T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOMBYX MORİ İPEK BÖCEĞİ İPEĞİNİN KRİSTALİT BİRİMİNİN MEKANİKSEL ÖZELLİKLERİNİN SİMÜLASYONU

CEM UĞUZ

YÜKSEK LİSANS TEZİ
FİZİK ANABİLİM DALI
FİZİK PROGRAMI

DANIŞMAN
PROF. DR. ÇETİN TAŞSEVEN

İSTANBUL, 2018

T.C.

YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BOMBYX MORİ İPEK BÖCEĞİ İPEĞİNİN KRİSTALİT BİRİMİNİN MEKANİKSEL ÖZELLİKLERİNİN SİMÜLASYONU

Cem UĞUZ tarafından hazırlanan tez çalışması 19.06.2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fizik Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Çetin TAŞSEVEN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Çetin TAŞSEVEN

Yıldız Teknik Üniversitesi

Doç. Dr. Hüseyin Birtan KAVANOZ

Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. İdris GÜMÜŞ

Maltepe Üniversitesi

Bu çalışma, 115F524 numaralı Yüksek Performans Uygulamaları İçin Bombyx Mori İpek Fibroin Kristalit Biriminin Termo-Mekaniksel Özelliklerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu başlıklı TÜBİTAK projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bu çalışmanın gerçekleşmesi süresi boyunca tüm desteklerinden dolayı saygı değer hocam Prof. Dr. Çetin TAŞSEVEN' e teşekkür ederim. Ayrıca tıkandığım yerlerde büyük bir sabırla bana çıkış yolunu gösteren Arş. Gör. Dr. Ünsal AKDERE hocama çok teşekkür ederim. Anlamakta zorlandığım kısımlarda yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Seçkin Dündar GÜNAY, Arş. Gör. Dr. Altan BOZDOĞAN ve Doç. Dr. Baki AKSAL hocalarıma da

teşekkür ederim.

Sonuçlarımın yorumlanması sırasında desteklerinden dolayı Prof. Dr. Tahir Çağın' a teşekkür ederim.

Tüm Öğrenim hayatım boyunca desteklerini hiç bir zaman esirgemeyen aileme ayrıca teşekkür ederim.

Bu çalışma, 115F524 numaralı Yüksek Performans Uygulamaları İçin Bombyx Mori İpek Fibroin Kristalit Biriminin Termo-Mekaniksel Özelliklerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu isimli TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmiştir.

Haziran, 2018

Cem UĞUZ

İÇİNDEKİLER

Sayfa

SİMGE LİSTESİ.....vii

KISALTMA LİSTESİ.....viii

ŞEKİL LİSTESİ.....ix

ÇİZELGE LİSTESİ x

ÖZET.....xi

ABSTRACT.....xiii

BÖLÜM 1

GİRİŞ..... 1

1.1 Literatür Özeti..... 1
1.2 Tezin Amacı..... 7
1.3 Hipotez..... 7

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER..... 8

2.1 Moleküler Dinamik Simülasyon (MD)..... 8
2.1.1 Simülasyon Metodu..... 9
2.1.2 Potansiyel Enerji..... 10
2.1.2.1 Moleküller Arası Potansiyeller..... 11
2.1.2.2 Molekül İç Potansiyeller..... 12
2.1.3 Kinetik Enerji, Sıcaklık, ve Basınç..... 13
2.1.4 Topluluklar..... 14
2.1.5 Termostat..... 15
2.1.6 Barostat..... 15
2.1.7 Özellikleri Ölçme..... 16
2.2 Uygulama..... 16
2.2.1 Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD)..... 21

BÖLÜM 3

SONUÇ VE ÖNERİLER 23

3.1 Kristal Tabakaların Dayanıklılığına Suyun Etkisi 23
3.2 Polar Antipolar Modeller İçin Tek Zincir Çekme Testi 26

KAYNAKLAR 29

EK-A

Mdp Dosya İçerikleri 32

A-1 Enerji Minimizasyonu 32
A-2 NVT Dengeleme 33
A-3 NPT Dengeleme 35
A-4 Çekme Testi 38

ÖZGEÇMİŞ 42

SİMGE LİSTESİ

nm	nanometre
ns	nanosaniye
pN	piko Newton
kJ	Kilo Joule
mol	Mol
bar	Bar
K	Kelvin
Å	Angstrom

KISALTMA LİSTESİ

Ala	Alanin amino asidi
Gly	Glisin amino asidi
MD	Moleküler Dinamik
YMD	Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (Steered Molecular Dynamics / SMD)
YTOZ	Yüzey Tabaka Orta Zincir
YTKZ	Yüzey Tabaka Köşe Zincir
OTOZ	Orta Tabaka Orta Zincir
OTKZ	Orta Tabaka Köşe Zincir
YT	Yüzey Tabaka
OT	Orta Tabaka
r_c	Kesme Mesafesi

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1. 1 Bombyx Mori 2
Şekil 1. 2 İpek I ve İpek II 5
Şekil 2. 1 MD Hesaplarda Kullanılan Atom Modeli 8
Şekil 2. 2 a) Coulomb Potansiyeli b) Lennard-Jones Potansiyeli. 11
Şekil 2. 3 a) Bağ (bond) b) Açı c) Yüzeylerin Bükülmesi(Improper) d) Torsiyon 13
Şekil 2. 4 2Slk ve İpek II A Potansiyel Grafikleri 18
Şekil 2. 5 2Slk Sıcaklık Grafiği 19
Şekil 2. 6 2Slk Basınç Grafiği 20
Şekil 2. 7 İpek II A Sıcaklık Grafiği 20
Şekil 2. 8 İpek II A Basınç Grafiği 21
Şekil 3. 1 a-b-c) β-Katman Kristalit Birim d) Su İçersindeki Kristalit Birim 23
Şekil 3. 2 İpek II A YT Su ve Vakum Ortamında Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği 24
Şekil 3. 3 İpek II A OT Su ve Vakum Ortamında Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği.....25
Şekil 3. 4 a) Polar 2slk Model b) Antipolar İpek II A Model.....26
Şekil 3. 5 İpek II A, 2slk, YTOZ, OTOZ Vakum Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği.....27
Şekil 3. 6 İpek II A, 2slk, YTOZ, OTOZ Su Ortamda Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği.....28

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1 İpek Kaynakları..... 1
Çizelge 1.2 Farklı Eğrilme Hızlarında Kristal Boyutları 6

ÖZET

BOMBYX MORİ İPEK BÖCEĞİ İPEĞİNİN KRİSTALİT BİRİMİNİN MEKANİKSEL ÖZELLİKLERİNİN SİMÜLASYONU

Cem UĞUZ

Fizik Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Çetin TAŞSEVEN

Bu tezin konusu, yüksek Young modülü, dayanıklılık, mukavemet, biyouyumluluk ve biyobozunurluluk gibi üstün fizikokimyasal özelliklerinden dolayı Bombyx mori ipekböceğinin ipeği olmuştur. Bir çok türü olmasına rağmen (Bombyx mori, Tasar, Eri, Mugan, …) yetiştiriciliği yapılabilen Bombyx mori ipek böceği İpeği, tekstilden biyomedikal uygulamalara kadar geniş bir kullanım alanına sahiptir. İpeğin dikkate değer bu özellikleri genellikle Glysin ve Alanin amino asitlerin karmaşık dizilimlerinden kaynaklanır. Bombyx mori ipek polimeri yarı kristal olarak polar-antiparalel ve antipolar-antiparalel β- sheet kristal bölgelerin amorf bölgelerle bağlanmasıyla oluşur. Bu nedenle kristal bölgelerin yapısı ve mekanik özellikleri arasındaki ilişkileri anlamak kompozit malzemelerin üretilmesinde bilinmeyen özelliklere ışık tutacaktır. Simülasyon yöntemler bu tür malzemlerin atomik boyutlarda ve sıradaşı durumlarda çalışılmasında ucuz ve pratiktirler. Kristal birimlerin mekanik özelliklerini (bölgesel çekme testi) keşfetmek için su ve vakumda Streed Molecular Dynamics simülasyon yöntemi kullanılmıştır. Bölgesel olarak farklı zincirlere ve katmanlara uygulanan mekanik çekme testiyle suyun hidrojen bağlarına, dayanıklılığa ve mukavemete olan etkisi anlaşılmıştır. İpek böceğinin türüne bağlı olarak zincir yönündeki boyut etkiside incelenmiştir.

Bu çalışma, 115F524 numaralı Yüksek Performans Uygulamaları İçin Bombyx Mori İpek Fibroin Kristalit Biriminin Termo-Mekaniksel Özelliklerinin Moleküler Dinamik Simülasyonu isimli TÜBİTAK projesi kapsamında desteklenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Bombyx Mori İpek, β- Sheet Kristal, Mekanik Çekme Test, Steered MD

ABSTRACT

SIMULATIONS OF MECHANICAL PROPERTIES OF CRYSTALLINE UNITS OF BOMBYX MORI SILKWORM SILK

Cem UĞUZ

Department of Physics

MSc. Thesis

Adviser: Prof. Dr. Çetin TAŞSEVEN

Bombyx Mori silkworm silk (Mulberry silk) is the subject of this thesis which is the one of the many types of natural harvastable silkworm silk (Bombyx mori, Tasar, Eri, Mugan, …). Due to its exceptional physicochemical properties, such as high Young's modulus, stiffness, strength, biocompatibility and biodegradability. Silk has a wide range of application areas from textile to biomedical. Complicated squence of simple amino acid components, mostly Glysine and Alanine, gives the silk these remarkable properties. Bombyx mori silk fiber is considered as a semicrystalline polymer consting of highly oriented polar-antiparallel and antipolar-antiparallel β- sheet crystalline regions connected with amorphous regions. Therefore it is of great importance to study mechanical properties of the crystalline region in order to shed light on some unknow properties, increase our understanding on structure and mechanics relation, and antribute to the production of composite materials. Simulation methods are cheep and practical to study such materials at atomic level and extreme conditions. We have used Steered Molecular Dynamics simulation method to investigate mechanical properties (local pulling test) of model crystalline region in vacume and water. Applying the mechanical pulling test to different chains and sheets will let us understant the relation between local structure effect of water, hydrogen bonding, strength and toughtness of silk. Moreover, the effect of the size along the chain direction, that depends on the type of the silkworm, has been also examined.

This thesis was suportted by TUBITAK under the project 115F524 High Performance Applications for Molecular Dynamics Simulation of Thermo-Mechanical Properties of Bombyx Mori Silk Fibroin Crystallite Unit.

Keywords: Bombyx mori silk, β- sheet crystallite, mechanical pulling test, Steered MD

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür Özeti

İpek binlerce yıldır insanlar tarafından tekstil sektöründe kullanılmaktadır. Kolay işlenebilirliği, esnekliği, parlaklığı ve sağlamlığı, ipeği tekstil sektöründe sürdürülebilir bir hammadde haline getirmiştir. İpek genelde eklem bacaklılar tarafından, şekilsel (morfolojik) değişim süreçlerinde kendilerini dış dünyanın tehlikelerine karşı korumak amacıyla ördükleri kozalardan veya avlanmak, barınmak için oluşturdukları yapılardan (ağlar) elde edilir. Değerli bir ticari ürün olan ipeğin kaynaklarına göre sınıflandırılması aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Çizelge 1.1 İpek Kaynakları

	Dut Yaprağıyla Beslenenler	Dut Yaprağıyla Beslenmeyenler
Tarımı Yapılabilen	Bombyx Mori	Eri İpeği, Tasar İpeği, Muga İpeği
Tarımı Yapılamayan		Anaphe İpeği, Fagara İpeği, Coan İpeği, Midye İpeği, Örümcek İpeği

İpek ticaretinin neredeyse tamamı (%90) dut yapraklarıyla beslenen Bombyx Mori ipek böceğinden elde edilen ipekle yapılmaktadır [1].

İpek yapısındaki görece basit bileşenlerden oluşmasına rağmen göstermiş olduğu üstün fizikokimyasal özelliklerinden dolayı sürekli olarak araştırmacıların dikkatini kendisi üzerine çekmiş ve yeni kullanım alanlarına dahil olmuştur. Örneğin; Kevlar insanlar tarafından üretilen ipek türevli bir malzemedir. Kevlar inşaat ve endüstride yalıtımdan darbe emiciliğe kadar bir çok yerde kullanılmaktadır. Ayrıca ipek uzun yıllar boyunca, biyobozunurluk (canlı sistem içersinde herhangi bir tahribata yol açmadan yok olma) özelliği sebebiyle ameliyatlarda dikiş ipliği olarakta kullanılmaktadır. Doğal bir polimer olan ipeğin sağlık alanındaki kullanımı son yıllarda doku mühendisliği çalışmalarıyla artmaktadır [2]. Şekil 1.1 de Bombyx Mori ipek böceğinin tırtıl , koza ve kanatlı böcek görseli bulunmaktadır.



Şekil 1.1 Bombyx Mori

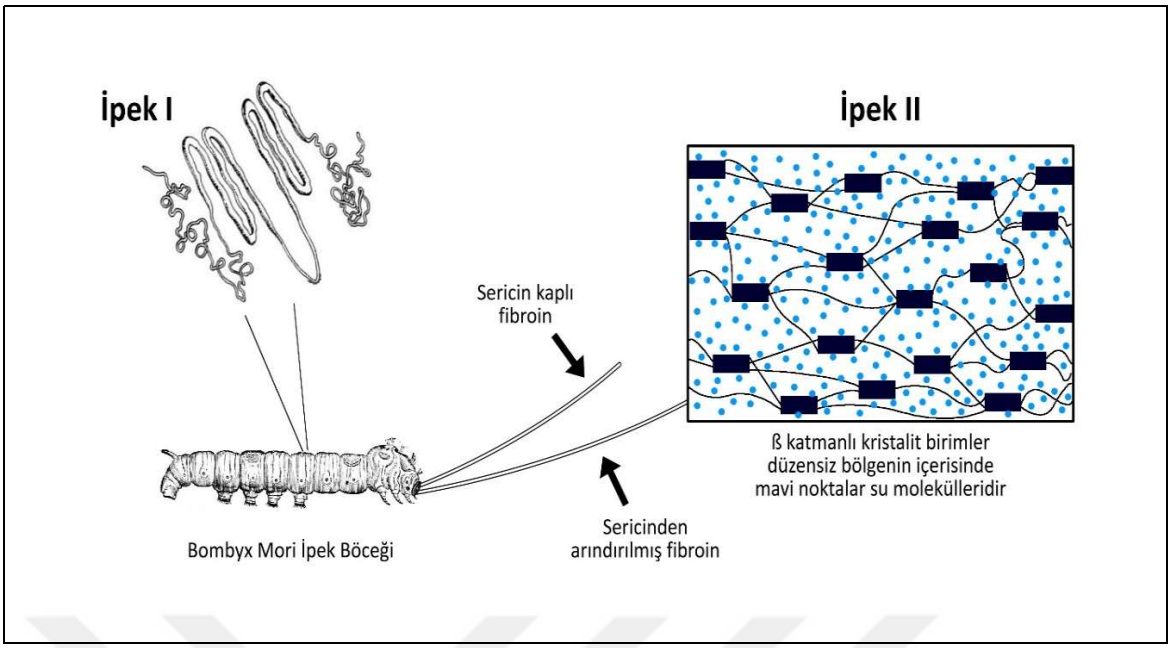
Eşsiz bir malzeme oluşu ve bugüne kadar kullanıldığı tüm farklı alanlarda kendini ispatlaması insanları ipek üretimine dair çalışmalara sevk etmiştir. Bir kalem kalınlığında liflerden oluşan ipeğin bir Boeing 747' yi taşıyabileceği fikri bile üzerine yapılan çalışmaları canlı tutmaktadır [3]. Doğada her bir böceğin kendine özgü ufak farklılıklarla büyük değişimler yaratarak ürettikleri ipek türleri bulunmaktadır. Doğal yollardan elde edilen ipekleri tüm özellikleri farklılık gösterecek şekilde sınıflandırmak mümkün olabilir. İnsanoğlu bu işi de bir standarta oturtma ve görece kötü özelliklere sahip ipeklerden üstün özelliklere sahip ipekler üretme çabasına girmiştir. Kullanım hassasiyetine ve başarılı uygulamalarına bakıldığında haksız bir çaba olmadığı açıkça görülmektedir.

Bazı ipek türleri için bilinen özellikleri göz önüne getirmek, bu çabanın ne kadar gerekli ve haklı olduğunu gösterecektir. Yapılan bilimsel çalışmalar göstermektedir ki, en üstün mekanik özelliklere (dayanıklık, esneklik, vb.) sahip ipekler örümcek ailesi bireyleri tarafından üretilmektedir. Örneğin; Nephila örümceği ipeği 1.3 GPa'a kadar çekme kuvvetine dayanabiliyor ve kopmadan %40 oranında esneyebiliyor. Diğer yandan Caerostris Darwini örümceği ipeği ise 1.7 GPa' a kadar çekme kuvvetine dayanabiliyor, bu değer yüksek teknoloji ürünü olan çeliğin dayanabildiği 1.5GPa' lık değerden bile daha büyüktür [4].

Peki örümcekler tarafından bu kadar üstün mekanik özelliklere sahip ipekler üretilirken, bizleri ipek üretimine yönelten başlıca sebepler nelerdir? İlk olarak örümcek tarımının yapılamıyor olmasıdır, yani büyük örümcek çiftlikleri kurulamıyor çünkü bu hayvanlar vahşi doğada varolabiliyorlar. Bir diğer neden ise, bir örümcek ağından elde edilebilen ipeğin uzunluğu yaklaşık olarak 12 metredir [4]. Bu olumsuz sebepler bizleri yeni arayışlara sevk etmiştir. Yapılan araştırmalar Bombyx Mori böceğinin bu işe uygunluğunu göstermiştir [5,3]. Çünkü hem Bombyx Mori böceği yetiştiriciliği yapılabiliyor hem de bileşen ve fiziksel özellikleri bakımından üstün mekanik özelliklere sahip örümcek ağlarına en yakın ipekleri üretebiliyorlar. Buna ilave olarak bir kozadan 700-1500 metre uzunluğunda ipek ipi elde edilebiliyor [6].

Bombyx Mori böceğinin ipeği ile örümcek ipeğinin benzer özelliklerde olması, örneğin; her iki ipek türü için yapılan Raman spektroskopilerinden birbirine yakın pikler elde

edilmiştir. Örümcek ipeği için 1095 cm-1 , Bombyx Mori ipeği için 1085 cm-1 değerlerinde olan bu piklerin C-C iskelet yapılarından geldiği anlaşılmıştır[7]. Bu tür bilimsel gözlemler sonucunda Bombyx Mori ipeğinden örümcek ipeği özelliklerine benzer ipek üretebilme düşüncesini meydana getirmiştir. Bu doğal polimerlerin bileşenlerini ve morfolojilerini anlamak için bir çok bilimsel çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların en önemli sonuçlarından biri, ipeğin üstün mekanik özelliklerinin bileşenlerinden ve morfolojik yapısından kaynaklandığını göstermiş olmasıdır [3]. Yapıyla ilgili bilinmezliklerin giderilmesi, görece güçsüz ipeklerden daha üstün mekanik özelliklere sahip ipekler üretmenin kapılarını açacaktı. İpeğin yapısıyla ilgili ilk çalışmalar 1913 yılında Nishikawa ve Ono tarafından x-ışını kristalografisi ile yapılmıştır. Elde edilen x-ışını kırınım desenlerinden pek gerçekçi olmayan bir model önerdiler fakat bu model hayatta kalmayı başaramadı. Daha sonra gelişen teknoloji ve görüntüleme sistemleri sayesinde deneysel bilgilerle uyuşan yapı modelleri oluşturulmaya başlandı. 20. yüzyılın son yarısının başlarında yine x-ışınları kullanılarak ipek II modeli Marsh, Corey ve Pauling tarafından karakterize edildi. İpek II ismini almasının nedeni İpek I modelinin böceğin vücudundaki halini temsil etmesidir. Yani elimizdeki modeller böceğin vücudundaki hal İpek I ve vücudundan dışarı çıkarttığı hal (ağı ya da kozayı örmeye başladığı hal) İpek II olarak isimlendirilmiştir. Şekil 1.2 de iki yapının tasviri gösterilmiştir. Bazı eksikliklerine rağmen kabul gören İpek II modeliyle birlikte ipeğin β-sheet yapısının klasik resmi çizilmiş oldu. Marsh modeli olarak isimlendireceğimiz bu model kristalit birimlerin düzenli antiparalel β-sheet bir yapıdan meydana geldiğinden bahsediyor. Fakat daha sonra Fraser, Lotz, Keith ve Fossey bu antiparalel yapının içersinde düzensiz yapıların da olduğunu gösterdi. Eksiklikleri, yapılan çalışmalarla giderilen bu modele son dokunuş Takahashi tarafından yapıldı. Takahashi yine x-ışınları ile yaptığı ölçümler sonucunda antiparalel β-sheet kristal bölgelerinin farklı yönelimlerde olduğunu gösterdi. Takahashi ipek II modelinin polar değil antipolar yapıda olduğunu da göstermiş oldu. Sonuç olarak şuan elimizde varolan ipek II modeli; düzenli kristal bölgelerin amorf bölgeler içerisinde gömülü olduğunu söylüyor [8]. Bu model deneysel verilerle ”eksikliklerine rağmen” uyum içersindedir. Aşağıda bu modelin görsel bir tasviri bulunmaktadır.



Şekil 1.2 İpek I ve İpek II

Deneysel testlerle sınanan kristalografik ve NMR ölçümleri sayesinde $(AG)_n$ peptit kristalinin $P2_1$ uzay grubuna ait olduğu gösterilmiştir [8]. Dikdörtgensel birim hücrenin örgü vektörü parametreleri a= 9.38 Å , b= 9.49 Å ve c= 6.98 Å olarak bulunmuştur. Marsh modelinin moleküler ekseni b yönünde olacak şekilde örgü vektörü parametreleri ise; a= 9.40 Å , b= 6.97 Å ve c= 9.20 Å dir [8].

İpek II modeli bize açıkça göstermektedir ki; kristal bölgelerin mekanik özelliklere büyük katkısı vardır. Kristal bölgelerin boyutlarının mekanik özelliklere etkisini gösteren bir çalışmadan şu sonuç alınmıştır. Küçük boyutlu kristal bölgelere sahip ipekler, büyük boyutlu kristal bölgelere sahip ipeklerden daha üstün mekanik özellikler göstermiştir [9]. Peki aynı bileşenlerden meydana gelen kristal bölgelerin farklı hacimlere sahip olmasının nedeni nedir? Kristal bölgelerdeki hacim farklılıklarının eğrilme hızlarından (reeling speed) kaynaklandığını gösteren çalışmalar mevcuttur. Çizelge 1.2 eğrilme hızı ve kristal bölge hacimleri arasındaki ilişkiyi göstermektedir.

Çizelge 1.2: Farklı Eğrilme Hızlarında Kristal Boyutları

	Kristal boyutları (nm)		
Eğrilme Hızı (mm s^{-1})	$\vec{a}$	$\vec{b}$	$\vec{c}$
1	2.4	3.5	7.3
2.5	2.3	3.4	7.1
10	2.1	2.7	6.5
25	2.2	2.7	6.4
100	2.1	2.7	6.4

Eğrilme hızının hacim üzerindeki etkisini gösteren bu tablo şöyle başka soruları sormamıza neden olabilir. Mekanik özelliklere ortam koşullarının (sıcaklık, nem, basınç, vb.) etkisi nedir? Değişen ortam koşulları böceğin koza üretimi sırasındaki kristal bölgeleri nasıl etkiler? Benzer yapı taşlarından oluşmasına rağmen suya karşı gösterdikleri tepkiler nasıl farklı olabiliyor (kristal bölgeler hidrofobik, amorf bölgeler hidrofilik)? Suya karşı gösterilen bu tepki fiziksel özellikleri nasıl etkiliyor? Kristal bölgelerin öneminin anlaşılması için günlük hayattan şu olay göz önünde bulundurulabilir. Normal bir ipin düğüm noktalarının zayıf noktaları olduğunu gözlemleyebiliyoruz. Kristal bölgeleri ipin düğüm noktalarıyla benzeştirirsek, düzensiz bölgelerle kristal bölgelerin bağlandığı noktalardan gerçekleşen kopma olayını açıklayabilir miyiz? İpeğin yapısında belli bir oranda var olan kristal bölgeler değişik kristal hacimlerinde sayıca farklılık gösteriyor mu? Gösteriyorsa belirli oran sabitini korumak koşuluyla sayıca fazla olmak zorunda olan küçük kristal bölgeler nasıl daha dayanıklı ipeklerin varolmasını sağlıyor? Düğüm noktaları arttıkça ip daha güçsüzleşmez mi?

Bu tür temel soruların cevaplarına ışık tutmak için kristal bölgelerin bölgesel mekanik özelliklerini anlamakta fayda olduğunu düşünüyoruz. Bu sebeple Asakura ve çalışma arkadaşlarının önermiş olduğu ipek II modelinin A etiketli birim hücresinden elde

ettiğimiz 8 rezidülü, a= 23.971 Å, b= 19.396 Å , c= 34.961 Å örgü parametrelerine sahip kristal bölgenin farklı bölgelerinin bilgisayar ortamında mekanik çekme testlerini gerçekleştirdik. Bu çekme testleri farklı bölgelerdeki zincirler ve katmanlar için vakum ve su içersinde Gromacs paket programını kullanarak yapıldı. Farklı bölgelerin mekanik özelliklere katkısının araştırılmasının yanında, zincir boyunun etkisine ve suyun zincirler arasındaki hidrojen bağlarına etkisine de bakıldı.

1.2 Tezin Amacı

Bombyx Mori ipek böceği ipeğinin kristalit biriminin mekanik özelliklerini bilgisayar ortamında Gromacs paket programını kullanarak hesaplamak. İpeğin üstün mekanik özelliklerine kristalit birimlerin etkisini anlamak ve bu sayede ipek türevli malzemelerin üretimine katkı sağlayacak bilgiler edinmek. Kristalit birimi meydana getiren düzenli polimer zincirlerin Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD) simülasyon yöntemiyle gerçekleştirilen mekanik çekme testleri sonucunda, yapı içerisindeki farklı bölgelerin mekanik özelliklere etkisini araştırmak. Buna ilave olarak kristalit birim içerisindeki farklı bölgelerin su ile etkileşiminden kaynaklanan mekanik davranış farklılıklarını gözlemleyebilmek. Suyun, kristalit birim içerisindeki polimer zincirleri bir arada tutmaya yarayan hidrojen bağlarla etkileşimini anlamak.

1.3 Hipotez

İpeğin, dayanıklılık gibi mekanik özelliklerinin belirlenmesinde en büyük etkinin düzenli (kristalit) bölgelerle düzensiz (amorf) bölgelerin birleşim yerlerinden kaynakladığını göz önüne alarak, kopmalara neden olan bölgelerin kristalit birimlerin yüzey kısımları olduğunu göstermek. Ayrıca hidrofobik olan kristalit birimlerin su ile etkileşmesi halinde ipeğin mekanik özelliklerinin olumsuz yönde etkilendiğini sebepleri ile ortaya koymak.

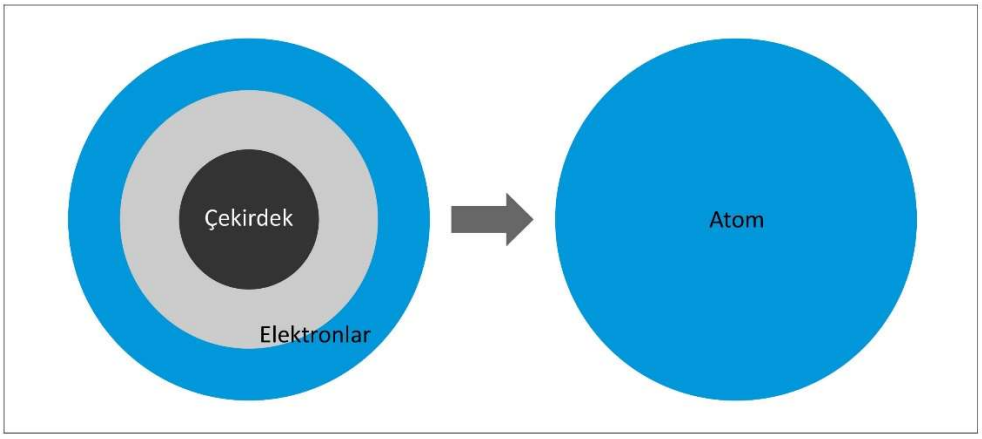
BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1 Moleküler Dinamik Simülasyonu (MD)

Simülasyonu; deneysel çalışmaların yetersiz kaldığı alanların yarattığı boşlukları doldurmak, malzemeler hakkında daha fazla bilgi edinmek ve yeni malzemeler sentezlemenin yollarını öğrenmek amacıyla, bilgisayarların deney aletleri gibi kullanıldığı yeni sayılabilecek bilimsel bir çalışma alanı olarak tanımlayabiliriz. Simülasyon yöntemlerinin çeşitliliği ve sağladığı faydalar bu çalışma alanını sürekli olarak canlı tutmaktadır.

Moleküler Dinamik Simülasyon yöntemi, basite indirgenmiş atom yapısı tanımıyla, doğruluğu kanıtlanabilir sonuçlar elde etmemizi sağladığı için önemli bir simülasyon yöntemi olmuştur. Hesaplamalar sırasında temel alınan atom modelinin yapısı şekil 2.1' de görselleştirilmiştir.



Şekil 2.1 MD Hesaplarda Kullanılan Atom Modeli

Küresel bir top olarak alınan atom modeli ve bu modelden yola çıkarak oluşturulan molekül yapıları sayesinde sistemler hakkında hesaplamalar yapmak mümkün olmuştur. MD Simülasyon hesaplamaların temelinde yatan teori ise Newton' un 2. yasasıdır.

$$\mathbf{F} = \mathrm{m}\mathbf{a} \tag{2.1}$$

Denklem 2.1' in nümerik çözümlerinden yola çıkarak, moleküler dinamik hesaplamaları yapan AMBER, CHARMM, GROMOS, GROMACS ve NAMD gibi paket programlar vardır. İçerdikleri kütüphaneler ve uzmanlaştıkları yöntemlerin farklılıklarına göre tercih sebepleri değişmektedir. Açık kaynak oluşu ve güçlü performansından dolayı bu çalışmada GROMACS paket programı tercih edilmiştir.

Moleküler Dinamik simulasyonun en büyük avantajı nano boyutlarda hesaplamalar, ölçümler yapmamızı sağlayarak malzemelerin içerisine nüfuz ederek oradaki bilgileri edinebilmemizdir. Deneysel olarak bunu yapmak zordur. Dezavantaj olarak bilgisayarların sınırlı işlem gücünü göz önünde bulundurabiliriz. İşlem gücü yüzünden hesaplamalar çok uzun zaman almaktadır. Fakat yine de büyük moleküllü, çok atomlu yapılar üzerinde başarılı sonuçlar elde etmekteyiz.

2.1.1 Simülasyon Metodu

Moleküler Dinamik Simülasyonu Newton Mekaniğinin 2. kanuna uygun olarak hesaplamalar yapar demiştik. Bu denklemi farklı bir gösterimde yazarak, MD' nin bazı açıklamalarını yapmakta fayda vardır.

$$\mathbf{F}(\boldsymbol{r}_i) = -\boldsymbol{\nabla}_i E_p(\boldsymbol{r}_1,\mathbf{r}_2,\ldots,\mathbf{r}_N) = \mathrm{m}_i\mathbf{a}_i = \mathrm{m}_i\frac{\mathrm{d}\mathbf{v}_i}{\mathrm{dt}} = \mathrm{m}_i\frac{d^2\mathbf{r}_i}{\mathrm{dt}^2}, \quad \mathrm{i}=1,2,\ldots,\mathrm{N} \tag{2.2}$$

F kuvveti, $\mathbf{E_p}$ potensiyel enerjiyi ve $\mathrm{m_i}$, $\mathbf{a_i}$, $\mathbf{v_i}$, $\mathbf{r_i}$ sırasıyla her bir parçacığın kütlelerini,ivmelerini, hızlarını, konumlarını temsil etmektedir. *i* atomların sırasını, t zamanı, N ise parçacık sayısını vermektedir.

Moleküler Dinamiğin temeli (2.2) diferansiyel denkleminin nümerik olarak zaman üzerinden konum ve hızların çözümüdür. Bu denklemin çözümü için kullanılan yöntem Verlet algoritmasıdır. Verlet algoritması ileri-geri Taylor serisi açılımlarından yola

çıkarak, hızlar ve konumlar için küçük δt zaman farkının kuvvet serisi açılımıyla şu çözümü önerir;

$$\mathbf{r}(t+\delta t) = \mathbf{r}(t) + \frac{\partial \mathbf{r}(t)}{\partial t}\delta t + \frac{1}{2}\frac{\partial^2 \mathbf{r}(t)}{\partial t^2}\delta t^2 + \frac{1}{3!}\frac{\partial^3 \mathbf{r}(t)}{\partial t^3}\delta t^3 + \ldots \quad (2.3)$$

$$\mathbf{r}(t-\delta t) = \mathbf{r}(t) - \frac{\partial \mathbf{r}(t)}{\partial t}\delta t + \frac{1}{2}\frac{\partial^2 \mathbf{r}(t)}{\partial t^2}\delta t^2 - \frac{1}{3!}\frac{\partial^3 \mathbf{r}(t)}{\partial t^3}\delta t^3 + \ldots \quad (2.4)$$

Atomların yeni konumu **r**(t + δt) (2.3) (2.4) denklemlerinin toplanmasıyla elde edilir.

$$\mathbf{r}(t+\delta t) \approx 2\mathbf{r} - \mathbf{r}(t-\delta t) + \mathbf{a}(t)\delta t^2 \quad (2.5)$$

Denklem (2.5)' deki **a**(t)' den yola çıkarak **F** kuvvetini ve $\mathbf{E_p}$ potansiyelini bulabiliriz.

$$\mathbf{a}(t) = \frac{1}{m}\mathbf{F}(r) = -\frac{1}{m}\nabla \mathbf{E}_p(r) \quad (2.6)$$

Hızların ifadesini ise;

$$\mathbf{v}(t) = \frac{\mathbf{r}(t+\delta t) - \mathbf{r}(t-\delta t)}{2\delta t} \quad (2.7)$$

şeklinde bulunur [11].

2.1.2 Potansiyel Enerji

Potansiyel enerji yapının içersinde bulunduğu kuvvet alanı parametrelerine bağlı olacak şekilde belirlenir. Kuvvet alanı yapıyı oluşturan moleküllerin birbirleriyle etkileşmeleriyle belirlenir. Bu etkileşimler moleküller arası ve moleküllerin iç etkileşmeleri olarak ikiye ayrılır. Kuvvet alanlarının fonksiyonel biçimleri deneysel ölçümlerden ve kuantum mekanik hesaplamalarından elde edilir. Moleküller arası ve moleküller içi etkileşimler kullanılacak kuvvet alanı türüne göre farklı parametreler içerebilir. 2 alt başlıkta şöyle açıklayabiliriz.

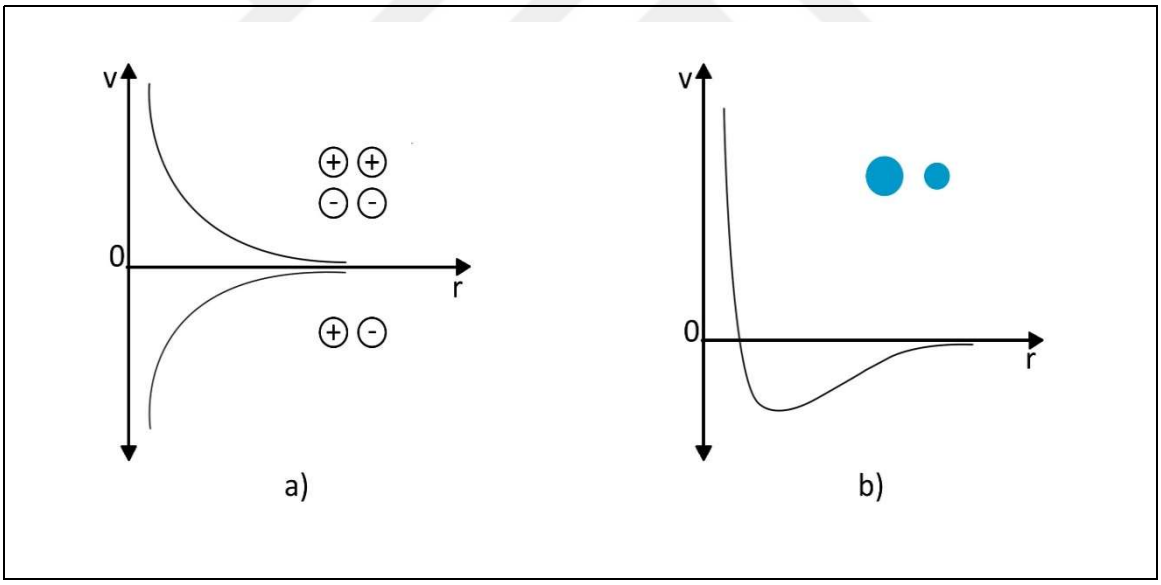
2.1.2.1 Moleküller Arası Potansiyel Enerji

Moleküller arası potansiyel enerjiler Coulomb ve Lennard-Jones etkileşimleriyle modellenir bu sayede moleküller arası elektrostatik ve van der Waals etkileşimlerinin etkisi hesaplanabilir. Bu etkileşimlerin matematiksel ifadeleri şöyledir.

$$V_{\text{Coulomb}} = \sum_{i,j>i}^{N} \frac{q_i q_j}{4\pi\epsilon_0 r_{\text{i,j}}} = \sum_{i,j>i}^{N} f \frac{q_i q_j}{r_{\text{i,j}}} \tag{2.8}$$

$$V_{LJ} = \sum_{i,j>i}^{N} 4\epsilon_{\text{i,j}}[(\frac{\sigma_{\text{i,j}}}{r_{\text{i,j}}})^{12} - (\frac{\sigma_{\text{i,j}}}{r_{\text{i,j}}})^{6}] \tag{2.9}$$

ϵ_0 dielektrik sabiti, $f = \frac{1}{4\pi\epsilon_0} = 138.935485 kJ\ mol^{-1} nme^{-2}, \epsilon\ ve\ \sigma, i$ ve j parçacıklar için Lenard-Jones parametreleri, q elektriksel yük, r de parçacıklar arası mesafedir.



Şekil 2.2 a) Coulomb Potansiyeli b) Lennard-Jones Potansiyel Enerjisi.

Moleküler Dinamik simulasyonun en zahmetli kısmı Coulomb ve Lennard-Jones etkileşmelerini hesaplamaktır. Parçacıklar arasındaki bu etkileşimler parçacıklar arası mesafeler arttıkça azalmaktadır. Hesaplamaları kolaylaştırmak ve simülasyon süresini kısaltmak için bir mesafeden sonra bu etkileşmeleri yok sayıyoruz. Bu mesafe sınırına r_c kesme mesafesi denir. Yani bir parçacığa r_c mesafesi dışındaki bir başka parçacık etki

etmez. Hesaplamaların doğruluğunu arttırmak için r_c değerini düzgün belirlemeliyiz. Bu r_c değeri simülasyonu yapılacak yapıya göre değişmektedir[11].

2.1.2.2 Molekül İç Potansiyel Enerjileri

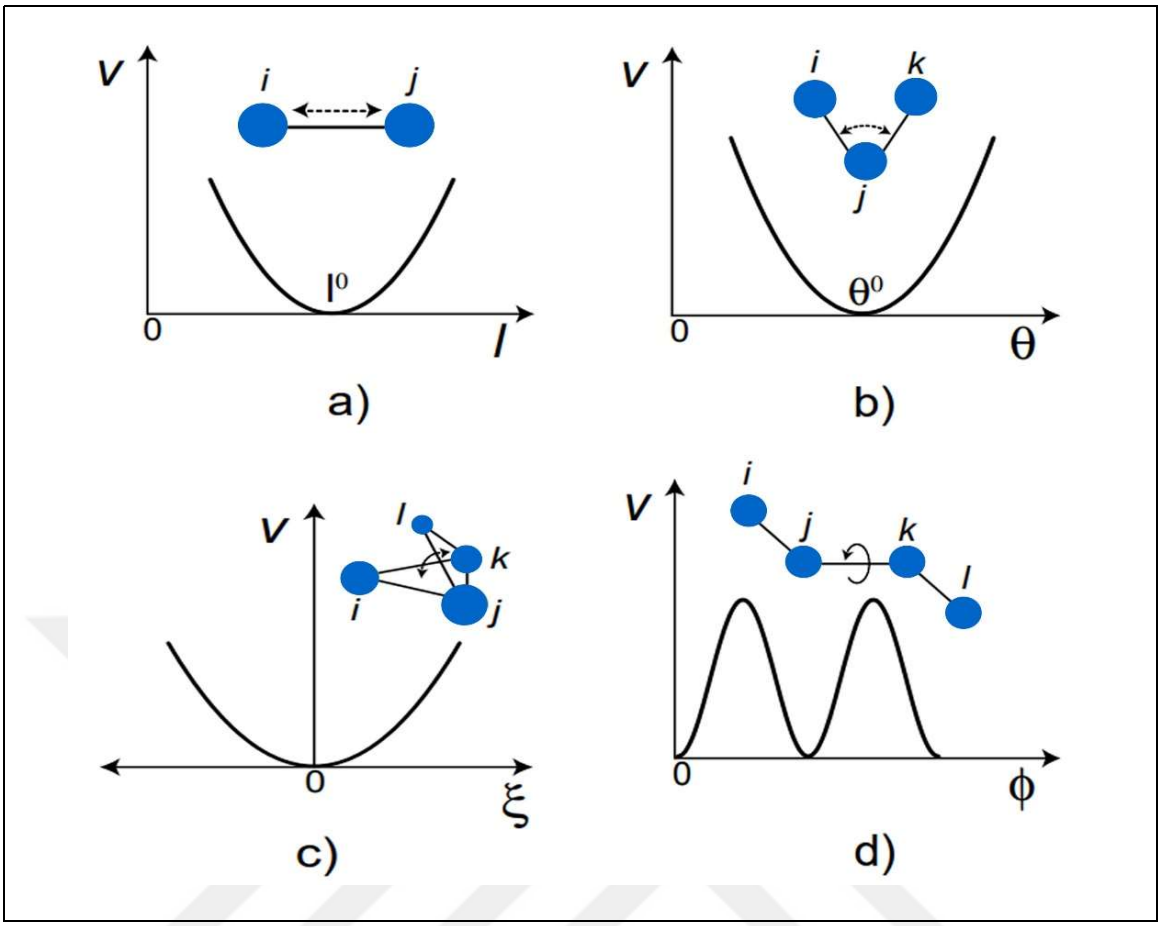
Molekül iç potansiyel enerjileri molekül içerisinde kovalent bağlarla bağlanmış atomların birbirleriyle etkileşimlerini tanımlar. Harmonik potansiyeller olarak tanımlanıp, bağ (bond), açı (angle), yüzeylerin uygunsuz bükülmesi (improper dihedral) ve burulmaların (torsion) potansiyel enerjiye katkılarını hesaplamamıza imkan sağlar. Bu harmonik katkıların matematiksel ifadeleri ve bu ifadelerden elde edilen grafikler şöyledir [11].

$$V_{bond} = \sum_{i,j}^{N} \frac{k_{i,j}^{b}}{2} (l_{i,j} - l_{i,j}^{0})^2 \quad (2.10)$$

$$V_{angle} = \sum_{i,j,k}^{N} \frac{k_{i,j,k}^{\theta}}{2} (\theta_{i,j,k} - \theta_{i,j,k}^{0})^2 \quad (2.11)$$

$$V_{improper} = \sum_{i,j,k,l}^{N} \frac{k_{i,j,k,l}^{\xi}}{2} (\xi_{i,j,k,l} - \xi_{i,j,k,l}^{0})^2 \quad (2.12)$$

$$V_{torsion} = \sum_{i,j,k,l}^{N} k_{i,j,k,l}^{\phi} [1 + \cos(n\theta_{i,j,k,l} - \theta_{i,j,k,l}^{0})] \quad (2.13)$$



Şekil 2.3 a) Bağ (bond) b) Açı c) Yüzeylerin Bükülmesi(Improper) d) Torsiyon

Denklemlerde yer alan k^b , k^θ , k^ξ kuvvet sabitleri, l^0 , θ^0 , ξ^0 ise sırasıyla denge durumundaki bağ uzunluğu, bağ açısı ve yüzey açılarıdır. Torsiyon ifadesinde yer alan k^θ periyodik sabit, ϕ^0 denge durumundaki torsiyon açısı ve *n* periyodiklik derecesidir [11].

2.1.3 Kinetik Enerji, Sıcaklık, ve Basınç

Sistemin kinetik enerjisi her bir parçacığın hızından şu ifade ile hesaplanır :

$$E_k = \sum_i^N \frac{1}{2} m_i v_i^2 \qquad (2.14)$$

E_k kinetik enerji, N sistemdeki parçacık sayısı, m ve v parçacıkların kütlesi ve hızıdır.

Kinetik enerji ve Boltzmann eşitliğini kullanarak sıcaklık için şu ifadeyi elde ederiz.

$$E_k = \frac{3}{2} N k_b T \qquad (2.15)$$

k_b Boltzmann sabitidir.

Sistemin basıncını hesaplayabilmek için önce kinetik enerjiyi tensör formda yazarız;

$$E_k = \sum_i^N \frac{1}{2} m_i \mathbf{v}_i \times \mathbf{v}_i \tag{2.16}$$

m ve **v** parçacıkların kütlesi ve hızıdır.

Basınç tensörü **P** kinetik enerji $\mathbf{E}_k$ ve virial **Ξ** terimleri farkından hesaplanabilir.

$$\mathbf{P} = \frac{2}{V}(\mathbf{E}_k - \boldsymbol{\Xi}) \tag{2.17}$$

V simülasyon kutusunun hacmidir. **Ξ** virial tensör şöyle tanımlanır;

$$\boldsymbol{\Xi} = -\frac{1}{2} \sum_{i<j}^N \mathbf{r}_{ij} \times \mathbf{F}_{ij} \tag{2.18}$$

r konum vektörü olup ($\mathbf{r}_{ij} = \mathbf{r}_j - \mathbf{r}_i$) şeklinde tanımlanır. **F**, *j* inci parçacık tarafından *i* inci parçacık üzerine uygulanan kuvvettir. Basınçın sayısal ifadesi ise aşağıdaki ifadedir [11].

$$\mathbf{P} = \frac{trace(P)}{3} \tag{2.19}$$

2.1.4 Topluluklar

Topluluklar, sistemi oluşturan parçacıkların mümkün olan tüm farklı mikro durumlarının özdeş makro durum ve termodinamik durumlar oluşturması halinde tanımlanabilir. Ele alınan sistem farklı topluluklar halinde Mikrokanonikal (E, V, N) sabit enerji, Kanonikal (T, V, N) sabit hacim, (T, P, N) sabit basınç ve Büyük Kanonik (T, V, μ) toplulukları olmak üzere sınıflandırılır. Simülasyon sırasında gerekli ölçümleri almadan önce sistem termodinamik dengeye getirilip dış etkilerin ortadan kaldırılması sağlanır.

Termodinamik dengeye ulaşan sistem üzerinden mekanik özellikleri ölçmek için SMD simülasyon hesabını yaptık.

2.1.5 Termostat

Gromacs sistemin sıcaklığını, parçacıkların hızlarından hesaplarken Berendsen zayıf eşleşme (weak coupling) teknigini kullanarak kontrol altında tutar. Bunu sistemi dış ortamdan bir ısı banyosu ile izole ederek yapar. Hareket denklemine sıcaklık eşleşme terimini ekleyerek gerçekleştirdiği bu işlemin matematiksel ifadesi;

$$m_i \frac{\mathrm{d}\mathbf{v}_i}{\mathrm{dt}} = \mathbf{F}_i + \frac{m_i}{2\tau_T}\left(\frac{T_0}{T} - 1\right)\mathbf{v}_i \qquad (2.20)$$

(2.20) denklemi olup, τ_T eşleşme zaman sabitidir (eşleşme kuvveti). T_0 ayarlanılan sıcaklık, T ise anlık sıcaklıktır.

Sisteme giren ya da sistemden çıkan ısı zamana bağlı λ faktörü şu denklemle ayarlanır[11].

$$\lambda = \left[1 + \frac{\delta \mathrm{t}}{\tau_T}\left(\frac{T_0}{T(t - \delta \mathrm{t}/2)} - 1\right)\right]^{1/2} \qquad (2.21)$$

2.1.6 Barostat

Termostattaki benzer kontrol sistemi basınç içinde geçerli olup Berendsen zayıf eşleşme tekniği kullanılarak basınç istenilen değerde tutulur. Simülasyon kutusunun yüzeylerine etkiyen kuvvetlerin dik bileşenlerinden basınç değerleri ayarlanır. Bu ayarlamalar için hareket denklemi şu hali alır.

$$\frac{\mathrm{d}\mathbf{r}_N(t)}{\mathrm{dt}} = \mathbf{v}_N(t) - \frac{\beta(P_0 - P)}{3\tau_P}\mathbf{r}_N(t) \qquad (2.22)$$

r ve **v** N parçacıklarının konum ve hızıdır. β sistemin izotermal sıkıştırılabilirliğidir. P_0 ayarlanan basınç, P anlık basınç ve τ_P eşleşme zaman sabitidir.

Berendsen algoritması kutu boyutu ve vektörlerini μ ayarlama matrisi ile boyutlandırır.

$$\mu_{ij}=\delta_{ij}-\frac{\Delta t}{3\tau_P}\beta[P_{0ij}-P_{ij}(t)] \quad (2.23)$$

i ve j basınç tensörünün bileşenleridir. δ, delta fonksiyonudur.

Gromacs 3 farklı basınç eşleşme şemasına sahiptir. İzotropik eşleşmede kutunun üç bileşeni eşit olarak ayarlanır. Yarı izotropik eşleşmede kutunun iki bileşeni ayarlanır diğer bileşen bağımsız bırakılır. İzotropik olmayan eşleşmede kutunun tüm bileşenleri bağımsız kalır ve sistemin kendi kısıtlamalarına göre davranır [11].

2.1.7 Özellikleri Ölçme

Moleküler Dinamik simülasyonda dengeye getirilmiş sistemler üzerinden fiziksel özellikler için zaman üzerinden ortalama alınarak istenilen özellikler hesaplanabilir. Örnegin istenilen A özelliğinin değeri

$$\langle A\rangle_{zaman}=\lim_{x\to\infty}\frac{1}{\tau}\int_{t_0}^{t_0+x}A[\mathbf{P}^N(t),\mathbf{r}^N(t)]dt\approx\frac{1}{M}\sum_{i=1}^{M}A_i[\mathbf{P}^N(t_i),\mathbf{r}^N(t_i)]dt \quad (2.24)$$

τ simülasyon süresi, M simülasyondaki zaman adımlarının sayısı. A_i ise N parçacıklı bir sistemin **p** momentum ve **r** konum fonksiyonlarından türetilebilecek A özelliğinin anlık değeridir [11].

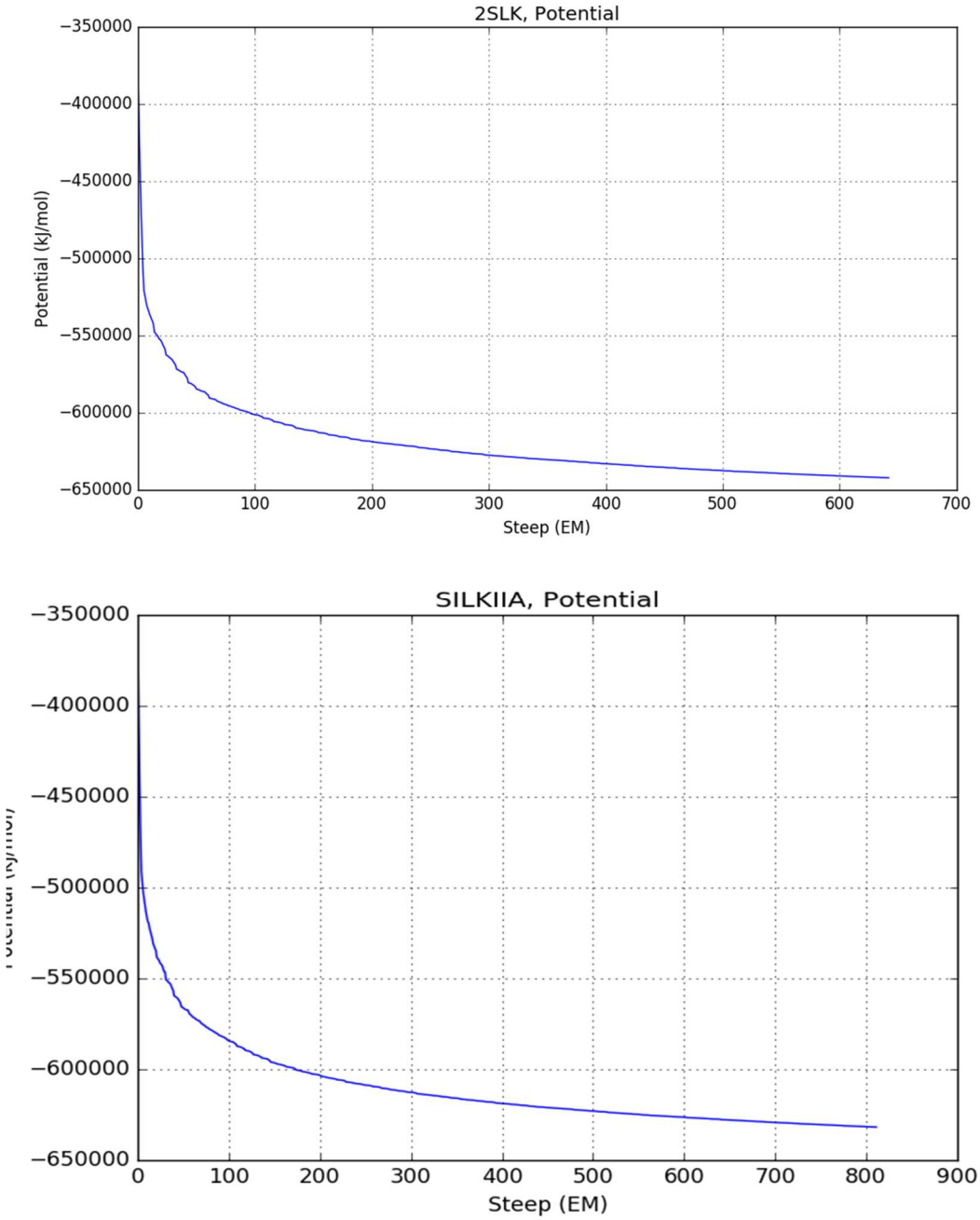
2.2 Uygulama

Bombyx Mori ipek böceği ipeğinin kristalit birimini SMD simülasyona hazırlamak için bir dizi ön işlemlerden geçirdik. Bu işlemlerin, Moleküler Dinamik Simülasyon bölümünde özetle üzerinde duruldu ve açıklamaları yapıldı. Şimdi Gromacs 5.1.2 versiyonlu paket programıyla gerçekleştirilen bu adımlardan bahsedelim. Hem ipek II A modeli hem de Protein Data Bank' tan alınan 2slk modeli için aynı koşullar atında gerçekleştirilen işlemler sırasıyla şöyledir.

Elimizde bulunan her iki modelin pdb uzantılı dosya formatlarından Gromacs ın girdi dosyası olan gro uzantılı dosyayı elde etmek için *gmx pdb2gmx –f silk.pdb –ter –v –o silk.gro* komutu çalıştırıldı. Bu komut satırından elde edilen gro ve top dosyalarının içersinde yapımızla ilgili atomların koordinat bilgileri ve atomların birbirleriyle yapmış olduğu bağlar bulunmaktadır. Bu yapı dosyaları sayesinde simülasyon süresince modelimizin gerçeğe yakın bir halde kalmasını sağlamış oluyoruz. Gro uzantılı dosyamızı oluşturmak için verdiğimiz komut sonrasında *–ter* parametresiyle protein zincirlerinin uç terminallerine NH2 ve COOH moleküllerini ekledik. Bu durum yapımızın elektriksel olarak nötr kalmasını sağladı. Sonrasında ise çalışan komut satırının bize sunmuş olduğu seçenekler sayesinde CARHMM27 kuvvet alanın ve eğer kullanılacaksa kullanılacak su türünü seçtik. Vakum ortam için herhangi bir su türü seçilmezken sulu ortam için TIP3 su modeli seçildi.

Sonrasında tüm simülasyon boyunca kullanacağımız simülasyon kutumuzu oluşturmak ve bu kutu içerisinde yapı modelimizi konumlandırmak için *gmx editconf –f silk.gro –box 6.00 6.50 11.10 –center 3.00 3.25 2.50 –o silk_newbox.gro* komutunu çalıştırdık. Bu komut sayesinde 6.00 x 6.50 x 11.10 nm^3 boyutlarında simülasyon kutumuzu hazırladık. Kutu içerisine yerleştirmiş olduğumuz ipek proteininin sırasıyla x, y, z kutu duvarlarından uzaklıklarını 3.00 nm, 3.25 nm ve 2.50 nm olarak ayarladık. Z yönündeki boşluk mekanik çekme testlerini gerçekleştirebilmek için verildi. Aksi halde çekme testini gerçekleştirebilmek için yeterli alan olmadığına dair hata alındı.

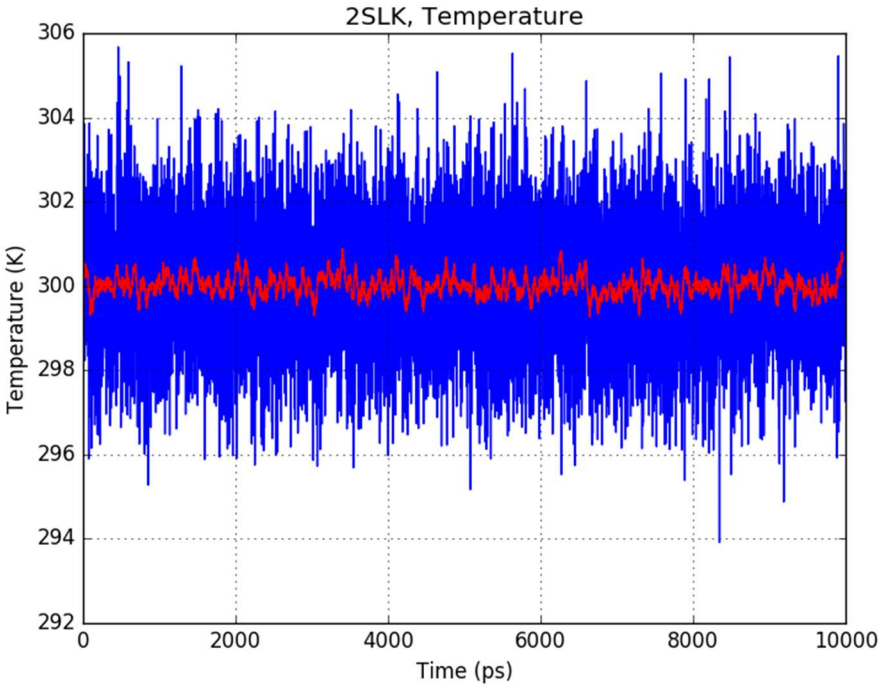
Sulu ortamda gerçekleştirilmek istenen mekanik çekme testleri için *gmx solvate –cp silk_newbox.gro –cs spc216 –o silk_solv.gro –p topol.top* komutu verilerek simülasyon kutumuzun tamamı su ile dolduruldu. Elde edilen yeni gro uzantılı dosyamızdan sistemimizin potansiyel enerjisini uygun hale getirebilmek için enerji minimizasyonu işlemini gerçekleştirdik. Ekte verilen minim.mdp uzantılı dosyada minimizasyon koşullarının parametreleri yer almaktadır. Aşağıdaki şekilde sırasıyla vakum ve sulu ortamda yapılan enerji minimizasyonlarının grafikleri bulunmaktadır. Her iki grafiktende anlaşılmaktadırki minimizasyon süreci sonucunda dengeye ulaşan bir potansiyel söz konusudur. Bu durum potansiyelden elde edilecek kuvvet ve ivme fiziksel büyüklükleri için uygun bir haldir.



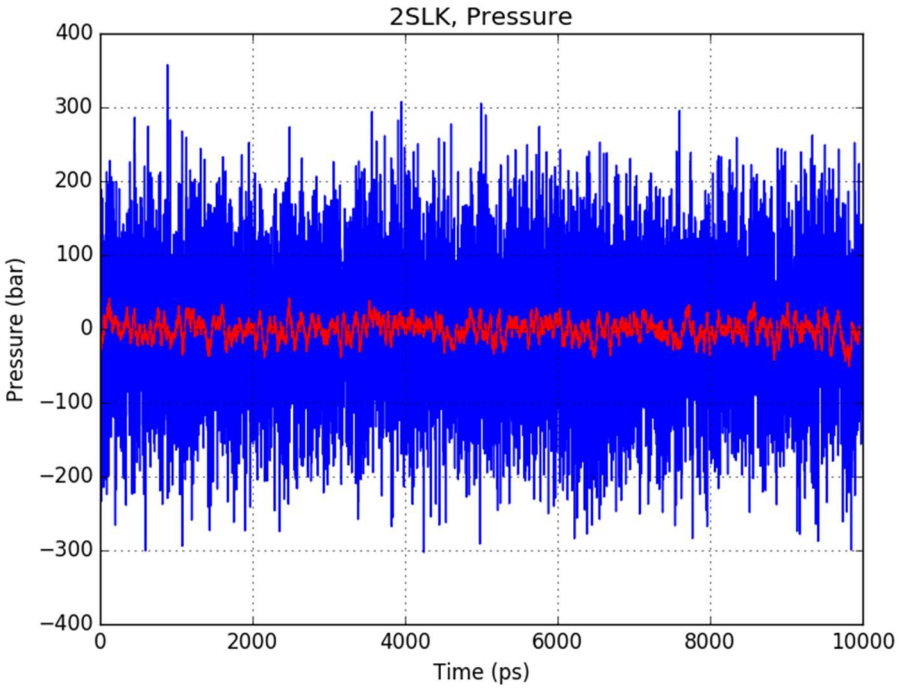
Şekil 2.4 2Slk ve İpek II A Potansiyel Grafikleri

Enerji minimizasyonundan elde ettiğimiz silk_min.gro dosyasıyla NVT dengelemesi işlemini gerçekleştirdik. Daha sonra NVT dengelemesinden elde ettiğimiz silk_nvt.gro dosyasıylada NPT dengelemesini yaptık. Her iki dengeleme işlemlerini ayrı ayrı 10 ns boyunca Hose-Hover termostatını ve Berendsen barostatını kullanarak gerçekleştirdik. NVT dengelemesinden sonra sıcaklığımızın istenilen 300 K sıcaklığına gelip gelmediğini kontrol ettik. Dalgalanma grafiğinden elde edilen ortalama değerin 300.0 K civarında olduğunu gördük. Bu değer sıcaklık koşulu bakımından sistemimizin istenilen değerde

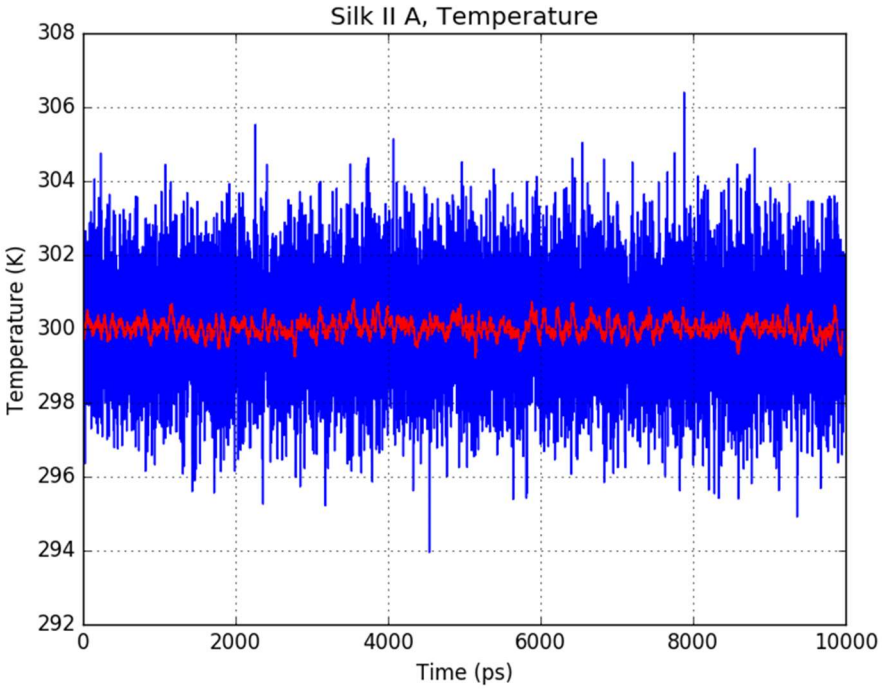
olduğunu göstermektedir. NPT dengelemesi sonrasında ise istediğimiz 1 bar lık basınç değerini kontrol ettik. Yine dalgalanma grafiğinden elde edilen ortalama değerin 1 bar civarinda olduğunu gördük. Bu her iki durum sistemimizin sıcaklık ve basınç koşulları olarak istenilen değerlerde olduğunu göstermektedir. Uzak etkileşimlerin hesaplanması için PME (Partical Mesh Metodu) ve 3 yönde periyodik sınır koşulları kullanarak 1 fs de bir bilgi toplandı. (*gmx grompp –f nvt.mdp –c silk_min.gro –p topol.top – o input_silk_nvt.tpr gmx mdrun –s input_silk_nvt.tpr –deffnm silk_nvt –v gmx energy –f silk_nvt.edr – o silk_temp.xvg , gmx grompp –f npt.mdp –c silk_nvt.gro –p topol.top – o input_silk_npt.tpr gmx mdrun –s input_silk_npt.tpr –deffnm silk_npt –v gmx energy –f silk_npt.edr –o silk_pressure.xvg*) Dengeleme işlemleri ve grafik çizimleri için gerekli olan bilgilerin elde edilmesi için işlemler parantez içerisinde verilmiştir. Virgülle NVT ve NPT denegelemeleri için yapılması gerekenler birbirinden ayılmıştır. Dengeleme işlemlerinin çalıştırma paremetreleri nvt.mdp ve npt.mdp ektedir. Elde edilen bilgilerden çizdiğimiz sıcaklık ve basınç grafikleri aşağıdaki gibidir.



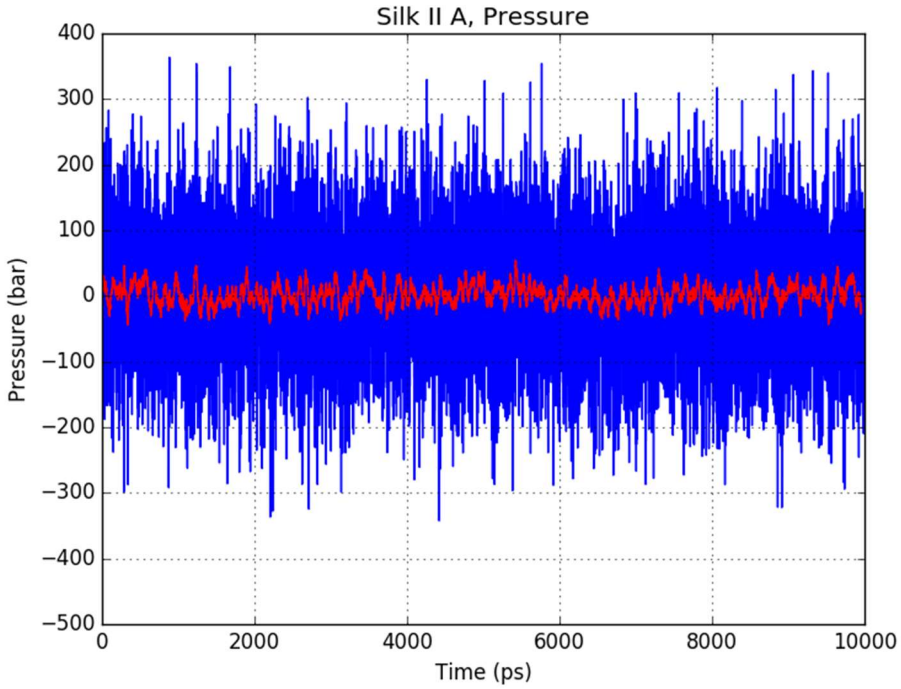
Şekil 2.5 2Slk Sıcaklık Grafiği



Şekil 2.6 2Slk Basınç Grafiği



Şekil 2.7 İpek II A Sıcaklık Grafiği



Şekil 2.8 İpek II A Basınç Grafikleri

Sıcaklık ve basınç için istenilen değerlere ulaştırdığımız sistemimiz mekanik çekme testi için hazır duruma gelmiş bulunmaktadır. Gromacs paket programında mekanik çekme testini uygulamak için çekme işlemini uygulayacağımız ve referans alacağımız atom ve ya molekülleri belirleyebilmek için *index.ndx* dosyasına ihtiyacımız vardır. Bu dosyayı elde etmek için *gmx make_ndx –f silk_npt.gro –o index.ndx* komutunu çalıştırıp, gerekli seçimleri ve isimlendirmeleri yaparız.

Sistem gerekli koşullar altında mekanik çekme testlerine hazır hale getirilmiş oldu. Mekanik çekme testini uygulamak için kullanacağımız Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD) yönteminde bazı durumları açıklamakta fayda vardır.

2.2.1 Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik (SMD)

Proteinlerin bir araya gelerek bağlı veya ayrık oluşturduğu sistemlerin elastik özelliklerinin simülasyonunu yapmak için kullanılan en yaygın yöntem Yönlendirilmiş Moleküler Dinamik simülasyon tekniğidir. Bu teknik iki tür yöntem ile gerçekleştirilebiliyor. Birincisi sabit kuvvet altında ikincisi ise sabit hız altında yapılan simülasyon yöntemleridir. Temel olarak çekme işleminin tanımlandığı atom veya moleküller belirlenerek yine tanımlanan referans atom veya moleküllere göre çekme

işlemi gerçekleştirilmektedir. Belirlenen atom veya molekülleri sabit hızla çekeceğimiz bu yöntemin tek boyuttaki matematiksel ifadesini *x* yönündeki reaksiyon koordinatı için yazmak istersek, bir dış *U* potansiyeli tanımlamamız gerekiyor. *K* yay sabitine sahip sanal bir yay gibi düşüneceğimiz bu sistemin potansiyeli, U= $\mathrm{K}\,(x_0 + \mathrm{vt} - \mathrm{x})^2/2$ olarak yazalır. x_0 ' ın başlangıç konumu, *v ' nin* sabit hızı ve *t*' nin zamanı ifade ettiği bu denklemde, sistem üzerine etki eden dış kuvvetin ifadesi aşağıdaki gibidir.

$$\mathrm{F}= \mathrm{K}\,(x_0 + \mathrm{vt} - \mathrm{x}) \qquad (2.25)$$

Bu kuvvet değerinin etkisi altında hareket eden atom veya moleküllerin zaman içerisindeki konumlarının bilgisiden gerekli analizleri yapmamız mümkün olur.

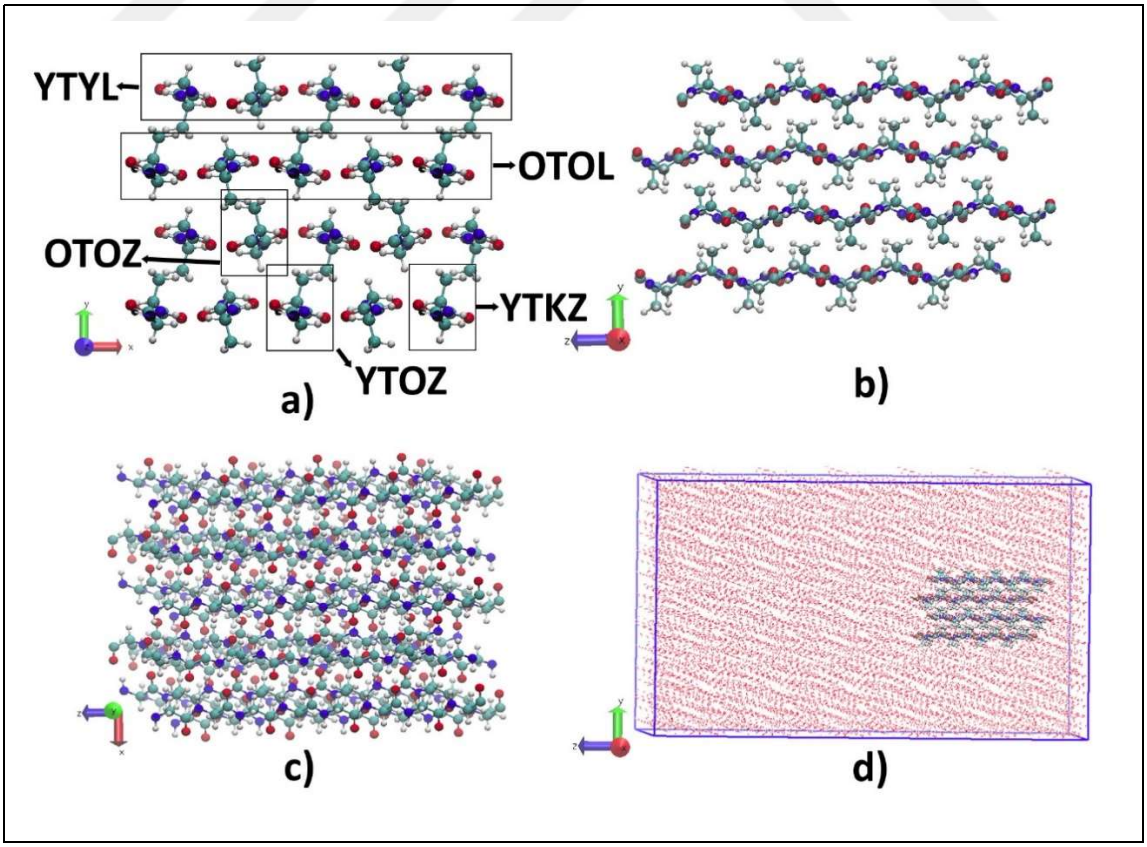
Sabit *v* hızı ile mekanik çekme testi uyguladığımız sistemimizin, kopma olayının gerçekleştiği kuvvet değerlerinin kıyaslamasını yaparak ipeğin kristalit bölgesinin bölgesel dayanıklılığının farklılıklarını anlayacağız. Mekanik çekme testi için gerekli olan parametrelerin bulunduğu *md_pull.mdp* dosyası ek kısmında bulunmaktadır. Bu işlemi gerçekleştirmek için Gromacs komutları *gmx grompp –f md_pull.mdp –c silk_npt.gro –p topol.top –n index.ndx –t silk_npt.cpt –o silk_pull.tpr* ve *gmx mdrun –s silk_pull.tpr –v* çalıştırılır, zaman-kuvvet ve zaman-konum bilgileri toplanır. Bu bilgilerden elde edilen çıktılar sonuç bölümünde gerekli açıklamalarıyla verilmiştir.

BÖLÜM 3

SONUÇ VE ÖNERİLER

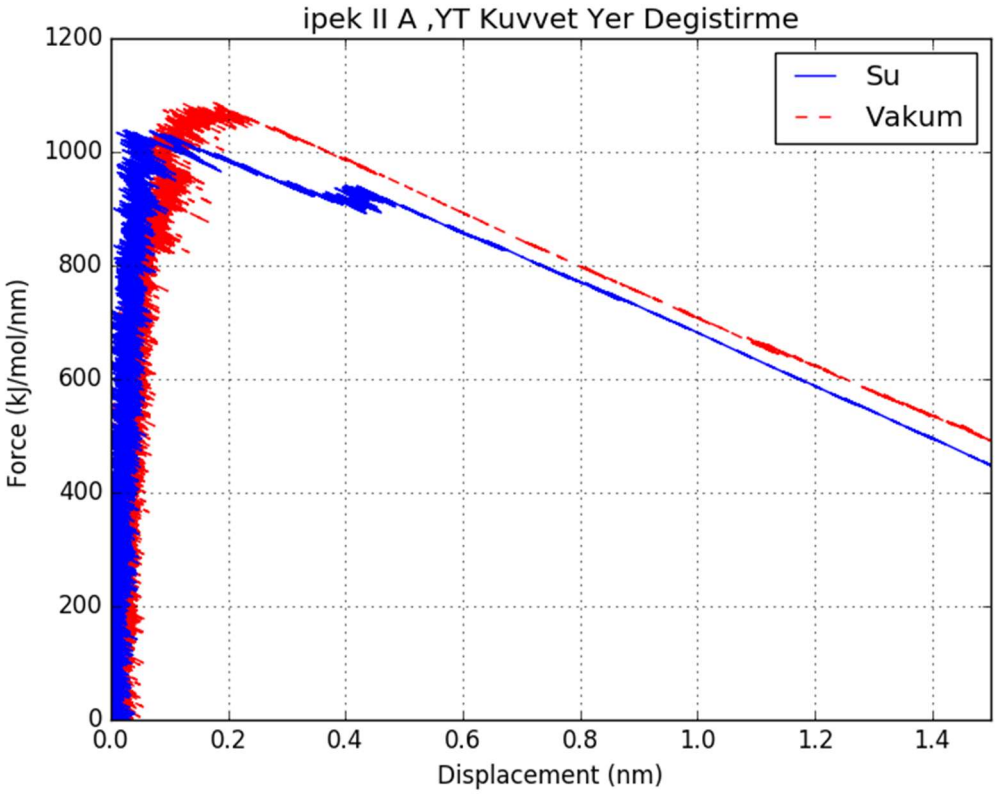
İpek II A, 2slk modelleri için mekanik çekme testlerini farklı bölgelerdeki zincirler ve farklı bölgelerdeki katmanlar için aynı koşullar altında gerçekleştirdik. Sulu ve vakum ortamında gerçekleştirilen mekanik çekme testlerinin sonuçları 2 başlık altında şu şekilde incelendi.

3.1 Kristal Tabakaların Dayanıklılığına Suyun Etkisi

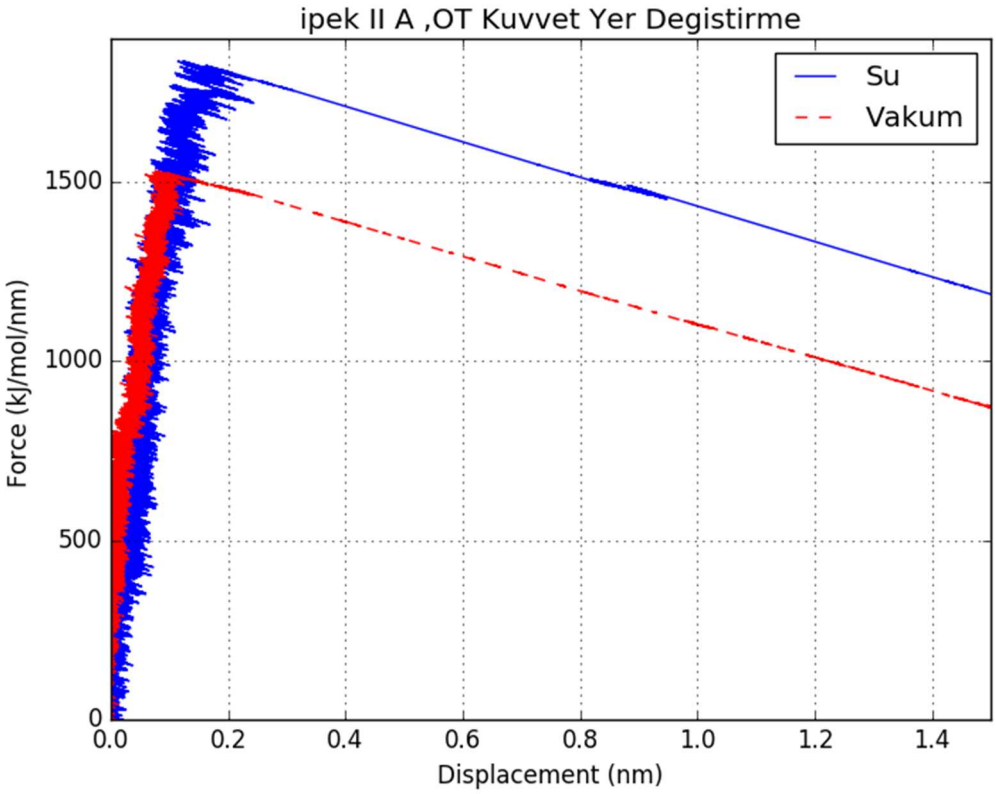


Şekil 3.1 a-b-c) β-Katman Kristalit Birim d) Su İçersindeki Kristalit Birim

Şekil 3.1 a' da 4 tabaka 20 polimer zincirinden oluşan İpek II A antipolar antiparalel β tabaka kristal modelinin anlık görüntüsü verilmiştir. 0.0005 nm ps^{-1} ' lik bir çekme hızı ve 830 pN nm^{-1} yay sabitli bir çekme testi Şekil 3.1 a' da gösterilen yüzey tabakalara vakumda ve %100 su içerisinde uygulanmıştır. a = 2.4 nm, b = 1.94 nm ve c = 3.50 nm boyutlarındaki 1420 atomlu kristal hücre 5.96 x 6.46 x 11.03 nm^3 boyutlarındaki simülasyon kutusunun içerisine yerleştirilmiştir. Kutu tamamen suyla doldurulduğunda toplam atom sayısı 41995' dir.



Şekil 3.2 İpek II A YT Su ve Vakum Ortamında Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği



Şekil 3.3 İpek II A OT Su ve Vakum Ortamında Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği

Çözücü bir madde olarak suyun amorf gibi malzemelerin mekanik özelliklerine kayda değer etkisinin olduğu bilinmekle birlite, ipeğin kristalit bölgesi başta olmak üzere suyun ipeğin mekanik özelliklerine etkisi hakkında sadece bir iki çalışma bulunmaktadır [9,10].

Su moleküllerinin ipeğin kristalit biriminin mekanik özellikleri üzerine etkisini anlamak amacıyla Şekil 3.2 ile Şekil 3.3 ‘ de su ve vakum içerisinde kristalit birimin yüzey ve orta tabakalarına uygulanan çekme testlerinin kuvvet-yerdeğiştirme grafikleri verilmiştir.

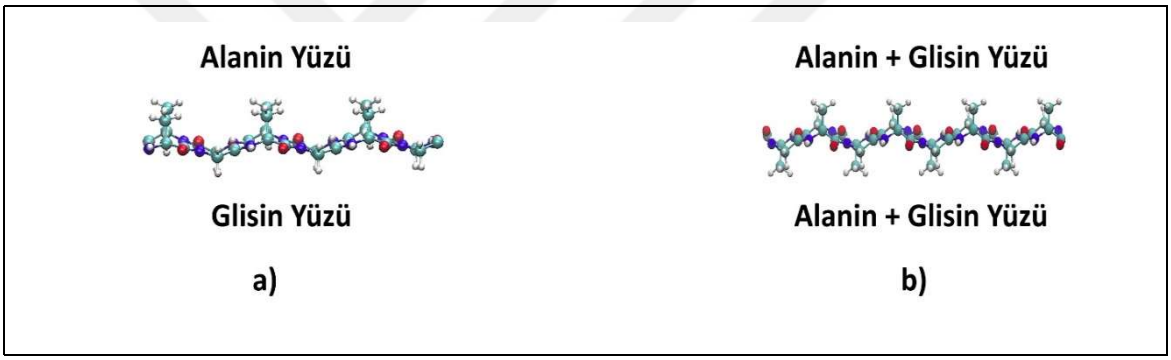
Maksimum çekme kuvveti (Ultimate Tensile Force / UTF) hedef tabakanın ya da zincirin kristalit birimden çıktığı durumda tespit edildi. Bu kuvvetin değeri koparma kuvvetinin tepe noktasından hesaplandı.

Yüzey tabakada su UTF değerini azaltırken, orta tabakadaki UTF değerini kayda değer şekilde arttırmaktadır. Ayrıca hem suda hem de vakumda çekme testi sonucunda tabaka halinde kopmaların büyük ihtimalle yüzeyde gerçekleştiği görülmektedir.

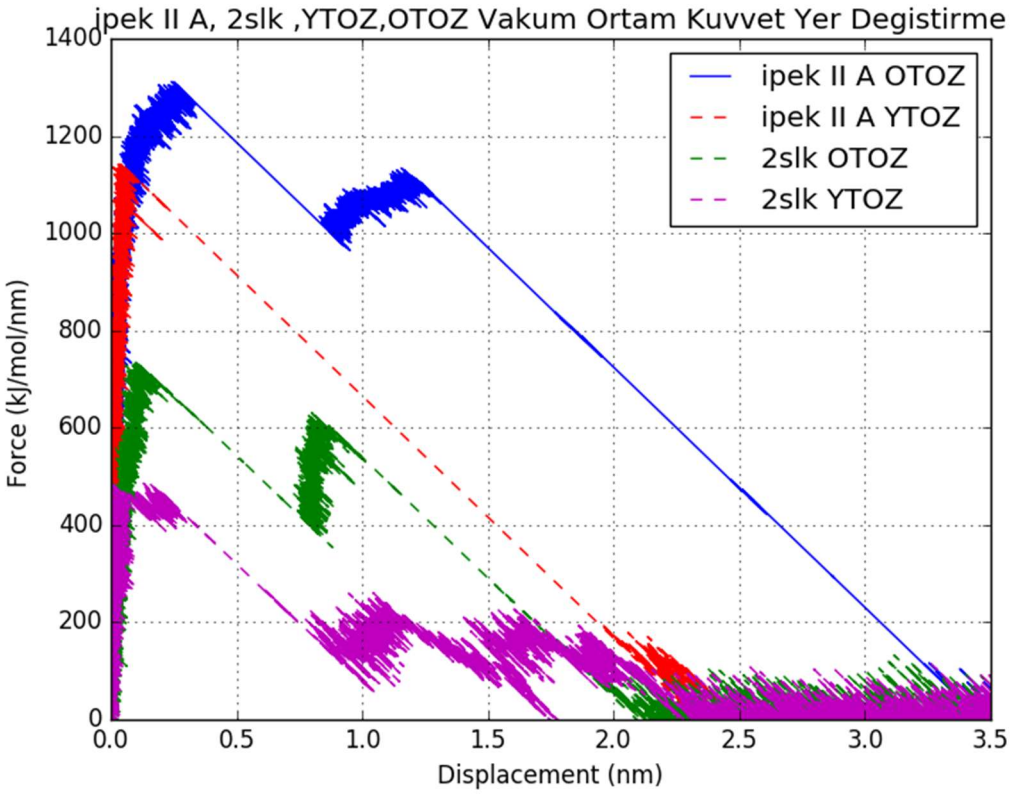
Vakumda ve suda orta tabakaların ve suda yüzey tabakanın kuvvet yer değiştirme davranışı benzerlik göstermekte ve kopmalar seramik gibi kırılgan malzemeleri andırmaktadır. Bununla birlikte vakum içerisinde yüzey tabaka 800 kJ mol^{-1} nm^{-1} kuvvet değerine kadar diğer 3 durum gibi konformasyonel sistematik bir değişim gösterirken sonra UTF noktasına kadar plastik bölge davranışı göstermektedir.

3.2 Polar Antipolar Modeller İçin Tek Zincir Çekme Testi

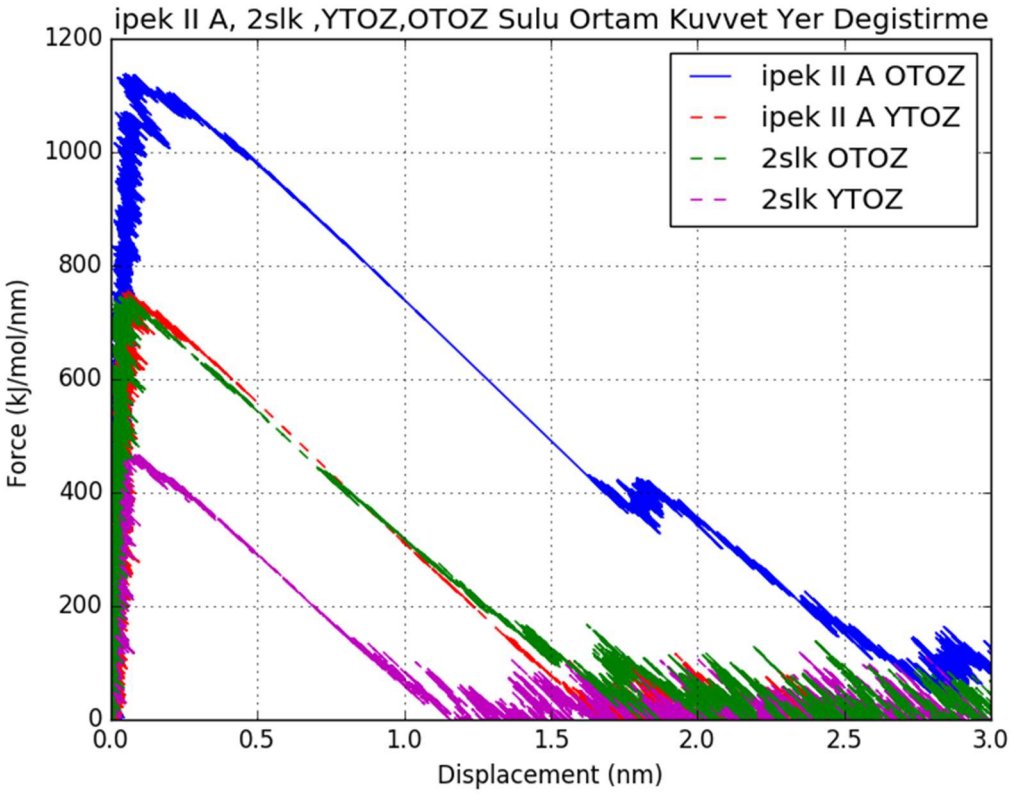
Protein data banktan alınan "2slk" modelin Şekil 3.4 a' da görüntüsü bulunmaktadır. Modelin bir yüzünde Alanin diğer yüzünde Glisin amino asitleri bulunacak şekilde oluşturulmuştur. Bu yapı ipek modelinin polar yapısıdır. Şekil 3.4 b' de Asakura ve arkadaşlarının önermiş olduğu antipolar model görünmektedir. Bu modelde ise Alanin Glisin Yüzleri her iki taraftada bulunmaktadır.



Şekil 3.4 a) Polar 2slk Model b) Antipolar İpek II A Model



Şekil 3.5 İpek II A, 2slk, YTOZ, OTOZ Vakum Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği



Şekil 3.6 İpek II A, 2slk, YTOZ, OTOZ Su Ortamda Kuvvet Yerdeğiştirme Grafiği

Şekil 3.5 ve Şekil 3.6 protein data banktan alınan polar antiparalel β tabaka kristalit birimi ve Asakura ve arkadaşlarının makalesinden alınan antipolar antiparalel β tabaka kristalit biriminin yüzey tabaka orta zincir ve orta tabaka orta zincir tek zincir çekme testleri vakum ve sulu ortamdaki sonuçlarını göstermektedir.

Asakura ve çalışma arkadaşları tarafından önerilen antipolar model açıkça her iki konum zincir çekme testi içinde daha yüksek bir UTF çekme değerine sahiptir. Su içerisinde yüzey tabaka orta zincirde iki model arasında yaklaşık 300 kJ mol^{-1} nm^{-1} UTF farkı varken vakum ortamda yüzey tabaka orta zincirde antipolar model polar modelin iki katından fazla UTF değerine sahiptir.

KAYNAKLAR

[1] Uluslararası İpekböcekçiliği Komisyonu, İpek Böceği Türleri, http://www.inserco.org/en/types_of_silk, 2013

[2] Keten S., Xu Z., Ihle B. ve Buehler M. J. (2010). "Nanoconfinement controls stiffness, strength and mechanical toughness of ß-sheet crystals in silk", Nature Materials, 09:359-367.

[3] Wu X., Liu X., Du N. , Xu G. ve Li B. (2009). "Unraveled mechanism in silk engineering: Fast reeling induced silk toughening", Applied Physics Letter 95,093703:1-3.

[4] Liu X. ve Zhang K. (2014). "Silk Fiber — Molecular Formation Mechanism, Structure- Property Relationship and Advanced Applications", Intechopen, 3:69-102.

[5] Krasnov I., Diddens I., Hauptmann N., Helms G., Ogurreck M., Seydel T., Funari S. S. ve Müller M. (2008). "Mechanical Properties of Silk: Interplay of Deformation on Macroscopic and Molecular Length Scales", Physical Review Letters, 048104:1-4.

[6] Asakura T., Okushita K. ve Williamson M. P. (2015). "Analysis of the Structure of Bombyx mori Silk Fibroin by NMR", Macromolecules, 48:2345-2357.

[7] Brookes V. L., Young R. J., Vollrath F. (2008). "Deformation micromechanics of spider silk", Letter, 43:3728-3732.

[8] Asakura T., Ohata T., Kametani S., Okushita K., Yazawa K., Nishiyama Y., Nishimura K., Aoki A., Suzuki F., Kaji H., Ulrich A. S., ve Williamson M. P. (2014). "Intermolecular Packing in B. mori Silk Fibroin: Multinuclear NMR Study of the Model Peptide $(Ala\text{-}Gly)_{15}$ Defines a Heterogeneous Antiparallel Antipolar Mode of Assembly in the Silk II Form", Macromolecules, 48:28-36.

[9] Cheng Y., Koh L., Li D., Ji B., Han M., ve Zhang Y. (2014). "On the strength of ß-sheet crystallites of Bombyx mori silk fibroin", Journal of the Royal Society, 11:20140305.

[10] Fu C., Porter D., ve Shao Z. (2009). "Moisture Effects on Antheraea pernyi Silk's Mechanical Property", Macromolecules, 42:7877-7880.

[11] Leekumjorn S. (2008), "Molecular Dynamics Simulations for the Study of Biophysical Processes on Biological Membranes", VirginiaTech, 2008-09-19.

[12] Isralewitz B., Baundry J., Gullingsrud J., Kosztin D., ve Schulten K. (2001). "Steered Molecular Dynamics Investigations of Protein Function", Journal of Molecular Graphics and Modelling, 19:13-25

[13] Vepari C., Kaplan D. L. (2007). "Silk as a Biomaterial", Elsevier,32:991-1007.

[14] Takahashi Y., Gehoh M., Yuzuriha K. (1999). "Structure refinement and diffuse streak scattering of silk (Bombyx mori)", International Journal of Biological Macromolecules, 24:127-138

[15] Zhou C., Confalonieri F., Jacquet M., Perasso R., Li Z., ve Janin J. (2001). "Silk Fibroin: Structural Implications of Remarkable Amino Acid Sequence", Proteins:Structure, Function, and Genetics, 44:119-122.

[16] Cetinkaya M., Xiao S., Markert B., Stacklies W., ve Grater F. (2011). "Silk Fiber Mechanics from Multiscale Force Distribution Analysis", Biophysical Journal, 100:1298-1305.

[17] Du N., Liu X. Y., Narayanan J., Li L., Lim M. L. M., ve Li D.(2006). "Design of Superior Spider Silk: From Nanostructure to Mechanical Properties", Biophysical Journal, 91:4528-4535.

[18] Plaza G. R., Guinea G. V., Perez-Rigueiro J., Elices M. (2006). "Thermo-Hygro-Mechanical Behavior of Spider Dragline Silk: Glassy and Rubbery States", Journal of Polymer Science, 44:994-999.

[19] Poza P., Perez-Rigueiro J., Elices M., Llorca J. (2002). "Fractographic analysis of silkworm and spider silk", Elsevier,69:1035-1048.

[20] Fossey S. A., Nemethy G., Gibson K. D., ve Scheraga H. A. (1991). "Conformational Energy Studies of β-Sheets of Model Silk Fibroin Peptides. I. Sheets of Poly (Ala-Gly) Chains", Biopolymers, 31:1529-1541.

[21] Xiao S., Stacklies W., Cetinkaya M., Market B., ve Grater F. (2009). "Mechanical Response of Silk Crystalline Units from Force-Distribution Analysis", Biophysical Journal, 96:3997-4005.

[22] Guzman D. L., Roland J. T., Keer H., Kong Y. P., Ritz T., Yee A., Guan Z. (2008). "Using steered molecular dynamics simulations and single-molecule force spectroscopy to guide the rational design of biomimetic modular polymeric materials", Elsivier, 49:3892-3901.

[23] Kundu B., Rajkhowa R., Kundu S. C., Wang X. (2013). "Silk Fibroin Biomaterials for Tissue Regenerations", Advanced Drug Delivery Reviews, Elsevier, 65:457-470.

[24] Shao Z., Vollrath F. (2002). “Surprising Strength of Silkworm Silk”, Nature, 418:741.

[25] Franca E. F., Amarante A. M., ve Leite F. L. (2010). “Introduction to Atomic Force Microscopy Simulation”, Microscopy: Science, Technology, Application and Education, 1338-1349.

[26] Lemkul J. A., Gromacs Umbrella Örnekleme Ders Notu, http://www.bevanlab.biochem.vt.edu/Pages/Personal/justin/gmx-tutorials/umbrella/index.html

[27] Lee J. G. (2012). “Computational Materials Science An Introduction”, CRC Press, New York.

[28] Rapaport D. C. (2004), The Art of Molecular Dynamics Simulation, Cambridge University Press, New York.

[29] Frenkel D., Smit B. (2002), Understanding Molecular Simulation from Algorithms to Applications, Academic Press, New York.

EK-A

MDP DOSYA İÇERİKLERİ

Gromacs paket programını çalıştırabilmek için gerekli olan mdp dosyalarının içerikleri.

A-1 Enerji Minimizasyonu

; minim.mdp

integrator = steep; Algorithm (steep = steepest descent minimization)

emtol= 1000.0 ; Stop minimization when the maximum force < 1000.0 kJ/mol/nm

emstep   = 0.01   ; Energy step size

nsteps= 10000000; 0.001 * 10000000 = 10000 ps

; Parameters describing how to find the neighbors of each atom and how to calculate the interactions

nstlist = 10   ; Frequency to update the neighbor list and long range forces

cutoff-scheme = Verlet

ns_type = grid; Method to determine neighbor list (simple, grid)

coulombtype = PME; Treatment of long range electrostatic interactions

rcoulomb = 1.0; Short-range electrostatic cut-off

rvdw = 1.0; Short-range Van der Waals cut-off

pbc = xyz ; Periodic Boundary Conditions (yes/no)

A-2 NVT Dengeleme

```
; nvt.mdp

define = -DPOSRES; position restrain the protein

; Run parameters

integrator = sd    ; steepest descent integrator

nsteps = 10000000        ; 0.001 * 10000000 = 10000 ps

dt = 0.001;

; Output control

nstxout = 1000

nstvout = 1000

nstenergy = 1000

nstlog = 1000

; Bond parameters

continuation = no;

constraint_algorithm = lincs

constraints = all-bonds     ; all bonds (even heavy atom-H bonds) constrained

lincs_iter = 1    ; accuracy of LINCS

lincs_order = 4

; Neighborsearching

cutoff-scheme = Verlet

ns_type = grid      ; search neighboring grid cells

nstlist = 10;

rcoulomb = 1.0    ; short-range electrostatic cutoff (in nm)

rvdw = 1.0          ; short-range van der Waals cutoff (in nm)

; Electrostatics
```

```
coulombtype = PME        ; Particle Mesh Ewald for long-range electrostatics
pme_order  = 4
fourierspacing = 0.16 ; grid spacing for FFT
; Temperature coupling is on
tcoupl = Nose-Hoover
tc-grps = Protein Non-Protein   ; two coupling groups - more accurate
tau_t = 0.1  0.1          ; time constant, in ps
ref_t = 300   300         ; reference temperature, one for each group, in K
; Pressure coupling is off
pcoupl = no ; no pressure coupling in NVT
; Periodic boundary conditions
pbc = xyz    ; 3-D PBC
; Dispersion correction
DispCorr = EnerPres; account for cut-off vdW scheme
; Velocity generation
gen_vel =  yes            ; assign velocities from Maxwell distribution
gen_temp = 300         ; temperature for Maxwell distribution
gen_seed = -1             ; generate a random seed
```

A-3 NPT Dengeleme

```
; npt.mdp

define      = -DPOSRES         ; position restrain the protein

; Run parameters

integrator  = sd               ; steepest descent integrator

nsteps      = 10000000         ; 0.001 * 10000000 = 10000 ps

dt          = 0.001            ;

; Output control

nstxout     = 1000

nstvout     = 1000

nstenergy   = 1000

nstlog      = 1000

; Bond parameters

continuation        = no       ; Initial simulation

constraint_algorithm = lincs   ; holonomic constraints

constraints         = all-bonds ; all bonds (even heavy atom-H bonds) constrained

lincs_iter          = 1        ; accuracy of LINCS

lincs_order         = 4        ; also related to accuracy

; Neighborsearching

ns_type     = grid             ; search neighboring grid cels

nstlist     = 10

rlist       = 1.0              ; short-range neighborlist cutoff (in nm)

rcoulomb    = 1.0              ; short-range electrostatic cutoff (in nm)

rvdw        = 1.0              ; short-range van der Waals cutoff (in nm)

; Electrostatics
```

```
coulombtype     = PME          ; Particle Mesh Ewald for long-range electrostatics
pme_order       = 4
fourierspacing  = 0.16         ; grid spacing for FFT
; Temperature coupling is on
tcoupl      = Nose-Hoover           ; Weak coupling for initial equilibration
tc-grps     = Protein   Non-Protein     ; two coupling groups - more accurate
tau_t       = 0.1       0.1         ; time constant, in ps
ref_t       = 300       300         ; reference temperature, one for each group, in K
; Pressure coupling is on
pcoupl           = Berendsen     ; Pressure coupling on in NPT, also weak coupling
pcoupltype         = isotropic     ; uniform scaling of x-y-z box vectors
tau_p            = 2.0         ; time constant, in ps
ref_p            = 1.0         ; reference pressure (in bar)
compressibility     = 4.5e-5       ; isothermal compressibility, bar^-1
refcoord_scaling    = com
; Periodic boundary conditions
pbc     = xyz               ; 3-D PBC
; Dispersion correction
DispCorr    = EnerPres         ; account for cut-off vdW scheme
; Velocity generation
gen_vel     = yes            ; Velocity generation is on
gen_temp    = 300            ; temperature for velocity generation
gen_seed    = -1             ; random seed
; COM motion removal
; These options remove COM motion of the system
```

nstcomm = 10

comm-mode = Linear

comm-grps = System

A-4 Çekme Testi

```
:md_pull.mdp
define      = -DPOSRES_N
; Run parameters
integrator  = sd
dt          = 0.001
tinit       = 0
nsteps      = 10000000    ; 10000 ps ==> 10 ns
nstcomm     = 10
nstcalcenergy=10
comm_mode=Linear  ; remove center of mass translation
; Output parameters
nstxout     = 1000
nstvout     = 1000
nstfout     = 1000
nstxtcout   = 1000
nstenergy   = 1000
nstlog= 1000;

nstxout-compressed   = 1000          ; [steps] freq to write coordinates to xtc trajectory
compressed-x-precision    = 1000         ; [real] precision to write xtc trajectory
compressed-x-grps         = System       ; group(s) to write to xtc trajectory
energygrps                = System       ; group(s) to write to energy file
; Bond parameters
constraint_algorithm    = lincs
```

```
constraints             = all-bonds
continuation            = yes       ; continuing from NPT
; Single-range cutoff scheme
cutoff_scheme=Verlet
nstlist     = 10
ns_type     = grid
rlist       = 1.0
rcoulomb    = 1.0
rvdw        = 1.0
; PME electrostatics parameters
coulombtype     = PME
fourierspacing  = 0.12
fourier_nx      = 0
fourier_ny      = 0
fourier_nz      = 0
pme_order       = 4
ewald_rtol      = 1e-5
optimize_fft    = yes
; Berendsen temperature coupling is on in two groups
Tcoupl      = Nose-Hoover
tc_grps     = Protein   Non-Protein
tau_t       = 0.5       0.5
ref_t       = 300       300
; Pressure coupling is on
Pcoupl          = Berendsen
```

```
pcoupltype      = isotropic
tau_p           = 1.0
compressibility = 4.5e-5
ref_p           = 1.0
refcoord_scaling = com
; Generate velocities is off
gen_vel     = no
; Periodic boundary conditions are on in all directions
pbc     = xyz
; Long-range dispersion correction
DispCorr    = EnerPres
; Pull code
pull                = yes
pull_ngroups        = 2
pull_ncoords        = 1
pull_group1_name    = Chain_N      ; Sabit
pull_group2_name    = Chain_M      ; Cekilen
pull_coord1_type    = umbrella     ; harmonic biasing force
pull_coord1_geometry    = distance     ; simple distance increase
pull_coord1_groups      = 1 2
pull_coord1_dim     = N N Y
pull_coord1_rate    = 0.0005        ; 0.0005 nm per ps ==> 0.5 nm per ns
pull_coord1_k       = 499.93        ; kJ mol^-1 nm^-2
pull_coord1_start   = yes          ; define initial COM distance > 0
```

; Group to display and/or manipulate in interactive MD session

;IMD-group = Protein

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Cem UĞUZ

Doğum Tarihi ve Yeri : 12.10.1983 Fatih

Yabancı Dili : İngilizce

E-posta : cemuguzfzk@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	**Alan**	**Okul/Üniversite**	**Mezuniyet Yılı**
Lisans	Fizik	Yıldız Teknik Üniversitesi	2010
Lise	Sayısal	Bahçelievler Lisesi	1999