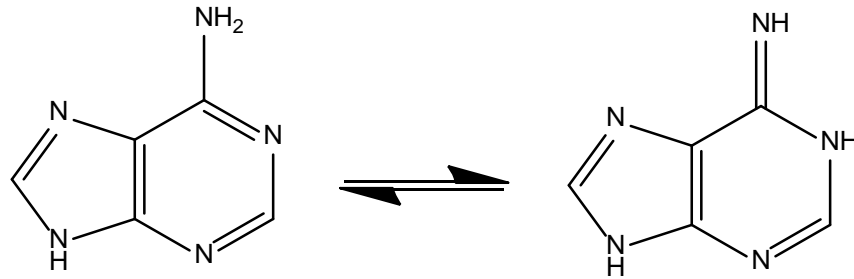
Hücre çekirdeğinin içinde yaşayan organizmaların nesillerini devam ettirebilmeleri için gereken genetik bilgiyi taşıyan makromoleküle deoksiribonükleik asit (DNA) denir [1, 2]. DNA, nükleotit olarak isimlendirilen tekrarlanan birimlerden meydana gelmiştir. DNA molekülünde birbirlerinin etrafında sarılarak dönen iki nükleotit zinciri, DNA'nın burgulu bir merdiveni andıran çift sarmal yapısını oluşturur (Şekil 1.1). Merdivenin uzun kenarları şeker (deoksiriboz) ve fosfat gruplarından oluşmuş olup, basamaklarda adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T) baz çiftlerinin farklı kombinasyonları bulunur [3]. Bu kombinasyonlarda en önemli noktalardan bir tanesi, G ve C arasında üç ($G \equiv C$), A ve T arasında ise ikili hidrojen bağı ($A = T$) bulunmasıdır. $G \equiv C$ baz çiftinin $A = T$ baz çiftine oranı yükseldikçe, eşleşmiş DNA nükleotit zincirleri birbirinden daha zor ayrılır. Bazların bu düzen dışında eşleşmesi, DNA'nın üçboyutlu yapısını kararsız hale getirir [3]. DNA'nın üçboyutlu yapısı başta genetik bilginin aktarılması olmak üzere birçok canlılık faaliyetinin yönetilmesi görevini yerine getirmesini sağlar [4-6].



Şekil 1.1: DNA'nın üçboyutlu yapısı (internal.champaignschools.org).

DNA çift sarmal yapısının önemli özellikleri, birçok kimyasal ve biyolojik ipuçlarıyla desteklenmiştir. Aynı zamanda bu model, genetik bilginin aktarımı için gerekli mekanizmaları da önermektedir. Modelin ana özelliği DNA'ya ait iki polinükleotidin birbiriyle tümleyici yapıya sahip olmasıdır [7].

DNA'da bulunan bazların her biri tautomerizasyon olarak isimlendirilen özel bir kimyasal dönüşümü gerçekleştirebilme özelliğine sahiptir (Şekil 1.2). Bu tautomerik yapılar bazlar ile aynı kapalı formüllere sahiptir. Kapalı formülleri aynı olmasına rağmen atomlar arasındaki bağların türü ve bazı fonksiyonel gruplar farklıdır [8]. Bu tautomerik değişimler, kimyasal ve fiziksel etkilerden dolayı DNA içindeki bazlarda oluşabilir ve çift sarmal yapının daha kararsız hale gelmesine neden olabilir [9, 10].



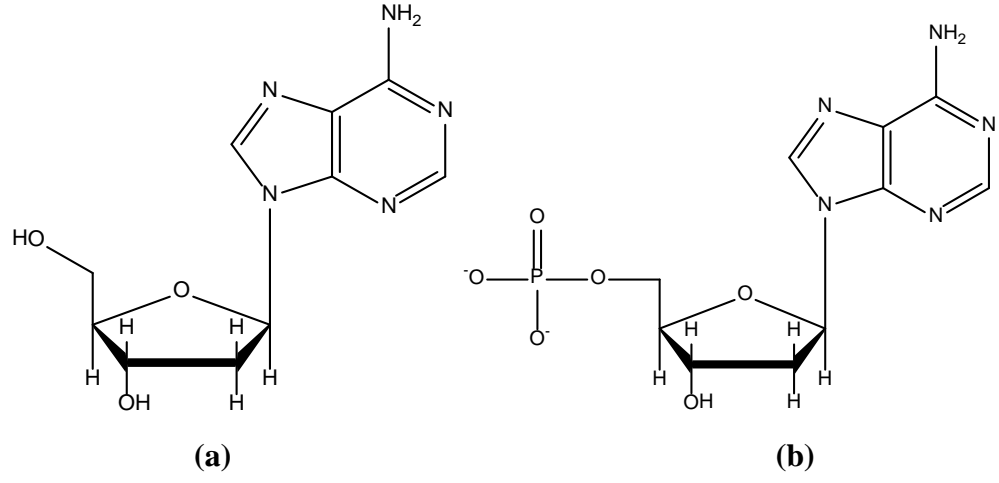
Şekil 1.2: Adenin tautomerizasyonu.

Bazlar ve nükleotitlerin, kararlılıklarının belirlenmesinde moleküler modelleme teknikleri, hem zaman hem de maliyet açısından oldukça elverişlidir.

1.1 DNA'nın Yapısı

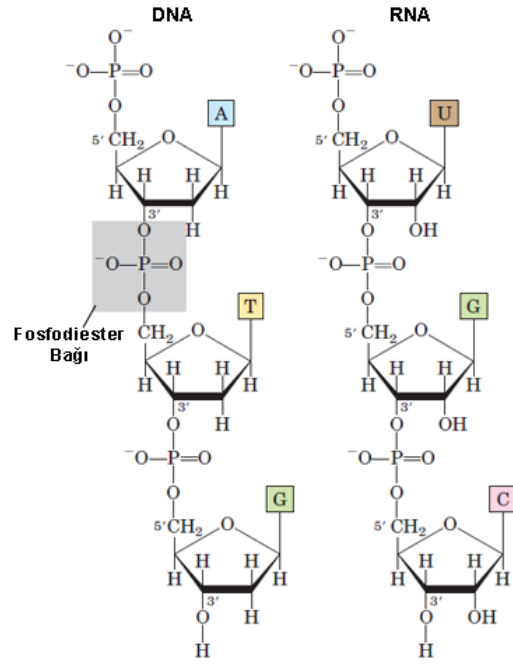
DNA, genetik talimatları taşıyan bir nükleik asittir [1, 2]. Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan birimlerden oluşan bir polimerdir [9, 11]. Her nükleotit birimi çok küçük olmasına rağmen, DNA polimerleri milyonlarca nükleotitten oluşan bir makro moleküldür [12]. DNA nükleotitlerinde pürin ve pirimidin bazları bulunur. Bunlar iki tip pürin, adenin (A) ve guanin (G) ile iki tip de pirimidin, timin (T) ve sitozindir (C). Pürin ve pirimidin bazları DNA'nın alt birimi olan nükleotidin bir bölümüdür. Nükleotit üç ana bileşenden oluşur. Bu bileşenler dört nükleotit bazdan biri, bir deoksiriboz şeker ve bir de fosfat

grubudur. Baz ile deoksiriboz şekerinin bağlanması nükleositi (Şekil 1.3a), nükleosit ile fosfat grubunun bağlanması da nükleotitleri oluşturur (Şekil 1.3b) [2, 3].



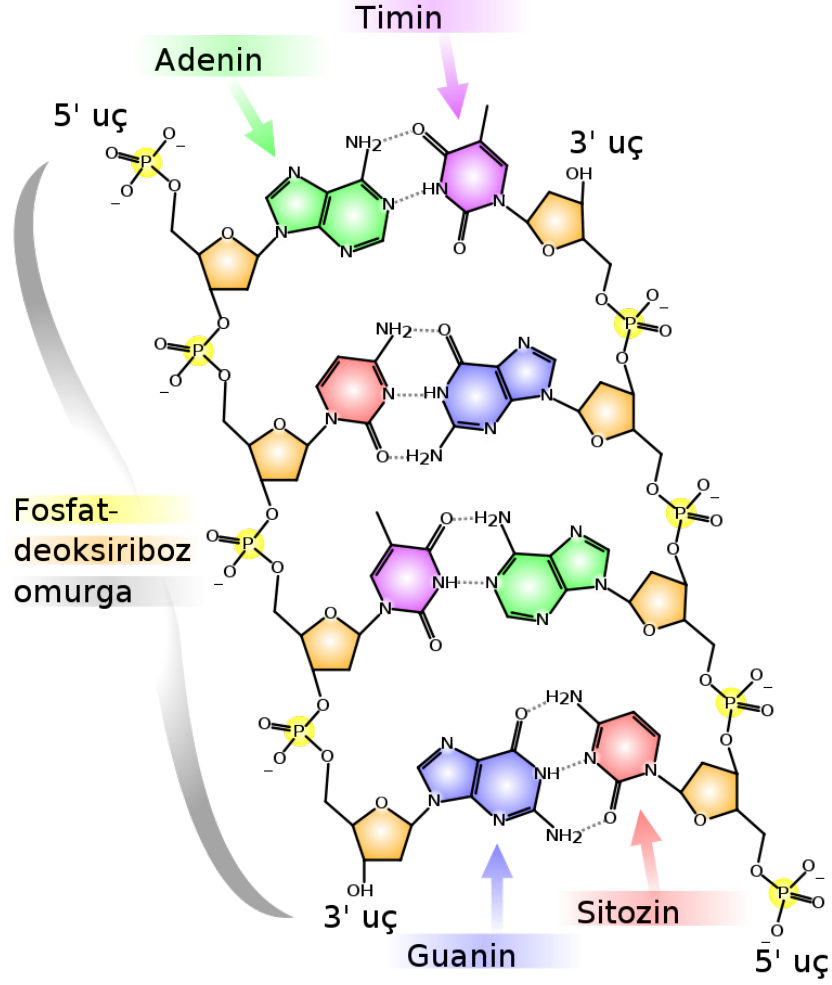
Şekil 1.3: a-) Nükleosit yapısı (adenozin), b-) Nükleotit yapısı (adenozin fosfat).

DNA ve RNA moleküllerinin yapısını oluşturan ard arda dizilmiş nükleotitler, birbirine fosfat grubu köprüleriyle kovalent olarak bağlanır. Bağlanma sırasında fosfat grubu, nükleotitlerden birinin 5'-hidroksil grubuyla bunu izleyen nükleotitin 3'-hidroksil grubu arasında fosfodiester bağı oluşturur (Şekil 1.4) [13]. Birbirlerine fosfat grubu ile bağlanmış şekerler DNA'nın değişmez bölümünü oluşturur. Değişken kısım A, G, C ve T nükleotit bazlarının dizisidir.



Şekil 1.4: DNA ve RNA'da fosfodiester bağı.
(Lehninger Principles of Biochemistry).

DNA nükleotit zinciri polardır. Polaritenin nedenlerinden bir tanesi şekerlerin birbirine bağlanma biçimidir. Nükleotit bazları arasında uzaysal ilişkilerin sonucu olarak sitozinin karşısında daima bir guanin, timinin karşısında daima adenin yer alır (Şekil 1.5). Pürin ve pirimidin bazlarının en önemli işlevsel grupları halka içi azot, karbonil grubu ve halkaya bağlı amino gruplarıdır. Bazlar arasındaki hidrojen bağları, polinükleotit zincirlerin birbirine tümleyici bir şekilde eşleşmesini sağlamakta ve DNA'yı da kararlı kılmaktadır. [2, 3, 14, 15].



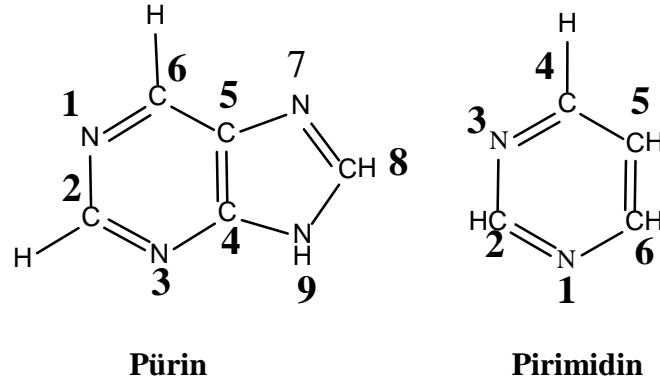
Şekil 1.5: DNA sarmalının yapısı (<https://tr.wikipedia.org/wiki/DNA> 2015).

1.2 Pürin ve Pirimidin Bazları

DNA ve RNA'ları meydana getiren birimler olan nükleotitler, aromatik heterosiklik bileşikler olan pürin ve pirimidinlerin birer türevidirler.

Pürin ve pirimidinler planar konfigürasyonda bulunan moleküllerdir. Azot içeren bu heterosiklik moleküllerin numaralandırılması oldukça önemli olup pürinlerde saat yönünün tersi ve pirimidinlerde saat yönüne doğru yapılırlar (Şekil 1.6). Pürin ve pirimidin bazları hidrofobik ve nötral pH'da suda çözünemeyen bir yapıya sahiptirler. Alkali pH'da pürin ve pirimidinler yüklü hale geçmekte ve sudaki çözünürlüğü artmaktadır. Canlı sistemlerde DNA da diğer biyomoleküller gibi reaktivitesini su ortamında gösterir. Hidrofobik yapılarından dolayı pürin ve pirimidin bazlarının düzlemsel yapıları üst üste yığılarak (para yığını gibi) van der

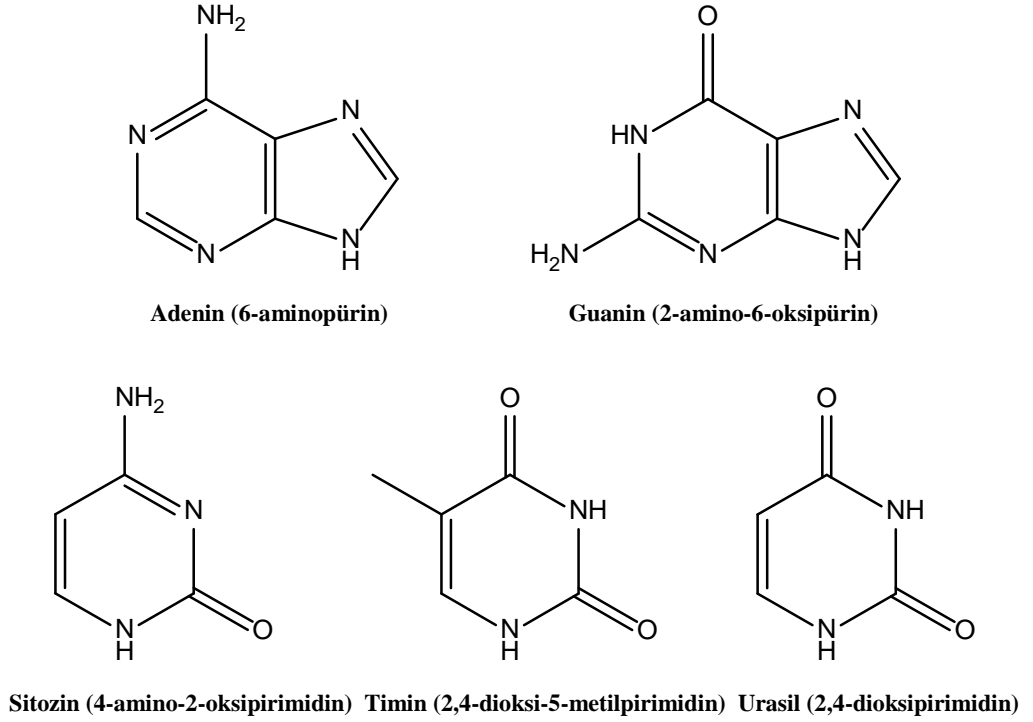
Waals ve dipol-dipol etkileşimleriyle bir arada durur. Baz yığılmaları ile meydana gelen etkileşimler su ile teması azaltmaktadır ve bu DNA ve RNA'nın üçboyutlu yapısının kararlılığında oldukça önemli bir rol oynar [2, 3]. Sahip oldukları heterosiklik yapılarından dolayı nükleobazlar 260 nm civarındaki UV ışığını absorblama özelliği de gösterirler.



Şekil 1.6: Nükleobazların moleküler yapıları ve numaralandırılmaları.

DNA ve RNA toplam 5 heterosiklik bazdan meydana gelirler (Şekil 1.7). Pürin, heterosiklik ve aromatik olan bir organik bileşiktir. Birbiri ile kaynaşmış imidazol ve pirimidin halkalarından oluşur. Pürin türevleri genel olarak “pürinler” olarak adlandırılır. DNA’da bulunan pürin bazları adenin (A) ve guanin (G)’dir. Bu bazlar deoksiribonükleotitler (DNA) ve ribonükleotitler (RNA) içinde yer alarak hücrelerdeki genetik bilginin kodlanmasında önemli rol oynarlar [1, 2]. DNA ve RNA’nın canlılardaki yaygınlığı nedeniyle, pürinler doğada en çok görülen azotlu heterosiklik bileşiklerdir [16].

Pirimidin, genellikle DNA ve RNA’da, ayrıca bazı koenzimler ile vitaminlerde de bulunan azotlu aromatik bazların genel adıdır. Timin (T), sitozin (C) ve urasil (U) DNA ve RNA’da bulunan pirimidin bazlarıdır. Timin (T) sadece DNA’da, urasil (U) ise sadece RNA’da vardır. Pirimidinlerin, pürinlerle ikili ve üçlü hidrojen bağları oluşturma yetenekleri, DNA’nın en kararlı üçboyutlu yapısını ve biyolojik işlevlerini gerçekleştirebilmesini sağlar [3].

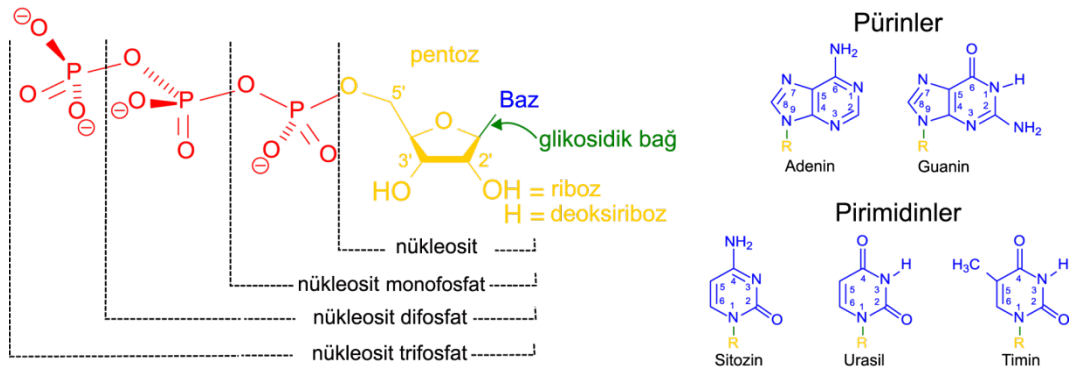


Şekil 1.7: Başlıca pürin ve pirimidin molekülleri ve IUPAC isimleri.

1.3 Nükleotitler

Nükleotit, fosfat, beş karbonlu şeker (deoksiriboz) ve azotlu organik bazdan oluşan bir kimyasal bileşiktir [17].

DNA nükleotitlerinin pentoz kısmı deoksiriboz, RNA nükleotitlerin pentoz kısmı ribozdur [18]. Şeker kısmı deoksiriboz ise nükleotidin başına ‘deoksi’ eklenir. Nükleotidin fosfatsız kısmına nükleosit denir [2, 3]. Nükleosit kısmına bir, iki veya üç fosfat grubu eklenebilir ve bunlara sırasıyla nükleotit, nükleosit difosfat ve nükleosit trifosfat denir (Şekil 1.8).



Şekil 1.8: Nükleotidin birimleri.

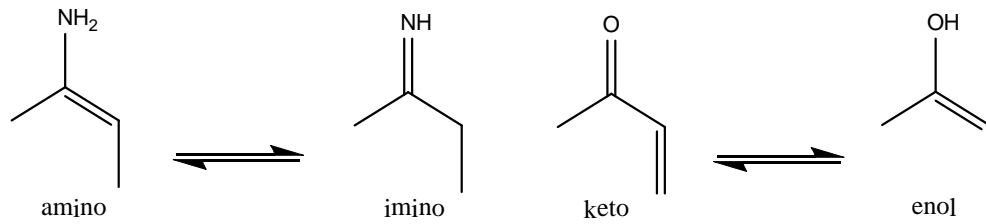
Nükleositlerin isimlendirilmesi pürin bazı varsa ‘ozin’ eki, pirimidin bazı varsa ‘idin’ eki getirilerek yapılır. Adenin (A), guanin (G), sitozin (C), timin (T) ve urasil (U) bazlarını taşıyan nükleositler sırası ile adenozin, guanozin, sitidin, timidin ve uridin olarak adlandırılır (Tablo 1.1).

Tablo 1.1: DNA’daki nükleobaz ve nükleositlerin adları.

Nükleobaz	Adenin	Guanin	Sitozin	Timin
Nükleosit	Adenozin	Guanozin	Sitidin	Timidin

1.4 Tautomerizasyon

Organik bileşiklerin, en az bir çifte bağın ve bir hidrojen atomunun yer değiştirmesiyle, gerçekleştirdikleri molekül içi düzenlemeye tautomerizasyon denir. Pürin, pirimidin ve onların türevlerinin amino ve okso grupları, tautomerik bir denge kurabilme özelliğine sahiptirler. Tautomerleri amino-imino ve keto-enol (amit-iminol) çiftleri şeklinde olup yapılarındaki farklılıklar Şekil 1.9'da gösterilmektedir. Bu tautomerik çiftlerin denge konsantrasyonları ortamın pH'sına, sıcaklığa ve çözücüye göre değişir. Fizyolojik (su ortamı, yaklaşık 36 °C, yaklaşık nötral pH) şartlarda denge amino ve amit formu yönündedir. Keto-enol ve amino-imino tautomerleşmesi en çok bilinen tautomerleşmelerdendir (Şekil 1.9).



Şekil 1.9: Amino-imino ve keto-enol tautomerizasyonu.

DNA yapısının en önemli özelliklerinden birisi de her bir DNA zincirindeki nükleobazların birbirleriyle doğru eşleşmesi durumunda, dayanıklı bir sarmal oluşmasıdır. Nükleobazların uygun eşleşmesi, sitozin (C) ile guaninin (G), adenin (A) ile timinin (T) ancak uygun tautomerlerinin kendi aralarında hidrojen bağı yapmasıyla mümkün olabilir [3]. Farklı tautomerlerin oluşması ve hidrojen bağı yapması durumunda, DNA'nın üçboyutlu yapısı kararsız hale gelir [9, 10]. Genetik şifre zarar görür ve dolayısıyla DNA hasarı oluşabilir.

1.5 DNA Hasarı

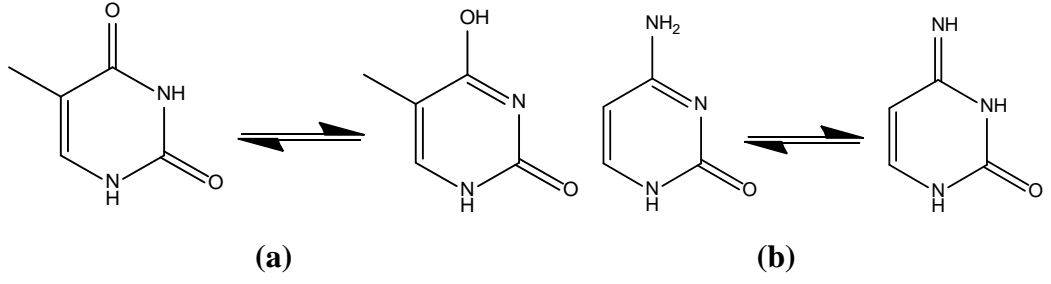
DNA'nın en önemli görevlerinden birisi olan kalıtsal bilginin nesilden nesile aktarılmasını inceleyen alana genetik bilimi denir. Genetik biliminin moleküler seviyedeki temellerinden birisi genetik materyal görevini sahiplenen,

nükleik asitlerin yapı ve özelliklerine dayanır. Nükleik asitlerin iki türü olan deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) temelde aynı yapısal özelliklere sahiptir. DNA fiziksel ve kimyasal etkilerle zarar görebilen bir moleküldür [19]. DNA'da çevresel etkilerden dolayı rastgele hasarlar meydana gelebilmekte, oluşan hasar DNA onarım sistemleri tarafından giderilmekle birlikte, hasarın çok aşırı olduğu veya onarım mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda DNA üzerinde mutasyon veya bu hasarlara bağlı olarak hücre ölümü gerçekleşebilmektedir [9].

Anlık değişimler sonucu oluşan DNA hasarının farklı nedenleri olabilmektedir. Bunlardan bazıları, DNA sentezi sırasında bazların yanlış eşleşmesi, pürin ve pirimidin bazlarının tautomerizasyonu, deaminasyon sonucu kimyasal yapıda gelişen değişimler, DNA yapısında bulunan pürin ve pirimidin bazlarının termal dayanıklılığına bağlı olarak hidrolitik baz kaybı ve hücre metabolizmasının yan ürünü olarak üretilen serbest radikallerin neden olduğu DNA hasarları olarak sıralanabilir. DNA'nın bütünlüğünü bozup, önemli DNA hasarlarının oluşmasına neden olan fiziksel etkenler arasında UV radyasyonu, gama ışınları ve kozmik ışınları da önemli yer tutmaktadır. DNA hasarlarının oluşmasına neden olan kimyasal ajanlar içinde, baz analogları, alkilleyici ajanlar ve interkalasyon ajanları da yer almaktadır [8].

1.5.1 DNA Replikasyon Hataları

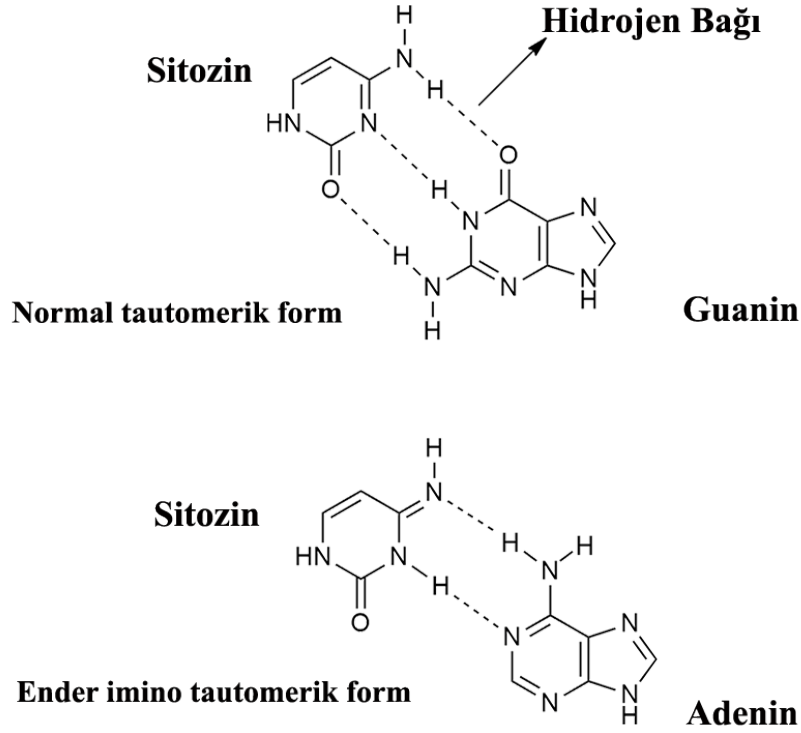
Hücrelerde DNA replikasyonu genellikle hassasiyetle gerçekleşse de anlık replikasyon hataları oluşabilmektedir. Bu hataların oluşumundaki en önemli faktörlerden birisi de tautomerizasyon olayıdır. DNA'nın yapısında yer alan pürin ve pirimidin bazları, tautomer olarak adlandırılan alternatif kimyasal formlara sahiptir. Bazların tautomerik formlarının kapalı formülleri aynı, sadece atomlar arasındaki bağ konfigürasyonları farklıdır. Timin ile guanin bazlarının amitiminol formları (Şekil 1.10 a) ve adenin ile sitozin bazlarının amino-imino formları karbon ve azot atomları arasında anlık proton kayması (tautomerik kayma) sonucunda oluşmaktadır (Şekil 1.10 b) [8].



Şekil 1.10: a-) Timin amit-iminol tautomerik proton kayması b-) Sitozin amino-imino tautomerik proton kayması.

Timin (T) ve guanin (G) bazlarının keto, sitozin (C) ve adenin (A) bazlarının amino formları DNA’da standart baz eşleşmelerine olanak sağlayan kararlı tautomer formlarıdır. Mutasyona neden olan DNA replikasyon hatalarının sebebi ise bazen kalıp DNA’da yer alan, bazen de yeni sentezlenen polinükleotide katılan bazlarda anlık olarak meydana gelebilen tautomerik dönüşümler sonucunda oluşan timin ve guaninin enol, sitozin ve adeninin ise imino formlarıdır ki, bunlar yanlış bazlarla eşleşmeye neden olurlar [8].

Örneğin; adenin bazı normalde timin ile baz çifti oluşturur. Fakat molekülde bir proton kayması sonucunda timin keto formundan enol formuna geçer ve bu formda üç hidrojen bağı yapabilecek duruma gelir. Böylece, enol formundaki timin adenin yerine guanin bazıyla yanlış eşleşebilir ve A=T baz çifti yerine G=T baz çifti oluşabilir. Bu tür değişmelere transisyonel mutasyon denir. Aynı şey sitozin içinde geçerlidir. Sitozin normal amino formundan imino formuna dönüşürse iki hidrojen bağı yapabilir ve adeninle çift yapar. Böylece G≡C baz çifti yerine C=A çifti oluşur (Şekil 1.11) [20].



Şekil 1.11: DNA’da meydana gelebilen tautomerik değişim.

Bazların çok sayıda farklı tautomerleri bulunmaktadır. Bu organik moleküllerin sadece deneysel yöntemlerle analizlerinin yapılmasında çeşitli zorluklar vardır. Pahalı kimyasallar, hijyenik şartların sağlanması ve spektroskopik yapı tayinindeki zorluklar bunlardan bazılarıdır.

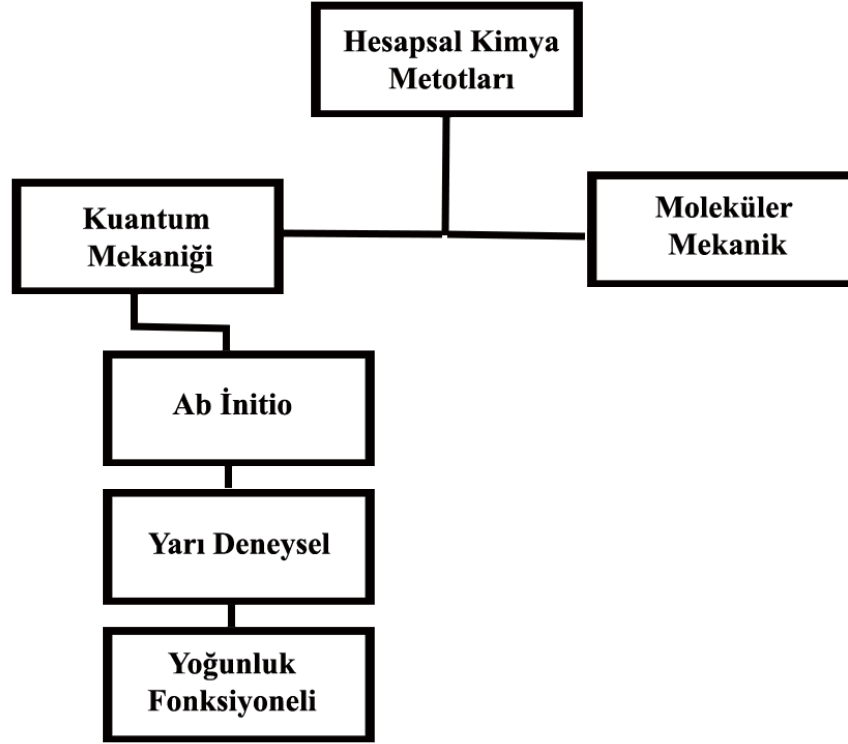
Son yüzyılda bilgisayar teknolojisinin hızla gelişmesiyle, güvenilir sonuçları deneysel şartlara göre daha kısa zamanda daha ucuza ve hem çevreye hemde bilim insanlarına zararsız yöntemlerle sağlayabilen moleküler modelleme teknikleri geliştirilmiştir. Biyomoleküllerin çeşitli özelliklerinin modellenmesi ve DNA gibi çok büyük öneme sahip makromoleküllerde oluşması muhtemel hasarların tahmin edilebilmesi artık hesapsal yöntemlerle daha hızlı ve ucuz bir şekilde yapılabilmektedir [21, 22].

1.6 Moleküler Modelleme

Moleküler modelleme, hesapsal kimya olarak bilinir. Laboratuvarında deneye başlamadan önce bilgisayar ortamında ilgili molekülü modelleme, üçboyutlu inceleme ve çeşitli özelliklerini tayin etme metodlarının bütünüdür.

Moleküler modelleme, kuantum mekaniği ve klasik kuantum statik mekaniğine dayanır. Hesapsal kimya günümüzde oldukça gelişmiş bir noktaya ulaşmıştır. Birçok atom, molekül ve nanomoleküllerin elektronik yapısı kolayca ve doğru bir şekilde hesaplanabilmektedir [23]. Son yıllarda bilgisayar teknolojisinin gelişmesi, kimya ve biyoloji alanlarında da modelleme programlarını kullanan bilim insanlarının sayısını arttırmıştır. [24]. Moleküler modelleme teknikleri birçok bilim dalında kullanılır. Bunları genel olarak beş sınıfta toplayabiliriz.

- Termokimyasal hesaplamalar
- QSAR
- Kinetik hesaplamalar
- İlaç tasarımı
- Malzeme dizaynı



Şekil 1.12: Hesapsal yöntemler.

20. yüzyılın başlarında kuantum mekaniğinde ve sonrasında bilgisayar teknolojisindeki büyük gelişmeler sayesinde günümüzde moleküler modelleme çalışmaları yapmak mümkün hale gelmiştir. Kuantum kimyasında hesapsal yöntemleri geliştiren John A. Pople ve yoğunluk fonksiyonel teorisini ilerletip, geliştiren Walter Kohn yaptıkları bu çalışmalar ile hesapsal kimyanın kurucuları olmuş ve 1998 Nobel Kimya Ödülünü almaya hak kazanmışlardır [25, 26].

1.6.1 Moleküler Modelleme ile Neler Yapılabilir

- **Molekül Geometrisi:** Moleküllerin üç boyutlu konformasyonları (bağ uzunlukları, açıları ve dihedral açıları).
- **Kimyasal Reaktivite:** Molekülün elektron yoğunluğu (nükleofilik ve elektrofilik bölgeler).

- **IR, UV ve NMR Spektumları:** Spektrumlardaki moleküle ait titreşim frekanslarını, absorpsiyon ve kimyasal kayma değerlerinin hesaplanması.
- **Enzim ile Substrat Etkileşimi:** İlaç tasarlamada, bir molekülün enzimin aktif bölgesine bağlanışını, uyumu, enzim-substrat (anahtar-kilit modeli) ilişkisi.
- **Bileşiklerin Fiziksel Özellikleri:** Moleküle ait özellikler ve moleküler kısım ile materyal kısmının etkileşimi.

Bu problemlerin çözümünde genel olarak beş teknik kullanılır.

1.6.1.1 Moleküler Mekanik

Molekülü oluşturan atomlar toplara, kimyasal bağı oluşturan tekli sigma bağları ise yaya benzetilerek, molekülü üçboyutlu şekiller olarak kabul eder. Eğer yaylar arasındaki uzaklıklar ve açılar biliniyorsa, molekülün enerjisi hesaplanabilir [23].

a) Avantajlar

- Kuantum mekaniği yöntemlerine göre daha ucuz
- Büyük moleküller sistemlerde (proteinler) kullanmak için uygun

b) Dezavantajlar

- Birçok kimya hesaplamaları, Newton yasaları ile uyumlu değildir.
- Kuvvet alanlarının (force-field) geliştirilmesinde bilinen hiçbir deneysel veri atom ya da bileşik kullanılmaması [27, 28].

1.6.1.2 Ab İnitio Metodları

Bu metot Schrödinger denklemlerinin belli yaklaşımlar yaparak çözülmesi ilkesine dayanır.

a) Avantajlar

- Nispeten daha doğru sonuçlar elde edilir.

b) Dezavantajlar

- Problemler daha uzun sürede sonuçlanır.

1.6.1.3 Yarı Deneysel Hesaplamaları

Yarı deneysel hesaplamalar ab initio hesaplamalarından çok daha hızlıdır. Fakat sonuçların doğruluk payı düşüktür. Hesaplama merkezi çekirdekler hesaba katılmaz, deneysel verilerden elde edilen parametreler kullanılır.

a) Avantajlar

- Çok atomlu molekülleri hesaplamada ab initio metoduna kıyasla daha hızlı ve daha etkilidir.
- Organik bileşiklerin hesaplanmasında etkili bir yöntemdir.

b) Dezavantajlar

- Sonuçların doğruluk payı daha düşüktür.

1.6.1.4 Moleküler Dinamik

Kuantum mekaniği teorilerini kullanan hesaplama yöntemleri, moleküler mekanik yöntemlerine göre daha karmaşık ve daha uzun süreli hesaplamalar içerir. Bu yöntemin temeli 1920'li yılların başlarında Schrödinger tarafından öne sürülen dalga fonksiyonu denkleminde dayanır [29].

Moleküler dinamik hesaplamaları hareket kanunlarını moleküllere uygular. Bu şekilde bir enzimin substratla olan ilişkisi esnasındaki yapı değişiklikleri veya su moleküllerinin bir molekül etrafına nasıl yerleştikleri modellenabilir. Ancak bazı ihmaller, yaklaşımlar ve kabuller yapılarak hesaplamalar yapılabilir [30].

1.6.1.5 Yoğunluk Fonksiyoneli Teorisi (DFT)

Yoğunluk fonksiyonel teorisi son yıllarda çok popüler hale gelmiştir. Bu hesaplama yöntemi de ab initio ve yarı deneysel yöntemler gibi Schrödinger denkleminde dayanır. Bunlardan farklı olarak dalga fonksiyonunu değil, elektron yoğunluğu fonksiyonunu hesaplar.

Yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT), sistemin enerjisinin elektron yoğunluğundan kaynaklandığını esas alır. Hohenberg ve Kohn'un çalışmaları ile bu teorinin mümkün olduğu ispatlanmıştır. DFT yöntemlerinin ab initio yöntemlerine göre artan, gelişen ve daha kesin sonuçlar sunması bu teorinin önemli bir avantajıdır [31].

a) Avantajlar

- DFT, ab initio metodlarına göre daha hızlıdır. Yarı deneysel metotlara göre ise daha doğru sonuçlar verir.

b) Dezavantajlar

- Büyük sistemlerde (50'den fazla atom içeren moleküller) süper hızlı bilgisayar kullanılarak hesaplamalar yapılabilir.
- Non-kovalent moleküller arası ilişkileri tanımlamakta yetersiz kalabilmektedir.

Moleküler modelleme teknikleri başta genellikle deneyleri desteklemek ve deney sonuçlarını açıklamak için kullanılsa da artık günümüzde kendi başına bir bilim alanı haline gelmiştir ve doğru yaklaşım ve teknikler kullanıldığında deneysel veriler olmadan da doğru bilimsel veriler üretebilmektedir.

2. ARAÇLAR VE YÖNTEM

2.1 Hesapsal Detaylar

Hesaplamalar, Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından daha önce satın alınmış olan 8 çekirdekli işlemci ile 8 GB bellek kapasitesine sahip sunucu tipi bir bilgisayarda gerçekleştirilmiştir.

Optimizasyon işlemleri Gaussian 09 programı ile yoğunluk fonksiyoneli teorisi (DFT) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. Hesaplamalar öncelikle B3LYP 6-31+G (d,p) temel küme seviyelerinde ardından B3LYP 6-311++G (2d,2p) temel kümeleri seviyelerinde hem gaz hem de su ortamında yapılmıştır. Optimizasyon işleminden önce moleküllerin en kararlı konformasyonlarının bulunması amacıyla yarı deneysel olan AM1 düzeyinde potansiyel enerji diyagramları hesaplanmıştır. En düşük enerjili konformasyon ile optimizasyon işlemine geçilmiştir.

2.2 Yöntem

Bu çalışma iki aşamadan oluşmaktadır. Birinci aşama, nükleobazlar ve nükleositlerin farklı tautomer yapılarının gaz ve su ortamında enerjilerinin hesaplanmasını içermektedir. İkinci aşama ise, nükleobazların ve nükleositlerin gaz ortamından, su ortamına geçtikten sonraki enerjiler arasındaki farkın ve en kararlı nükleobaz ve nükleosit yapılarının mutasyon etkilerinin yorumlanmasıdır.

2.3 İntput Dosyası Hazırlanması

Gaussian 09 yazılımı ile geometri optimizasyonu yapılmadan önce mutlaka tekli bağların dönmesiyle dihedral açılardaki değişim sonucu ortaya çıkan en kararlı konfigürasyon seçilmelidir. Özellikle nükleositler için bu önemlidir. Çünkü deoksiriboz şekeri nükleobaza bağlandığında dönme sonucu oluşabilecek

3. BULGULAR

Bu çalışmada DNA'da bulunan nükleobazlar (adenin (A), guanin (G), sitozin (C) ve timin (T)) ve bu nükleobazlara deoksiriboz şekeri bağlanmasıyla oluşan nükleositlerin (adenozin, guanozin, sitidin ve timidin) olası izomerlerinin standart Gibbs enerjileri hesaplanarak en kararlı olan nükleobaz ve nükleositler belirlenmiştir.

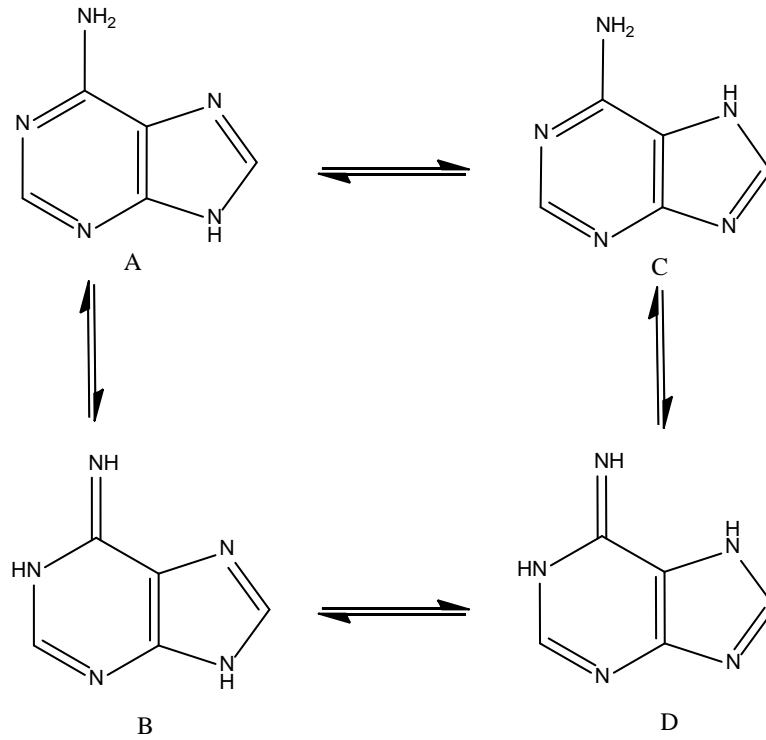
3.1 Nükleobazlar ve Tautomerlerinin Geometri Optimizasyonları

DNA'da bulunan nükleobazların hangi tautomerinin daha kararlı olduğuna karar verebilmek için herbir nükleobaz ve tautomerlerinin, öncelikle AM1 seviyesinde konformasyonel analizleri yapılmıştır. Potansiyel enerji diyagramlarından her tautomere ait en kararlı konformasyon belirlenmiş ve bu geometri ile optimizasyon işlemine geçilmiştir.

Geometri optimizasyonu için DFT ile ilk önce B3LYP 6-31+G (d, p) seviyesi gaz ortamında kullanılmıştır. Yapılan ilk hesaplama sonrasında elde edilen moleküler geometri tekrar DFT yöntemi ile B3LYP 6-31+G (d, p) seviyesinde bu kez su ortamında tekrar optimize edilerek serbest Gibbs enerjileri ve infrared spektrumları tespit edilmiştir. Aynı yöntem DFT B3LYP 6-311++G (2d, 2p) seviyesinde tekrarlanmıştır. Tüm optimizasyon işlemlerinde titreşim frekansları da hesaplanmış (opt freq=normal), en kararlı moleküler geometrinin enerjisi bu şekilde elde edilmiştir.

Böyle bir metodolojinin seçilmesindeki amaç gaz ve su ortamındaki göreceli enerjilerin değişimlerini gözlemin yanı sıra kullanılan temel kümeler (basis set) arasındaki farklılıkları da tespit etmektir.

3.1.1 Adenin



Adenin (6-aminopürin)

Şekil 3.1: Adenin ve tautomerleri.

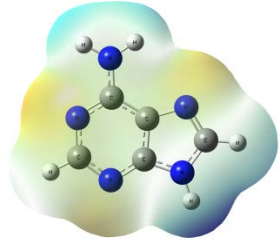
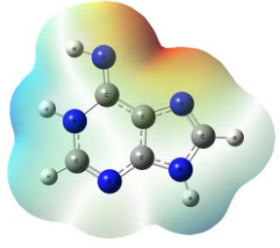
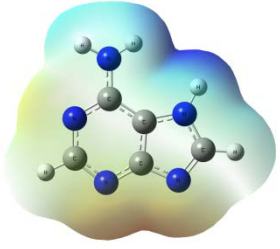
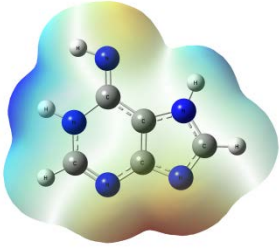
Hesaplamalar sonucunda elde edilen standart Gibbs enerjileri kcal/mol birimine dönüştürülerek en kararlı tautomerin enerjisi sıfır kabul edilerek tabloya geçirilmiştir. Böylelikle tautomerlerin birbirlerinden kaç kcal/mol enerji farkına sahip oldukları daha rahat anlaşılmıştır (Tablo 3.2). Moleküllerin hesaplanan gaz ve su ortamı enerjileriyle dipol momentleri çoğu zaman ilişkili olduğu için tablolarda en yüksek seviyede hesaplanan dipol moment değerleride verilmiştir.

Tablo 3.1: Adenin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

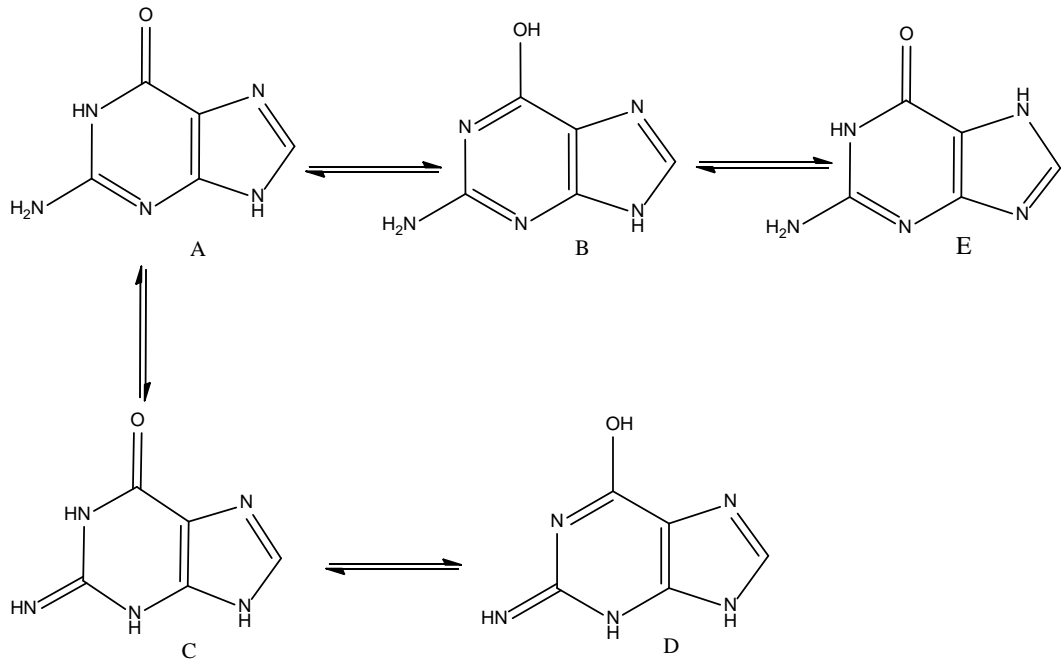
Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
A	0,00	0,00	0,00	0,00	3,59
B	19,34	12,83	18,41	9,69	7,13
C	8,49	2,73	7,90	1,91	11,24
D	17,02	12,51	16,12	9,18	5,51

- A, B, C ve D harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

Tablo 3.2: Adenin elektronik potansiyel yüzeyleri.

Adenin	Elektronik potansiyel yüzeyi
A	
B	
C	
D	

3.1.2 Guanin



Guanin (2-amino-6-oksipürin)

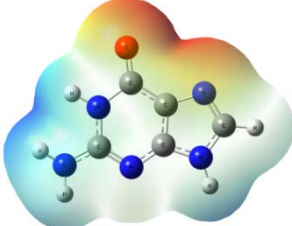
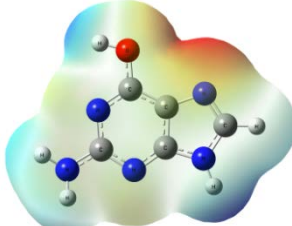
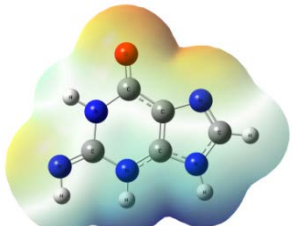
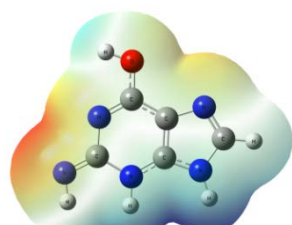
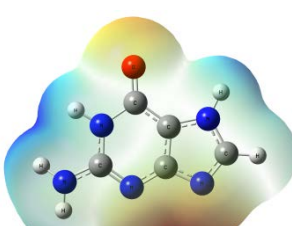
Şekil 3.2: Guanin ve tautomerleri.

Tablo 3.3: Guanin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

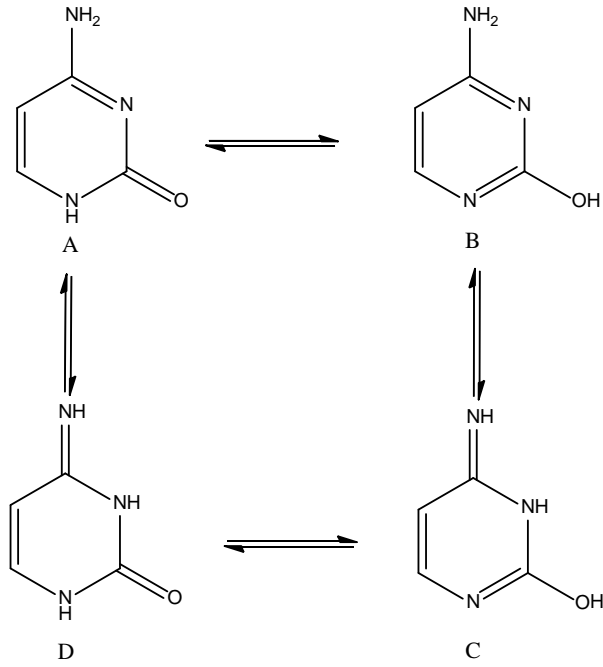
Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
A	0,51	0,00	0,71	0,00	10,27
B	0,66	6,79	1,50	7,07	4,31
C	15,55	12,52	15,49	9,81	13,66
D	28,92	26,24	28,43	22,31	10,62
E	0,00	0,90	0,00	0,57	3,36

- A, B, C, D ve E harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

Tablo 3.4: Guaninin elektronik potansiyel yüzeyleri.

Guanin	Elektronik potansiyel yüzeyi
A	
B	
C	
D	
E	

3.1.3 Sitozin



Sitozin (4-amino-2-oksipirimidin)

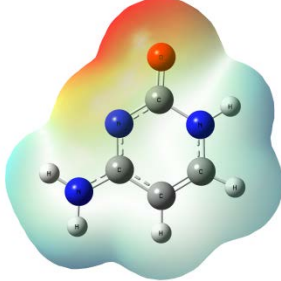
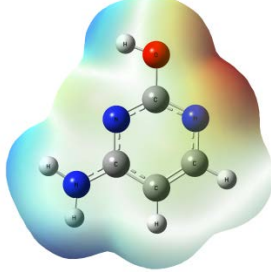
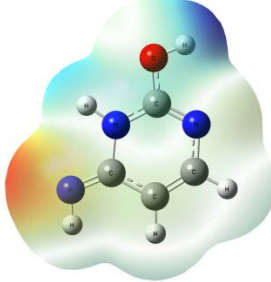
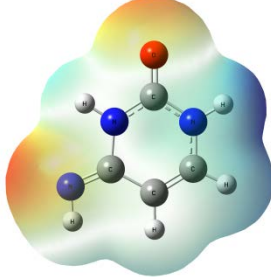
Şekil 3.3: Sitozin ve tautomerleri.

Tablo 3.5: Sitozin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

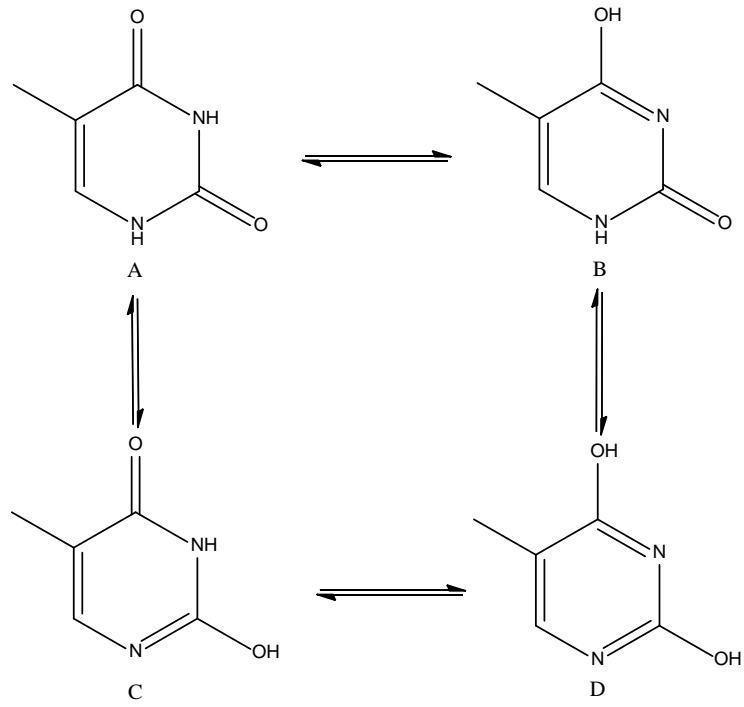
Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
A	0,00	0,00	0,00	0,00	10,20
B	1,67	7,20	1,80	7,60	6,93
C	14,28	21,46	14,16	18,85	2,72
D	2,67	6,64	2,60	5,61	6,83

- A, B, C ve D harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.3’de gösterilmiştir.

Tablo 3.6: Sitozinin elektronik potansiyel yüzeyleri.

Sitozin	Elektronik potansiyel yüzeyi
A	
B	
C	
D	

3.1.4 Timin



Timin (2, 4-dioksi-5-metilpirimidin)

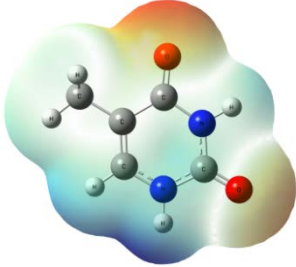
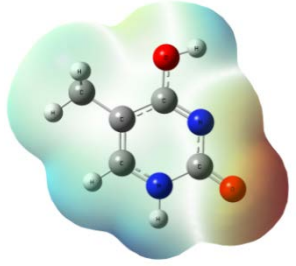
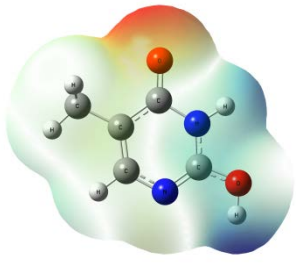
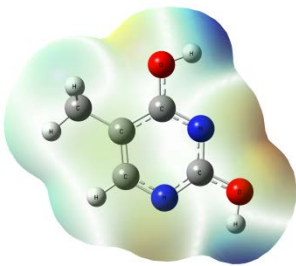
Şekil 3.4: Timin ve tautomerleri.

Tablo 3.7: Timin tautomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
A	0,00	0,00	0,00	0,00	6,45
B	12,60	11,19	12,25	9,70	7,84
C	10,70	13,34	10,62	11,94	4,68
D	13,14	17,46	12,88	16,13	1,98

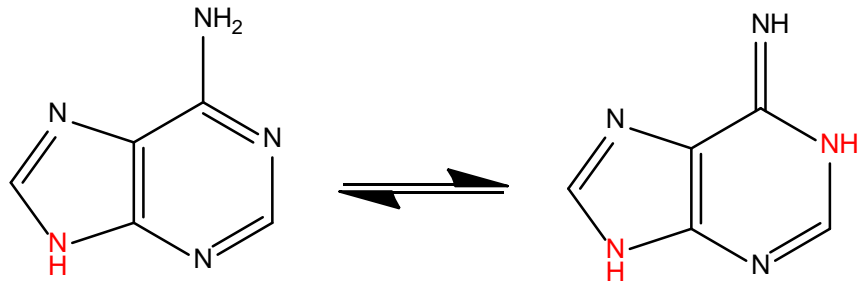
- A, B, C ve D harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.4’de gösterilmiştir.

Tablo 3.8: Timinin elektronik potansiyel yüzeyleri.

Timin	Elektronik potansiyel yüzeyi
A	
B	
C	
D	

3.2 Nükleositler

Yapılar nükleobaz formunda iken tautomerizasyon sonucunda oluşan farklı izomerler hem gaz hem de su ortamında incelenmiştir. Fakat nükleosit yapısı söz konusu olduğunda olası kararlı izomerlerin sadece tautomerlerle sınırlı olmadığı anlaşılmıştır. Çünkü bir nükleobaz tautomerleştiğinde şekerin bağlanabileceği azot seçenekleride değişmektedir (Şekil 3.6). Dolayısıyla nükleosit yapılarında sadece tautomerler değil, şekerin bağlı olduğu azot atomunun değişmesiyle ortaya çıkan izomerlerde incelenmiştir.



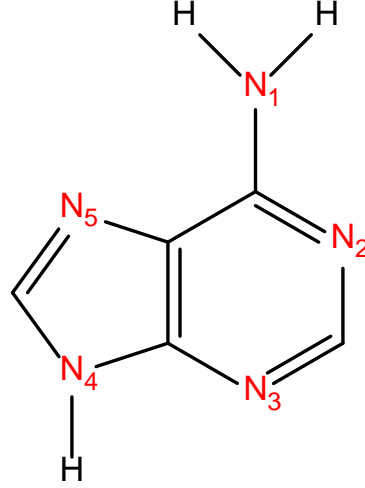
Şekil 3.5: Tautomerleşme ile şekerin bağlanma ihtimalinin artması.

3.3 Nükleositlerin İncelenmesi

Nükleosit izomerlerinin göreceli enerjileri hesaplanırken de nükleobazlarla aynı metodoloji uygulanmıştır. Nükleobazlardan farklı olarak sadece potansiyel enerji yüzeyleri belirlenirken şeker ve nükleobaz arasındaki sigma bağı tercih edilerek 360 derece döndürülmüştür (Şekil 2.1). Nükleobazlarda ise mevcut gruplardan (-NH₂, -OH veya -CH₃) iki tanesi seçilmiştir.

3.3.1 Adenozin

Olası izomerler deoksiriboz şekerinin bağlanacağı azot atomuna göre isimlendirilmiştir. İsimlendirme işleminde azot atomları Şekil 3.6'de gösterildiği gibi numaralandırılmıştır (AN4, A tautomerinde şekerin N4 azotuna bağlı olduğu yapı anlamına gelmektedir).

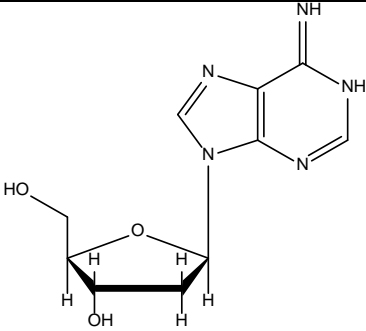
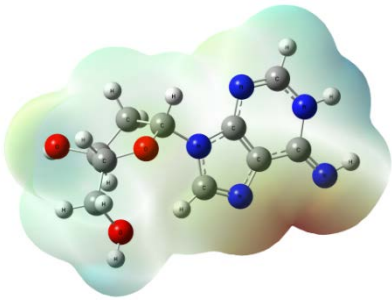
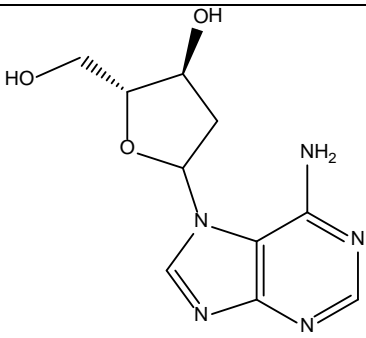
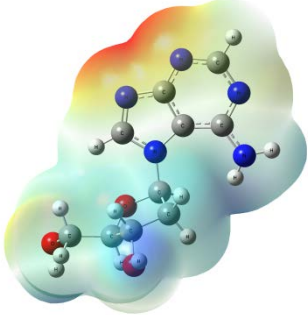
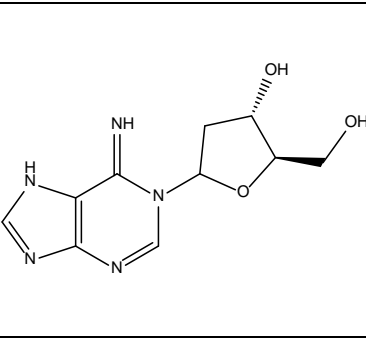
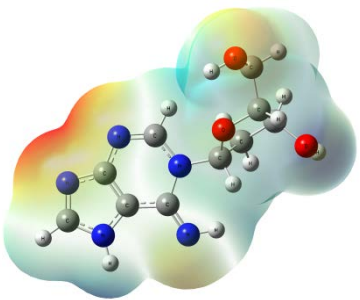
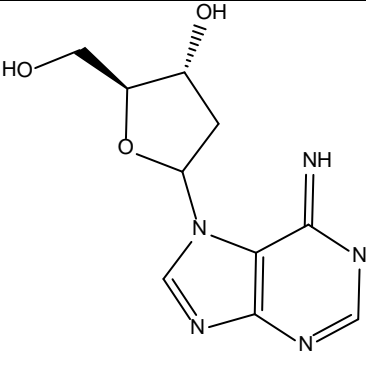
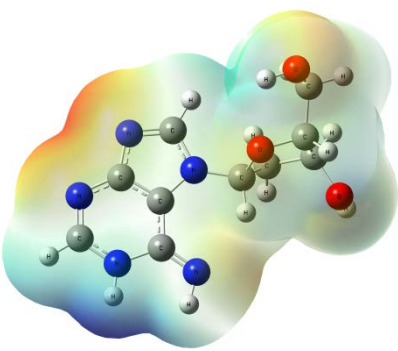


Şekil 3.6: Adenindeki azotların numaralandırılması.

Tablo 3.9: Adenozin nükleositleri.

Kısaltmalar	Adenozin tautomer ve izomerleri	Elektronik potansiyel yüzeyi
AN4		
BN2		

Tablo 3.9: (devam).

BN4		
CN5		
DN2		
DN5		

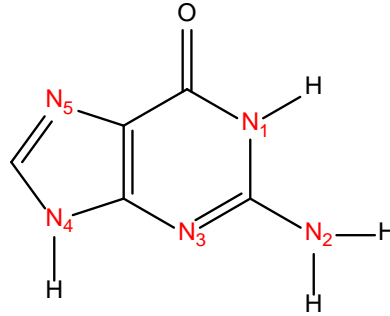
Tablo 3.10: Adenozin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
AN4	0,00	0,00	0,00	0,00	3,60
BN2	24,69	17,99	23,64	17,48	6,69
BN4	20,36	13,22	19,34	13,00	6,89
CN5	13,72	6,59	12,72	6,13	11,46
DN2	21,96	16,80	12,72	16,11	7,23
DN5	18,71	13,33	17,74	12,81	6,86

- A, B, C ve D harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.1’de gösterilmiştir.

3.3.2 Guanozin

Guanindeki azotlarının numaranlandırılması Şekil 3.7’de gösterilmiştir.

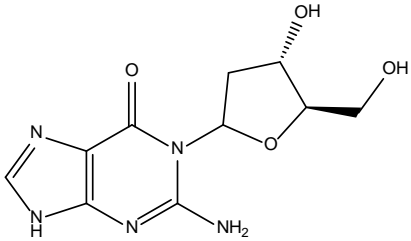
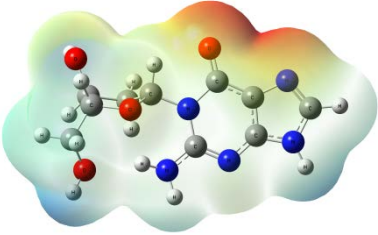
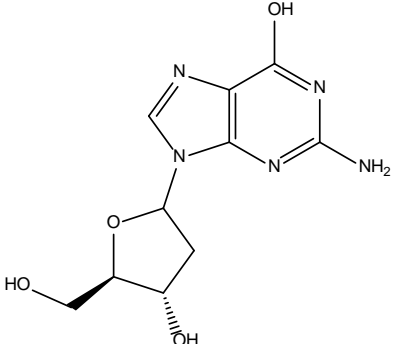
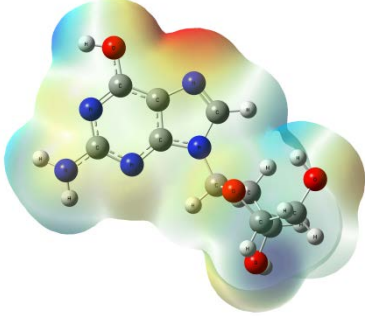
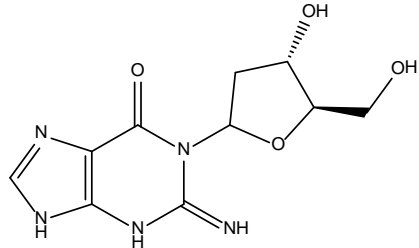
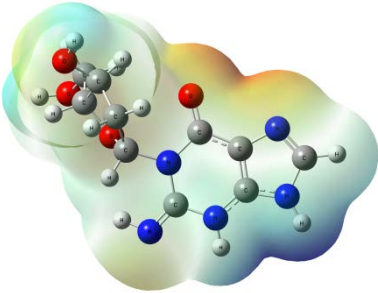
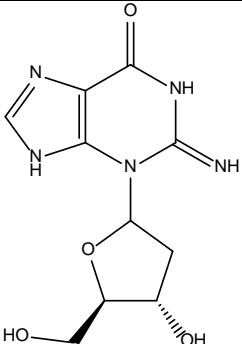
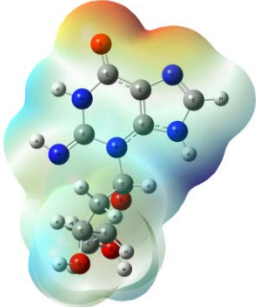


Şekil 3.7: Guanindeki azotların numaralandırılması.

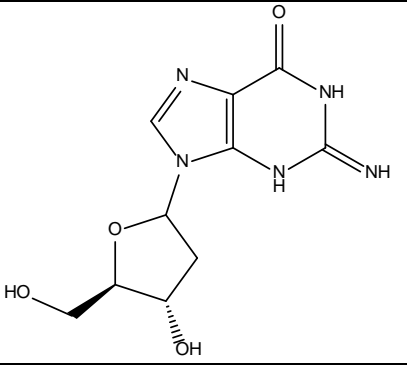
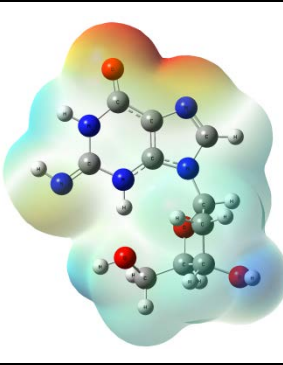
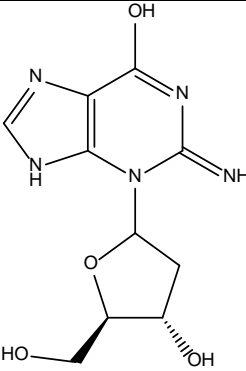
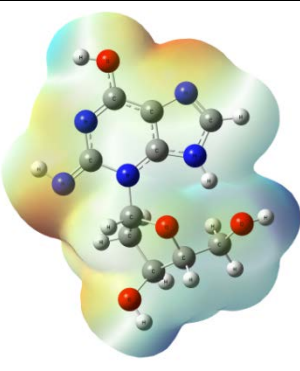
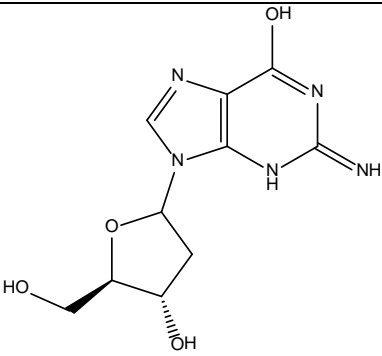
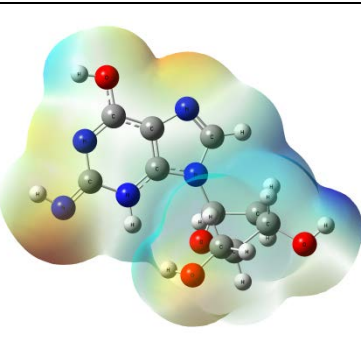
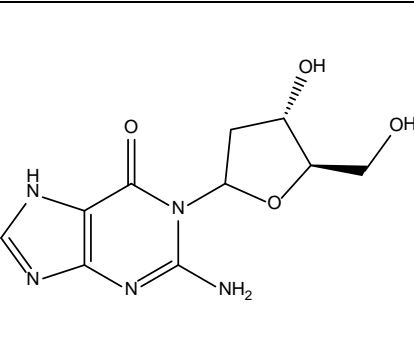
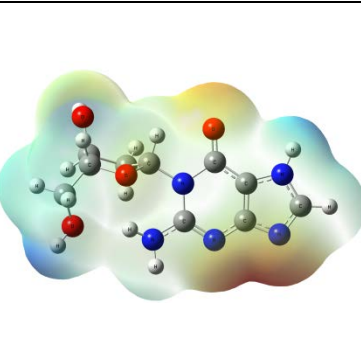
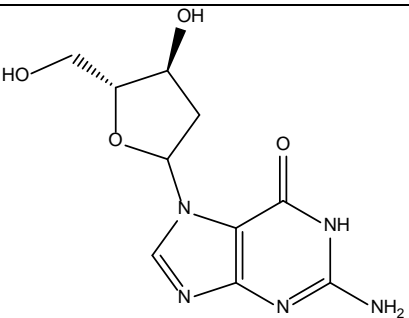
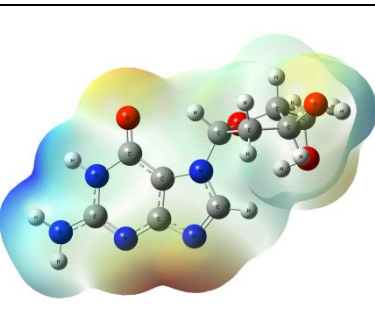
Tablo 3.11: Guanozin nükleositleri.

Kısaltmalar	Guanozin tautomer ve izomerleri	Elektronik potansiyel yüzeyi
AN4		

Tablo 3.11: (devam).

AN1		
BN4		
CN1		
CN3		

Tablo 3.11: (devam).

<p>CN4</p>		
<p>DN3</p>		
<p>DN4</p>		
<p>EN1</p>		
<p>EN5</p>		

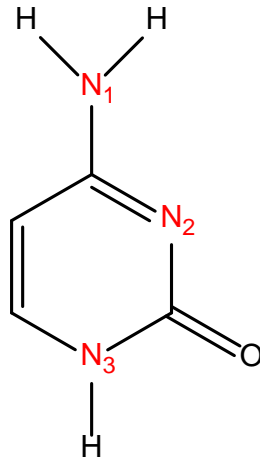
Tablo 3.12: Guanozin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
AN4	0,00	17,57	0,00	0,00	9,63
AN1	3,19	4,07	3,39	4,70	11,17
BN4	0,59	4,77	0,74	6,51	5,23
CN1	22,54	17,10	21,74	20,74	8,00
CN3	18,76	36,86	18,70	18,59	10,31
CN4	8,36	8,23	8,50	9,45	12,34
DN3	24,72	46,99	24,63	25,13	11,04
DN4	23,68	43,11	23,25	24,99	8,68
EN1	2,63	22,86	2,65	5,32	5,91
EN5	0,32	0,00	0,17	1,99	3,11

- A, B, C, D ve E harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.2’de gösterilmiştir.

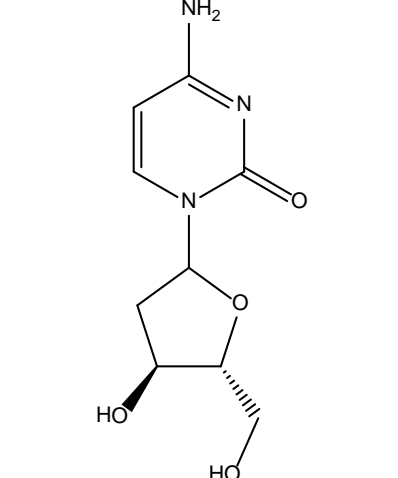
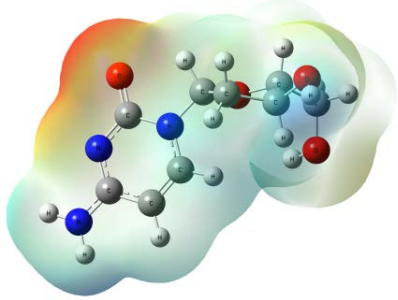
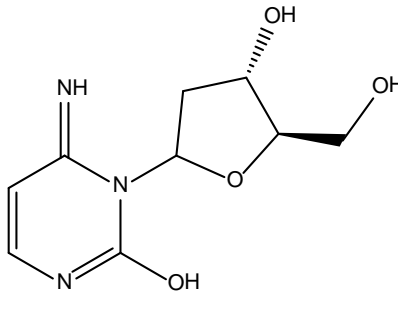
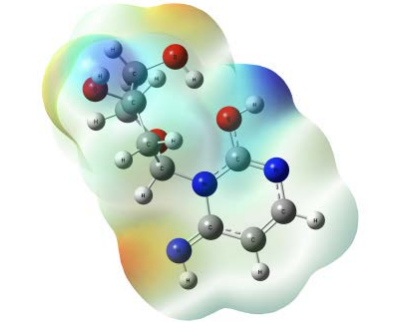
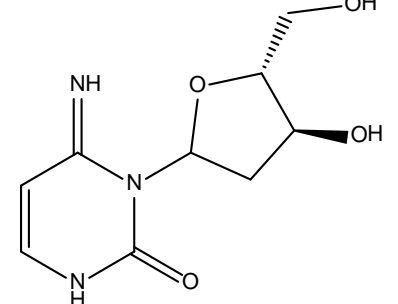
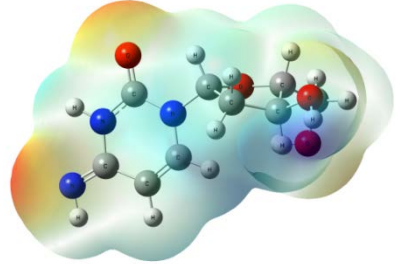
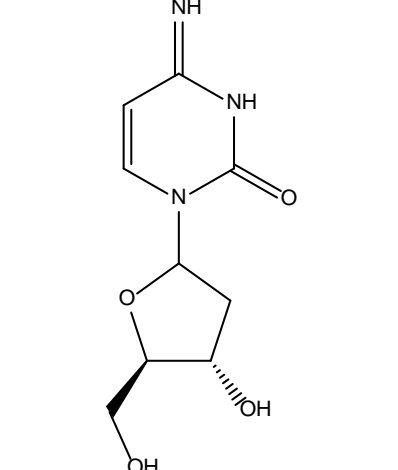
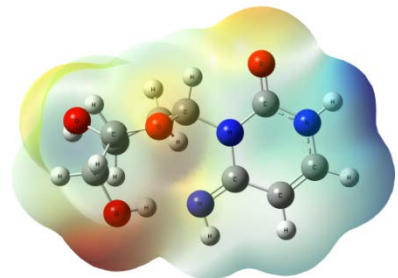
3.3.3 Sitidin

Sitidindeki azotların numaralandırması Şekil 3.8’de gösterilmiştir.



Şekil 3.8: Sitozindeki azotların numaralandırılması.

Tablo 3.13: Sitidin nükleositleri.

Kısaltmalar	Sitidin tautomer ve izomerleri	Elektronik potansiyel yüzeyi
AN3		
CN2		
DN2		
DN3		

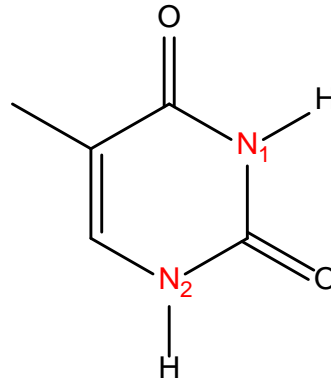
Tablo 3.14: Sitidin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
AN3	0,00	0,00	0,00	0,00	10,15
CN2	18,19	23,70	18,14	39,98	3,80
DN2	2,59	5,49	2,42	21,70	6,13
DN3	5,16	10,16	5,17	23,87	8,68

- A, C ve D harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.3’de gösterilmiştir.

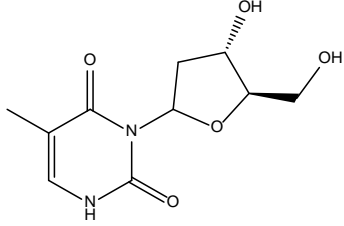
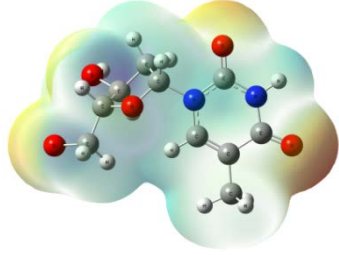
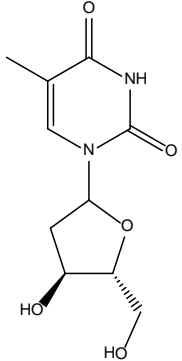
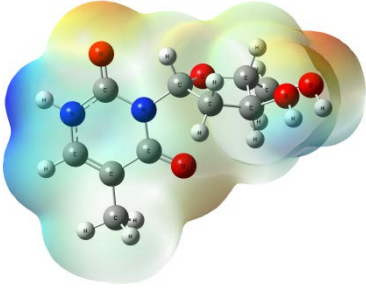
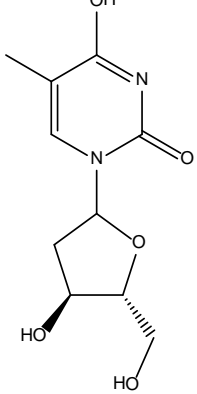
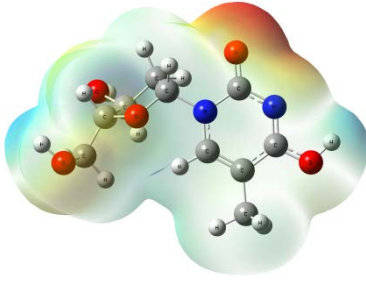
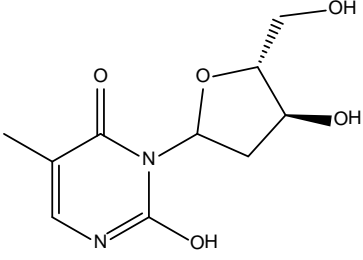
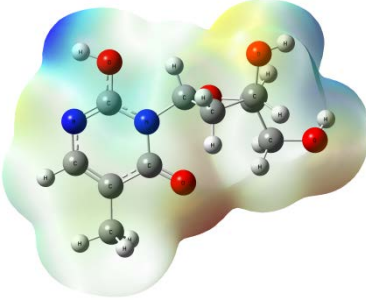
3.3.4 Timidin

Timidindeki azotların numaralandırılması Şekil 3.9’da gösterilmiştir.



Şekil 3.9: Timidindeki azotların numaralandırılması.

Tablo 3.15: Timidin nükleositleri.

Kısaltmalar	Timidin tautomer ve izomerleri	Elektronik potansiyel yüzeyi
AN1		
AN2		
BN2		
CN1		

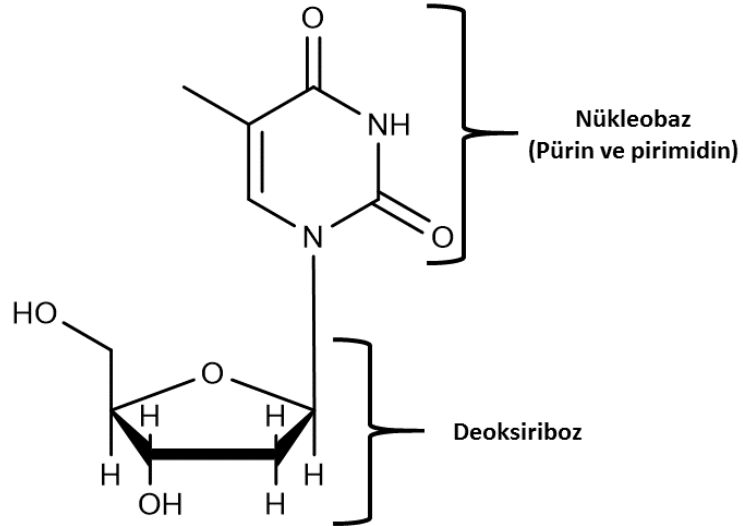
Tablo 3.16: Timidin izomerlerinin göreceli standart Gibbs enerjileri.

Simge	6-31+G(d,p) Gaz (kcal/mol)	6-31+G(d,p) Su (kcal/mol)	6-311++G(2d.2p) Gaz (kcal/mol)	6- 311++G(2d.2p) Su (kcal/mol)	Dipol Moment
AN2	0,00	0,00	0,00	0,00	5,42
AN1	2,23	2,12	2,00	2,02	9,16
BN2	11,92	7,47	11,25	7,30	6,77
CN1	13,47	14,09	13,09	19,91	3,40

- A, B ve C harflerinin temsil ettikleri tautomerler Şekil 3.4’de gösterilmiştir.

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışma sonucunda elde edilen veriler, nükleobaz ve nükleosit olarak iki kısımda tartışılmıştır. Nükleobazlar, nükleositlere nazaran daha küçüktür ve yapısal özellikleri nükleositlere nazaran daha kolay anlaşılabilir. Nükleositlerin şeker ve nükleobaz olmak üzere iki halka sistemi vardır (Şekil 4.1). Pürin veya pirimidin halka sisteminden oluşan kısmı düzlemsel, deoksiriboz şekerinden oluşan kısmı ise düzlemsel değildir. Deoksiriboz şekerinin anomerik karbon atomu ile baz halkası içerisinde bulunan bir azot arasında sigma bağı oluşması nükleosit yapısını oluşturur. Bu iki kısmın birbirine göre uzaydaki yönelmeleri nükleositlerin yapısal özelliklerini, nükleobazlara göre daha karmaşık hale getirmektedir. Deoksiriboz şekeri üzerinde bulunan halka dışı hidroksil (-OH) ve hidroksi metil (-CH₂OH) gruplarının uzaydaki yönelme seçeneklerinin fazla oluşuda nükleositlerin üçboyutlu yapılarını nispeten daha karmaşık hale getiren bir başka unsurdur. Bazı izomerlerde şeker kısmının halka dışı hidroksil (-OH) ve metanol (-CH₂OH) süstitüentlerinin, pürin ve pirimidin halkalarıyla molekül içi etkileşime girmeleri söz konusu iken bazı izomerlerde bu tür etkileşimin, üçboyutlu yapı gereği, mümkün olmadığı gözlenmiştir.



Şekil 4.1: Nükleositin bölümleri.

4.1 Adenin

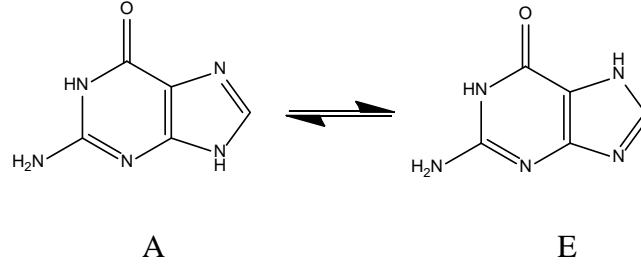
Dört farklı hesaplama yöntemine göre de (hem gaz hem de su ortamlarında ayrı ayrı B3LYP 6-31 + G (d,p), B3LYP 6-311 ++ G (2d,2p)) en kararlı tautomerin A tautomeri olduğu anlaşılmıştır (Tablo 3.2). Bu sonuç literatürdeki hesapsal ve deneysel çalışmalarla da uyumludur [32, 33]. Su ortamında yapılan hesaplamalar sonucunda C tautomerinin en kararlı tautomerle (A) olan enerji farkının gaz ortamına göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir (7,90'dan 1,91 kcal/mol'e). Bunun nedeni C tautomerinin A'dan daha yüksek bir dipol momente sahip olmasıdır. Su polar bir çözücü olduğundan polar moleküllerin su ortamında, gaz ortamı hesaplamalarına göre daha kararlı hesaplanması beklenen bir durumdur.

4.2 Guanin

Guaninin kararlı tautomerinin belirlenmesi birçok çalışmaya konu olmuştur [33]. Tablo 3.4'den de anlaşılacağı gibi gaz ortamı hesaplamalarında E tautomeri en kararlı iken su ortamında A tautomeri en karardır. Bunun nedeni A'nın E'den daha yüksek dipol momente sahip olmasıdır (Tablo 3.4). Canlı sistemlerde reaksiyonlar suda gerçekleştiği için genellikle A tautomeri deneysel çalışmalarda tespit edilen tautomerdir. Guaninin tautomer sayısının fazla olması ve bu tautomerlerden bazılarının enerjilerinin birbirine yakın olması üzerine çok çalışma yapılmasına neden olmuştur. Bu çalışmaların birçoğuyla elde edilen sonuçlar uyumludur [33].

Tüm guanin tautomerleri incelendiğinde A ve E'in birbirlerine yakın enerjilerde olduklarını görülmektedir. A her ne kadar en düşük enerjili olarak hesaplanmış olsa da E ile 0,57 kcal/mol enerji farkı vardır (B3LYP 6-311 ++G(2d,2p) suya göre). Bu fark 3 kcal/mol'den küçük olduğu için A'nın E tautomerine dönüşme ihtimali hiç de az değildir. Özellikle E'in, A'ya göre çok daha düşük bir dipol momente sahip olduğu dikkate alınırsa (E=3,36 A=10,27) özellikle nispeten daha düşük polariteye sahip çözücülerde bu dönüşümün gerçekleşmesi olasıdır. Dolayısıyla DNA'da guaninin A tautomerinin E tautomerine dönüşümüyle bir mutasyon gerçekleşmesi olasılıkları dahilindedir

(Şekil 4.2). A tautomerinin E tautomerine dönüşmesiyle DNA'da ki baz eşleşmesiyle ilgili bir mutasyondan ziyade şekerin bağlanacağı pozisyonla ilgili bir mutasyon beklenebilir çünkü pürin halkasının hidrojen bağı yapan altılı halka bölümünde herhangi bir değişiklik olmamaktadır. Değişiklik beşli halka bölümünde gerçekleşmektedir ki bu kısım şekerin bağlanacağı azot atomunu bulundurmaktadır.



Şekil 4.2: Guaninin A ve E tautomerleri.

4.3 Sitozin

Sitozin için yapılan gaz ve su ortamı hesaplama sonuçları Tablo 3.6'de verilmiştir. Görüldüğü gibi tüm hesaplama seviyelerinde en kararlı olan A tautomeridir. Gaz ortamı hesaplamaları B ve D'yi de olası tautomerler olarak hesaplamıştır fakat su ortamında yapılan hesaplamalarda bu olasıkların mümkün olmadığı görülmektedir. Bunun nedeni B ve D'in dipol momentlerinin A tautomerinden düşük olmasıdır. C tautomerinin dipol momentleri en düşük olmasına rağmen aynı zamanda hem gaz hem de suda en kararsız tautomerdir. C'in de enerjisinde su ortamından gaz ortamına geçişte bir düşüş gözlemlense de yapısal özelliklerinden kaynaklanan kararsızlıktan dolayı oluşma ihtimalinin çok düşük olduğu anlaşılmaktadır. C ve D tautomerlerinin her ikisinde de halka dışı imin fonksiyonel grubu bulunmasına rağmen, C'in D'ye göre 10 kcal/mol daha yüksek enerjili olduğu görülmektedir. Bunun nedeni D'de diğer halka dışı fonksiyonel grubun amit, C'de ise iminol olmasıdır. Amit-iminol tautomerizasyonlarında genellikle amit formu daha kararlıdır [34].

4.4 Timin

Timinin hem gaz hem de su ortamı hesaplamaları A tautomerini tek kararlı tautomer olarak tespit etmiştir. Bu sonuç literatür ile uyumludur [33]. Bu sonuç büyük olasılıkla A tautomerinde bulunan ve diğer tautomerlerde bulunmayan 1,3-dikarbonil yapısından kaynaklanmaktadır. A dışındaki diğer 3 tautomerde en az bir karbonil (C=O) enole (C-OH) tautomerleşmiştir ve hepsi iminol formunu yapısında bulundurur. A tautomerinde bulunan 1,3-dikarbonil fonksiyonel grubuna özel olarak imit adı verilmektedir. Bu fonksiyonel grupta iki karbonil arasında bulunan –NH fonksiyonel grubu her ne kadar 3 bağ yapmış gibi görünse de düzlemseldir ve azotun hibritleşmesi sp^2 dir. Azot üzerindeki elektron çiftleri karbonillere konjuge olmuştur ama bu konjugasyon tautomerleşmeye dönüşmeden rezonans seviyesinde kalmıştır [34]. Süksinimit, ftalimit gibi çok bilinen halkalı imitlerde ve diasetamit gibi düz zincirli imitlerde de aynı durum söz konusudur [23].

4.5 Adenozin

Tüm adenozin izomerleri incelendiğinde AN4 izomerinin belirgin bir şekilde diğer izomerlerden hem gaz hem de su ortamında daha kararlı olduğu anlaşılmaktadır. Tablo 3.9'daki elektronik yoğunluğu yüzey hesaplamaları sonucunda AN4 molekülüne ait elektronların nispeten homojen bir şekilde molekülün tüm yüzeyine dağıldığı görülmektedir (koyu kırmızı ve koyu mavi renkler görülmektedir). 5'li ve 6'lı halkalardaki konjuge bağ sistemide enerjiyi düşüren başka bir etkidir. CN5 ve AN4 dışında diğer izomerlerde imino fonksiyonel grubu vardır ve altı üyeli halka sisteminin içinde halka boyunca bulunan konjuge sistem (aromatiklik) bozulmuştur. Bu durum moleküllerin elektronik potansiyel enerji yüzeyi hesaplama sonuçlarından da anlaşılmaktadır. AN4 ve CN5'de altılı halkanın tüm bağlarında konjugasyonu gösteren kesikli çizgiler bulunmasına rağmen, diğer izomerlerde bu konjugasyon kesintiye uğramıştır ve altılı halka boyunca devam etmemiştir. Halka aromatikliğinin bozulması sonucunda molekülün bazı kısımlarında elektron yoğunluğunda artma gözlenmektedir. Bu polarlaşma moleküllerin potansiyel enerjilerinde nispeten bir

yükselmeye neden olmaktadır [35]. CN5 izomerinde 6'lı halkada aromatiklik olmasına rağmen molekülde polarlaşma gözlenmektedir. Bunun nedeni Tablo 3.1'deki adeninin potansiyel enerji hesaplamasından anlaşılabilir. Adenin C tautomerinde rezonans sonucu N3 ve N4 atomları üzerinde bir elektron yoğunlaşması gözlenmektedir. Bağlanan şeker grubu da N5'e bağlanmış ve bu atomlar üzerindeki elektron yoğunlunu azaltacak yönde herhangi bir etki yapmamıştır. Adenin A tautomerinde de adenzinde olduğu gibi, önemli ölçüde bir polarlaşma gözlenmemektedir (Tablo 3.1). Dolayısıyla N5 atomuna şeker grubunun bağlanmasıyla oluşan AN4 nükleositin düşük enerjili yapısının büyük ölçüde şekerin bağlanmış olduğu pozisyondan ziyade adeninin tautomerleşmesinden kaynaklandığını söyleyebiliriz.

4.6 Guanozin

Tüm guanozin tautomerleri incelendiğinde AN4, AN1, BN4, EN1 ve EN5'in birbirlerine yakın enerjilerde oldukları görülmektedir. AN4 her ne kadar en düşük enerjili olarak hesaplanmış olsa da EN5 ile 1,99 kcal/mol enerji farkı vardır (B3LYP 6-311 ++ (2d,2p) suya göre). Bu fark 3 kcal/mol'den küçük olduğu için AN4 yerine EN5 yapısının oluşma ihtimali hiç de az değildir. Özellikle EN5'in, AN4'e göre çok daha düşük bir dipol momente sahip olduğu dikkate alınırsa (EN5=3,11, AN4=9,63) özellikle nonpolar ortamlarda EN5 izomerinin oluşumu çok ciddi bir olasılık olarak değerlendirilmelidir. Dolayısıyla DNA'da guaninin AN4 izomeri yerine EN5 izomerinin oluşumuyla bir mutasyon gerçekleşmesi olasılıklar dahilindedir. Guanin nükleobazında da durum benzer şekilde tespit edilmiştir. Dolayısıyla guanozinde de belirleyici faktörün şekerin bağlandığı azot atomunun pozisyonundan ziyade nükleobazın tautomerleşmesi olduğu göze çarpmaktadır.

4.7 Sitidin

Sitidin yapısında dört farklı izomer incelenmiştir. AN3 izomerinin belirgin bir şekilde diğer izomerlerden daha kararlı olduğu gözlenmektedir (Tablo 3.14).

Adenozin ve guanozinde olduğu gibi sitidinde de hem karbonil hem de amino grubu tautomerlerini ihtiva eden AN3 en karardır. Pürin bazlarının nükleositlerinde amino ve karbonil gruplarının tercih edilmesi, pirimidin bazı olan sitozinin nükleosit formunda da geçerli olmuştur. AN3'ün dipol momentinin diğer izomerlerden önemli ölçüde yüksek olması su içerisinde yapılan hesaplamalarda AN3 ve diğer izomerler arasındaki göreceli enerji farkının da artmasına neden olmuştur (Tablo 3.14).

4.8 Timidin

Timidin nükleositinde dört farklı izomer incelenmiştir. Timidinde diğer nükleositlerden farklı olarak 1,3-dikarbonil yapısı vardır. 1,3 konumunda bulunan karbonillerin ortasında, yani 2 konumunda bir azot bulunmaktadır. Bu fonksiyonel gruba imit adı verildiği ve genellikle tautomerleşerek iminol fonksiyonel grubuna dönüşmeye, enerjide bir yükselmenin eşlik ettiğini daha önce açıklanmıştır. Bu nedenle AN1 ve AN2 izomerleri en kararlı izomerler olarak hesaplanmışlardır. Timin nükleobazının A tautomerinin önemli ölçüde diğer tautomerlerden düşük enerjili olması (Tablo 3.16) ve AN1 ve AN2'nin yapılan hesaplamalar sonucunda en kararlı timidin izomerleri olarak hesaplanmalarının önemli ölçüde pirimidin halkasının tautomerleşmesinden kaynaklandığını göstermektedir. AN1 ve AN2 arasındaki düşük enerji farkı da bunun bir başka kanıtıdır. Sonuç olarak timidinde şekerin bağlandığı pozisyondan daha çok, pirimidin halkasının tautomerizasyonunun nükleosit izomerlerinin kararlılığı üzerinde daha çok etkisinin olduğu anlaşılmaktadır. AN1 ve AN2 arasında çok az bir enerji farkının bulunması nükleobazlardan nükleositler oluşurken, şekerin N2 pozisyonunda bağlanabileceğini akla getirmektedir. Dolayısıyla timidin nükleositi oluşurken AN1 yerine AN2 izomerinin oluşması ve buna bağlı olarak da bir mutasyon gerçekleşmesi ihtimaller arasındadır.

Adenin, guanin, sitozin ve timin nükleobazlarının tautomerleri ve bu nükleobazlar ile oluşması muhtemel nükleobaz izomerlerinin kararlılıkları hesapsal yöntemlerle incelenmiştir. Sonuç olarak hem nükleobazlarda hem de nükleositlerde amit-iminol tautomerizasyonunun hem de amin-imin tautomerizasyonunun mümkün olabileceği anlaşılmıştır. Bu tautomerizasyonlarda

hem nükleobazlar hem de nükleositlerin amit ve amin fonksiyonel grubuna sahip olan tautomerleri tercih ettikleri anlaşılmıştır. Nükleosit izomerlerinin göreceli kararlılıklarında nükleobazın tautomerik formunun çok önemli olduğu anlaşılmaktadır. Nükleobaz formundayken kararlı olan tautomerin genellikle nükleosit formunda da kararlı olan izomerler olması bu kanıyı desteklemektedir.

Şeker halkasının aynı tautomer üzerinde ki bağlanma seçenekleri nükleositlerde izomerler arasında enerji farklılıklarına yol açsa da, bu enerji farkı nükleobazın tautomerik formunun değişmesiyle ortaya çıkan enerji değişimi kadar değildir.

Şekerin aynı tautomer üzerinde bağlandığı pozisyonun değişmesiyle nükleositin enerjisinde genellikle çok yüksek bir değişim meydana gelmemesi bu izomerizasyonun, mutasyon açısından değerlendirdiğimizde, çok daha dikkatli incelenmesi gerekliliğini de ortaya koymaktadır. Nispeten küçük enerji değişimleri mutasyonun daha kolay olması anlamına gelmektedir. Dolayısıyla nükleositlerin canlı sistemlerdeki biyosentezi sırasında şekerin olması gerektiği pozisyona değilde başka bir pozisyona bağlanması sonucunda mutasyon meydana gelmesi de olasılıklar arasında değerlendirilmelidir.

5. KAYNAKLAR

- [1] Watson, J.D., Tooze, J. and Kurtz D.T., *Recombinant DNA, a short course. Scientific American Books*, New York: W. H. Freeman, (1993).
- [2] Watson, J.D., *The double helix*, New York: Athenum, (1968).
- [3] Watson, J.D. and Crick, F.H.C., *A structure for deoxyribose nucleic acid*, Nature 171: 737-738, (1953).
- [4] Ayala, F.J. and Kieger, J.A., *Modern Genetics*, 2nd edition Benjamin/Cummings, California: Menlo Park, (1994).
- [5] Voet, D. and Voet, J.D., *Biochemistry*, New York: 2nd edition. John Wiley, (1995).
- [6] Watson, J.D. and Crick, F.H.C., *Genetic implications of the structure of DNA*, Nature 171: 964-967, (1953).
- [7] Crick, F.H.C., *On protein synthesis*, Symp. Soc. Exptl. Biol 12, 138-163, (1958).
- [8] Yıldırım, A., Bardakçı, F., Karataş, M. ve Tanyolaç, B., *Moleküler Biyoloji*, Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 613 s, (2007).
- [9] Dinçer, Y. ve Akçay, T., ‘‘DNA Hasarı’’, *Türk Biyokimya Dergisi*, 25 (2): 73-79, (2000).
- [10] Balajee, A.S and Bohr, V.A., ‘‘Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair’’, *Gene*, 250(1-2), 15-30, (2000).
- [11] Bruce, A., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walters, P., *Molecular biology of the cell*, Fourth Edition, New York and London: Garland Science, ISBN 0-8153-3218-1, (2002).
- [12] Butler, J. M., ‘‘Forensic DNA typing’’, *Elsevier*, ISBN:978-0-12-147951-0.pp. 14–15, (2005).

- [13] Nelson, D.L. and Cox, M.M., “Lehninger principles of biochemistry”, *Worth Publishers*, 1255 p, New York, (2005).
- [14] Bruce, A., Bray D., Lewis J., Raff M., Roberts K. and Watson, J., *Molecular Biology of the Cell. Third Edition*, New York: Garland Puplicing Inc., (1994).
- [15] Cooper, G.M., *The Cell: A molecular Approach*, Washington, D.C.: ASM press, (1997).
- [16] Rosemeyer, H., *Chemistry & Biodiversity*, 1, 361, (2004).
- [17] Ghosh, A. and Bansal, M.,’A glossary of DNA structures from A to Z’, *Acta. Crystallogrd. Biolcrystallogr*, 59, (Pt4): 6206. DOI: 10.1107/S0907444903003251., PMID: 12657780, (2003).
- [18] Berg, J., Tymoczko, J. and Stryer, L., *Biochemistry*, W. H. Freeman and Company, ISBN 0-7167-4955-6., (2002).
- [19] Fidan, A.F., ‘Deneysel Diyabet Oluřturulmuř Ratlarda DiyeteKatılan Farklı Yapılardaki Saponin İçerikli Bitkilerin DNA Hasarı, Protein Oksidasyonu ve Lipid Peroksidasyonu ile Bazı Biyokimyasal Parametrelere Etkilerinin Araştırılması’ (Doktora Tezi), *Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 1, Afyonkarahisar, (2007).
- [20] Saęlam, N., *Biyoloji Eęitiminde Moleküler Genetik*, Ankara: 106 s, (2000).
- [21] Sameera, W. M. C. and Pantazis, D. A., “A Hierarchy of Methods for the Energetically Accurate Modeling of Isomerism in Monosaccharides”, *Journal of Chemical Theory and Computation*, 8, 2630-2645, (2012).
- [22] Hassler, L.P., “Computer simultions of carbohydrates”, Ph. D Thesis, *Eth Zürich Universty Sciences*, Zürich, (2009).
- [23] Karabulut, S., “Bazı Düz Zincirli İmitlerin Sentezi, İmitlerin ve 1,3-Dikarbonil Bileşiklerinin Tautomer Oranlarının Deneysel ve Hesapsal Olarak İncelenemesi”, Doktora Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkesir Üniversitesi*, Balıkesir, (2011).

- [24] Anadolu Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi - B 1 (2) *Teorik Bilimler*.
- [25] Nobel Media A.B., The Nobel Prize in Chemistry 1998 [online], (20.12.2015), Web adresi: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/chemistry/laureates/1998, (2015).
- [26] Kohn, W., “Nobel Lecture: Electronic structure of matter- wave functions and density functionals”, *Reviews of Modern Physics* 71, 1253-1265, (1999).
- [27] James, B., Foresman and AEleen, Frisch., *Exploring Chemistry with Electronic Structure Methods, 2.Edition*, Gaussian, (1996).
- [28] Jensen, F., *Introduction to Computational Chemistry*, New York: John Wiley and Sons, (2001).
- [29] Çelik, M. S., “Bazı Gerilimli Halkalı Allenlerin Titreşim Frekanslarının Hesapsal Yöntemler İle İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkesir Üniversitesi*, Balıkesir, (2007).
- [30] Tezer, D. A., “ Bazı Gerilimli Halkalı Allenlerin VCD ve NMR Spektrumlarının Hesapsal Yöntemlerle İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Fen Bilimleri Enstitüsü Balıkesir Üniversitesi*, Balıkesir, (2011).
- [31] Jensen, F., *Introduction to Computational Chemistry*, New York: John Wiley & Sons, (1999).
- [32] Raczyńska, E. D., Makowski, M., Hallmanna, M. and Kamińska, B., “Geometric and energetic consequences of prototropy for adenine and its structural models”, *Royal society of chemistry, R.C.S. adv.*, 5, 36587, (2015).
- [33] Kabela, M. and Hobza, P., “Hydration and stability of nucleic acid bases and base pairs”, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 9, 903–917, (2007).
- [34] Karabulut, S., Namlı, H. and Mella, M., “Detection of relative dimer and rotamer concentrations of diacetamide in different solvents by FT-IR spectroscopy and DFT calculations”, *Vibrational Spectroscopy*, 57, 294-299, (2011).

[35] Karabulut, S. and Leszczynski, J., "Molecular structure of aurothioglucose: a comprehensive computational study", *Tetrahedron*, *71*, 1815-1821, (2015).