

TOBB EKONOMİ VE TEKNOLOJİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DNA ORİGAMİ NANOYAPILARIN YAPISAL KARARLILIĞININ VE
ELEKTRONİK ÖZELLİKLERİNİN MOLEKÜLER DİNAMİK VE
YOĞUNLUK FONKSİYONEL TEORİSİ SİMÜLASYONLARI İLE
İNCELENMESİ**

DOKTORA TEZİ

Büşra DEMİR

Mikro ve Nanoteknoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre ÖREN

AĞUSTOS 2023

ÖZET

Doktora Tezi

DNA ORİGAMİ NANOYAPILARIN YAPISAL KARARLILIĞININ VE ELEKTRONİK ÖZELLİKLERİNİN MOLEKÜLER DİNAMİK VE YOĞUNLUK FONKSİYONEL TEORİSİ SİMÜLASYONLARI İLE İNCELENMESİ

Büşra DEMİR

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

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre ÖREN

Tarih: Ağustos 2023

Deoksiribonükleik asit (DNA) canlılarda genetik bilgiyi oluşturan temel moleküldür. Bunun yanı sıra, tamamlayıcı nükleotid çiftlerinin kendilerine has etkileşimleri ve nükleotidlerin istenilen diziler halinde kolayca üretilebilmesi nedeniyle nanoteknoloji uygulamalarında önemli bir potansiyele sahiptir. Uzun, tek iplikli DNA molekülünün, daha kısa iplikli DNA'lar ile birleştirilmesi sonucunda, "DNA Origami" olarak adlandırılan, istenilen şekillerde iki veya üç boyutlu nanoyapılar elde edilebilmektedir. DNA origami nanoyapılar, ilaç taşınımı, biyoalgılayıcı, inorganik malzeme sentezi gibi çeşitli uygulamalı araştırmaların yanı sıra üretim kolaylığı nedeniyle, son yıllarda hız kazanan moleküler elektronik uygulamaları için de yüksek potansiyele sahiptir. Bahsedilen bu uygulamalar için DNA origami kullanılarak cihazların üretilebilmesi ve uzun süreli dayanıklılığı, tasarlanan nanoyapılarının yapısal kararlılıklarını korumasına ve ayrıca elektronik özelliklerinin uygulamaya yönelik olarak tasarlanabilmesine bağlıdır.

DNA origami yapısının kararlılığının geometri, sarmal sayısı ve çevresel koşullara bağlı olduğu bilinse de bu etkilerin doğası şimdiye kadar çok az anlaşılmıştır. Ayrıca yapısal değişikliklerin DNA origamilerin elektronik özellikleri üzerindeki etkilerini anlamak yeni elektronik cihazların geliştirilmesi için önemlidir. Bu tez kapsamında

AMBER ve NAMD programları ile moleküler dinamik simülasyonları kullanılarak farklı DNA origami nanoyapılarının üç boyutlu yapıları modellendi. DNA origami nanoyapılarının konformasyonları üzerinde üç farklı parametrenin etkileri modelleme yöntemleri ile araştırıldı: 1) altın (111) yüzeyi, 2) DNA sarmallarının bağlantı noktalarının sıklığı ve 3) tuz konsantrasyon farkı. DNA origami yapılarını temsil eden daha küçük çift sarmal DNA molekülleri oluşturuldu ve altın (111) yüzeyiyle etkileşimler nedeniyle meydana gelen yapısal deformasyonların elektronik özelliklere olan etkileri GAUSSIAN programı kullanılarak incelendi. Ayrıca, biyoelektronik uygulamalar için DNA origami nanoyapısının 1,2-Dioleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (DOPC) lipid çift tabakası içerisindeki yapısal kararlılığı araştırıldı. Daha sonra genişletilmiş Hückel metodu ve yoğunluk fonksiyonel teorisi hesaplamaları ile enerji bant diyagramları ve moleküler orbital pozisyonları araştırıldı. DNA origami yapılarında elektriksel iletkenliğin sarmallar arasındaki iletimi incelendi. Bu çalışmaların DNA origamilerin yapısal kararlılıklarının anlaşılmasına ve DNA origami yapılarının uzun vadeli kullanımının önünü açarak ileride nanoteknolojik yeni cihazların ve uygulamaların geliştirilmesine katkı sağlaması beklenmektedir.

Anahtar Kelimeler: DNA origami, Moleküler elektronik, Moleküler dinamik, Yoğunluk fonksiyonel teorisi, Teori ve modelleme, Yük taşınımı.

ABSTRACT

Doctor of Philosophy

INVESTIGATION OF THE STRUCTURAL STABILITY AND ELECTRONIC PROPERTIES OF DNA ORIGAMI NANOSTRUCTURES BY SIMULATIONS OF MOLECULAR DYNAMICS AND DENSITY FUNCTIONAL THEORY

Busra DEMIR

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

Supervisor: Title. Assist. Prof. Dr. Ersin Emre OREN

Date: August 2023

Deoxyribonucleic acid (DNA) is the fundamental molecule that is responsible for the genetic information in living organisms. It also has a great potential in nanotechnology applications due to its unique interactions of complementary base pairs and the ability to be produced easily in a desired sequence. Combination of a long, single DNA strand with shorter DNA strands can result in desired two- or three – dimensional nanostructures which is called "DNA Origami". DNA origami nanostructures have a high potential for various applied research such as drug delivery, biosensing, inorganic material synthesis, as well as molecular electronics applications, which have gained momentum in recent years due to their ease of production. DNA origami nanostructures designed for these applications should maintain their structural stability and should be able to be designed with desired properties for electronic applications. Although it is known that the stability of the DNA origami structures depends on geometry, helix number, and environmental conditions, the nature of these effects has so far been poorly understood. In addition, understanding the effects of structural changes on the electronic properties of DNA origami is crucial for the development of new electronic devices. In this thesis, three-dimensional structures of different DNA origami nanostructures were modeled by using molecular dynamics

methods with AMBER and NAMD programs. The effects of three different parameters on the conformation of DNA origami nanostructures were investigated via modeling methods: 1) gold (111) surface, 2) frequency of junction points of DNA helices, and 3) salt concentration difference. Smaller double-stranded DNA molecules representing DNA origami structures were created and the effects of structural deformations due to the gold (111) surface on electronic properties were inspected using the GAUSSIAN program. In addition, the structural stability of the DNA origami nanostructure within the 1,2-Dioleoyl-sn-glycero-3-phosphocholine (DOPC) lipid bilayer for bioelectronic applications was examined. Then, energy band diagrams and molecular orbital positions were studied with Extended Hückel and density functional theory calculations. The transmission of electrical conductivity between the helices in DNA origami structures was explored. It is expected that these studies will contribute to the development of new nanotechnological devices and applications in the future by paving the way for the understanding of the structural stability of DNA origami and the long-term use of DNA origami structures.

Keywords: DNA origami, Molecular electronics, Molecular dynamics, Density functional theory, Theory and modeling, Charge transport.

TEŞEKKÜR

Herkesten önce, çalışmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren hocam Dr. Öğr. Üyesi Ersin Emre Ören'e ve kendi saat dilimlerinde sabah 7:30 olmasına rağmen her hafta bizimle buluşup güzel bir bilimsel tartışma ortamı sağladıkları ve beni bir adım ileriye taşıdıkları için Prof. M. P Anantram ve Prof. Josh Hihath'a, bu tez kapsamında kullandığım yük taşınım modelini anlamamda yardımcı olan ve aklıma takılan her soruyu içtenlikle yanıtlayan Dr. Hashem Mohammad'e,

ABD'de bulunduğum bir yıl boyunca yapmış oldukları bilimsel katkılar için başta William Livernois olmak üzere, Yiren Wang, Prof. Arindam Das ve Arpan De'ye, Yaptıkları deneyler ve bilimsel tartışmalar için Dr. Mashari Alangari ve Zahra Aminiranjbar'a,

DNA origami nanogözenek projesinde beraber çalıştığımız, başta Prof. Ashwin Gopinath ve Prof. Marco Rolandi olmak üzere, Swathi Manda, Le Luo ve Dr. Yunjeong Park'a,

İyi ve kötü her anımda yanımda olan, aldığım her kararın arkasında duran, doktora boyunca uzakta olmasına rağmen desteğini her zaman hissettiğim Doğan Şenyıldız'a,

Başta annem, teyzem, ablam, kuzenim ve Kiboş olmak üzere tüm aileme,

Çağlanaz Akın Gültaktı, Zeynep Köker ve tüm Biyonanotasarım Laboratuvarı çalışma arkadaşlarıma,

Verdikleri manevi destekler, sorgulama yeteneği ve gösterdikleri tüm sevgiden dolayı, Terry Farrah, Zarina Parpia, Eric Bone, Twig ve ailelerine,

Yüksek lisanstan beri verdiği değerli bilgi ve tavsiyeler ile yanımda olan Dr. Öğr. Üyesi Miraç Yılmaz'a ve Öz ailesine,

Her zaman yanımda olan sevgili dostlarım Ayşenur Yağmur Elbeyi, Bahar Melis Çoban, Ece Öz, Evren Emre Üstün ve İrem Öz'e,

Tüm bölüm asistanlarına ve hocalarıma,

Lisede ayrıcalıklı ve güzel bir eğitim sunan ve elde ettiğim başarıların temelini oluşturan Türk Eğitim Vakfı'na çok teşekkür ederim.

Bu tezde yer alan kısmi nümerik hesaplamaların gerçekleştirildiği TÜBİTAK ULAKBİM, Yüksek Başarım ve Grid Hesaplama Merkezi'ne ve Washington Üniversitesi Hyak Hesaplama Merkezine teşekkür ederim.

Doktora boyunca yurt içinde bulunduğum sırada beni 2211/A Yurt İçi Genel Doktora Burs Programı kapsamında ve 12 ay boyunca 2214-A Yurt Dışı Araştırma Burs Programı kapsamında ABD'de destekleyen TÜBİTAK'a ayrıca çok teşekkür ederim.

Son olarak, doktora eğitimim boyunca sağladıkları burs imkanları için TOBB ETÜ'ye teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vii
ŞEKİL LİSTESİ	xi
ÇİZELGE LİSTESİ	xv
KISALTMALAR	xvii
SEMBOL LİSTESİ	xix
1. GİRİŞ	1
1.1 DNA Origami Yapısı ve Tasarımı	5
1.2 DNA Origami Sentezi	7
1.3 DNA Origami Karakterizasyon Yöntemleri	8
1.4 Çift Sarmal DNA'nın ve DNA Origaminin Yapısal Kararlığına Etki Eden Faktörler	11
1.4.1 Hidrojen bağı.....	12
1.4.2 Baz istiflenmesi.....	12
1.4.3 DNA origami sarmallar arası etkileşimler	13
1.5 Çift Sarmal DNA'nın Elektriksel Özellikleri Hakkında Bilgiler	14
1.6 DNA Origami Uygulamaları.....	15
2. TEORİK MODEL VE YÖNTEM	21
2.1 Moleküler Dinamik (MD) Simülasyonları.....	22
2.2 Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) Hesaplamaları	23
2.3 Yük Taşıma Modeli	25
3. BULGULAR VE TARTIŞMALAR	29
3.1 DNA Origami Yapısına Altın (111) Yüzeyi Etkisi.....	30
3.2 Çift Sarmal DNA ile Altın (111) Arasındaki Etkileşimler ve Elektriksel İletkenliğe Etkileri.....	34
3.3 DNA Origaminin Elektriksel Özellikleri	49
3.4 DNA Origami Yapısına Geçiş Bölgesi Dağılımı ve İyon Konsantrasyonu Etkisi	63
3.5 Biyoelektronik Uygulamalar için DNA Origami Nanogözenek Yapısı	71
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	77
KAYNAKLAR	81
EKLER	93
ÖZGEÇMİŞ	99

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

- Şekil 1.1: Temel diziyi gösteren Holliday bağlantısının şeması. Şekilde gösterilen dizi birçok olasılıktan yalnızca biridir. 1
- Şekil 1.2: DNA Origami yapılarının iki ve üç boyutlu tasarımlarının şematik gösterimi a) B-form DNA molekülünün geometrik özellikleri. b) İki boyutlu origami tasarımları için paralel DNA sarmalları arasındaki geçiş bölgesi. c) Bal peteği kafes yapısında geçiş açıları ve gerekli baz çifti parametreleri. d) Sıkı paketlenmiş kare kafes yapısında geçiş açıları ve gerekli baz çifti parametreleri. e) Esnek düzlem dışı DNA origami geçişleri için 1 bp aralıklarla erişilebilir açılar. f) Komşu sarmallarda geçiş bölgesi aralıklarındaki baz çifti sayısı eşit olmaması durumunda DNA origami yapılarının bükülmesi..... 2
- Şekil 1.3: Temel diziyi gösteren Holliday bağlantısının şeması. Şekilde gösterilen dizi birçok olasılıktan yalnızca biridir 4
- Şekil 1.4: DNA origami teknolojisi. a) Klasik DNA origaminin prensibi. Uzun, tek sarmallı bir iskelet DNA'sı, birden çok kısa bağlayıcı DNA (mavi) ile tavlınır. Bağlayıcı DNA'lar, iskelet sarmalın uzak bölgelerini baz eşleştirme yoluyla bir araya getirebilir ve sonuç olarak tasarlanan bir şekil elde edilir. b) Temsili 2D düzlemsel DNA origami şekilleri. c) bal peteği kafes yapısı, karmaşık eğriliğe sahip bir yapı ve keyfi bir şekle sahip bir 3D nanoyapı. d) Çoklu DNA origami yapılarından hiyerarşik olarak bir araya getirilmiş üst yapı örneği..... 7
- Şekil 1.5: Atomik Kuvvet Mikroskobu Prensibi (ölçekli değil). Nano ölçekli bir uç, bir yay oluşturan küçük bir konsola tutturulmuştur (prob). Uç yüzeyle temas ettiğinde etkileşim kuvvetlerinden dolayı bu konsol hareket eder ve bir lazer yardımı ile fotodiyot üzerinde tespit edilir..... 9
- Şekil 1.6: Transmisyon Elektron Mikroskobu Prensibi (ölçekli değil). Bir elektron kaynağı, ultra ince bir numuneden bir elektron demeti gönderir. Elektronlar numuneye nüfuz ettiklerinde, aşağıdaki merceklerden geçerler. Bu veriler, bir kamera kullanarak doğrudan bir flüoresan ekranda veya bir bilgisayar ekranında görüntüler oluşturmak için kullanılır..... 10
- Şekil 1.7: Cryo-EM çalışma adımları. Donmuş çözeltinin bir elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmesi gerçekleştirilir ve aynı kompleksin farklı yönlerde birçok görüntüsü üretilir. Her görüntü önce kutulama yoluyla ayrılır. Tüm kutulu görüntüler daha sonra kümelenir. Sinyal-gürültü oranını iyileştirmek için her kümedeki görüntülerin ortalaması alınır. Bu ortalama görüntülerin her birinin 3B yönü bulunur. Bu yönler kullanılarak, görüntüler bir 3B elektron yoğunluk haritası oluşturulur. 10
- Şekil 1.8: Farklı yöntemlerle karakterizasyon örnekleri. DNA origami a) TEM, b) AFM ve c) Cryo-EM görüntüsü..... 11
- Şekil 1.9: DNA baz çiftleri arasında oluşan hidrojen bağlarının şematik gösterimi..... 12
- Şekil 1.10: DNA baz çiftleri arasında oluşan baz istiflenmesinin şematik gösterimi..... 13

Şekil 1.11: STM-BJ yöntemine genel bakış. a) STM düzeneği, b) Yapılan ölçümlerin bir tanesi, c) Binlerce ölçümden elde edilen iletkenlik histogramları.....	15
Şekil 2.1: Bu tez kapsamında kullanılan modelleme yöntemleri akış şeması.....	21
Şekil 3.1: Yüzey etkileşimlerinin araştırılması için kullanılan a) DNA origami yapısının caDNAo tasarımı, b) üç boyutlu yapısının yandan görünüşü, c) yukarıdan görünüşü.....	31
Şekil 3.2: Serbest haldeki a) 6 HB origami bütün yapının simülasyon başlangıcına göre RMSD değerlerinin değişimi, b) 6 HB origamde her bir sarmalın kendi başlangıç pozisyonuna göre RMSD değerlerinin değişimi, c) yapıdaki bitişik sarmallarda her bir baz çifti arasındaki ortalama uzaklıklar ve d) yapıdaki karşılıklı sarmalların her bir baz çifti arasındaki ortalama mesafeleri.....	32
Şekil 3.3: 50 ns Altın yüzeyinde DNA origami simülasyonundan elde edilen konformasyon.....	33
Şekil 3.4: 50 ns Altın yüzeyinde DNA iskelet atomlarının RMSF değerleri.....	34
Şekil 3.5: Beş nükleotidden oluşan tek iplik DNA moleküllerinin altın (111) yüzeyi ile etkileşimi.....	37
Şekil 3.6: Simülasyonda kullanılan DNA sekansları ve başlangıç yapıları. Altın (111) üzerindeki DNA'nın su molekülleri ve iyonlar çıkartılarak daha net bir görüntü elde edilmesi sağlanmıştır.....	37
Şekil 3.7: 50 ns MD simülasyonu için molekülün farklı bölgeleri için RMSD değişimi.....	38
Şekil 3.8: Atom numarasına göre farklı DNA sekanslarının RMSF değişimi.....	39
Şekil 3.9: Tüm yapı ve merkez AT bölgesi için ikili RMSD analizi. Grafik, 1 ns zaman aralığında kaydedilen her konformasyon arasındaki RMSD değişimini gösterir. Yüksek RMSD değerleri (koyu kırmızı), iki konformasyon arasında daha büyük bir yapısal değişik olduğunu gösterir.....	40
Şekil 3.10: Tüm sekanslar için seçilen konformasyonlar, yüzey etkileşimli atomları bir top şeklinde gösterildi. Mavi renk Adeninleri, turuncu Sitozinleri, sarı Guaninleri ve pembe Timinleri temsil etmektedir.....	42
Şekil 3.11: Tüm konformasyonların hem dolu (HOMO-10'dan HOMO'ya) hem de boş (LUMO'dan LUMO+10'a) orbitallerinden ilk 11'ini gösteren enerji bant diyagramları.....	43
Şekil 3.12: Tüm konformasyonların hem dolu (HOMO-10'dan HOMO'ya) hem de boş (LUMO'dan LUMO+10'a) orbitallerinden ilk 11'ini gösteren enerji bant diyagramları.....	44
Şekil 3.13: Yük taşınımı için kullanılan deneysel senaryo.....	45
Şekil 3.14: Seçilen konformasyonların farklı enerji seviyelerine göre yük taşınım değişimleri.....	45
Şekil 3.15: C ₃ T ₃ C ₃ , C ₃ A ₃ C ₃ ve G ₃ A ₃ G ₃ sekansları için zaman noktaları, alt yüzey temas atomu sayısı, HOMO + 0.5 eV'deki iletkenlik değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren bar grafikleri.....	47
Şekil 3.16: Konformasyon yüzdelere göre hesaplanan ağırlıklı ortalama iletkenlik değerleri.....	48
Şekil 3.17: DFT hesaplamaları için kullanılan temsili yapıların GC ve AT sekansları ve karşılık gelen 3D geometrileri.....	49
Şekil 3.18: DNA origami üzerinden elde edilen farklı yük iletim yolları ve iletkenlik değerleri.....	50
Şekil 3.19: DNA origami geçiş bölgelerinin üç boyutlu yapı üzerinde gösterimi.....	51

Şekil 3.20: DFT hesaplamaları için kullanılan temsili yapıların GC ve AT sekansları ve karşılık gelen 3D geometrileri.....	51
Şekil 3.21: DNA origami (DO) ve çift sarmal DNA (dsDNA) için RMSD zaman grafiği.....	52
Şekil 3.22: Hem GC hem de AT sekansları için her 1 ns'de kaydedilen konformasyonlar arasındaki ikili RMSD grafikleri. Her bir renge karşılık gelen RMSD değerleri renk skalasında verilmiştir, koyu mavi en benzer konformasyonları ve koyu kırmızı en farklı konformasyonları temsil etmektedir.....	53
Şekil 3.23: 100 ns MD simülasyonunda karşılaşılan her bir konformasyon kullanılarak hesaplanan atom başına düşen RMSF değerleri. Üstteki iki grafik, DNA origami yapılarının sonuçlarına karşılık gelir ve en alttaki iki çizim ise hem GC hem de AT sekansları için dsDNA yapılarının sonuçlarını gösterir. Grafik üzerindeki kesikli şeritler arasında iplikler arası ayırım yapmak için farklı renklendirilmiştir. Grafiklerde vurgulanan mavi bölgeler, sarmal 2 ile ilişkili DNA origami atomlarına karşılık gelmektedir.	54
Şekil 3.24: Simülasyonlar sırasında DNA baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarındaki zamansal değişim.	55
Şekil 3.25: Her sekans için MD simülasyonlarında karşılaşılan farklı kümeler.	56
Şekil 3.26: GC ve AT sekansları için DNA origami MD simülasyonlarından seçilen temsili konformasyonlar.	56
Şekil 3.27: GC ve AT sekansları için DNA origami sarmallarının dsDNA ile hizalanması ve sarmallar arasındaki RMSD değerleri.....	57
Şekil 3.28: Her yapı için HOMO-LUMO aralığının yakınında bulunan 20 dolu ve 11 boş moleküler orbital için enerji bandı diyagramı.	58
Şekil 3.29: GC ve AT sekanslı DNA origami ve dsDNA yapısının her bir DNA ipliğindeki farklı enerji seviyeleri için durum yoğunlukları (DOS).	59
Şekil 3.30: Farklı noktalardan temas atomu seçilerek hesaplanan yük taşınımı grafikleri.....	61
Şekil 3.31: GC sekansı için farklı temsili konformasyonlarına yansıtılan HOMO'dan HOMO-3'e moleküler orbitaller.	62
Şekil 3.32: İyon konsantrasyonu ve geçiş bölgesi sayısı etkilerini anlamak için tasarlanan altı sarmal DNA origamisindeki her bir sarmalın sekansları (m13mp18 viral genomun sekansı kullanıldı).	64
Şekil 3.33: İyon konsantrasyonu ve geçiş bölgesi sayısı etkilerini anlamak için tasarlanan DNA origami yapılarının caDNAo şematik gösterimi	65
Şekil 3.34: İki farklı tuz konsantrasyonu içerisinde tüm DNA origami yapıları için RMSD ve zaman grafikleri. Açık renkler düşük MgCl ₂ konsantrasyonunu ve koyu renkler yüksek MgCl ₂ konsantrasyonunu temsil etmektedir.	66
Şekil 3.35: İki farklı tuz konsantrasyonu içerisinde ortalama hidrojen bağı sayısının baz çiftleri üzerinde gösterimi. Siyah kutular geçiş bölgelerinin bulunduğu baz çiftlerini göstermektedir.	67
Şekil 3.36: DNA origami sarmalları arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılan her 7 baz çifti (bç) bölgesinin şematik gösterimi.....	68
Şekil 3.37: Her bir 7 baz çifti (bç) bölgesinin kütle merkezinin XY düzleminde koordinatlarının zamana göre değişimini.....	69
Şekil 3.38: Her bir DNA origami yapısı için RMSF değerleri ve ortalama yapı üzerinde gösterimi.....	70
Şekil 3.39: Lipit çift tabakası arasına yerleştirilen kolesterol ile fonksiyonelleştirilmiş DNA origami yapısının simülasyon başlangıç yapısı. ...	72

- Şekil 3.40: Kolesterol-TEG ile modifiye edilmiş DNA origaminin lipid çift tabakası içerisinde yapılan 64 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen yapıların üç boyutlu görüntüsü. a) DNA origami lipid içerisindeki iken z-x düzleminde görüntü, sistemin daha net görülebilmesi için lipid moleküllerinin bir kısmı, su molekülleri ile iyonlar gösterilmemektedir. b) DNA origaminin lipid yüzeyi ile etkileşen nükleotitlerinin yakınlaştırılmış gösterimi. c) Nanogözenegin yukarıdan görüntüsü (daha net bir görüntü için lipid ve su molekülleri gösterilmemektedir). 73
- Şekil 3.41: MD simülasyonlarından elde edilen RMSD grafiği ve DNA uç kısımlarının lipid çift tabakasına olan uzaklığının zamana göre değişimi 74
- Şekil 3.42: a) DNA origami sarmallarının karşılıklı baz çiftleri arasındaki uzaklığın zamana göre değişimi ve b) ortalama uzaklıklar 74



ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

Çizelge 1.1: DNA origami tasarımında kullanılabilir yazılım/programlar	6
Çizelge 3.1: MMGBSA yöntemi ile hesaplanan bağlanma enerjileri ve minimum değere göre hesaplanan bağlanma enerjileri arasındaki katsayı.....	36
Çizelge 3.2: Her bir grupta bulunan konformasyon sayısı ve yoğunluğu.....	41
Çizelge 3.3: Temsili konformasyonların HOMO + 0.5 eV’de elde edilen iletkenlik değerleri ve sekans içerisindeki minimum iletkenliğe oranları	46



KISALTMALAR

A	: Adenin
AMBER	: Assisted Model Building with Energy Refinement
C	: Sitozin
DFT	: Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (Density Functional Theory)
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
dsDNA	: Çift sarmal (double strand) DNA
DO	: DNA Origami
DOS	: Durum Yoğunluğu
G	: Guanin
GB	: Geçiş Bölgesi (crossover)
HOMO	: En Yüksek Dolu Moleküler Orbital (Highest Occupied Molecular Orbital)
LUMO	: En Düşük Dolu Olmayan Moleküler Orbital (Lowest Unoccupied Molecular Orbital)
MD	: Moleküler Dinamik
NAMD	: Nanoscale Molecular Dynamics
RMSD	: Kök Ortalama Kare Sapması (Root Mean Square Deviation)
RMSF	: Kök Ortalama Kare Dalgalanması (Root Mean Square Fluctuation)
T	: Timin
VMD	: Visual Molecular Dynamics

SEMBOL LİSTESİ

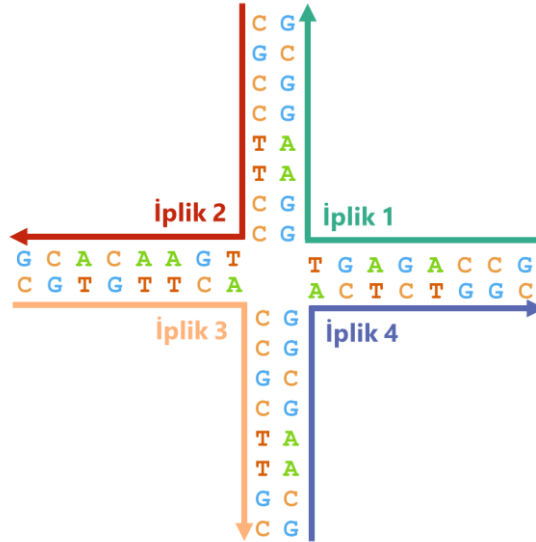
Bu çalışmada kullanılmış olan simgeler açıklamaları ile aşağıda sunulmuştur.

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

1. GİRİŞ

Nanoyapıların üretiminde, yukarıdan aşağı üretim yöntemlerinde, yüksek maliyet, vakum ortamı ve kriyojenik sıcaklıklar gerektirmesi ve kullanılan cihazlara bağlı olarak çözünürlük gibi sınırlamalarla karşılaşmaktadır. Bunların aksine, aşağıdan yukarı yöntemlerden kendiliğinden oluşma (self-assembly) yöntemi, ılımlı ortam koşullarında ucuz, paralel nanoyapı sentezi sunan umut verici bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır. DNA, RNA, protein gibi biyomoleküller, nano boyutlardan makroskopik boyutlara kadar, atomik hassasiyet ile kontrollü bir şekilde kendiliğinden oluşma özelliklerine sahiptirler.

İlk defa, 1980'lerde, Nadrian Seeman, DNA'nın bir boyutlu çift sarmal yerine, iki boyutta uzanan, nano ölçekli bir yapı taşı olarak kullanılabileceğini ortaya çıkardı (Seeman vd., 1982). Hareketsiz bir Holliday bağlantısının rasyonel tasarımı ile üç boyutlu periyodik DNA ağlarının oluşturulabileceğini gösterdi. Holliday bağlantısı daha önce 1964 yılında, moleküler biyolog Robin Holliday'in mantarlarda mayoz bölünme sırasında meydana gelen gen dönüşüm olaylarını açıklamak için önerdiği bir modeldi (Holliday vd., 1964). Şekil 1.1'de, Holliday bağlantısının yapısı verilmiştir.

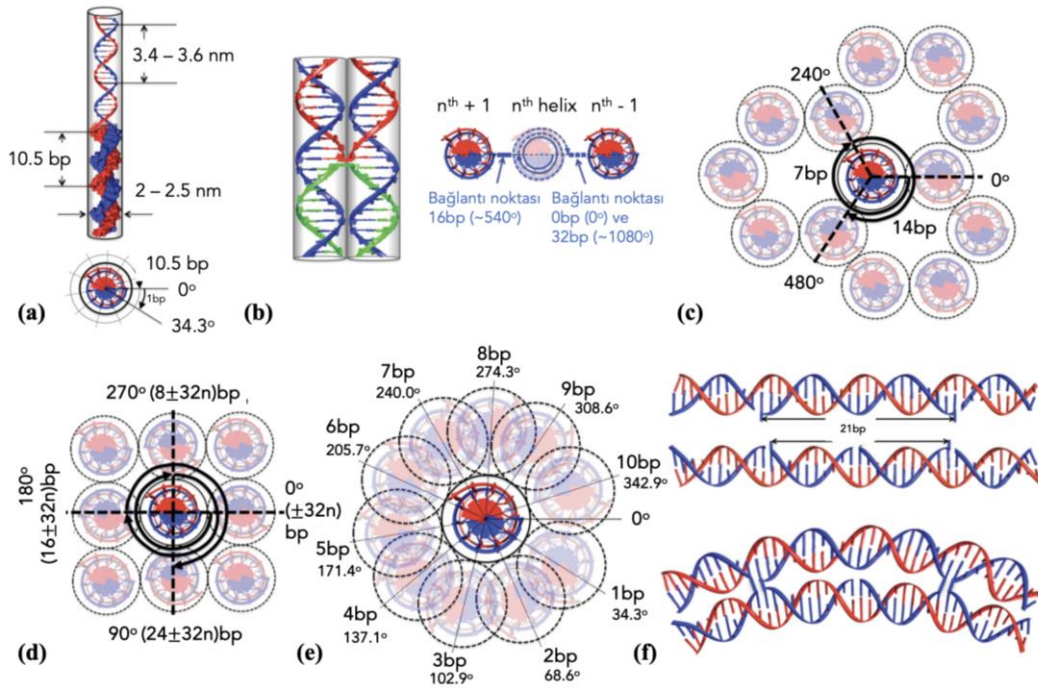


Şekil 1.1: Temel diziyi gösteren Holliday bağlantısının şeması. Şekilde gösterilen dizi birçok olasılıktan yalnızca biridir.

DNA'nın bu özelliği kullanılarak, 20 nm'den (Park vd., 2006) daha az aralıklı iki boyutlu düzenli yapıların yanı sıra küp (Chen vd., 1991) ve kesik oktahedron (Zhang

vd., 2002) gibi üç boyutlu şekiller de dahil olmak üzere karmaşık nanoyapıların oluşturulabileceği gösterildi. Bu tür yapıların sentezinin çok sayıda kısa DNA zincirleri arasındaki etkileşime bağlı olması nedeniyle yapıların veriminin kullanılan DNA ipliklerinin sayısal oranlarına bağlı olduğu ve bu sebeple, daha büyük ve karmaşık yapıların sentezinin çoklu reaksiyon aşamaları ve saflaştırma adımları gerektirdiği düşünülüyordu (Rothemund, 2006). 2004 yılında yapılan bir çalışmada (Shih vd., 2004), uzun tek bir DNA zincirinin bir oktahedron şekline kontrollü bir şekilde katlanabildiği rapor edildi. 2006 yılında, Paul Rothemond (Rothemund, 2006), uzun, tek bir DNA zincirinin, çok sayıda kısa tek iplikli DNA zincirleri ile istenilen iki boyutlu şekillerde, basit ve tek adım ile katlanabileceği yöntemi sundu ve “DNA Origami” alanı ortaya çıktı.

DNA'nın çift sarmal özelliklerinden (Şekil 1.2 a) yararlanan bu yöntemde, iskelet (scaffold) adı verilen uzun DNA'lar, bağlayıcı (staple) adı verilen kısa DNA zincirleri ile Şekil 1.2 b'de gösterildiği gibi hibridizasyon yapmaktadır.

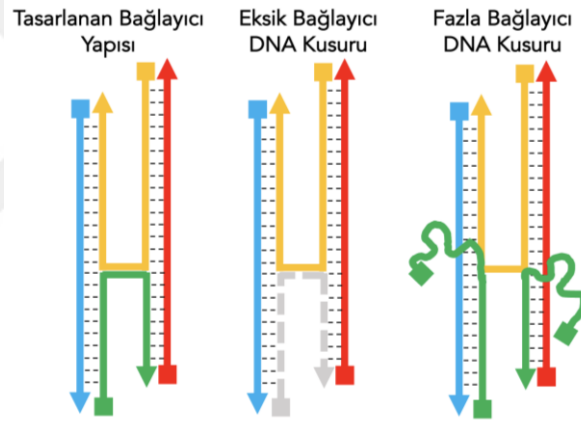


Şekil 1.2: DNA Origami yapılarının iki ve üç boyutlu tasarımlarının şematik gösterimi (Bu şekil Kearney vd.'nin çalışmasından (Kearney vd., 2016) alınmıştır.). a) B-form DNA molekülünün geometrik özellikleri. b) İki boyutlu origami tasarımları için paralel DNA sarmalları arasındaki geçiş bölgesi. c) Bal peteği kafes yapısında geçiş açıları ve gerekli baz çifti parametreleri. d) Sıkı paketlenmiş kare kafes yapısında geçiş açıları ve gerekli baz çifti parametreleri. e) Esnek düzlem dışı DNA origami geçişleri için 1 bp aralıklarla erişilebilir açılar. f) Komşu sarmallarda geçiş bölgesi aralıklarındaki baz çifti sayısı eşit olmaması durumunda DNA origami yapılarının bükülmesi.

2005 yılında Seeman'ın grubu tarafından tanımlanan altıgen bir DNA tüpünden (Frederick vd., 2005) esinlenen Shawn Douglas ve meslektaşları, özel  c boyutlu DNA yapılarının bal peteği şeklinde kafes yapısı kullanılarak 10 ila 100 nm arasında hassas kontrol edilen boyutlarda tasarlanabileceğini gösterdiler (Douglas vd., 2009). Aynı yıl, Yongang Ke ve çalışma arkadaşları ise tek adımlı tavlama işlemi ile kare bir kafes yapısı üzerinde paketlenmiş, daha yoğun DNA origami yapılarının oluşturulabileceğini raporladılar (Ke vd., 2009). Bu iki çalışma  zerine DNA origami tasarımında kullanılan ana iki kafes yapısı ortaya çıkarılmış oldu. Buna göre bal peteği kafes yapısı için, her 7 baz çiftinde bir en yakındaki DNA sarmalı ile geçiş bağlantısı kurulabilirken, kare kafes yapısında her 8 baz çiftinde bir bu bağlantı kurulabilmektedir (şekil 1.2 c ve d). DNA origaminin, farklı aralıklarla sarmallar arasına geçişler yerleştirilerek kıvrılıp ve b k lebildiği de gösterildi (Dietz vd., 2009). şekil 1.2 E'de origami yapısında DNA'nın her bir baz çifti değişimine göre hangi konumlarda bağlantı yapabileceği gösterilmiştir. Buna göre farklı bağlantı bölgelerine göre DNA origami yapısına eğrilik verilebilir. şekil 1.2 F'de ise, iki DNA sarmalı arasında farklı baz çifti aralıklarıyla yapılan bağlanma sonucunda oluşan eğriliğe örnek verilmiştir.

Normal ift sarmal DNA (dsDNA) ile ilgili, uzunluğa bağlı olarak Guanin (G) – Sitozin (C) eşleşmelerinin Adenin (A) – Timin (T) eşleşmelerinden daha kararlı olduğu ve bundan dolayı G-C içeriği yüksek olan DNA'ların daha yüksek erime sıcaklığına (T_m) sahip olacağı tahmin edilmektedir (SantaLucia, 2004). dsDNA oluşurken hidrofobik bazlar birbirleri ile etkileşerek yapının iç kısmına katlanırlar. Bu katlanma sırasında baz istiflemesi (base stacking) gerçekleşir. Baz istiflenmesi ve karşılıklı baz çiftleri arasındaki hidrojen bağı oluşumu ile yapı minimum enerji durumuna geçer ve çift sarmal DNA yapısını oluşturur. DNA origaminin oluşumu ise normal dsDNA oluşumundan çok daha karmaşıktır. Tasarımı yapılan şekle ve bağlayıcı DNA'ların bulunduğu konuma bağlı olarak, uzun iskelet DNA'nın katlanma mekanizması değişebilir. Hala DNA ipliklerinin bir araya gelme mekanizması bilinmemektedir. Bağlantı noktaları arasındaki baz çifti uzunluklarına göre yapı içerisinde oluşacak kalıcı gerilimler, origami yapısının oluşma serbest enerjisini etkileyebilir. Bu gibi etmenlerden dolayı, tasarlanan origami yapısı verimli bir şekilde deneysel olarak  retilmeyebilir.

Origami yapılarında verim, mikroskopide tasarlanan şekle sahip yapıların sayısı (görüntüleme verimi, imaging yield), bağlama kusurlarının sayısı (bağlayıcı verimi, staple yield) ya da tasarlanan fonksiyonel birimlerin görüntülenen yapılarda tasarıma uygun olma yüzdeleri (fonksiyonel verim, functional yield) olarak tanımlanmaktadır (Majikes vd., 2021). Bunlar arasından bağlayıcı verimi hem ölçülmesi en zor olanlardan biri hem de diğer iki verimi doğrudan etkileyen bir faktördür. Şekil 1.3'te gösterildiği gibi, bağlayıcı kusurları genellikle eksik ya da fazla bağlayıcı DNA zincirlerinden kaynaklanmaktadır (Majikes vd., 2021). Bu kusurlar genellikle görüntüleme yoluyla tespit edilmesi oldukça zordur ve fonksiyonelleştirilmiş origami yapılarında, fonksiyonu etkilemeyecek şekilde de oluşabilir. Bu yüzden çoğu zaman fark edilmeyebilirler. Ancak, farklı üretim parametreleri ve çok sayıda bağlayıcı DNA miktarı ile üretim problemlerinin önüne geçilebileceği yapılan çalışmalarda (Sheheade vd., 2019; Dunn vd., 2015) gösterilmiştir.



Şekil 1.3: Temel diziyi gösteren Holliday bağlantısının şeması. Şekilde gösterilen dizi birçok olasılıktan yalnızca biridir.

DNA origami nanoyapıları, ilaç taşınımı (Jiang vd., 2012; Zhang vd., 2014; Wang vd., 2018; Ijäs vd., 2019) biyoalgılayıcı (Kielar vd., 2018; Wang vd., 2020), plazmonik uygulamalar (Liu vd., 2018; Kuzyk vd., 2018), inorganik malzeme sentezi (Gopinath vd., 2016; Ramakrishnan vd., 2016), nanoelektronik (Teschome vd., 2016; Geng vd., 2013) ve nanorobotik (Thubagere vd., 2014) gibi çeşitli uygulamalar için araştırmaların odağında olmuştur. Bahsedilen bu uygulamaların sürdürülebilirliği için tasarlanan DNA origami nanoyapılarının yapısal kararlılıklarını koruması gerekir. Özellikle ilaç taşınımı uygulamalarında, DNA origami farklı biyolojik ortamlara maruz kalabilir. Öte yandan, yeni geliştirilecek uygulamalarda kullanılmak üzere tasarlanan yapıların, istenilen özellikleri göstermesi için çevresel koşulların kontrol

edilmesi gerekebilir. Literatürde bulunan çalışmalardan DNA origami yapısının kararlılığının geometri, sarmal sayısı ve çevresel koşullara bağlı olduğu bilinse de bu etkilerin doğası hala tam olarak anlaşılammıştır. Bu tür yapıya bağlı etkilerin moleküler mekanizmalarını aydınlatmak, nanoteknolojide geniş bir uygulama yelpazesi için istenilen özelliklerde, sürdürülebilir DNA origami nanoyapılarının tasarlanması için önemlidir.

Bu tezin amacı atomik boyutta moleküler dinamik (MD) simülasyonları kullanarak, DNA origamilerin yapısal kararlılıklarının farklı parametrelere göre nasıl değiştiğini araştırmak ve kuantum mekanik hesaplamalar ile nanoelektronik ve biyosensör uygulamaları için tasarlanacak DNA origami yapılarındaki kararlılık-elektriksel özellik arasındaki ilişkiyi incelemektir. Bu kapsamda, farklı ortam koşulları altında ve farklı DNA origami tasarımları kullanılarak MD simülasyonları gerçekleştirildi ve daha sonra bu simülasyonlardan seçilen temsili yapılar ile yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamaları yapıldı. MD simülasyonlarında yapı analizleri için farklı yöntemler geliştirildi ve DFT ve yük taşınım hesaplamaları ile DNA origami yapılarının elektronik özelliklerinin çift sarmal DNA'ya göre nasıl farklılaştığı açığa çıkarıldı.

1.1 DNA Origami Yapısı ve Tasarımı

Bir DNA origami yapısı tasarlanmanın ilk adımı, iskelet zincirin katlanma geometrisine karar vermektir. Normal bir DNA sarmalında yarıçap 2 nm, sarmalların bir tam dönüşü 10,5 baz zincirinden oluşup yaklaşık 3,4 nm'dir. Origami yapısındaki birden fazla sarmal olması nedeniyle aralarında bir elektrostatik itme meydana gelecektir. Bu yüzden, origami yapısı tasarlanırken, bir sarmalın yarıçapı 3,5 nm genişliğinde, bir tam dönüşünün ise 3 – 3,5 nm uzunluğunda bir olabileceği göz önüne alınmalıdır. Buna göre tasarlanan şekillerden sonra iskelet ve bağlayıcı DNA'ların pozisyonları belirlenmelidir. DNA origami şeklinin ve DNA dizilerinin tasarımı için geliştirilen farklı yazılımlar bulunmaktadır. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanları özellikleri ile Çizelge 1.1'de sunulmuştur. Bunlar arasında en çok kullanılan caDNAno programıdır. Bu program DNA origami yapılarının geometrilerini, bağlantı noktalarını ve nükleotid dizilimlerini belirlemek için geliştirilmiş grafik ara yüzü bir yazılımdır. Bu tez kapsamında caDNAno programı kullanılmıştır.

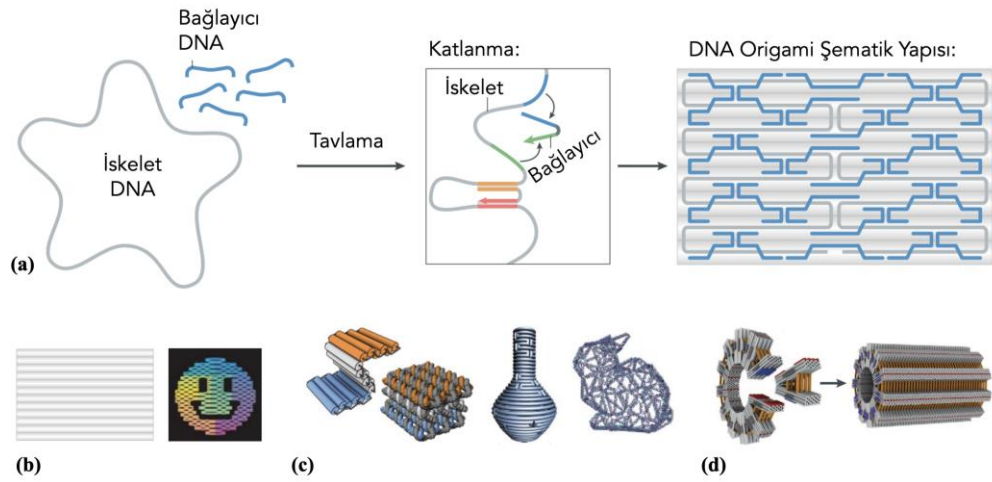
Çizelge 1.1: DNA origami tasarımında kullanılacak yazılım/programlar

Yazılım	Özellikleri	Dezavantajları
caDNAno (Url-1)	<ul style="list-style-type: none"> Bal peteği veya kare kafes yapısında DNA origami tasarımı Yaygın kullanım 	<ul style="list-style-type: none"> 3 boyutlu yapılar için geliştirilmiş bir ara yüzü bulunmuyor
Tiamat (Url-2)	<ul style="list-style-type: none"> Kafes veya iskelet sınırlamaları olmadan DNA nanoyapı tasarımı 	<ul style="list-style-type: none"> Geçiş bölgeleri seçilirken bir sınırlama yok – gerçekçi olmayan tasarımlar oluşturulabilir İleri seviye tasarım bilgisi gerekli
oxView (Url-3)	<ul style="list-style-type: none"> oxDNA program için geliştirilmiş online görüntüleme aracı 	<ul style="list-style-type: none"> Çok katmanlı origami gibi büyük ve karmaşık yapıları sıfırdan tasarlamak için uygun değil
ATHENA (Url-4)	<ul style="list-style-type: none"> Karmaşık üç boyutlu yapıların otomatik tasarımı caDNAno ile kullanılabilir 	<ul style="list-style-type: none"> Tasarımlarda kullanılacak sarmal sayısı değiştirilemiyor
Adenita (Url-5)	<ul style="list-style-type: none"> Çok kapsamlı tasarım program Dahili moleküler dinamik simülasyon aracıyla katlamayı tahmin etme seçeneği 	<ul style="list-style-type: none"> Bazı özellikler için ücretli üyelik isteniyor. Üç boyutlu tasarımlar için heliks sayısı değiştirilemiyor.

DNA origami için kullanılacak iskelet DNA dizisinin seçimi, istenen yapının boyutu ve karmaşıklığına göre belirlenir. Çoğunlukla yaygın olarak, M13 fajından izole edilen 7249 nükleotid uzunluğundaki m13mp18 viral genomu DNA origami yapılarında kullanılmaktadır. Bunun yanında yine M13'ten izole edilen, p7308, p7560 ve p8064 genomları da tercih edilebilmektedir. Bu diziler, genellikle DNA üreten bir biyoteknoloji şirketlerinden satın alınmaktadır. Bunun dışında, özel boyutlu ve dizilimli iskelet DNA zincirlerinin tasarımı yapılabilir. Ancak bunların tasarımının zahmetli, üretiminin de görece pahalı olması sebebiyle araştırmacılar tarafından nadiren tercih edilmektedir.

DNA origami yapısı tasarlandıktan sonra tasarıma uygun olan ortam koşullarında üretilmeleri gerekir. DNA origami yapılarının üretim verimliliğinin büyük ölçüde içinde buldukları solüsyonun katyon konsantrasyonuna bağlı olduğu bilinmektedir (Dey vd., 2021). Çoğu üretim protokolü 5 – 20 mM MgCl₂ içeren ve pH'ı 8 olan tampon çözeltilerinde gerçekleştirilir (Dey vd., 2021). DNA origami yapılarının

karmaşıklığına göre solüsyon içerisinde eklenmesi gereken Mg^{2+} konsantrasyonu kontrollü bir şekilde ayarlanmalıdır. Genellikle kompleks üç boyutlu şekiller için daha yüksek kation konsantrasyonlarına ihtiyaç duyulur. Üretimde genellikle Mg^{2+} iyonları kullanılsa da yapılan çalışmalarda Na^+ gibi farklı iyonlar ile de DNA origami katlanmasının gerçekleşebileceği raporlanmıştır (Martin vd., 2012). Ayrıca, üretilen origami yapılarının iyon konsantrasyonu farklı olan bir ortama alındığında yapılarının bozulduğu gösterilmiştir (Dey vd., 2021). Bu nedenle, yapılar oluşturulurken tasarım ve fonksiyon arasındaki bağlantı göz önünde bulundurulmalıdır. Şekil 1.4'te DNA origami teknolojisinin özeti şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 1.4: DNA origami teknolojisi. a) Klasik DNA origami prensibi. Uzun, tek sarmallı bir iskelet DNA'sı, birden çok kısa bağlayıcı DNA (mavi) ile tavllanır. Bağlayıcı DNA'lar, iskelet sarmalın uzak bölgelerini baz eşleştirme yoluyla bir araya getirebilir ve sonuç olarak tasarlanan bir şekil elde edilir. b) Temsili 2D düzlemsel DNA origami şekilleri. c) bal peteği kafes yapısı, karmaşık eğriliğe sahip bir yapı ve keyfi bir şekle sahip bir 3D nanoyapı. d) Çoklu DNA origami yapılarından hiyerarşik olarak bir araya getirilmiş üst yapı örneği (Dey vd., 2021'den uyarlanmıştır).

1.2 DNA Origami Sentezi

DNA origami sentez yöntemlerini anlamak, yapıların kararlılıklarını modellemek için oldukça önemlidir. Bu nedenle bu bölümde DNA origami sentezi ile ilgili bilgiler verildi.

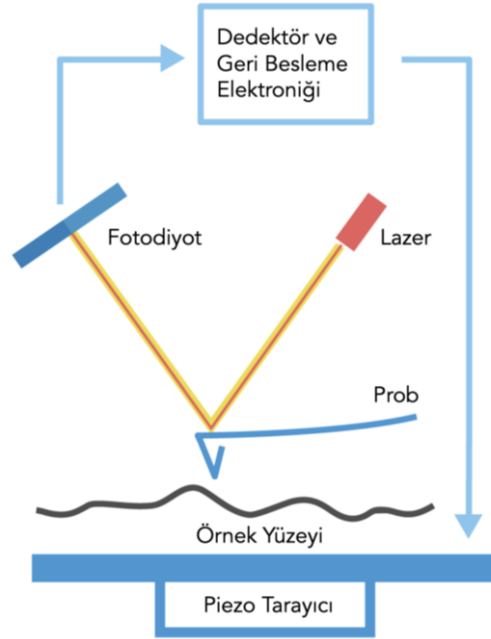
DNA origami nanoyapıları tipik olarak pH 7,8 ile 8,3 arasında ve 12,5 mM magnezyum tuzu içeren Tris bazlı tampon çözeltisinde sentezlenir (Rothemund, 2006). Tuz molekülleri (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}) ortaya çıkacak DNA origami yapısını ve kararlılığını değiştirebilir. İskelet DNA ile bağlayıcı DNA sarmallarının düzgün bir şekilde bir

araya gelip birleşebilmesi için, bağlayıcı DNA konsantrasyonu uzun tek iplikli iskelet DNA konsantrasyonundan en az 2 kat fazla olmalıdır. Bunun nedeni sarmallar arası baz çiftlerinin oluşup deformasyonları en aza indirmektir. Solüsyon hazırlandıktan sonra her şey 95 °C'ye ısıtılır ve ardından 25 °C'ye soğutulur ve bu şekilde tavlama işlemi gerçekleştirilir. Böylece, DNA bazları arasında doğru hibritleşme (baz çiftlerinin oluşması) sağlanır. Uygulanması gereken soğutma hızı hedef DNA origamiye (sekans ve yapı) göre ayarlanması gerekir ve genellikle 35–70 °C/saat olarak uygulanır. Tüm bu adımlar yaklaşık olarak 1–2 saat içerisinde tamamlanır ve bir sonraki adıma geçilir. Sarmalların bir araya gelmesi ile origami yapılarının oluşturulması ardından, solüsyon içerisinde kalan fazlalık bağlayıcı DNA iplikleri Jel filtreleme yöntemi kullanılarak çözeltilerden çıkartılır. Wickham ve diğerleri tarafından 2011'de raporlanan (Wickham vd., 2011) bu yöntemde, Sephacryl S-300 boyut ayırma reçinesi ile, sentezlenen origami yapıları ve bağlayıcı DNA iplikleri birbirinden ayrılır. Bu yöntem alternatif olarak santrifüjlü filtreleme kullanılabilir (Douglas vd., 2012), ancak bu her zaman etkili bir yöntem değildir. Eğer santrifüjleme hızı çok yüksek olursa DNA origami nanoyapıları zarar görebilir (Arbona vd., 2013).

1.3 DNA Origami Karakterizasyon Yöntemleri

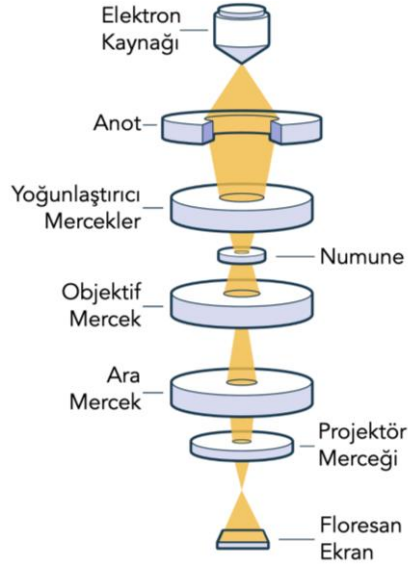
DNA origami yapıları üretildikten sonra çeşitli deneysel teknikler ile karakterize edilir. Bunlardan Agaroz jel elektroforezi (Linko vd., 2015), DNA origaminin istenildiği gibi katlanıp katlanmadığını doğrulamak için en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. Bu yöntemde, sentezlenen DNA örneklerinin ve boyutunu (baz çifti sayıları) bilinen kontrol DNA'ların bulunduğu sıvı, elektrik alan altında, negatif uçtan pozitif uca olacak şekilde, yürütülerek yüklerine ve dolayısıyla boyutlarına göre ayrılırlar. Bu sayede, sentezlenmesi hedeflenen DNA'lar ayırt edilir. Fakat, burada elde edilen sonuçlar ile origaminin düzgün katlandığına dair kesin bir sonuca varılamaz, çünkü origami yanlış katlansa da yükü değişmeyeceği için jel üzerinde aynı noktalara hareket edebilir. Ya da DNA origami nanoyapılarının agregasyonu sonucunda doğru katlanmış yapılar yanlış yükte veya yanlış katlanmış fakat bir arada duran yapılar nedeniyle doğru yüke sahip olabilirler. Burada yapılar yüke göre ayrıldıkları için, origaminin tasarlanan yapıya katlanıp katlanmadığını doğrulamak adına Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) (Şekil 1.5), transmisyon elektron mikroskobu (TEM) (Şekil 1.6)

ya da kriyojenik elektron mikroskopisi (Cryo-EM) (Şekil 1.7) kullanılarak ek bir karakterizasyon yapmak gereklidir.



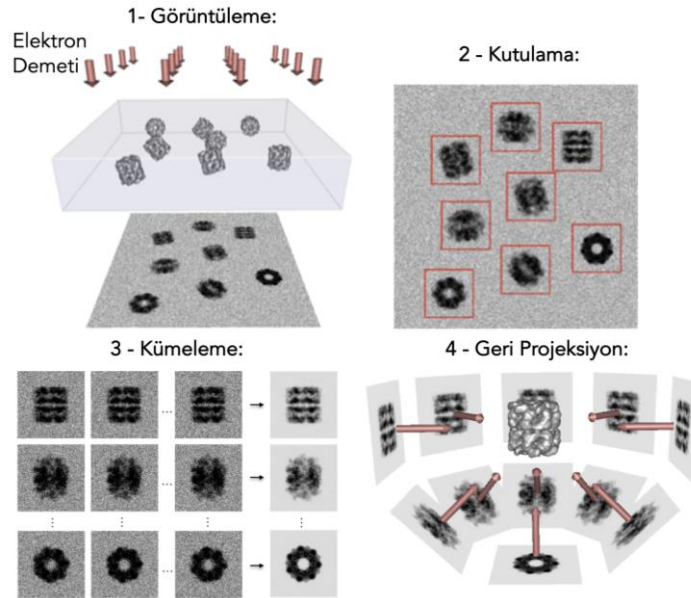
Şekil 1.5: Atomik Kuvvet Mikroskobu Prensipleri (ölçekli değil). Nano ölçekli bir uç, bir yay oluşturan küçük bir konsola tutturulmuştur (prob). Uç yüzeyle temas ettiğinde etkileşim kuvvetlerinden dolayı bu konsol hareket eder ve bir lazer yardımı ile fotodiyot üzerinde tespit edilir. (Url-6)

AFM, iki boyutlu DNA origami nanoyapılarını görüntülemek için neredeyse idealdir, fakat uygulanan kuvvetten dolayı üç boyutlu yapılara uygun olmayabilir. Bu tür origami yapılarında genellikle TEM tercih edilir. TEM'de görüntü oluşturmak için yüksek enerjili bir elektron demeti çok ince bir numuneden geçirilir. Biyolojik numunelerde, numunelerin kalınlıkları ve kütlelerindeki farklardan dolayı kontrast elde edilir. Numunenin daha fazla kütle ve kalınlığa sahip bölgeleri, görüntüde daha yoğun alanlar olarak görünür. Fakat, DNA'yı oluşturan elementler (C, H, N, O, P) düşük atom numarasına sahip olduğundan, TEM ile görselleştirilmesi oldukça güçtür. Bu sorunu aşmak için, DNA nükleotidleri daha yüksek atom numarasına sahip atomlar ile etiketlenebilir.



Şekil 1.6: Transmisyon Elektron Mikroskobu Prensibi (ölçekli değil). Bir elektron kaynağı, ultra ince bir numuneden bir elektron demeti gönderir. Elektronlar numuneye nüfuz ettiklerinde, aşağıdaki merceklerden geçerler. Bu veriler, bir kamera kullanarak doğrudan bir flüoresan ekranda veya bir bilgisayar ekranında görüntüler oluşturmak için kullanılır. (Url-7)

Cryo-EM'nin üç boyutlu DNA origami yapılarını yüksek çözünürlükle görüntülemek için büyük bir potansiyel sunduğu gösterilmiştir (Bai vd., 2012).

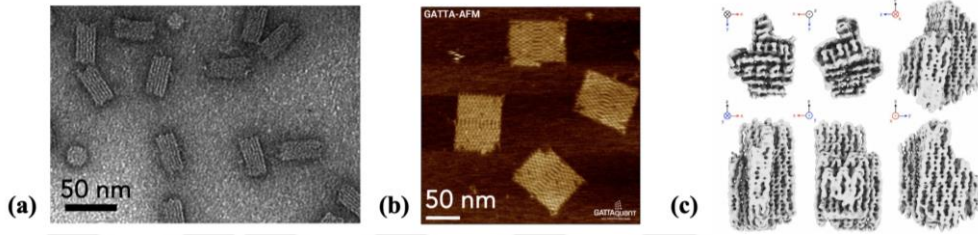


Şekil 1.7: Cryo-EM çalışma adımları. Donmuş çözeltinin bir elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmesi gerçekleştirilir ve aynı kompleksin farklı yönlerde birçok görüntüsü üretilir. Her görüntü önce kutulama yoluyla ayrılır. Tüm kutulu görüntüler daha sonra kümelenir. Sinyal-gürültü oranını iyileştirmek için her kümedeki görüntülerin ortalaması alınır. Bu ortalama görüntülerin her birinin 3B yönü bulunur. Bu yönler kullanılarak, görüntüler bir 3B elektron yoğunluk haritası oluşturulur. (Url-8)

Bu yöntem, DNA origami çözeltisinin saflaştırılması, çözeltinin bir ızgaraya yerleştirilmesi, dondurulması (kriyojenik olarak) ve ardından donmuş filmin bir elektron mikroskobu kullanılarak görüntülenmesi adımlarını içerir. Şekil 1.7’de gösterildiği gibi, aynı yapının farklı yönlerde birçok görüntüsü elde edilir.

Şekil 1.8’de deneysel olarak üretilen ve farklı karakterizasyon yöntemleri ile elde edilen DNA origami nanoyapılarının görüntüleri verilmiştir.

Görüldüğü gibi DNA origami nanoyapılarının üretilmesi ve ardından karakterizasyonu nanoyapılarının kararlılıklarını anlamak için atomik çözünürlükte bir bilgi sunamaz.



Şekil 1.8: Farklı yöntemlerle karakterizasyon örnekleri. DNA origami a) TEM (Kiviaho vd., 2016), b) AFM (Url-9) ve c) Cryo-EM (Bai vd., 2012) görüntüsü.

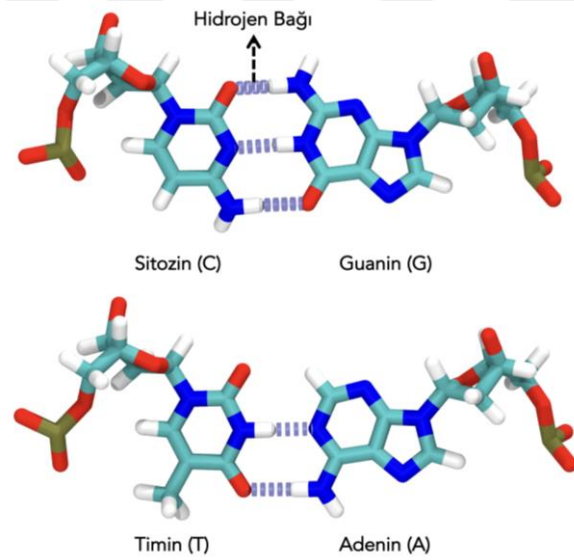
Ayrıca çevreyle olan etkileşimleri hakkında bilgi veremez. Bu nedenle hem DNA origami üretiminde verimliliği arttıracak hem de yapılarının kararlılıklarının optimize edecek bilgisayarlı hesaplamalı yöntemlerine ihtiyaç vardır.

1.4 Çift Sarmal DNA’nın ve DNA Origaminin Yapısal Kararlılığına Etki Eden Faktörler

Bilgisayarlı hesaplama yöntemleri ile gerçekleştirilen simülasyonları ve hesaplamaları analiz edebilmek için gerçek sistemi iyi anlamak gerekir. Bu nedenle, bu bölümde, DNA moleküllerinde yapısal kararlılığı belirleyen faktörler ele alınmıştır. Çift sarmal DNA’nın yapısal kararlılığı, baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları, bazlar ve çevresindeki su molekülleri arasındaki hidrojen bağları ve yan yana baz çiftleri arasındaki istifleme etkileşimlerinin ince bir dengesine bağlıdır. DNA origami nanoyapılarında bu etkileşimlerin tamamı etkili bir faktör olurken, bunlara ek olarak DNA sarmalları arasındaki etkileşimler ve sarmallar arasındaki geçiş noktalarının sıklığı ve konumlarının da etki etmesi beklenir.

1.4.1 Hidrojen bağı

Hidrojen bağı, daha elektronegatif bir atom veya atom grubu kovalent olarak bağlı bir hidrojen atomu ile yalnız bir çift taşıyan başka bir elektronegatif atom arasındaki birincil elektrostatik çekim kuvvetidir. Hidrojen bağları, dipol-dipol ve dispersiyon kuvvetlerinden daha güçlü iken, kovalent ve iyonik bağlardan daha zayıf bağlardır. Bir DNA molekülünde, Adenin (A) ve Timin (T) arasında $N-H\cdots O$ ve $N\cdots H-N$ olmak üzere iki hidrojen bağı oluşurken, Guanin (G) ve Sitozin (C) arasında $O\cdots H-N$, $N-H\cdots N$ ve $N-H\cdots O$ olmak üzere üç hidrojen bağı oluşur (Şekil 1.9). DNA'da baz çiftleri arasındaki bu hidrojen bağları, DNA sarmallarını bir arada tutar ve baz çiftleri arasındaki özgül eşleşmeyi sağlar. DNA'nın her bir nükleotidi, su gibi dış ortamdaki moleküllerle de hidrojen bağları oluşturabilir. DNA molekülü içerisinde veya dış ortamla oluşan bu bağlar oldukça zayıf olmasına rağmen, hepsinin oluşturduğu bütünlük DNA molekülünün çift sarmal yapısını oluşturur ve yapıyı dengede tutar. Bu nedenle, yapısal kararlılık için hidrojen bağı oldukça önemlidir.

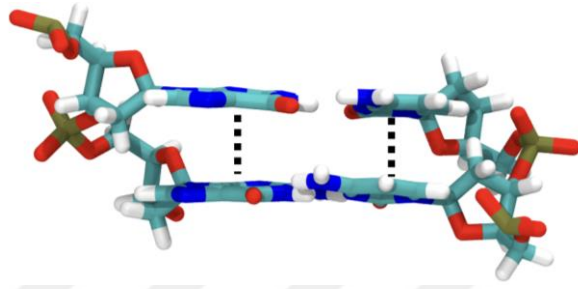


Şekil 1.9: DNA baz çiftleri arasında oluşan hidrojen bağlarının şematik gösterimi.

1.4.2 Baz istiflenmesi

DNA'daki baz istiflenmesi (base stacking), DNA sarmalı boyunca bitişik nükleotidler arasındaki kovalent olmayan etkileşimleri ifade eder. Düz, düzlemsel azotlu bazların (A, G, C ve T) birbirinin üzerine kararlı bir şekilde istiflenmesi hidrofobik ve elektrostatik etkileşimlerle mümkündür. Bazlar arasındaki istiflenme gücü, nükleotidlerin aromatikliğine ve dipol momentlerine bağlı olarak değişebilir. Baz istiflenmesi, DNA sarmallarının yapısını stabilize etmede kritik bir rol oynar.

Tamamlayıcı sarmallar arasındaki baz eşleşmesinin oluşumuna da katkıda bulunur. Daha önce yapılan çalışmalarda, DNA sarmallarındaki yapısal kararlılığının, nükleotidler arasındaki baz istiflenmesinden dolayı farklı sekanslar arasında değişiklik gösterebileceği sunulmuştur (Yakovchuk vd., 2006). Fakat, hangi baz istiflemesinin en çok kararlılığı sağladığı hala tam olarak bilinmemektedir. Bunun nedeni baz istiflenmesinin sıcaklık, pH, tuz konsantrasyonu gibi ortam koşullarına ve DNA'nın kendi uzunluğuna bağlı olmasıdır.



Şekil 1.10: DNA baz çiftleri arasında oluşan baz istiflenmesinin şematik gösterimi.

1.4.3 DNA origami sarmallar arası etkileşimler

DNA omurgası negatif yüklü fosfat gruplarından oluşur. Bu yük nedeniyle, DNA sarmalları arasında itici bir kuvvetin oluşması beklenir. Ancak, genomik DNA'nın hücre çekirdeği ve viral kapsidler içinde yoğun bir şekilde paklendiği bilinmektedir. Bunun gerçekleşebilmesi için ortamda bulunan karşıt iyonlar veya moleküller ile DNA sarmallarının dengelenmesi gerekir.

Literatürde yapılan çeşitli çalışmalarda, üç değerlikli ve dört değerlikli elektrolitlerdeki DNA sarmalları arasındaki etkileşim deneysel olarak gösterilmiştir (Deng vd., 1999; Yang vd., 2005; Besteman vd., 2007). Ayrıca bir başka yapılan X-ışını saçılımı deneylerinde $MgCl_2$ elektrolitinde kısa DNA fragmanlarının birbirini çekebileceği raporlanmıştır (Qiu vd., 2007). Bu nedenle, sarmallar arasındaki etkileşimlerde tuz moleküllerinin önemli bir rolü olduğu düşünülmektedir.

DNA origami nanoyapılarında DNA sarmalları birbirlerine geçiş bölgelerinden (GB) bağlıdırlar. Daha önceki yapılan çalışmalarda, DNA sarmalları arasındaki etkileşimlerin ortamdaki karşıt iyonlardan etkilendiği raporlanmıştır. Ancak, burada GB'lerin sıklığı ve sayısı sarmallar arasındaki etkileşimleri nasıl etkilediği tam olarak bilinmemektedir. GB'lerin DNA origami nanoyapılarında yapısal kararlılığı doğrudan etkilemesi beklenmektedir.

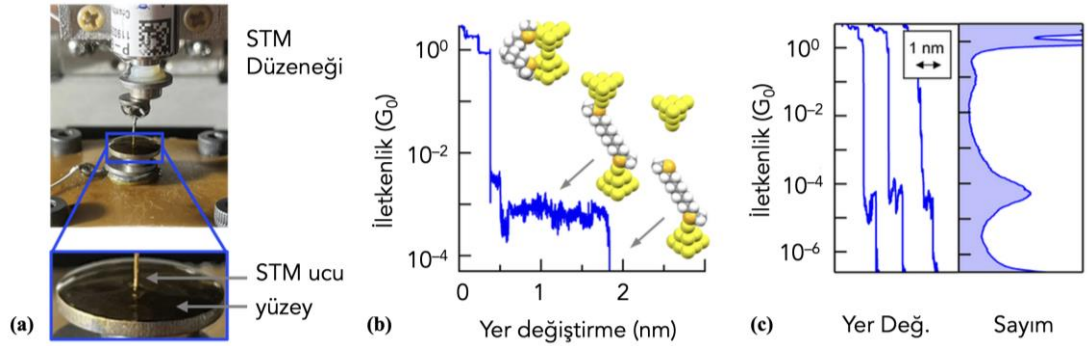
1.5 Çift Sarmal DNA'nın Elektriksel Özellikleri Hakkında Bilgiler

DNA origamideki elektriksel özellikleri anlamak için dsDNA ile ilgili bilgi sahibi olmak önemlidir. Bu bölümde, dsDNA'nın bilinen elektriksel özellikleri özetlenmiştir. Bu bölümde bahsedilen DNA'ların hepsi dsDNA'dır.

DNA moleküllerinin elektronik özellikleri 1962'den beri çalışılmaktadır (Eley and Spivey, 1962). O zamandan beri yapılan çalışmalarda DNA'nın elektriksel iletkenliğinin nükleotidler arasında oluşan $\pi - \pi$ etkileşimleri olduğu bilinmektedir. Yaklaşık otuz yıl içerisinde, DNA üzerinden yük transferi daha fazla ilgi görmeye başlamıştır ve 1999-2003 yılları arasında çeşitli gruplar tarafından yapılan çalışmalarda (Henderson vd., 1999; Giese vd., 2000; Lewis vd., 2000; Giese vd., 2001; Delaney and Barton, 2003) olası yük taşıyıcılarının boşluklar (holes) olduğu gösterilmiştir. Guaninin en düşük iyonlaşma enerjisine sahip olduğu ve bu nedenle diğer nükleotidlerin Guanin bazları arasındaki boşluk hareketi için bariyer görevi gördüğü bulunmuştur. Sonraki yıllarda yapılan kapsamlı deneysel ve teorik çalışmaların ardından, transfer mekanizmasının Guanin bazları arasındaki mesafeye bağlı olduğu raporlanmıştır. Guanin bazları arasındaki AT baz çifti bariyerinin uzunluğu 3 baz çiftinden büyük olduğunda, yük taşıma mekanizmasının tünellemeden (coherent tunneling) sıralı atlamaya (sequential hopping) dönüştüğü gözlemlenmiştir (Li vd., 2001; Endres vd., 2004).

1974'ten beri, molekülleri tek tek bir elektronik devreye bağlamak, aktif olarak takip edilen heyecan verici bir fikirdir (Aviram ve Ratner, 1974). 2003 yılına kadar birçok grup tarafından bununla ilgili yapılan çalışmalar (Chen vd., 1999; Gittins vd., 2000; Collier vd., 2002; Liang vd., 2002) bulunsa da iki elektrot arasında kovalent bağlı bir molekülün direncinin ne olduğu o zamana kadar bilinmiyordu. 2003'te Xu ve Tao tarafından tek bir molekülün iletkenliğini ölçmek için tarama tünelleme mikroskopu kırılma jünksiyonu (Scanning Tunneling Microscope – Break Junction, STM-BJ) tekniği geliştirildi ve moleküllerin dirençlerinin ölçülebildiği gösterildi (Xu ve Tao, 2003). Bu yöntemde, metal bir yüzey üzerinde yatan molekül ile metal bir uç temas ettirilir. Molekül hem metal yüzeyine hem de uca kovalent olarak bağlanabilecek şekilde bağlayıcı gruplarla fonksiyonelleştirilir. Böylece, uç ile yüzey arasındaki boşluk molekül ile doldurulur ve metal-molekül-metal jünksiyonu oluşturulur. Daha sonra uç yavaşça yüzeyden çekilir ve bu sırada iletkenlik devamlı olarak ölçülür. İşlem

binlerce kez tekrarlanarak molekülün iletkenliğinin analiz edilebileceği iletkenlik histogramları elde edilir (Şekil 1.11).



Şekil 1.11: STM-BJ yöntemine genel bakış (Url-10). a) STM düzeneği, b) Yapılan ölçümlerin bir tanesi, c) Binlerce ölçümden elde edilen iletkenlik histogramları.

DNA'nın doğası gereği iletken bir nanomalzeme olup olmadığı sorusu hala çözülemeyen bir konudur. Literatürde bulunan deneysel sonuçlar birbirlerinden oldukça farklıdır. Yalıtkan (Braun vd., 1998; de Pablo vd., 2000; Storm vd., 2001; Zhang vd., 2002), yarı iletken (Porath vd., 2000), iletken (Fink ve Schonberger, 1999; Cai vd., 2000; Tran vd., 2000; Rakitin vd., 2001; Yoo vd., 2001) ve hatta süperiletken (Kasumov vd., 2001) olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Bunun sebebi, deney sonuçlarının bağlı olduğu çok sayıda değişkenin (deneysel koşullar) olmasıdır. Ayrıca DNA molekülünde iletkenlik, DNA'nın sekansına, uzunluğuna, ortamda bulunan iyonlarla olan etkileşimine ve iletkenlik ölçümünün alındığı cihazlara bağlı olarak değişebilir.

1.6 DNA Origami Uygulamaları

DNA Origami nanoyapıları ile ilgili literatürde birçok çalışma bulunmaktadır. Bu bölümde yapılan çalışmalara kısaca değinilecektir. Chen ve çalışma arkadaşları, üçgen DNA origami nanoyapılarının kararlılıklarını mika yüzeyi ve solüsyon içerisinde AFM ölçümleri kullanarak karşılaştırmışlardır (Chen ve Seeman, 1999). Yaptıkları farklı deneyler sonucunda, origaminin bir yüzey ile teması sonucunda bağlayıcı DNA hareketlerinin engellenmiş olabileceği ve bu nedenle serbest solüsyon içerisinde rahatça bağlayıcı DNA'lar ayrılabilirken, yüzey olması durumunda DNA'ların açılmalarının/ayrılmalarının azalmış olabileceği yorumunu çıkarttılar. Böylece yüzey bulunması durumunda DNA origamilerin kararlılıklarının arttığı savunuldu. Bir başka

çalışmada Kielar ve arkadaşları (Kielar vd., 2018) tarafından, DNA origaminin katı-sıvı ara yüzeyindeki kafes oluşumunu incelendi ve oluşan kafes düzeninin Mg^{2+} iyonu konsantrasyonuna bağlı olduğu bulundu. Düşük konsantrasyonlarda (0, 25 mM) rastgele kafes ve düzensiz tek katman oluşumu gözlemlerken, çok yüksek Mg^{2+} konsantrasyonlarında (75, 100 mM) DNA origaminin yüzey etkileşimlerinin azaldığı raporlandı. Ancak orta düzeylerde Mg^{2+} konsantrasyonu (50 mM) kullanılması durumunda yüksek sıralı DNA origami kafesleri elde edilmiştir. Literatürde yapılan başka bir çalışmada DNA origami nanoyapılarının lipit çift tabakası ile desteklenip kendi kendine bir araya gelmesi çalışılmıştır. Yüksek hızlı AFM ile yapılan deneylerde DNA origami yapılarının, iki değerlikli katyonların varlığında lipit çift tabakası üzerine elektrostatik etkileşimler ile absorbe edilebileceği gösterildi. Bir başka çalışmada ise (Park vd., 2006), iki boyutlu DNA origami kafeslerinin mika yüzeyindeki difüzyonları incelenmiş ve DNA boyutunun ve geometrisinin DNA – mika etkileşimleri üzerinde önemli etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bu sebeple de çift sarmal DNA – mika etkileşimleri ile DNA origami – mika etkileşimlerinin tahmin edilmesinin zor olduğu vurgulanmıştır. 2018 yılında Langmuir dergisinde yayımlanan bir makalede (Brassat vd., 2018) nano delik dizileri üzerinde DNA Origami nanoyapılarının adsorpsiyonu ile ilgili çalışmalar sunuldu. DNA origami adsorpsiyonunun nanogözeneklerin altındaki açıkta kalan SiO_2 alanları üzerindeki etkinliği, Mg^{2+} ve DNA origami konsantrasyonları, tampon gücü, adsorpsiyon süresi ve nanogözenek çapı gibi çeşitli parametrelere bağlı olarak kontrol edilebileceği gösterildi. Farklı bir çalışmada (Aghebat vd., 2014) yine mika yüzeyi üzerinde yapılan deneylerde, Mg^{2+} iyonlarının Na^+ iyonları ile değiştirilmesi sonucunda, origami nanoyapılarının yüzey difüzyonlarının arttığı, sıkı ve düzenli tek katmanlar oluşturabildiği raporlandı. Bir başka çalışmada ise, SiO_2 yüzeyine dikdörtgen şeklindeki DNA origamilerin adsorpsiyonu çalışıldı (Albrechts vd., 2010) ve farklı pH ve Mg^{2+} konsantrasyonlarında DNA origami nanoyapılarının yüzeye tutunmalarının veriminin değiştiği ve istenilen uygulamaya göre bu parametreler ile kontrol edilebildiği raporlandı. Literatürde bu çalışmalar ile DNA origami nanoyapılarının yüzey ile etkileşimlerinde iyon tipi ve konsantrasyonlarının büyük önemi olduğu görülmektedir. DNA origami nanoyapılarının kararlılığını bozan, yapıya zarar veren koşullardan en yaygın ve sorunlu olanlardan bir tanesi sıcaklıktır. Tipik çift sarmal bir DNA'nın erime sıcaklığı genellikle 80 °C'den küçüktür (Owczarzy vd., 2004). Şu ana kadar yapılan çalışmalardan sadece dört tanesi direkt termal özelliklerin incelendiği

çalışmalar olmuştur. Bunlardan, Wei ve arkadaşları, boyalarla etiketledikleri DNA ipliklerinin tavlama ve eritme işlemlerine tabi tutarak floresan rezonans enerji transferi (FRET) verimliliğindeki değişiklikleri incelediler (Wei vd., 2013). Bu yöntemle, DNA origami nanoyapıların iç bölgelerinin uç bölgelere göre sıcaklık değişimlerine daha dayanıklı olduğu gösterildi. Deneylerinde kullandıkları DNA origami nanoyapısının yaklaşık 50 °C'de parçalanmaya başladığı ve 70 °C'de tamamen denatüre olduğunu raporladılar. Pillers ve Lieberman, AFM ve X-ışını fotoelektron spektroskopisini kullanarak mika üzerinde DNA origami nanoyapılarının termal davranışlarını inceledi ve yapıların 150 °C'ye kadar üç boyutlu şablonlarını koruyabildiklerini gösterdiler (Pillers ve Lieberman, 2014). Bir diğer çalışmada ise 2 boyutlu DNA origami yapısının ısıtma ve soğutma işlemlerine tabi tutularak, termal davranışları incelendi ve sonuç olarak 55 °C'lerde deformasyonunun başladığı, 75 °C'lerde ise nanoyapıların tamamen bozulduğu sunuldu. Bir başka çalışmada (Kim vd., 2014), araştırmacılar DNA nanoyapılarının şeklinin hem argon gazı hem de hava atmosferi altında 200 °C'ye kadar korunabildiğini ve 200 °C'nin üzerinde ise DNA nanoyapısının ayrıştığını raporladılar. DNA sarmallarının bir araya gelerek bir origami nanoyapısı oluşturabilmesi için genellikle mM konsantrasyonlarında Mg^{2+} ile takviye edilmiş Tris-asetat-EDTA (TAE) tamponuna ihtiyaç vardır (Ramakrishnan vd., 2018). Fakat bu koşullar her uygulama ve özellik için uygun olmayabilir. Bu nedenle farklı çevresel koşullar altında DNA origami nanoyapılarının kararlılıkları ve denatürasyonları ile ilgili çeşitli deneysel çalışmalar bulunmaktadır. Bir çalışmada, Kieler ve arkadaşları, düşük Mg^{2+} tampon solüsyonlarında DNA origami nanoyapılarının kararlılığını araştırdılar (Kieler vd., 2018). DNA origami nanoyapısının kararlılığının, elektrostatik itmeyi engellemek için ortamdaki Mg^{2+} iyonlarının mevcudiyetine önemli ölçüde bağlı olduğu gösterildi. Ortamda EDTA ve fosfat iyonlarının bulunması durumunda ise Mg^{2+} iyonlarının DNA omurgasındaki yoğunluğunu değiştirerek DNA origami nanoyapılarının denatürasyonunu kolaylaştırabileceği raporlandı. Ayrıca yine bu çalışmada DNA origami nanoyapısının tasarımının ve şeklinin değişmesi ile bu davranışların değiştiği sunuldu. Başka bir çalışmada, Wang ve arkadaşları, lizozim, taumatin, insan serum albümini ve katalaz gibi proteinlerin kristalizasyonu için tipik olarak kullanılan çeşitli tampon çözeltilerinde DNA origami nanoyapılarının kararlılıklarını AFM kullanarak inceledi (Wang vd., 2015). Bu çözeltilerde DNA origami yapılarında tamamen bozulmamış bir yapı ile karşılaşılma bir araya gelen DNA origami nanoyapılarının başarıyla katalaz protein kristalizasyon bulunan

çözeltiye aktarılabilceği gösterildi. Yine aynı çalışmada, DNA origami nanoyapılarının 200 mM Ca^{2+} , K^+ ve NH_4^+ içeren ve Na^+ içermeyen çözeltilerde denatüre olduğu, 200 mM Mg^{2+} içerisinde ise formunu koruyabildiği ortaya çıkarıldı. Ayrıca pH'ın 5 ile 10 arasında olması durumunda DNA origami nanoyapılarının kararlı durabildiği ancak pH 4'te denatürasyona uğradığı gözlemlendi. Kim ve arkadaşları, üçgen şeklindeki DNA origami nanoyapılarının, en az 24 saat boyunca etanol, toluen gibi yaygın organik çözücülerde kararlı olduğunu gösterdiler. Yine aynı çalışmada DNA origami nanoyapılarının pH 7–11 aralığında kararlı olduğu ve bu aralığın üzerindeki veya altındaki pH değerlerinde genel yapının deformasyona uğradığı bildirildi. 2015'te yayımlanan bir çalışmada ise sprey kaplama yöntemi ile ortamda hiçbir tuz bulunmadan DNA origami nanoyapılarının oluşturulabileceği raporlandı (Linko vd., 2015). Bir başka çalışmada, Ramakrishnan ve çalışma arkadaşları (Ramakrishnan vd., 2017), üçgen DNA origami nanoyapılarını 7 M üre içerisinde farklı NaCl ve MgCl_2 konsantrasyonlarında (NaCl için 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 ve 1.5 M; MgCl_2 için 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 ve 0.25 M) AFM ile 1 saat gözlemlədiler ve 7 M üre ile 1.5 M NaCl içerisinde en kararlı nanoyapıları oluşturduklarını raporladılar. Tüm bu çalışmalarda özellikle Mg^{2+} iyonunun sıklıkla kullanıldığı ve DNA origami nanoyapılarını oluşturma ve bir arada tutmada önemli bir yeri olduğunu göstermektedir.

DNA origami nanoyapılarının geçiş bölgeleri, yapısal ve mekanik özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Literatürde DNA origami nanoyapılarının mekanik özellikleri üzerine farklı çalışmalar yapılmıştır. Bunlardan bir tanesinde, üçgen bir DNA origamisinin küresel ve konumsal mekanik özelliklerini araştırmak için kapsamlı kaba taneli (coarse-grained) moleküler dinamik simülasyonları kullanıldı (Suma vd., 2020). Çalışmada, DNA origami üçgen nanoyapısının iç bükey ve dış bükey olmak üzere iki yarı kararlı modunun mevcut olduğu gösterildi. Yapı içerisinde dört adet bağlayıcı DNA eksiltilmesi üzerine, serbest enerji bariyerindeki azalma nedeniyle iki durum arasındaki karşılıklı dönüşüm oranının arttığı, aynı bölge üzerinden sekiz adet bağlayıcı DNA çıkarıldığında ise yarı kararlılığın tamamen kaybolduğu raporlandı.

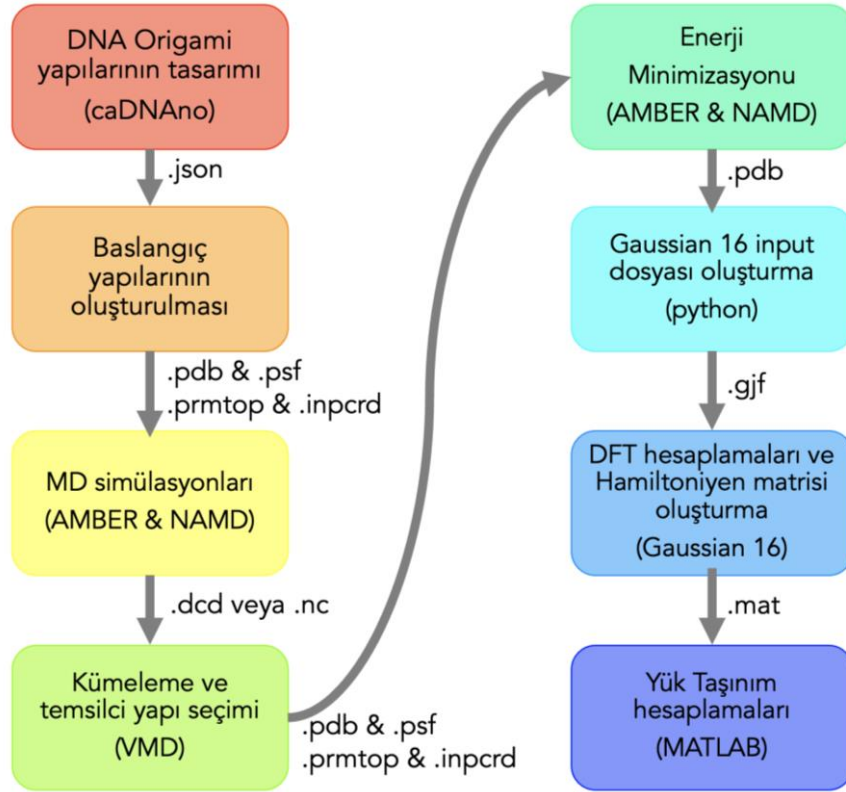
DNA origami yapıları direkt elektronik devre elemanı olarak kullanılabileceği gibi, akımın ölçülebildiği bir nanogözenek (nanopore) olarak da kullanılması üzerine yapılan çalışmalar bulunmaktadır. Nanogözenekler, son yirmi yılda tek moleküllü deneysel iletkenlik ve biyomolekül algılamada önemli bir teknik haline geldi. DNA

origami, geometri ve yüzey işlevselliği üzerinde hassas kontrol ile üç boyutlu şekillerin oluşturulmasını sağladığı için nanogözeneklerin oluşumu için ilgi çekici bir tekniktir. DNA origami, katı hal nanogözenekler ile melez mimariler oluşturularak ve lipit çift katmanlarına doğrudan yerleştirme yoluyla nanogözenek araştırmalarına konu olmaya devam etmektedir. Buradaki temel fikir, iki elektrolit solüsyonunu ayıran tek bir nano ölçekli gözenek boyunca bir voltaj uygulamak ve ortaya çıkan iyonik akımı ölçmektir. Algılama işlemi, gözenekteki iyonların yer değişmesi ile gerçekleşir. Böylece, moleküllerin ve iyonların taşınmasını kontrol etmek için hücre zarlarına giren zar proteinlerinin davranışı taklit edilir. DNA'nın yüklü fosfat omurgası hidrofiliktir ve bu nedenle DNA nano yapısı, lipit çift tabakasında bir delik oluşturmanın büyük serbest enerjisini aşabilmek için hidrofobik kimyasal gruplarla dekore edilmelidir. Langecker ve arkadaşları (Langecker vd., 2012), bir DNA origami yapısına 26 kolesterol etiketli oligonükleotid bağlayarak 2 nm genişliğinde ve 42 nm uzunluğunda bir gözenek oluşturdu. Burns ve arkadaşları (Burns vd., 2013), 2 nm genişliğinde ve 15 nm uzunluğunda DNA tabanlı bir nanogözenek oluşturdu. Bu küçük nanogözenek, içi boş bir DNA tüpü oluşturmak üzere tasarlanmış 14 sentetik nükleotidin karıştırılmasıyla yapıldı. 2.2 nm uzunluğunda bir hidrofobik motif halkası oluşturmak için seçilen 72 pozisyonda fosfat gruplarının yerine etil ile modifiye edilmiş fosforotioat grupları yerleştirildi. Lipit çift katman arasına yerleştirilen bu DNA nanogözeneklerin iyonik akım ölçümleri sonucunda yaklaşık 0,4 nS iletkenlik değerine sahip olduğu bulundu.



2. TEORİK MODEL VE YÖNTEM

Çift sarmal DNA ve DNA origami yapıları için kararlılık analizleri ve yük taşınımı hesaplamaları Şekil 2.1'de gösterilen şemadaki adımlar izlenerek uygulanmıştır. İlk olarak, yapıların içinde bulunduğu çözelti ile konformasyonel araştırma moleküler dinamik (MD) simülasyonları ile gerçekleştirildi. Bu tez kapsamında, MD simülasyonları için kullanılan DNA origami yapıları, caDNAo programında tasarlandı. Yapılar daha sonra, MD simülasyonlarında kullanılabilmesi için, Yoo vd. (Yoo vd., 2016) tarafından geliştirilen “cadnano to PDB File Converter” web programı ile üç boyutlu atom PDB formatına dönüştürüldü. Yapılar simülasyonun amacına göre AMBER 16 (Case vd., 2016) ya da NAMD (Phillips vd., 2005) programları ile modellendi.



Şekil 2.1: Bu tez kapsamında kullanılan modelleme yöntemleri akış şeması.

MD simülasyonlarını temsil eden yapılar kümeleme yöntemi ile seçilerek enerji minimizasyonuna tabi tutuldu. Ardından, yoğunluk fonksiyonel teorisi (DFT) hesaplamaları gerçekleştirildi. Bu adımda DNA moleküllerinin içerisinde bulunduğu çözücü molekülleri ve karşıt iyonları çıkartıldı. DFT hesaplamaları için Gaussian 16

(Frisch vd., 2016) programı kullanıldı. DFT hesaplamaları sonucunda yük taşınım hesaplarında kullanılmak üzere Hamiltoniyen matrisi elde edildi. Bu tez kapsamında kullanılan yük taşınım hesaplamaları modeli ortak çalışma gruplarımızdan M.P. Anantram ve grubu tarafından ortaya çıkarılmıştır (daha fazla ayrıntı için teşekkür bölümüne bakınız).

Tezin bu bölümünde, MD, DFT ve yük taşıma modeli için geçerli denklemleri içeren kısa bir arka plan açıklandı ve daha sonra model parametreleri ile ilgili ayrıntılar sunuldu.

2.1 Moleküler Dinamik (MD) Simülasyonları

MD simülasyonları atomların ve moleküllerin hareketlerini incelemek için kullanılan bir modelleme tekniğidir. MD simülasyonları boyunca, parçacıkların, atomların ve moleküllerin belirli bir süre boyunca birbirleri ile etkileşime girmesine izin verilir. Böylece sistemin dinamik değişimine bir bakış sağlar. MD simülasyonlarında, parçacıklar arasındaki kuvvetler ve potansiyel enerjiler kuvvet alanları (force fields) kullanılarak hesaplanır ve etkileşen parçacıkların her biri için Newton'un hareket denklemi zaman adımı kullanılarak numerik olarak çözülür. Buradaki zaman adımı, simülasyonların doğruluğunu ve hesaplama verimliliğini belirleyen önemli bir parametredir. MD simülasyonları, gerekli termodinamik koşullara göre mikrokronik (NVE), kanonik (NVT) veya izotermal ortamda (NPT) gerçekleştirilebilir. Burada N parçacık sayısını, V hacimi, T sıcaklığı, E toplam enerjiyi ve P ise basıncı temsil eder. NVE koşullarında N, V ve E korunur. NVT koşullarında N, V ve T korunur. NPT koşullarında ise N, P ve T parametreleri korunur. MD, kimya, fizik, malzeme bilimi ve biyofizik gibi alanlarda yoğun bir şekilde kullanılan bir yöntemdir.

Kuvvet alanları (force fields), bir MD sistemin enerjisinin, parçacıklarının koordinatlarına bağımlılığını tanımlayan matematiksel ifadelerdir. Parametreler tipik olarak *ab initio*, yarı ampirik kuantum mekaniği hesaplamalarından ya da nötron, X-ışını ve elektron kırınımı, NMR, kızılötesi, Raman ve nötron spektroskopisi, vb. gibi deneysel veriler kullanılarak hesaplanır/elde edilir (Gonzalez vd., 2011). Literatürde, farklı karmaşıklık derecelerine sahip ve farklı sistem türlerini modellemek için geliştirilen birçok kuvvet alanı mevcuttur. Fakat hepsi tipik olarak şu ifade ile tanımlanabilir:

$$U = \sum_{bağlar} \frac{1}{2} k_b (r - r_0)^2 + \sum_{açılar} \frac{1}{2} k_a (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{dihed.} \frac{V_n}{2} [1 + \cos(n\phi - \delta)] + \sum_{LJ} 4\varepsilon_{ij} \left[\frac{\sigma_{ij}^{12}}{r_{ij}^{12}} - \frac{\sigma_{ij}^6}{r_{ij}^6} \right] + \sum_{elek.} \frac{q_i q_j}{r_{ij}} \quad (2.1)$$

Bu denklemdeki ilk dört terim, toplam enerjiye molekül içi katkıları (bağ gerilmesi, açı bükülmesi ve dihedral burulmalar) ifade eder. Son iki terim ise van der Waals (12-6 Lennard-Jones potansiyeli) ve itme (Coulombic etkileşimler) etkileşimlerini tanımlar.

Kuvvet alanlarını kullanarak sistemde var olan her bir atoma etki eden kuvveti bulmak için denklem 2.2 kullanılır. Böylece sistemdeki toplam potansiyel enerji bilinirse bir parçacığın Δt süre sonrasında nerede olacağı bulunabilir. Her bir atomun zamana bağlı konumlarını bulmak için denklem 2.3 numerik olarak çözülür.

$$F(\vec{r}_i) = -\nabla U(\vec{r}_i) \quad (2.2)$$

$$F_i = m_i a_i = \frac{d^2 r_i}{dt^2} \quad (2.3)$$

MD simülasyonlarında en hızlı hareket hidrojen atomunun bağ titreşim hareketi olduğu için Δt zaman aralığı 0.5 ile 2 femtosaniye arasında alınır. MD simülasyonlarında her bir atom için koordinatlar her adımda kaydedilir. Simülasyon çıktıları ile analizler gerçekleştirilerek moleküllerin çeşitli konformasyonları ve termodinamik davranışları incelenebilir.

2.2 Yoğunluk Fonksiyonel Teorisi (DFT) Hesaplamaları

DFT moleküllerin ve farklı malzemelerin elektriksel özelliklerini ve yapısını araştırmak için kullanılan bir modelleme yöntemidir. Malzeme bilimi, kimya ve fizik gibi alanlarda yaygın olarak kullanılır. DFT, temel durum elektron yoğunluğunu belirleyerek bir sistemin elektronik özellikleri hakkında bilgi verir. Bu bölümde, DFT'nin temel konusu ile matematiksel formülasyonu ve uygulamaları ele alınacaktır. Kuantum mekaniğinde bir sistemdeki elektron pozisyonları ve enerjileri Schrödinger denkleminin (denklem 2.4) çözülmesi ile bulunur (Parr ve Yang, 1989). Bu denklemde H ve E sırasıyla çok atomlu sistemin Hamiltoniyenini ve toplam enerjisini temsil eder. Çok atomlu dalga fonksiyonu Ψ ile gösterilir ve çekirdek (R) ve elektronların

(r) konumlarının bir fonksiyonudur. Denklem 2.5'te Born-Oppenheimer yaklaşımı ile N elektronlu bir sistemin Hamiltoniyenin matematiksel formülasyonu verilmiştir. Bu denklemin ilk terimi kinetik enerjiyi, ikinci terimi potansiyel enerjiyi ve üçüncü terim ise dış potansiyele bağlı etkileşim enerjisini belirler.

$$H\Psi(R, r) = E\Psi(R, r) \quad (2.4)$$

$$H = -\sum_i^N \left(\frac{\hbar}{2m_i} \nabla_i^2 \right) + \sum_{i<j}^N \frac{e^2}{|r_i - r_j|} + \sum_i^N V_{ext}(r_i) \quad (2.5)$$

Çok elektronlu sistemler için bu denklem analitik olarak çözülemez. Numerik olarak çözümü teorik olarak mümkün gözükse de pratikte mümkün değildir. Bu nedenle, DFT çok elektronlu sistemler için Schrödinger denklemi çözümüne yakınsayan sonuçlar verir.

DFT hesaplamalarında elektronlar arasındaki etkileşimler elektron yoğunluğu kullanılarak sonuçlara dahil edilir. DFT'nin temelleri Hohenberg-Kohn teoremlerine dayanmaktadır. Bunlar, elektron yoğunluğunun $\rho(r)$, sistemin temel durum özelliklerini belirlemesi ve enerjiyi en aza indiren elektron yoğunluğunun temel durum yoğunluğu olmasıdır.

Bu teoremlerle Kohn-Sham denklemi aşağıdaki formu alır:

$$\left[-\frac{\hbar}{2m} \nabla^2 + V_{eff}(r) \right] \Psi_i(r) = \varepsilon_i \Psi_i(r) \quad (2.6)$$

Yukarıdaki denklem tek parçacık için yazılmış olup denklem 2.5'teki karmaşıklığı azaltır. Burada $V_{eff}(r)$ efektif potansiyel olup denklem 2.7'de verilmiştir. Bu denklemin ikinci terimi elektronlar arasındaki Coulomb itmesini tanımlar ve üçüncü terim değişim-korelasyon (exchange correlation) potansiyelidir.

$$V_{eff}(r) = V_{ext}(r) + \int \frac{\rho(r')}{|r - r'|} dr' + V_{XC}[\rho(r)] \quad (2.7)$$

Bu denklemde $\rho(r)$ şu şekilde tanımlanır:

$$\rho(r) = \sum_{i=1}^N |\Psi|^2 \quad (2.8)$$

Kohn-Sham denklemi, elektron yoğunluğu için verilen ilk tahmin ile kendi kendine tutarlı (self-consistent, SCF) bir şekilde çözülür. DFT yönteminin en büyük problemi, serbest elektron gazı dışında değişim-korelasyon için tam fonksiyonellerin bilinmemesidir. Bunların hesaplanması için çeşitli yaklaşımlar mevcuttur ve bu konuda ayrıntılı bilgiler Burke ve Wagner'in (Burke, 2013) inceleme makalesinden edinilebilir.

DFT hesaplamalarının gerçekleştirilebilmesi için farklı yazılımlar geliştirilmiştir. Bunlardan en çok bilinenleri GAMESS (Schmidt, 1993), VASP (Kresse, 1996), SIESTA (Soler, 2002), Gaussian (Frisch, 2016) ve PySCF (Sun, 2018)'dir. Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarda Gaussian 16 kullanılmıştır.

2.3 Yük Taşınım Modeli

Bu tez kapsamında M.P. Anantram ve grubu tarafından geliştirilen yük taşınım modeli kullanılmıştır. Bu bölümde, modelin ayrıntıları özetlenecektir ve model ile ilgili daha fazla bilgi M.P. Anantram'ın makalelerinde (Anantram, M. P. vd., 1995; Mehrez, H. vd., 2005; Anantram, M. P., vd., 2008; Qi vd., 2013) bulunabilir.

Yük taşınım hesaplamaları için öncelikle DFT hesaplamaları sonucunda Gaussian 16 yazılımından Fock (H_0) ve Overlap (S_0) matrisleri elde edilir. Matrisler elde edildikten sonra literatürde yaygın bir şekilde kullanılan Löwdin dönüşümü uygulanır ve orthogonal Hamiltoniyen (H_{ort}) matrisi denklem 2.9 ile elde edilir. Bu matriste çapraz elemanların her bir atom üzerindeki enerji seviyelerini ve çapraz olmayan elemanlar ise her bir atom orbitallerin aralarında atlama (hopping) parametresini temsil etmektedir.

$$H_{ort} = S_0^{-\frac{1}{2}} H_0 S_0^{-\frac{1}{2}} \quad (2.9)$$

Daha sonra H_{ort} matrisi her bir atomu temsil edecek şekilde ve her bir atoma dekoherans uygulanabilmesi için aşağıdaki denklem ile çaprazlaştırılır:

$$H = U^\dagger H_{ort} U \quad (2.10)$$

Burada dekoherans DNA sisteminde dolaşan yükün çevre ile etkileşime girip faz bilgisini veya enerjisini kaybetmesini temsil eder. Denklem 2.10 ile, sistemin

dekoherans ve elektrot bağlantı enerjileri kullanılarak rötarde Green fonksiyonu (G^r) hesaplanır:

$$G^r = \frac{1}{[E - (H + \Sigma_L + \Sigma_R + \Sigma_B)]} \quad (2.11)$$

Denklem 2.11’de verilen E enerji seviyesini, H denklem 2.10’da tanımlanan Hamiltoniyeni, Σ_L ve Σ_R DNA’nın iki ucundaki elektrot etkileşimini tanımlar. Σ_B ise dekoherans özelliği tanımlamak için kullanılan Buttiker enerjisidir. Bu tez kapsamında yapılan hesaplamalarda elektrot enerjileri 600 meV ve Buttiker ucu enerjisi 10 meV olacak şekilde kullanılmıştır. Bu parametler daha önceki yapılan çalışmalardan (Qi vd., 2014; Qi vd., 2015; Artés vd., 2015; Li vd., 2018; Mohammad vd., 2021) seçilmiştir. Daha sonra, her bir Buttiker ucundaki akım ise denklem 2.12 ile hesaplanır.

$$I_i = \frac{2q}{h} \sum_{j=1}^N T_{ij}(E) [\mu_i - \mu_j], \quad i = 1, 2, 3, \dots, N \quad (2.12)$$

Denklem 2.12’de, T_{ij} i ve j problemleri arasındaki iletim olasılığını temsil eder ve

$T_{ij} = \Gamma_i G^r \Gamma_j G^a$ şeklinde hesaplanır. $G^a = (G^r)^\dagger$ ise gelişmiş Green fonksiyonudur.

N sistemdeki toplam atom sayısını tanımlar.

Daha sonra, i ’inci Buttiker probunun kimyasal potansiyelini aşağıdaki denklemle hesaplanır. Burada N_b toplam Buttiker ucu sayısını temsil eder. Toplam atom sayısından elektrot ile temas halinde varsayılan atom sayısının çıkarılmasıyla bulunur ($N_b = N - 2$).

$$\mu_i - \mu_j = \left(\sum_{j=1}^{N_b} W_{ij}^{-1} T_{jR} \right) (\mu_R - \mu_L), \quad i = 1, 2, 3, \dots, N \quad (2.13)$$

Denklem 2.13’te W_{ij}^{-1} , $W_{ij} = [(1 - R_{ii})\delta_{ij} - T_{ij}(1 - \delta_{ij})]$ ifadesinin tersidir.

Sağ ve sol elektrotlar üzerinden geçen etkin yük geçişi olasılığı denklem 2.14’te gösterildiği gibi elde edilir.

$$T_{eff} = T_{LR} + \sum_{i=1}^{N_b} \sum_{j=1}^{N_b} T_{Li} W_{ij}^{-1} T_{jR} \quad (2.14)$$

Denklem 2.13'te T_{LR} sağ ve sol elektrotlar arasındaki koherans yük taşınımını temsil eder. İkinci terim Buttiker uçları ile hesaplanan dekoherans katkısıdır. Buradan molekül üzerindeki iletkenlik şu şekilde tahmin edilebilir: $G = G_0 T_{eff}$. Bu eşitlikte G_0

kuantum iletkenliğini temsil eder ve değeri $G_0 = \frac{2e^2}{h} \approx 7.75 \times 10^{-5} \Omega^{-1}$ 'dir.

Her bir atom (m) üzerindeki durum yoğunlukları (DOS) farklı enerji seviyelerine (E) göre denklem 2.15'te gösterildiği gibi hesaplanır. İki boyutlu durum yoğunluğu grafikleri için her bir nükleotid atomlarının durum yoğunlukları toplanır ve o nükleotid için değeri bulunur.

$$DOS(m, E) = -\frac{1}{\pi} \text{Im} \left(G_m^r(E) \right) \quad (2.15)$$



3. BULGULAR VE TARTIŞMALAR

Uzun, tek iplikli bir DNA molekülünün, çok sayıda kısa iplikli DNA'larla birleştirilerek istenilen iki veya üç boyutlu nanoyapılar oluşturulmasına olanak vermesi son 20 yıldır nanoteknoloji alanında çığır açan bir konu oldu. Genel olarak "DNA Origami" adı verilen bu nanoyapılar, ilaç taşınımı, biyoalgılayıcı, plazmonik uygulamalar, inorganik malzeme sentezi, nanoelektronik ve nanorobotik gibi çeşitli alanlarda kullanım için yüksek potansiyele sahiptir. Ancak, bu uygulamaların sürdürülebilirliği ve ticari cihazlarda yer bulabilmesi için, elde edilen DNA origami nanoyapılarının yapısal kararlılıklarını ve bütünlüklerini koruması gerekir. Örneğin, bir ilaç taşınımı uygulaması için tasarlanmış origami yapısı vücut içerisinde farklı biyolojik ortamlarda (pH, tuz konsantrasyonu, etc.) da istenilen özellikleri gösterebilmesi ve moleküler yapısını koruyabilmesi gerekir. Molekül tabanlı cihaz uygulamaları için DNA nanoyapıların belirli bir yüzeyde ve/veya belirli elektrotlar arasında kararlı bir şekilde durması ve hatta üretim aşamalarında bir yüzeyden başka yüzeylere yapı ve fonksiyonlarının bozulmadan aktarılabilmesi istenir. Bu nanoyapıların üretimi, karakterizasyonu ve tasarımı birçok deneysel ve teorik çalışmanın odağı olmuş ve olmaktadır. Konunun yeniliği ve çalışmalar sırasında farklı DNA origami nanoyapıların kullanılması ve deney yapan grupların birbirlerinden farklı (sekans, pH, iyon tipi ve konsantrasyonu, sıcaklık vb.) kullanmaları yapı-kararlılık ilişkisinin anlaşılmasını zorlaştırmaktadır. Bu ilişkilerin araştırılmasında yardımcı olabilecek teorik çalışmalar ise literatürde oldukça azdır. Bunun en önemli sebebi, hem yapıların bilgisayar modellemeleri için (uzun MD simülasyonları ve özellikle DFT çalışmaları) oldukça büyük olması hem de araştırmacıların daha çok uygulama üzerine yoğunlaşmış olmasıdır. Sonuç olarak, literatür, DNA origami nanoyapıların yapısal kararlılıklarının ve DNA origami tabanlı cihazların geliştirilmesine yönelik özelliklerin araştırılması konularında eksiklikler içermektedir. Bu tezin amacı, DNA origami nanoyapıların yapısal dayanıklılığını etkileyen temel faktörleri anlamak ve hem yapısal ve elektronik özellikleri kontrol edilebilen hem de farklı ortam koşullarında yapısal kararlılığını koruyabilen DNA origami nanoyapıların geliştirilmesine katkı sağlamaktır. Bu amaca ulaşmak için, moleküler

dinamik simülasyonları, kuantum mekanik hesaplamaları ve yük taşınım hesaplamalarını içeren kapsamlı bir araştırma yürütülmüştür.

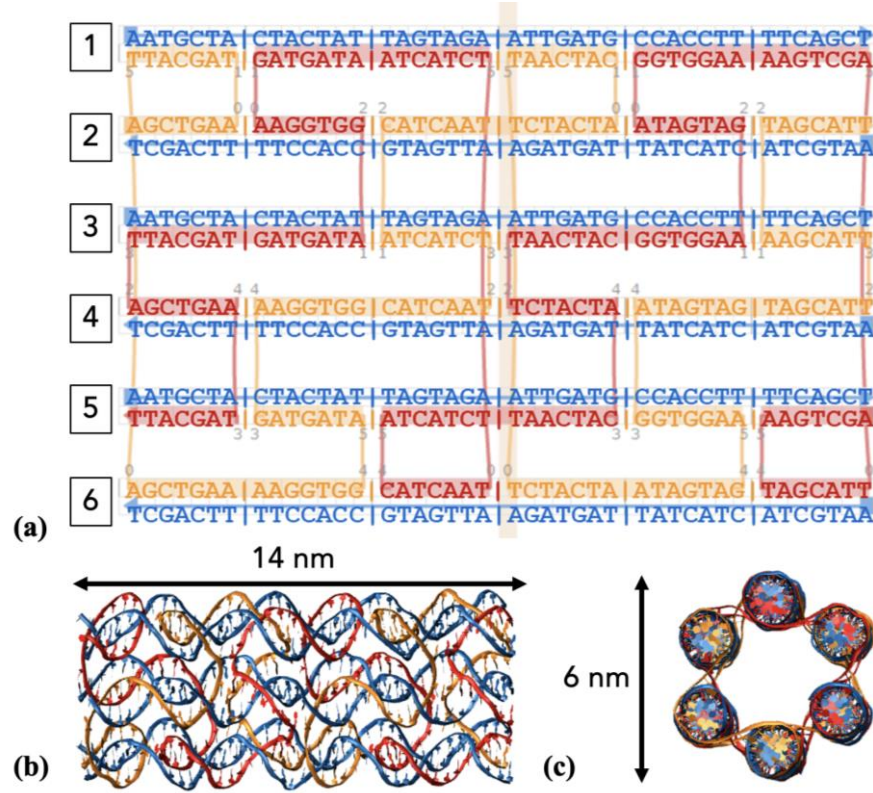
Bu bölümde, DNA origami yapıları ve dsDNA üzerinde yapılan moleküler dinamik simülasyonlarının (AMBER ve NAMD programları) ve elde edilen yapılar üzerinde gerçekleştirilen genişletilmiş Hückel metodu, yoğunluk fonksiyonel teorisi ve yük taşınım hesaplamalarının sonuçları detaylı bir şekilde verilmektedir.

3.1 DNA Origami Yapısına Altın (111) Yüzeyi Etkisi

Üretilen DNA origami nano yapılarının şekli giriş bölümünde de bahsedildiği gibi, AFM veya TEM kullanılarak karakterize edilir. Bunun için yapılar bir yüzey üzerine yerleştirilir ve tüm karakterizasyon işlemi boyunca, DNA origami yapıları bu yüzey ile etkileşim halindedir. Bu yüzden, oluşan yapıların kararlılığı konuldukları yüzey ile olan etkileşimleri ile doğrudan ilgilidir. Aynı şekilde, DNA origami yapıları entegre edildikleri uygulama alanlarında kullanım halindeyken de bir yüzey ile etkileşim halinde olabilir. Örneğin, DNA origaminin nanotel olarak bir elektronik cihazda kullanılabilmesi için DNA origamilerin bir yüzey ile bütünleşmiş olması gereklidir. Bu tez kapsamında örnek uygulama olarak altın (111) yüzeyinin origami nano yapılarının kararlılığındaki etkileri araştırıldı. Altın yüzeyi, kimyasal inertliği ve biyouyumluluğu nedeniyle biyoelektronik ve biyomedikal uygulamalar için önemli bir malzemedir. Bu nedenle simülasyonlarda bu yüzey üzerine odaklandı. Ayrıca kullanılan DNA sekansı deneysel olarak kolay üretilbildiği için seçildi (Rothmund, 2006).

İlk olarak, her biri 42 baz çifti uzunluğunda Şekil 3.1'de gösterilen 6'lı sarmal demetleri (6 HB) oluşturuldu. Şekil 3.1 a'da DNA sarmallarının sekansı gösterilmektedir. Mavi renkli iplikler iskelet DNA'yı diğer renklerden oluşan iplikler bağlayıcı DNA'ları belirtmektedir. Şekil 3.1 b ve c'de DNA origaminin üç boyutlu yapısı ve boyutları verilmektedir. Yapılan çalışmalarda, DNA origami, rastgele sarmal 5 ve 6 yüzeye gelecek ve altın (111) yüzeyi üzerine 3.5 Å yukarıda olacak şekilde yerleştirildi. Daha sonra, sistem karşıt Na⁺ iyonları eklenerek nötralize edildi. Su molekülleri de eklendikten sonra, AMBER 16 (Case vd., 2016) programı kullanılarak 50 ns MD simülasyonu gerçekleştirildi. Simülasyonlar sırasında, altın (111) yüzeyini tanımlamak için INTERFACE (Heinz vd., 2013), DNA molekülleri için bsc1 (Ivani vd., 2016) ve su molekülleri ve iyonlar için TIP3P (Jorgensen vd., 1983) kuvvet

alanları kullanıldı. Su molekülleri ve karşıt iyonlar, DNA molekülü 25 kcal/mol sınırlama kuvveti altındayken, 1000 adımda enerji minimizasyonuna tabi tutuldu. Daha sonra tüm sisteme 30000 adım enerji minimizasyonu uygulandı. Minimizasyon adımından sonra, DNA üzerine 25 kcal/mol sınırlama kuvveti uygulanırken sıcaklık 300 K'e 100 ps içerisinde yükseltildi. Ardından sistemin dengeye gelmesi için DNA üzerine 0,5 kcal/mol sınırlama kuvveti uygulanırken 50 ps simüle edildi. Bu adım ardından, tüm sistem, hiçbir sınırlama kuvveti uygulanmadan 2,5 ns dengeleme simülasyonuna tabi tutuldu.



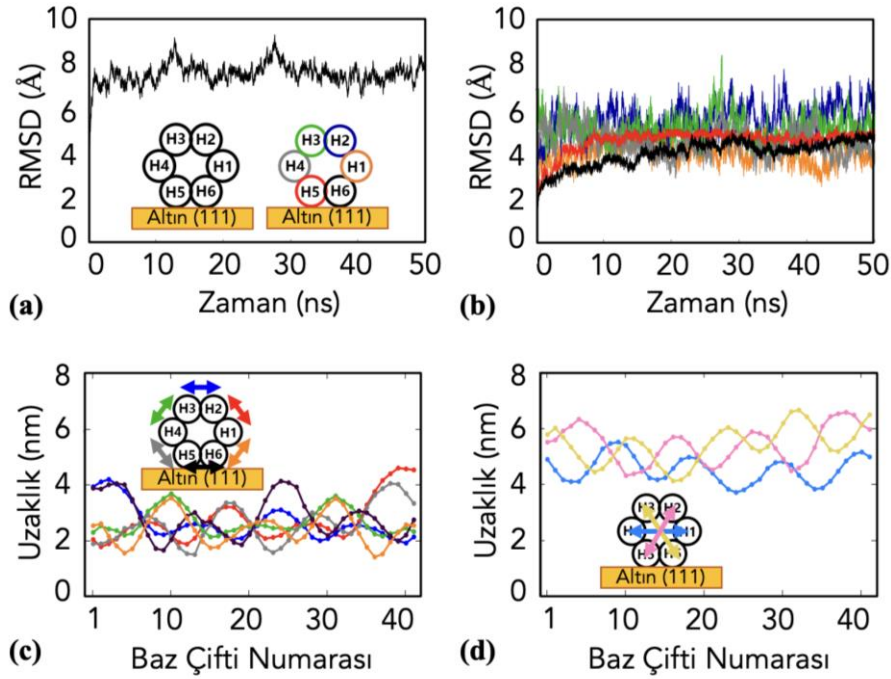
Şekil 3.1: Yüzey etkileşimlerinin araştırılması için kullanılan a) DNA origami yapısının caDNAno tasarımı, b) üç boyutlu yapısının yandan görünüşü, c) yukarıdan görünüşü.

En son adım olarak, 50 ns boyunca periyodik sınır koşulları altında MD simülasyonları gerçekleştirildi. Sabit basınç altında (NPT ensemble) gerçekleştirilen simülasyonlarda uzun menzilli elektrostatik etkileşimler için Particle Mesh Ewald (PME) algoritması ve van der Waals etkileşimleri için 10 Å kesme değeri (cutoff) kullanıldı. Simülasyon her 2 fs zaman adımı için hesaplandı ve kaydedildi.

Yapılardaki konformasyonel değişiklikleri değerlendirmek için RMSD hesaplamaları gerçekleştirildi. Başlangıç konformasyonlarına göre hesaplanan RMSD değerleri, DNA origami yapısının tamamının ve her bir sarmalı için Şekil 3.2 A ve B'de

gösterilmiştir. Altın yüzeyine en yakın olan sarmallar (sarmal 5 ve 6) yaklaşık 15 ns sonunda kararlılığa ulaşmıştır ve 1 – 2 Å değer aralığında salınım yapmaktadır. Bunun sebebinin, sarmalların yüzey ile bağlı olmayan (van der Waals) etkileşimlerinden dolayı hareketlerinin kısıtlanması olduğu düşünülmektedir.

Daha sonra, her bir sarmalın baz çiftleri arasındaki ortalama mesafeleri ölçülerek origami yapısının şeklinin ideal bal peteği yapısından ne kadar saptığı araştırıldı. Şekil 3.2 C ve D’de hem yan yana hem de karşılıklı sarmalların baz çiftleri arasındaki ortalama mesafeleri gösterilmektedir.



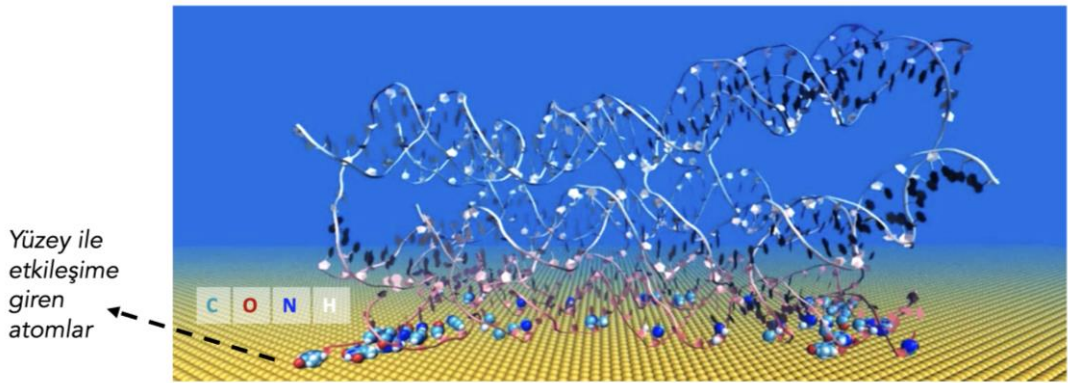
Şekil 3.2: Serbest haldeki a) 6 HB origami bütün yapının simülasyon başlangıcına göre RMSD değerlerinin değişimi, b) 6 HB origamide her bir sarmalın kendi başlangıç pozisyonuna göre RMSD değerlerinin değişimi, c) yapıdaki bitişik sarmallarda her bir baz çifti arasındaki ortalama uzaklıklar ve d) yapıdaki karşılıklı sarmalların her bir baz çifti arasındaki ortalama mesafeleri.

Grafiklere göre, bitişik sarmalların baz çiftleri arasındaki mesafeler 1,5 – 4,5 nm arasında değişmektedir. Geçiş bölgeleri (GB) etrafındaki baz çiftleri arasındaki mesafelerin yaklaşık 1,5 – 2 nm’ye kadar düştüğü, GB olmayan konumlarda ise 4,5 nm’ye kadar çıktığı görülmektedir.

Zıt sarmallar arasındaki mesafelere bakıldığında ise değerlerin 4 – 6 nm arasında değiştiği gözlemlendi. Sarmal 1 ve 4 arasındaki ortalama mesafe (şekil 3.2 D, mavi çizgi) diğer iki duruma göre daha kısadır. İdeal olarak, bir bal peteği kafes yapısında

karşılıklı sarmallar arasındaki mesafelerin aynı kalması beklenir. Burada görülen farklı uzaklıklar, origami yapısının şeklinin hem altın yüzeyi hem de çevresindeki su molekülleri ve iyonlarının varlığı ile değiştiğini göstermektedir.

Şekil 3.3'te simülasyon sonunda elde edilen DNA origami konformasyonunun görüntüsü verilmiştir. Yüzey ile etkileşimde olan DNA sarmallarının uç bölgelerden bozulduğu gözlemlenmektedir. DNA sarmallarının uçlarında bulunan baz çiftleri, tamamen pi-pi etkileşimleri ile çevrelenmiş değildir. Bu da uç baz çiftlerini sarmalların ortasındaki baz çiftlerinden daha az kararlı hale getirmektedir. Bu nedenle, bu simülasyonlarda da gösterildiği gibi DNA origamilerin, yüzey ile temas halindeyken, uç bölgelerden deformasyonlara uğrayabileceği düşünülmektedir.

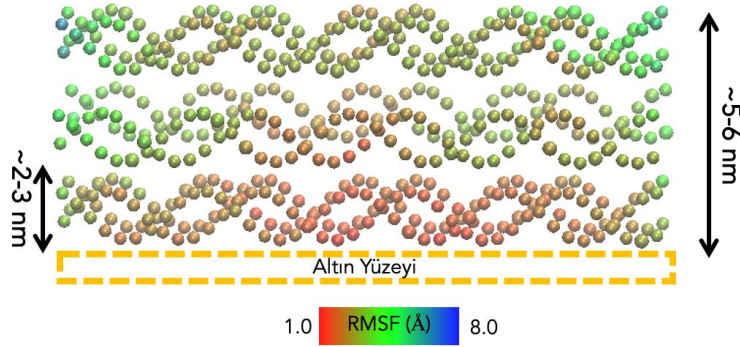


Şekil 3.3: 50 ns Altın yüzeyinde DNA origami simülasyonundan elde edilen konformasyon

DNA sarmallarının, yüzeyden kaynaklı değişimlerini daha iyi anlayabilmek için her bir nükleotidin DNA iskeletine bağlandığı karbon atomu üzerinden zamana göre ortalama salınımları (RMSF) incelendi. Hesaplanan RMSF değerlerini başlangıç yapısı üzerinde renklendirilmiş hali Şekil 3.4'te verilmiştir. Burada düşük RMSF değerleri (kırmızı renk) atomların az hareket ettiğini ve büyük RMSF değerleri (mavi renk) atomların çok hareketli olduğunu göstermektedir. Şekil 3.4'te yüzeye yakın sarmalların uç baz çiftleri dışında düşük RMSF değerlerine sahip olduğu, altın yüzeyinden yukarı doğru gidildiğinde, RMSF değerlerinin arttığı görülmektedir. En üst sarmalda en yüksek RMSF değerleri görülürken, orta bölgede bulunan sarmalların hem alttaki sarmallardan hem de üstteki sarmallardan etkilendiği görülmektedir.

Burada elde edilen bulgulara dayanarak, DNA origami tabanlı elektronik cihazlar üretme arayışında, çok önemli bir tasarım parametresi ortaya çıkıyor: yüzeye yakın

olan sarmalların dinamik değişimi yüzeyden daha uzakta bulunan sarmallardan daha düşük, ancak bu sarmallar daha yüksek deformasyona sahipler.



Şekil 3.4: 50 ns Altın yüzeyinde DNA iskelet atomlarının RMSF değerleri.

Bu bağlamda, yüzeyle etkileşimi nedeniyle DNA sarmalında gözlenen değişiklikler veya deformasyonlar, elektriksel iletkenliğin yönetilmesinde önemli bir rol oynayabilir. Bu nedenle bir sonraki bölümde, çift sarmal DNA'lar ile altın yüzeyi etkileşimi araştırılıp, DNA üzerindeki konformasyonel değişimlerin elektriksel iletkenlik üzerindeki etkileri incelendi.

3.2 Çift Sarmal DNA ile Altın (111) Arasındaki Etkileşimler ve Elektriksel İletkenliğe Etkileri

DNA nanoteknolojisinin temel amacı, genetik bir madde olan DNA'yı bir yapısal malzeme olarak kullanmaktır. DNA origami de nano ölçekte sağladığı üretim kolaylığından dolayı DNA'yı moleküler elektronik araştırmaları için öne çıkartmaktadır (Shani vd., 2021).

Önceki bölümde açıklandığı gibi, DNA origami nanoyapıları, bir yüzey ile etkileşim halindeyken konformasyonel değişikliklere uğrayabilir; bu, DNA origami tabanlı elektronik cihazların geliştirilmesi için önemli bir konudur. Konformasyonel değişiklikler, bu tür cihazların özellikleri ve performansı üzerinde kayda değer bir etki yapma potansiyeline sahiptir. Bu tez kapsamında çift sarmallı DNA ile altın yüzeyi arasındaki etkileşimlere odaklanılarak, konformasyonel değişikliklerin elektriksel özellikler üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

DNA origami yerine, çift sarmal DNA'ya odaklanılmasının üç farklı sebebi bulunmaktadır. Bunlardan ilki, DNA origami yapılarının büyük ve çok sayıda atom içeriyor olmasıdır (16,000-20,000 atom sayısı). Özellikle simülasyona substrat, su molekülleri ve iyonların eklenmesi durumunda ulaşılan atom sayıları (400,000-

900,000 atom sayısı) MD simülasyonları için bile çok yüksek hesaplama maliyetine neden olmaktadır (Yoo ve Aksimentiev, 2013). İkincisi, moleküllerin elektronik özelliklerini anlamak için sıkça kullanılan DFT hesaplamaları ~1000 atomdan fazla yapılar için günümüz hesaplama araçları ile gerçekleştirilememektedir. Üçüncüsü, önceki bölümde gösterildiği gibi, yüzeyle etkileşimleri sırasında sarmallarda fark edilebilir bir deformasyon meydana gelirken, bu etkilerin yüzeyden uzaklaştıkça azalma eğilimi göstermesidir. Bu nedenle, bu bölümde yapılan çalışmalarda DNA origami yerine çift sarmal DNA kullanılarak, konformasyonel değişikliklerin elektriksel özelliklere etkisi araştırıldı.

Bir çift sarmal DNA molekülü boyunca yük iletimi, yirmi yılı aşkın bir süredir araştırılmaktadır. Şu ana kadar yapılan hem deneysel (Genereux vd., 2010; Xiang vd., 2015; Bruot vd., 2015; Xiang vd., 2017) hem de teorik çalışmalar (Mehrez vd., 2015; Patil vd., 2021; Mohammad vd., 2021), istiflenmiş bazların üst üste binen pi-pi orbitalleri ve DNA'nın bazı moleküllerle etkileşimi nedeniyle elektriksel iletimin gerçekleştiğini göstermiştir (Giese, 2002; Genereux vd., 2010; Xiang vd., 2015). Yapılan çalışmalarda Guanin bazının yüksek dolu orbital enerjisi sebebiyle elektriksel iletimde belirleyici bir rolü olduğu bulunmuştur.

Literatürde, konformasyonel değişiklikler ile DNA molekülleri üzerindeki yük iletimi arasındaki ilişkiyi anlamak için çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Woiczikowski ve ark. (Woiczikowski vd., 2009), yapısal dalgalanmaların etkisinin DNA'nın dizisine bağlı olarak farklı olabileceğini ve baz çifti dinamiklerinin yük taşıma özelliklerinin belirlenmesinde önemli olduğunu bildirmiştir. Artés ve ark. (Artés vd., 2015), DNA moleküllerinin iletkenliğinin, yapısı B-formundan A-formuna değiştirildiğinde neredeyse 10 kat arttığını göstermiştir. Bruot ve ark. (Bruot vd., 2015), iletkenliğin mekanik gerilmeye önemli ölçüde duyarlı olduğunu ve DNA'nın uzunluğu ile zayıf bir bağımlılığı olduğunu özetlemiştir. Bu çalışmalar, çift sarmal DNA'nın yapısal değişikliklerinin DNA'nın elektriksel özellikleri üzerindeki etkisini araştırmış olsa da konu ile ilgili yeni deneysel ve teorik çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca, çift sarmal DNA bir substrat ile etkileşim halinde ise durum daha da karmaşık bir hal almakta, substrat hem moleküler yapıyı dolayısı ile moleküler orbitalleri değiştirmekte hem de varlığı ile dolaylı olarak yeni moleküler orbitallerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenlerle, literatürde bu alandaki çalışmalar çok az sayıdadır. DFT hesaplarında altın yüzeyinin etkilerinin hesaplanması çok zaman aldığından bu tezde

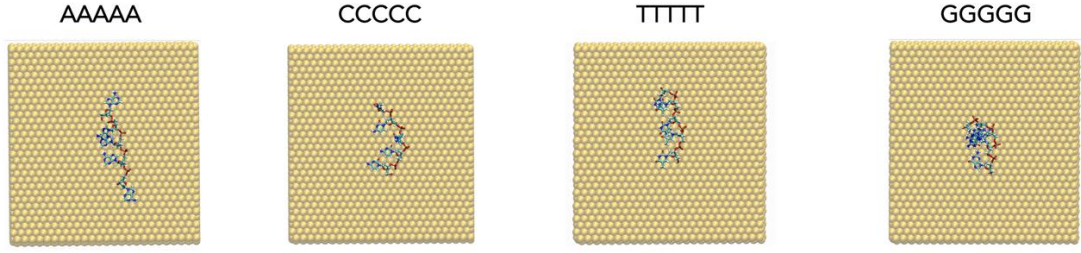
sadece yapısal değişikliklerden kaynaklanan elektronik özellikler üzerindeki dolaylı etkiler incelenmiştir.

Bu konu için modellenecek DNA sekansı seçilirken önce literatürdeki DNA – altın yüzeyi çalışmaları incelendi. Altın yüzey üzerindeki dört DNA bazının farklı afiniteleri ilk olarak Mirkin ve arkadaşları tarafından çalışılmış dört DNA bazının, $G > A > C > T$ şeklinde bağlanma eğilimleri olduğu gösterilmiştir (Mirkin vd., 2002). Piana ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir teorik çalışma da bu sonucu desteklemektedir (Piana vd., 2006). Kimura ve diğerleri (Kimura vd., 2003) tarafından DNA dizilerini (tek tek DNA bazları yerine) kullanan bir çalışma ise farklı bir adsorpsiyon eğilimi görülmektedir. Adenin adsorpsiyonunun diğer oligonükleotidlere göre daha güçlü olduğu ve $A > C \geq G > T$ afinite eğilimini takip ettiği bulunmuştur. Yapılan birkaç başka araştırmada da yine bu eğilim doğrulanmıştır (Opdahl vd., 2006; Schreiner vd., 2010; Petty vd., 2014; Koo vd., 2015). Bu tez kapsamında, DNA'nın altın yüzeyi ile ilgili etkileşimleri incelemeye önce MD simülasyonları ile literatürde görülen bu eğilimin yakalanıp yakalanmadığı incelendi. Bunun için beş baz çiftinden oluşan tek iplikli oligonükleotidler altın yüzeyi üzerinde 15 ns modellendi (Şekil 3.5) ve MMGBSA yöntemi ile bağlanma enerjileri hesaplandı (Çizelge 3.1).

Çizelge 3.1: MMGBSA yöntemi ile hesaplanan bağlanma enerjileri ve minimum değere göre hesaplanan bağlanma enerjileri arasındaki katsayı

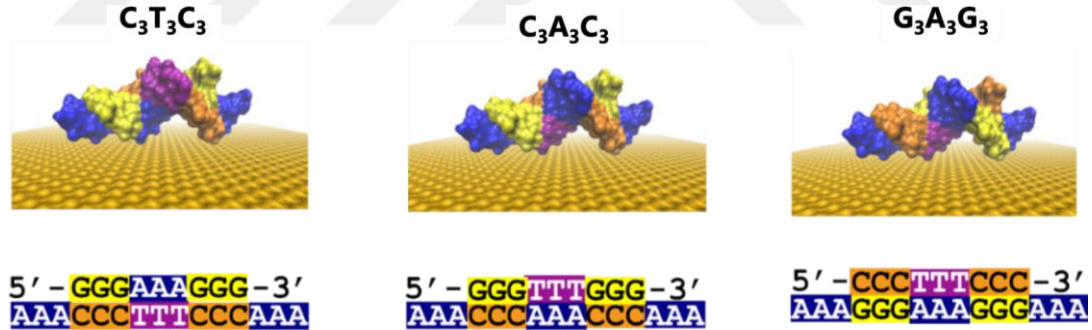
Yapı	Bağlanma Enerjisi (kcal/mol)	Katsayı
AAAAA	-20.31 ± 1.0	1.62
CCCCC	-20.07 ± 1.2	1.60
TTTTT	-15.57 ± 0.9	1.24
GGGGG	-12.54 ± 1.0	1.00

Bu çalışmada elde edilen bağlanma enerjilerinin doğası gereği göreceli olduğunu ve mutlak değerler olarak kabul edilmemesi gerektiğini vurgulamak önemlidir. Bu nedenle, bu enerjiler arasındaki katsayı, minimum bağlanma enerjisine dayalı olarak hesaplandı ve çizelgeye katsayı halinde dahil edildi. Bağlanma eğilimi $A > C > T > G$ olacak şekilde bulundu. Adenin'in daha yüksek bağlanma enerjisi mevcut literatürle benzer olduğu ve Guanin'in nispeten daha düşük enerjisi daha önce bildirilen bilgilerden farklı olduğu görüldü.



Şekil 3.5: Beş nükleotidden oluşan tek iplik DNA moleküllerinin altın (111) yüzeyi ile etkileşimi.

Yukarıdaki bilgiler doğrultusunda Adenin'in altın yüzeyi ile etkileşimde öne çıktığı görülmektedir. Bu nedenle, oluşturulan DNA sekanslarının yüzeye daha iyi tutunmasını sağlamak için uç kısımlara tek iplikli Adenin nükleotidleri eklendi ve Şekil 3.6'da gösterilen üç farklı çift sarmal DNA sekansı oluşturuldu. Bu yapılar, DNA origami simülasyonlarında izlenen adımlar ile altın (111) yüzeyine yatay gelecek şekilde yerleştirildi (Şekil 3.6). Tek iplikli Adenin nükleotidleri arasında 9 baz çiftinden oluşan DNA yerleştirildi. Burada DNA uzunluğu, bu bölümünün girişinde bahsedilen DFT kısıtlamaları (en fazla ~1000 atom) nedeniyle seçilmiştir.

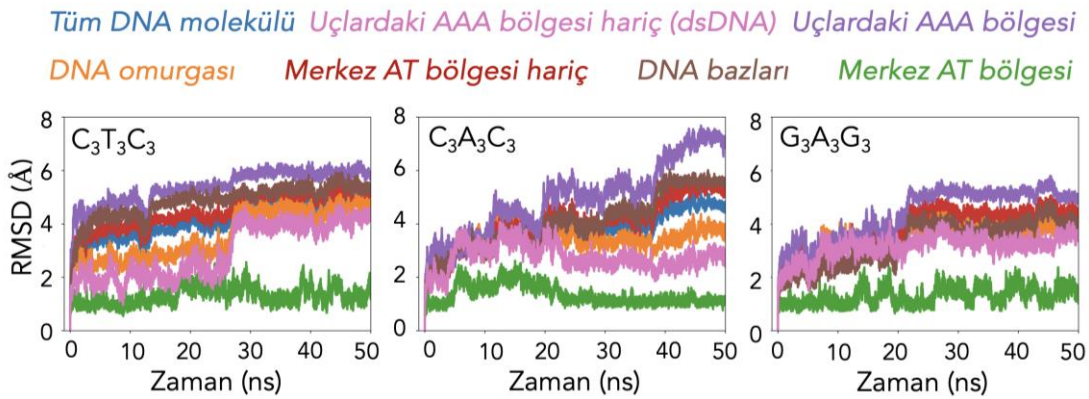


Şekil 3.6: Simülasyonda kullanılan DNA sekansları ve başlangıç yapıları. Altın (111) üzerindeki DNA'nın su molekülleri ve iyonlar çıkartılarak daha net bir görüntü elde edilmesi sağlanmıştır.

Tüm sistem oluşturulduktan sonra DNA ve altın (111) yüzeyi literatürde sıkça kullanılan 0,15 M KCl çözeltisi içerisine yerleştirildi. Su molekülleri için TIP3P (Jorgensen vd., 1983) kuvvet alanı; DNA için CHARMM-36 (Huang vd., 2013) ve altın yüzeyi için INTERFACE (Heinz vd., 2013) kuvvet alanları kullanıldı. Metal yüzeylerinde bulunan elektron denizi nedeniyle yüzeydeki elektrostatik etkileşimleri MD simülasyonları ile modellemek imkansızdır (Heinz vd., 2013). Bu nedenle, literatürde bu yüzeylerin MD simülasyonlarında sadece van der Wals etkileri sisteme

dahil edilir. Simülasyon boyunca altın atomları tamamen sabit tutulup yüzeyin yeniden oluşma ihtimali ihmal edildi. Simülasyonlar NAMD (Phillips, 2005) programını kullanılarak NPT altında, simülasyon süresi 50 ns olacak şekilde, gerçekleştirildi. Bu bölümde yapılan araştırmanın ilerideki çalışmalara öncü olması hedeflenmektedir. Bu yüzden, MD simülasyonları için sadece bir başlangıç yapısı oluşturulup simülasyonlar gerçekleştirilmiştir.

İlk olarak, yapıdaki değişikliklerin anlaşılması için farklı bölgelerin RMSD değişimi analiz edildi. Şekil 3.7'de gösterildiği gibi, tüm DNA molekülünün RMSD'si (mavi grafik) 25 ns sonrasında platoya ulaşmaktadır. DNA omurgası ilk 25 ns'de 2 Å çevresinde salınmakta ve 25 ns civarında ciddi bir RMSD değişimine uğramaktadır. Tüm DNA molekülüne bakıldığında da aynı zaman diliminde, benzer bir eğilim fark edilmektedir. Sadece merkez AT bölgesinde 50 ns boyunca oldukça kararlı bir RMSD grafiği görülmektedir. Sadece uçlardaki AAA bölgesinde yüksek RMSD değeri gözlenmektedir. Bir önceki bölümde bahsedildiği gibi, DNA moleküllerinin yüzey ile etkileşimleri uç bölgelerden başlamaktadır. Burada RMSD grafiklerindeki değişimler de DNA molekülünün uç bölgelerden deforme olduğunu desteklemektedir.

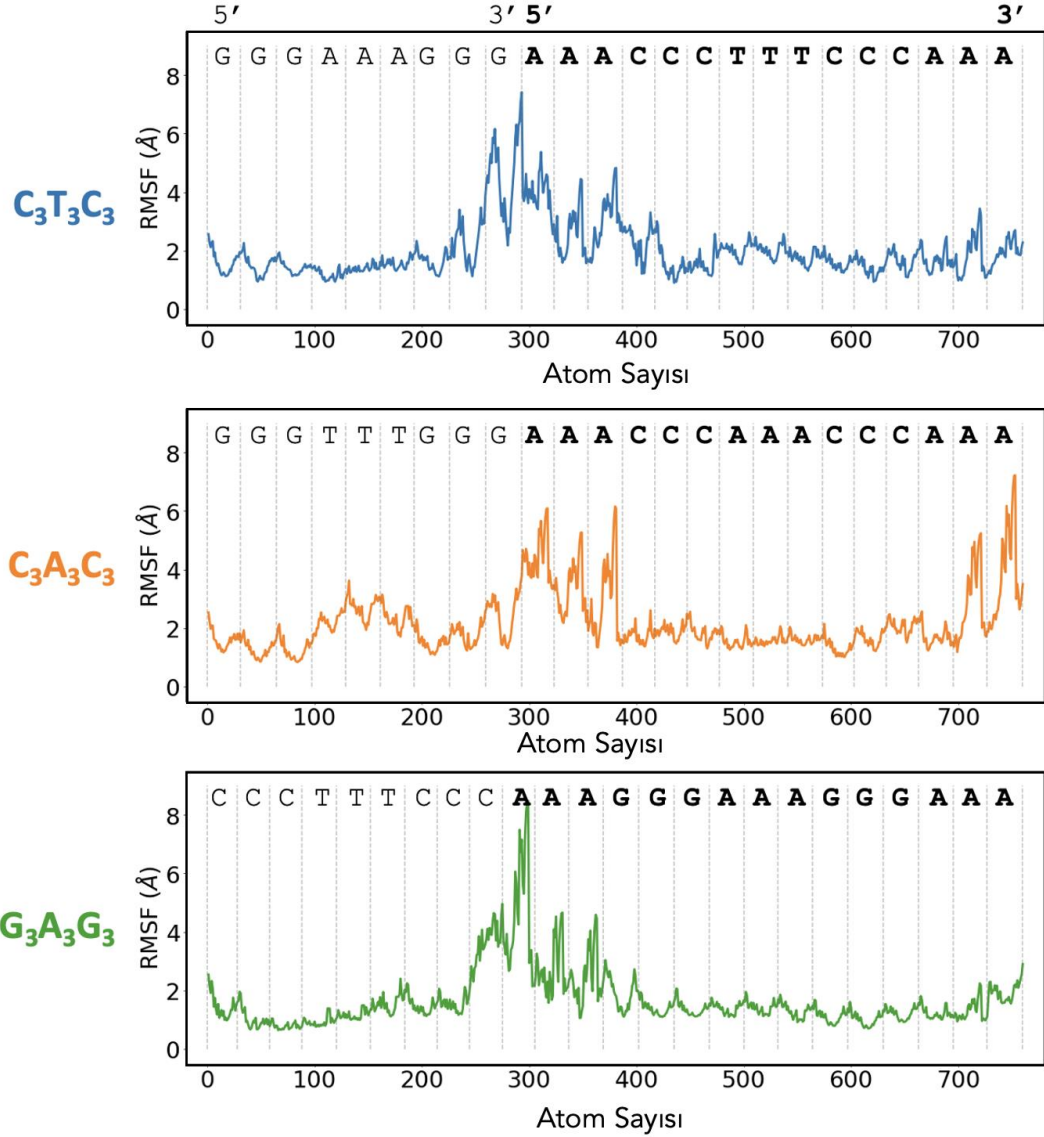


Şekil 3.7: 50 ns MD simülasyonu için molekülün farklı bölgeleri için RMSD değişimi.

Bu çalışmada altın (111) yüzeyinde DNA molekülünün termodinamik olarak en kararlı konformasyonunu belirlemek yerine, oluşan konformasyonel değişikliklerin DNA'nın elektronik özelliklerine etkilerini anlamak üzerine odaklanıldı. Bu nedenle, RMSD grafiklerinde 25 ns sonrasında plato görüldüğü için simülasyon süresi 50 ns ile sınırlandırıldı.

Yapıdaki deformasyon bölgelerinin analizi için RMSF hesaplamaları gerçekleştirildi. Şekil 3.8'de her bir yapı için atom başına düşen RMSF değerleri gösterilmektedir. Grafiklerin üstünde her bir nükleotide denk gelen bölgeleri belirtirken, açık ve koyu

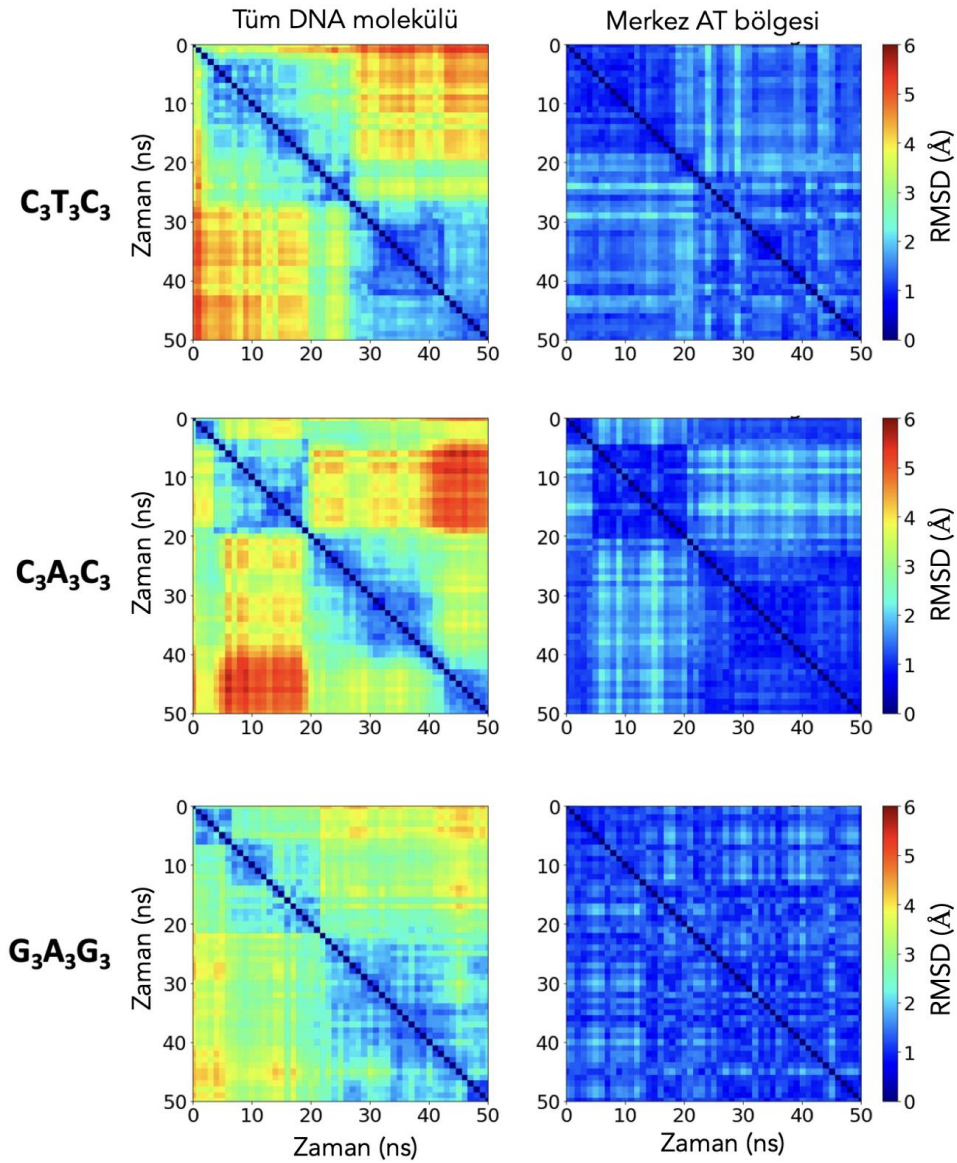
sekanslar DNA'nın farklı ipliklerini belirtmektedir. Yüksek RMSF değerleri, atomların simülasyon sırasında atomik hareketliliğin arttığını gösterir. DNA'nın altın yüzeyine daha iyi bağlanması için eklenen uç Adenin nükleotidlerinde önemli ölçüde yüksek RMSF değerleri gözlenmiştir. Ayrıca, Merkez AT bölgesinde, RMSD grafikleri ile uyumlu olarak düşük RMSF değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.8: Atom numarasına göre farklı DNA sekanslarının RMSF değişimi.

Moleküllerin konformasyonunun zamansal değişimini belirlemek için Şekil 3.9'da gösterilen her 1 ns'de kaydedilmiş konformasyonlar arasındaki ikili RMSD değişimleri incelendi. Burada hem tüm DNA molekülü üzerinden hem de yapının en kararlı olduğu merkez AT bölgesi üzerinden hesaplamalar gerçekleştirilmiştir. Her sekans için molekülün tamamına bakıldığında (tüm DNA molekülü) farklı zaman dilimlerinde kararlı olan konformasyonların varlığı görülmektedir. Bu analiz aynı zamanda, DNA

moleküllerinin altın yüzeyine bağlanma süreci hakkında da bilgi vermektedir. Her bir sekansın ikili RMSD grafikleri tüm DNA molekülü için karşılaştırıldığında, farklı zaman dilimlerinde yeni konformasyonlara sahip oldukları görülmektedir. Örneğin $C_3A_3C_3$ sekansı 20 ns sonrasında ciddi bir konformasyonel değişikliğe uğradığı gözlenmektedir. $G_3A_3G_3$ sekansının ise diğer sekanslarla karşılaştırıldığında nispeten daha düşük konformasyonel değişiklikler sergilediği görülmektedir. Bunun yanı sıra, her bir sekans için moleküllerin merkez bölgesine bakıldığında (Merkez AT bölgesi) 50 ns boyunca RMSD değerlerinin birbirlerine göre düşük olduğu ve bu bölgede yapıların benzer konformasyonlara sahip olduğu görülmektedir.



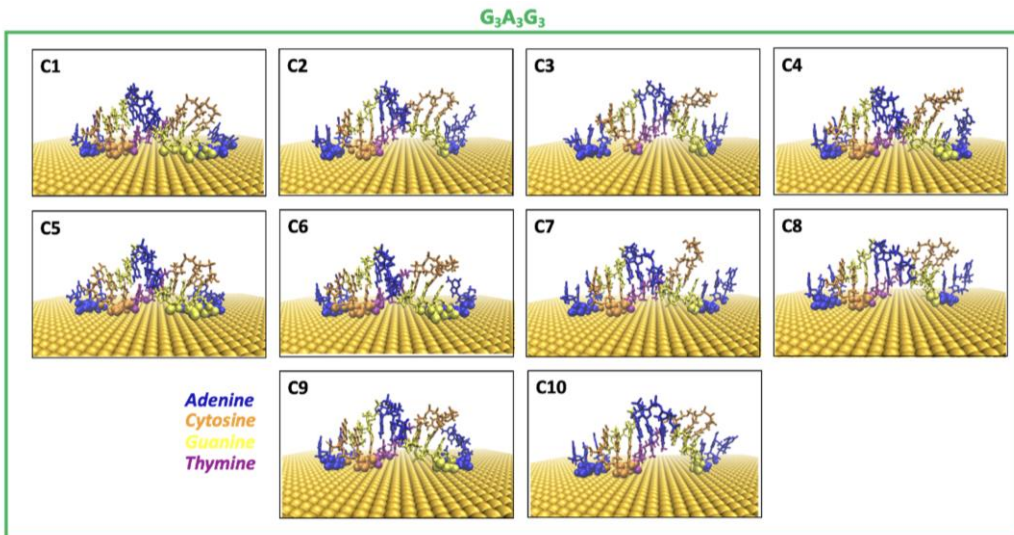
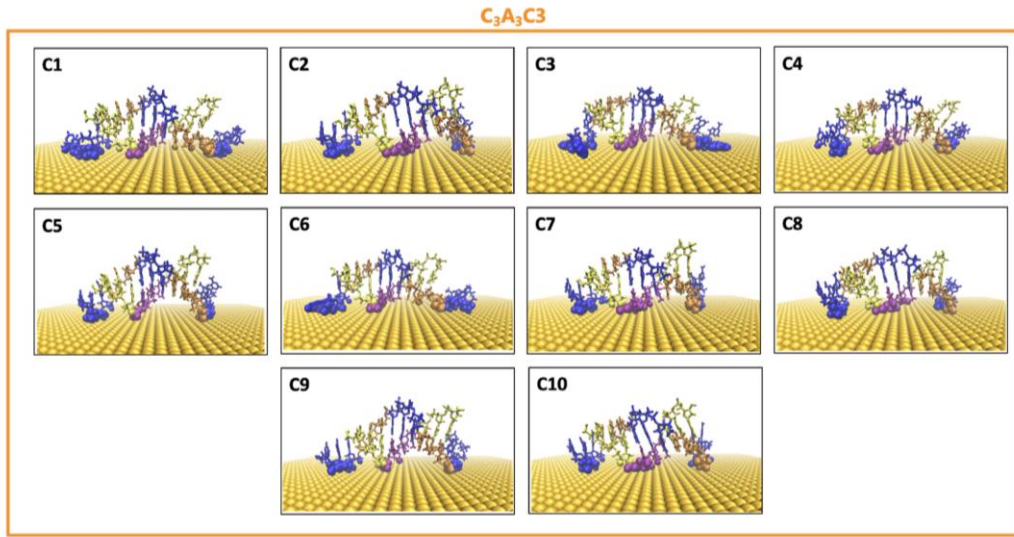
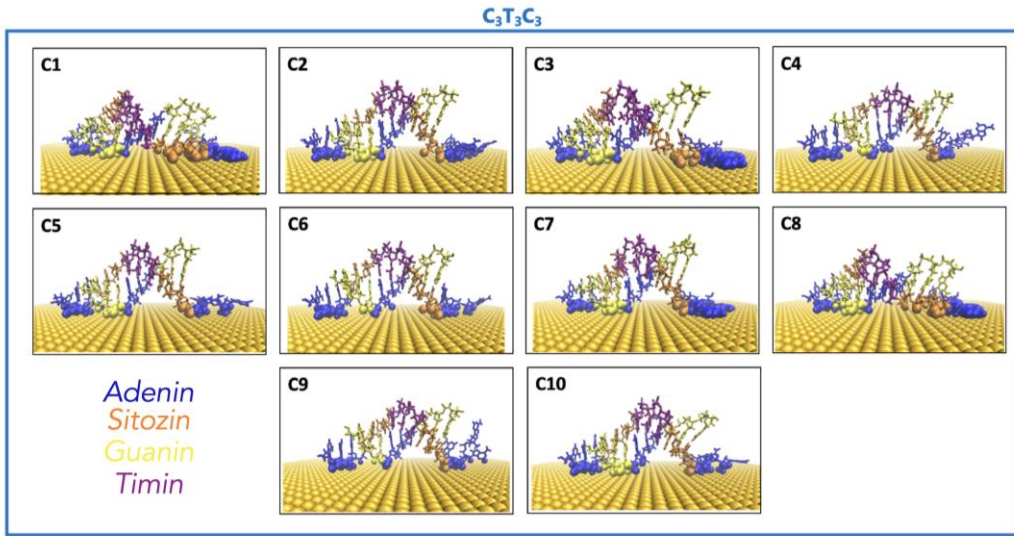
Şekil 3.9: Tüm yapı ve merkez AT bölgesi için ikili RMSD analizi. Grafik, 1 ns zaman aralığında kaydedilen her konformasyon arasındaki RMSD değişimini gösterir. Yüksek RMSD değerleri (koyu kırmızı), iki konformasyon arasında daha büyük bir yapısal değişim olduğunu gösterir.

MD simülasyon koşulları sırasında ortaya birçok yapı çıkmakta ve bu yapıların zaman içerisinde küçüklü büyüklü değişimler gösterdiği gözlenmektedir. Bu yapıların analizi için kümeleme (clustering) teknikleri kullanılarak benzer yapılar ile gruplar oluşturulmakta ve oluşturulan her bir grup için temsilci yapılar seçilebilmektedir. DNA'nın altın yüzeyi ile etkileşimi simülasyonlarında elde edilen konformasyonlar, VMD içerisinde bulunan RMSD tabanlı kümeleme algoritmaları ile incelenmiş ve kümeler içerdikleri benzer yapı sayısı (yoğunluk) ve temsilci yapılar elde edilmiştir. Kümeleme işlemi için 1.5 Å kesme değeri (cut-off) kullanılmıştır. Çizelge 3.2'de her bir sekans için elde edilen en yoğun on konformasyon kümesinin yoğunluğu ve konformasyon sayıları gösterilmektedir. Buradaki ilk on gruba dahil olmayan konformasyonlar grupsuz olarak adlandırılmış ve bunların yoğunlukları da yine çizelge üzerinde gösterilmiştir.

Çizelge 3.2: Her bir grupta bulunan konformasyon sayısı ve yoğunluğu

	CTC		CAC		GAG	
	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)	Sayı	Yüzde (%)
C1	22592	45.18	15033	30.07	23244	46.49
C2	13179	26.36	13281	26.56	8478	16.96
C3	8613	17.23	7706	15.41	5256	10.51
C4	1552	3.10	4442	8.88	4737	9.47
C5	1086	2.17	4182	8.36	2769	5.54
C6	1034	2.07	2577	5.15	2070	4.14
C7	501	1.00	905	1.81	1253	2.51
C8	393	0.79	801	1.60	707	1.41
C9	374	0.75	390	0.78	585	1.17
C10	234	0.47	99	0.20	243	0.49
Grupsuz	443	0.89	585	1.17	659	1.32

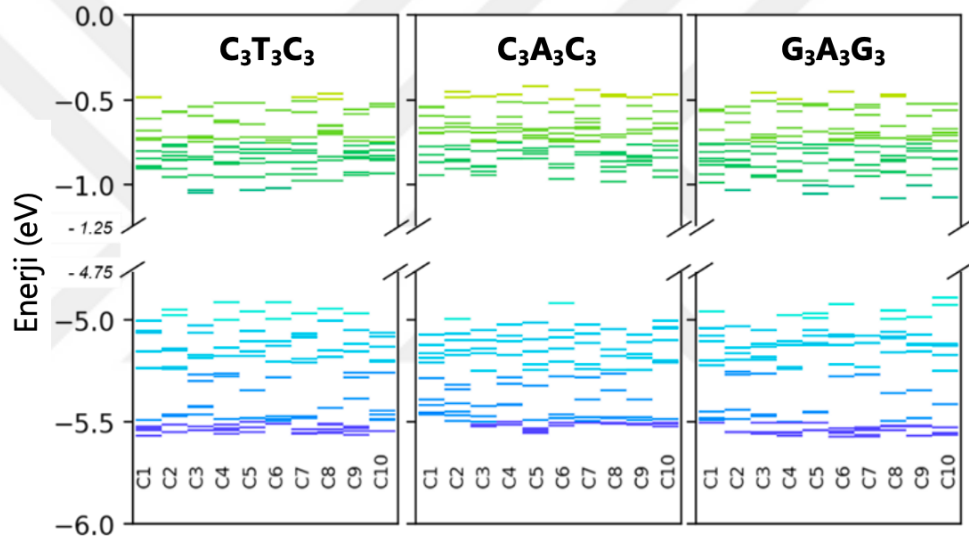
Daha sonra, DFT hesaplamaları gerçekleştirebilmek için her grupta, tüm konformasyonlarla en az RMSD farkına sahip konformasyon belirlendi ve o grubu temsil eden konformasyon olarak seçildi. Seçilen her bir temsili konformasyona DFT hesaplamaları öncesinde enerji minimizasyonu uygulandı. Şekil 3.10'da elde edilen konformasyonların görüntüleri verilmiştir.



Şekil 3.10: Tüm sekanslar için seçilen konformasyonlar, yüzey etkileşimli atomları bir top şeklinde gösterildi. Mavi renk Adeninleri, turuncu Sitozinleri, sarı Guaninleri ve pembe Timinleri temsil etmektedir.

DFT hesaplamaları için sistemdeki altın (111) yüzeyi, su molekülleri ve iyonlar silindi. Sistemin toplam yükü, DNA omurgasındaki fosfat gruplarının sayısına eşit olacak şekilde her konformasyon için -22 olarak belirlendi. DFT hesaplamaları DNA molekülleri için sıkça kullanılan B3LYP değişim-korelasyon fonksiyonu ve 6-31G(d,p) baz seti ile birlikte PCM modeliyle Gaussian 16 yazılım paketi kullanılarak gerçekleştirildi.

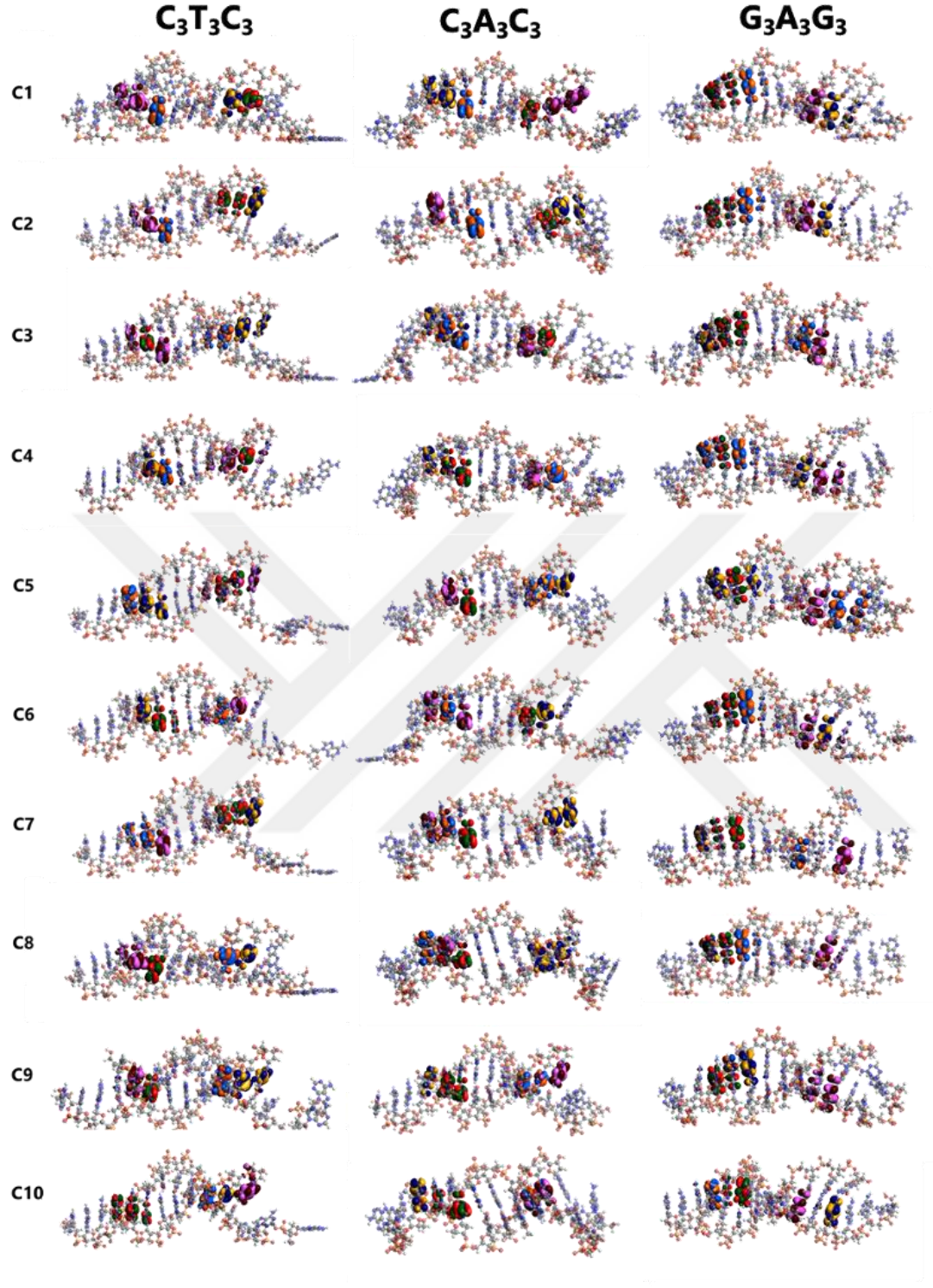
DFT hesaplamaları sonucunda ilk olarak, konformasyonel değişikliklerin moleküler orbitallerin (MO) enerji seviyeleri üzerindeki etkisi incelendi. Şekil 3.11'de, her bir konformasyon için DNA'nın bant boşluğu çevresindeki hem dolu (HOMO-10'dan HOMO'ya) hem de boş (LUMO'dan LUMO+10'a) 11 orbital gösterilmektedir.



Şekil 3.11: Tüm konformasyonların hem dolu (HOMO-10'dan HOMO'ya) hem de boş (LUMO'dan LUMO+10'a) orbitallerinden ilk 11'ini gösteren enerji bant diyagramları

HOMO enerji seviyelerinin birbirlerine oldukça yakın olduğu görülmüştür. Her sekans için konformasyonlar arasındaki HOMO enerji seviyeleri yaklaşık 110 meV içerisinde değişmektedir. Ayrıca, enerji seviyeleri arasındaki enerji farklarının konformasyonlara göre değiştiği gözlemlendi.

Daha sonra, moleküler orbitallerin yapı boyunca uzamsal dağılımları incelendi. Şekil 3.12'de, her bir konformasyonun ilk dört dolu orbitali (HOMO, HOMO-1, HOMO-2 ve HOMO-3) farklı renkler ile gösterilmektedir. Bu ilk dört orbitalin Guaninler üzerinde olduğu ve konumlarının konformasyonlara göre değiştiği gözlemlendi.

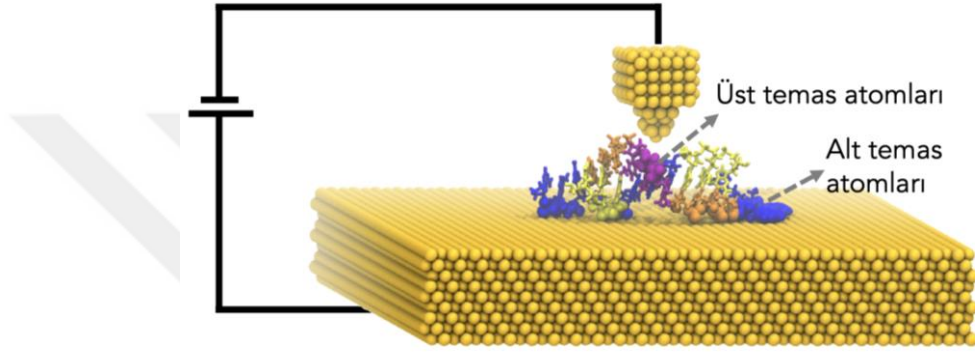


Şekil 3.12: Tüm konformasyonların hem dolu (HOMO-10'dan HOMO'ya) hem de boş (LUMO'dan LUMO+10'a) orbitallerinden ilk 11'ini gösteren enerji bant diyagramları

Örneğin $C_3T_3C_3$ sekansı için konformasyon 1 ve 2'de HOMO orbitali sağ taraftaki Guaninler üzerindeyken, konformasyon 3'te sol taraftaki Guaninler üzerinde yoğunlaşmıştır.

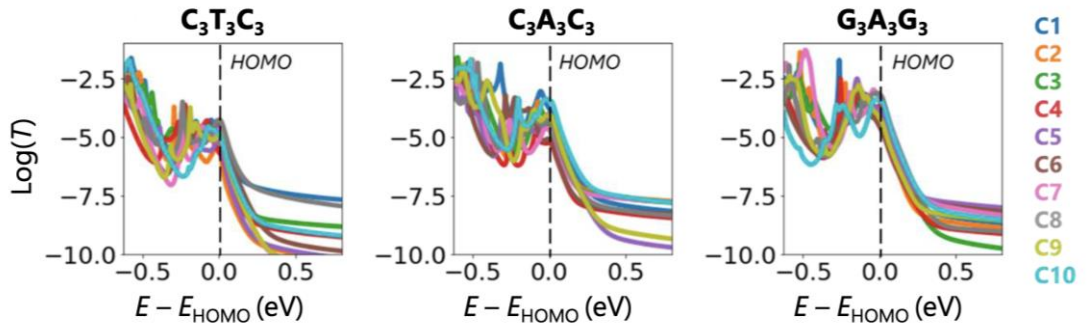
DNA molekülleri uç baz çiftlerinden deformasyona uğradığı için yapının en kararlı bölümünden, yani merkezi AT bölgesinden yük taşınımı hesaplamaları gerçekleştirildi. Burada altın (111) yüzeyi üzerindeki DNA'nın STM ve/veya AFM ölçümlerinde olduğu gibi DNA molekülüne yukarıdan başka bir altın uç getirilerek ölçümlerin yapıldığı bir deneysel senaryo ele alındı (Şekil 3.13).

Üst temas atomları AT baz çiftinin omurga atomları, alt temas atomları ise altın yüzeyinin 5 Å yakınında bulunan tüm DNA atomları olacak şekilde kabul edildi (Şekil 3.13).



Şekil 3.13: Yük taşınımı için kullanılan deneysel senaryo.

DFT hesaplamalarından Fock ve Overlap matrisleri elde edildikten sonra teorik model ve yöntem bölümünde belirtilen adımlar takip edilerek farklı iletkenlik hesapları gerçekleştirildi. Şekil 3.14'te her bir konformasyondaki yük taşınımının farklı enerji değerlerine göre değişimi verilmiştir. Burada, tüm temsili yapıların HOMO enerjisi $E=0$ olacak şekilde grafikler üst üste çakıştırılmıştır. Grafikte her bir grubu temsil eden konformasyonlar farklı renkler ile gösterilmiştir.



Şekil 3.14: Seçilen konformasyonların farklı enerji seviyelerine göre yük taşınım değişimleri.

DNA'nın elektriksel iletkenlik ölçümlerinde ve hesaplamalarında, Fermi enerjisi seviyesinin yerinin tam olarak bulunması oldukça zordur. Fakat literatürde yapılan çalışmalar doğrultusunda genellikle HOMO enerji seviyesinden 0.3-0.5 eV yukarıda olduğu düşünülmektedir. Grafiklerdeki değerlerin daha iyi anlaşılabilmesi için, hem HOMO'dan 0.5 eV yukarıdaki iletkenlik değerleri belirlenerek Çizelge 3.3 hazırlandı.

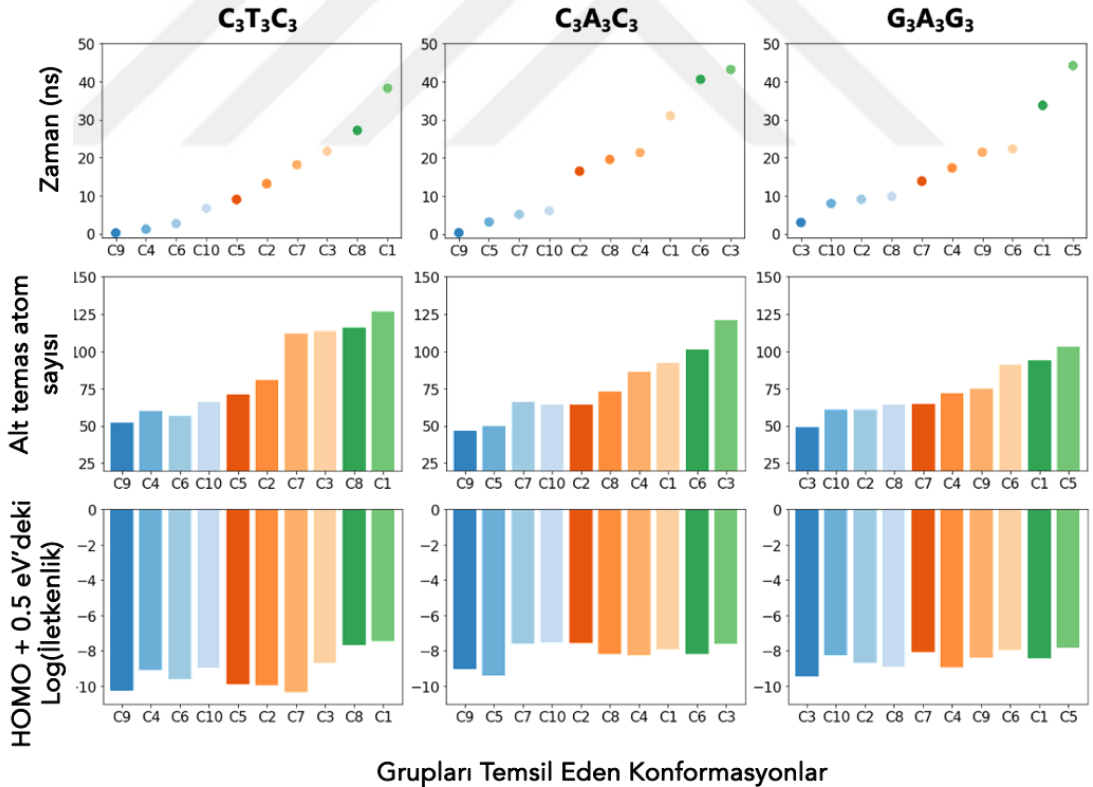
Çizelge 3.3: Temsili konformasyonların HOMO + 0.5 eV'de elde edilen iletkenlik değerleri ve sekans içerisindeki minimum iletkenliğe oranları.

Konformasyon	HOMO+0.5 eV'deki iletkenlik değerleri	Katsayı	Sekans
C1	3.37E-08	634.65	C ₃ T ₃ C ₃
C2	1.08E-10	2.03	
C3	2.11E-09	39.74	
C4	8.57E-10	16.14	
C5	1.28E-10	2.41	
C6	2.62E-10	4.93	
C7	4.66E-11	0.88	
C8	2.23E-08	419.96	
C9	5.31E-11	1.00	
C10	1.04E-09	19.59	
C1	1.14E-08	12.90	C ₃ A ₃ C ₃
C2	2.62E-08	29.64	
C3	2.30E-08	26.02	
C4	5.42E-09	6.13	
C5	3.86E-10	0.44	
C6	6.98E-09	7.90	
C7	2.29E-08	25.90	
C8	6.94E-09	7.85	
C9	8.84E-10	1.00	
C10	2.67E-08	30.20	
C1	3.51E-09	9.36	G ₃ A ₃ G ₃
C2	2.16E-09	5.76	
C3	3.75E-10	1.00	
C4	1.11E-09	2.96	
C5	1.47E-08	39.20	
C6	1.06E-08	28.27	
C7	8.80E-09	23.47	
C8	1.27E-09	3.39	
C9	4.16E-09	11.09	
C10	5.26E-09	14.03	

Her bir sekans için en düşük iletkenliğe sahip konformasyon ile diğer konformasyonlar arasındaki iletkenlik katsayı farkı hesaplandı ve çizelgede sunuldu.

Çizelge 3.3'te görüldüğü gibi, $C_3T_3C_3$ sekansı için en yüksek iletkenliğin, simülasyonlarda en çok gözlemlenen Grup 1'den alınan temsili yapıda olduğu belirlenirken, $C_3A_3C_3$ ve $G_3A_3G_3$ sekanslarında sırasıyla Grup 10 ve Grup 5'ten alınan konformasyonlarda olduğu bulundu.

Konformasyon grupları arasındaki bu iletim farkının sebebini araştırmak için Şekil 3.15'te verilen konformasyonların zaman bilgileri, alt yüzeyi ile temas atom sayıları, iletkenlik değerleri verilmiştir. Örneğin $C_3T_3C_3$ sekansı için C1 konformasyonu en yoğun grubu temsil eden konformasyon ve diğer konformasyonlara kıyasla simülasyon sonraki evrelerinde karşılaşılmıştır. Bu nedenle alt yüzey ile temas atom sayısı diğer konformasyonlara göre daha fazladır. HOMO + 0.5 eV'deki iletkenliğe bakıldığında bu konformasyonun diğerlerine göre daha yüksek değere sahip olduğu görülmektedir.



Şekil 3.15: $C_3T_3C_3$, $C_3A_3C_3$ ve $G_3A_3G_3$ sekansları için zaman noktaları, alt yüzey temas atomu sayısı, HOMO + 0.5 eV'deki iletkenlik değerleri arasındaki ilişkiyi gösteren bar grafikleri.

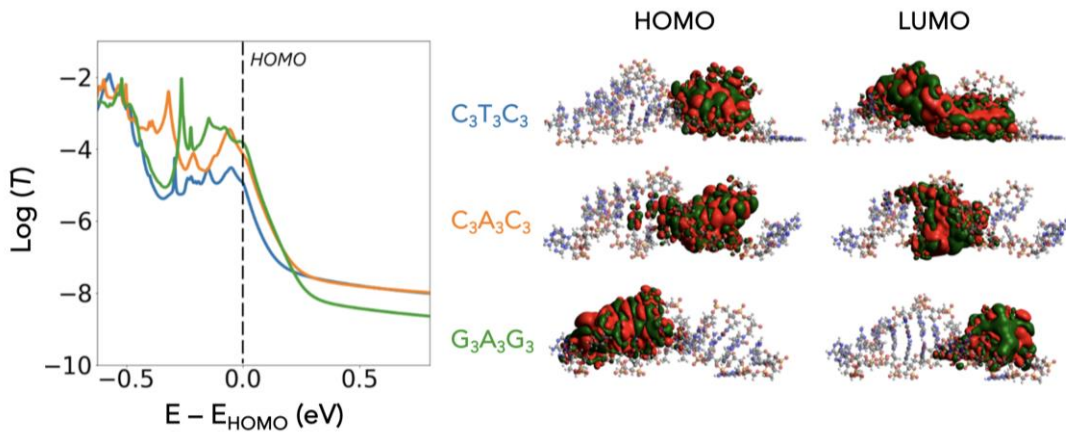
Ancak, C₃A₃C₃ sekansına bakıldığında, C10 konformasyonu ilk 10 ns’de karşılaşılmış ve alt yüzey ile temas halindeki atom sayısı diğer konformasyonlara göre daha azdır. Buna rağmen, iletkenlik değerlerinde en yüksek iletkenlik bu konformasyonda bulunmuştur. Bu sekans için, C3 konformasyonunda daha çok alt temas atom sayısına sahip olunmasına rağmen, iletkenlik değerleri C2 ve C10 konformasyonları ile oldukça yakındır.

Elde edilen farklı konformasyonlar ve iletkenlik değerleri, DNA’ların yüzey üzerindeki en kararlı yapılarının her zaman için en iyi iletkenlik değerini vermeyebileceğini işaret etmektedir. Bu da geliştirilecek DNA origami tabanlı elektronik cihazlar için bir tasarım parametresi olarak düşünülmelidir.

Burada farklı konformasyonların hepsi dikkate alınarak iletkenlik üzerindeki etkileri hesaba katılmalıdır. Bu nedenle, konformasyon yüzdelerine göre ağırlıklı ortalama iletkenlik değerleri hesaplanarak farklı sekanslar arasındaki iletkenlikler karşılaştırılıp, bu veriler üzerinden sekans tasarımları yapılabilir. Bunun için denklem 3.1’de görüldüğü gibi her bir enerjideki iletkenlik değerleri, kümeleme algoritmalarından elde edilen yoğunluklar kullanılarak ağırlıklı ortalama iletkenlik hesaplanabilir.

$$T_{avg}(E - E_{HOMO}) = \frac{\sum_{i=1}^m T_i(E - E_{HOMO}) \times W_i}{\sum_{i=1}^m W_i} \quad (3.1)$$

Şekil 3.16’da örnek olarak burada elde edilen konformasyonlar üzerinden hesaplanan ortalama iletkenlik değerleri verilmektedir.

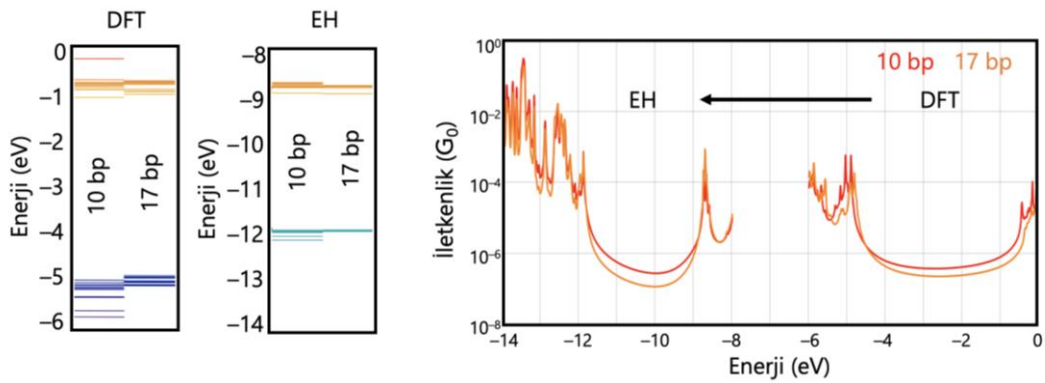


Şekil 3.16: Konformasyon yüzdelerine göre hesaplanan ağırlıklı ortalama iletkenlik değerleri.

Bu şekilde konformasyon etkileri düşünülerek hesaplamalar yapıp, sekans ve konformasyon etkileri DNA origami tabanlı cihazların geliştirilebilmesi için tasarım parametresi olarak kullanılabilir (Demir vd., 2023).

3.3 DNA Origaminin Elektriksel Özellikleri

DNA origami tabanlı elektronik cihazlarda, yüzey etkileşimlerinin yanı sıra sarmallar arasındaki iletim mekanizmaları da önemlidir. Özellikle çoklu DNA sarmallarının varlığından dolayı, sarmallar arasındaki yük taşıma yollarının programlanabilir olması durumunda yeni bilgi depolama cihazları geliştirilebilir. Bu konunun araştırılabilmesi için tüm DNA origami yapısı üzerinden hesaplamaların gerçekleştirilmesi gerekir. Daha önce belirtildiği gibi, DNA origami yapıları, büyük boyutlarından dolayı DFT yöntemi kullanılarak hesaplanamamaktadır. Bu nedenle, DNA origami yapılarının elektriksel özelliklerini araştırmak için alternatif bir yaklaşım olan Genişletilmiş Hückel (EH) yöntemi (Hoffmann, 1963) benimsendi. EH yöntemi, moleküllerin elektronik bant yapısını ve orbital özelliklerini araştırmak için yaygın olarak kullanılan yarı ampirik yöntemlerden biridir. Bu tez kapsamında, önce DFT hesaplamaları sonucunda elde edilen eğilimlerin bu yöntemle de elde edilip edilemediği araştırıldı. Bunun için hem DFT hesaplamalarının gerçekleştirilebileceği hem de karşılaştırma yapılabilmesi için 10 ve 17 baz çiftinden oluşan DNA molekülleri kullanıldı. Şekil 3.17'de bu iki sistem için enerji bant diyagramları ve iletkenlik grafikleri gösterilmiştir.



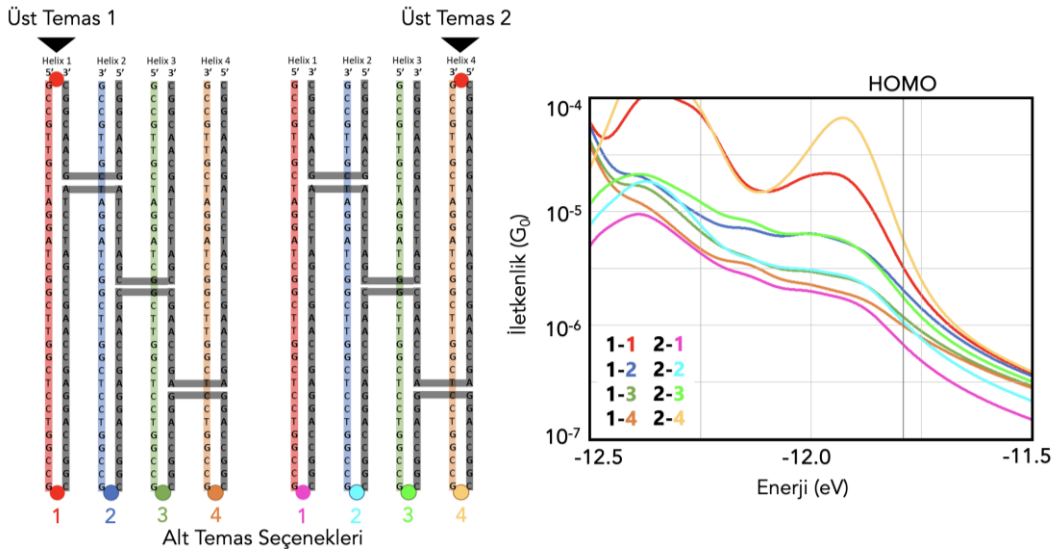
Şekil 3.17: DFT hesaplamaları için kullanılan temsili yapıların GC ve AT sekansları ve karşılık gelen 3D geometrileri.

Bu hesaplamalar ile EH metodu kullanıldığında orbital enerji seviyeleri ve bant boşluğu değerlerinin DFT'ye göre daha düşük çıktığı gözlemlendi. Yük taşınım

hesaplarına bakıldığında ise, özellikle bant boşluğu bölgesinde DFT ve EH'nin benzer eğilim gösterdiği görüldü. Analizler yapılırken genellikle HOMO enerji seviyesinden 0.5 eV yukarıdaki iletkenlik değerleri karşılaştırıldığı için ve burada görülen trendin aynı çıkması sebebiyle büyük DNA origami moleküllerinin elektriksel özelliklerinin EH yöntemi ile incelenmeye uygun olduğu düşünüldü.

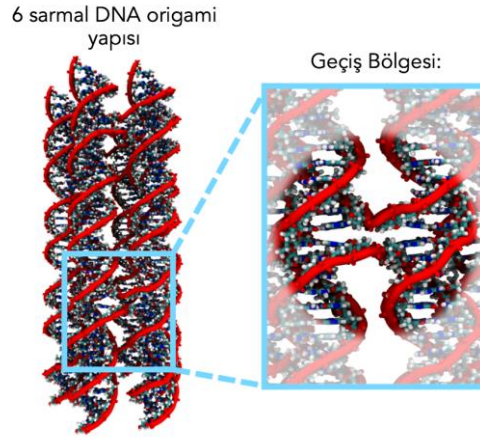
Bu tez kapsamında, EH metodu ile DNA origami nanoyapılarında yük taşınımının yola bağımlılığı araştırıldı. Deneysel ölçümlerde, DNA sarmallarının uç nükleotidlerine tiyol bazlı bağlayıcı moleküller kullanılarak altın elektrotlar arasında iletkenlik ölçümleri yapılmaktadır. Teorik olarak, DNA origamilerde birden fazla sarmal olduğu için tiyol moleküllerinin bağlanma konumu kontrol edilerek istenen bir sarmalın iletkenliği seçici olarak ölçülebilir. Bu durumda, tek bir nanoyapı üzerinden farklı elektriksel iletkenliklerin elde edilebileceği bir cihaz tasarlanabilir. Bu gibi tasarımların gerçekleştirilebilirliğinin anlaşılması için öncelikle farklı sarmallar üzerinden iletkenlik hesaplamaları gerçekleştirildi.

Bunun için Şekil 3.18'de verilen deney seti oluşturuldu. Şekilde DNA origamilerin farklı sarmalları farklı renklerde gösterilirken, bu sarmalları bir arada tutan iplikler gri renk ile gösterilmiştir. Burada DNA origami sarmalları üzerinden tiyol molekülleri ile modifiye edilebilecek farklı temas noktaları seçildi. Üst temas noktası 1 ve 2 ile alt temas noktaları arasındaki iletkenlik değerleri hesaplandı.

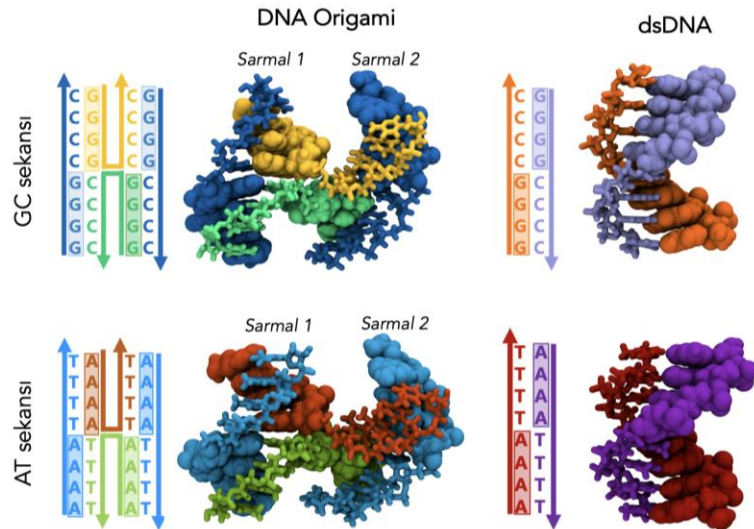


Şekil 3.18: DNA origami üzerinden elde edilen farklı yük iletim yolları ve iletkenlik değerleri.

Bu hesaplamalar ile, en kısa yolların (üst temas 1 ile alt temas 1 ve üst temas 2 ile alt temas 4 arasındaki yol), her iki üst temas noktası için de en yüksek iletkenliğe sahip olduğu görüldü. En uzun yolların (üst temas 1 ile alt temas 4 ve üst temas 2 ile alt temas 1 arasındaki yol) ise en düşük iletkenlik değerlerine sahip olduğu gözlemlendi. Aradaki bazı yolların ise birbirleri ile benzer iletkenlik değerleri verdiği bulundu. Buradaki mekanizmanın anlaşılabilmesi için daha küçük DNA origami sistemi oluşturulup (geçiş bölgesi, Şekil 3.19) DFT hesaplamaları gerçekleştirildi.

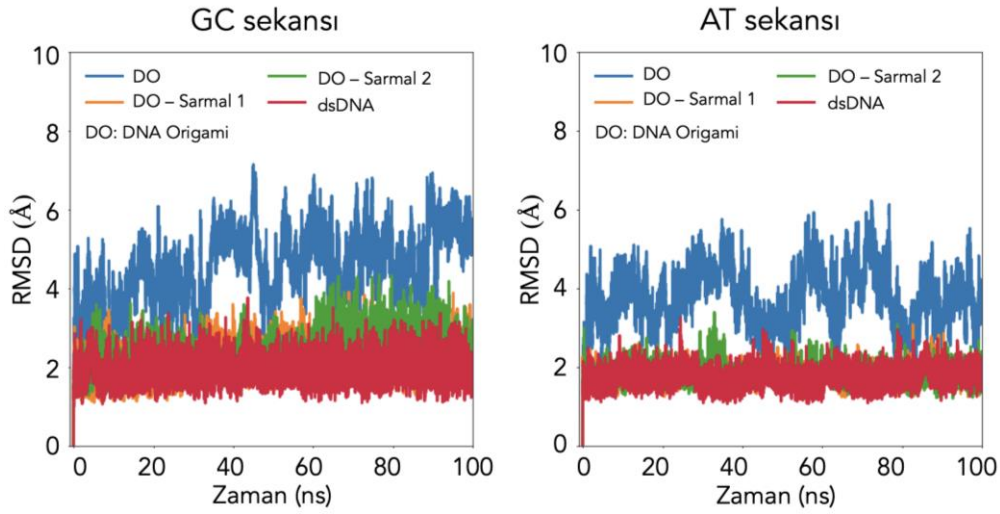


Şekil 3.19: DNA origami geçiş bölgelerinin üç boyutlu yapı üzerinde gösterimi. Şekil 3.20'de geçiş bölgelerine odaklanmak için oluşturulan deney seti verilmiştir. Bu çalışmada farklı sekans oluşturularak, geçiş bölgelerindeki sekans etkisinin de araştırılması hedeflenmiştir. GC ve AT baz çiftlerinden oluşan iki adet çift sarmal DNA ile iki sarmalın bir araya getirilmesinden oluşan DFT hesaplamalarının gerçekleştirilebileceği uzunlukta DNA origami nano yapıları oluşturulmuştur.



Şekil 3.20: DFT hesaplamaları için kullanılan temsili yapıların GC ve AT sekansları ve karşılık gelen 3D geometrileri.

Oluşturulan her bir yapı için 100 ns MD simülasyonları gerçekleştirildi. Öncelikle konformasyonel değişikliklerin derecesinin ve yapıların kararlılığının belirlenmesi için RMSD hesaplamaları yapıldı. Şekil 3.21’de GC ve AT sekansı için RMSD değerlerinin zamana göre değişimi molekülün farklı bölgelerine odaklanılarak verilmiştir. Grafiklerde mavi renk tüm DNA origami molekülüne karşılık gelmekte, kırmızı renk çift sarmal DNA molekülünü temsil etmekte, turuncu renk DNA origamisini oluşturan çift sarmallardan biri olan Sarmal 1’i belirtmekte ve yeşil renk ise origaminin diğer sarmalı olan Sarmal 2’nin RMSD değerlerini göstermektedir.

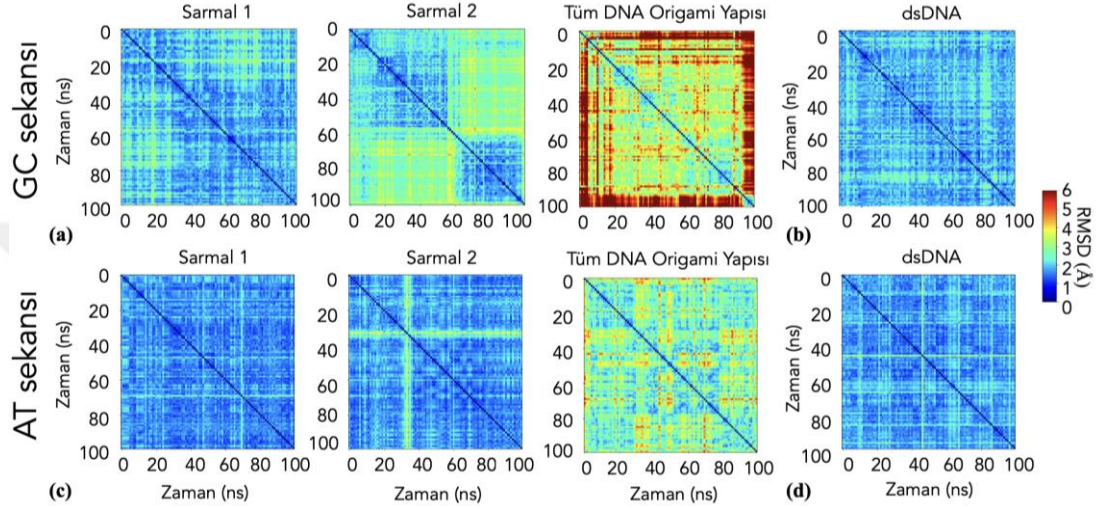


Şekil 3.21: DNA origami (DO) ve çift sarmal DNA (dsDNA) için RMSD zaman grafiği.

RMSD grafikleri ile DNA origamisindeki dalgalanmaların hem GC hem de AT sekansları için dsDNA'dakinden daha yüksek olduğu gözlemlendi. Sarmallar tek tek ele alınarak RMSD hesaplatıldığında (Sarmal 1 ve Sarmal 2), değerler 2-4 Å arasında değişmekte ve çift sarmal DNA'ya benzer değerler göstermektedir. Bu durum sarmalların kendi içerisinde kararlı olduğuna işaret etmektedir. DNA origami moleküllerinin tamamının RMSD değerlerinin yüksek çıkması ise origamide bulunan sarmalların birbirlerine göre hareketlerini belirtmektedir. RMSD grafikleri ile simülasyonun 100 ns boyunca kararlı olduğu görülmüştür. Bu nedenle simülasyon süresi 100 ns ile sınırlandırılmıştır.

Her bir sarmaldaki ve tüm DNA origami molekülündeki konformasyon değişimlerinin zamana göre evrimini incelemek için ikili RMSD analizlerine odaklanıldı. Şekil 3.22’de DNA origaminin farklı sarmalları ve tüm molekülü için ve çift sarmal DNA için her 1 ns’de kaydedilen konformasyonların birbirleri ile karşılaştırması

verilmektedir. Her bir renge karşılık gelen RMSD değerleri sağ tarafta bulunan renk skalasında gösterilmiştir. Grafiklerde koyu mavi birbirlerine en benzer konformasyonları ve koyu kırmızı ise birbirlerinden en farklı konformasyonları belirtmektedir. Grafikler ile, RMSD değerlerini destekleyecek şekilde hem GC hem de AT sekansları için bireysel sarmalların tüm DNA origami yapısına kıyasla daha kararlı davranış sergilediği belirlenmiştir. DNA origami sarmalları tamamen aynı sekanslara sahip olmalarına rağmen yapısal dinamiklerinin farklı olduğu gözlenmiştir.

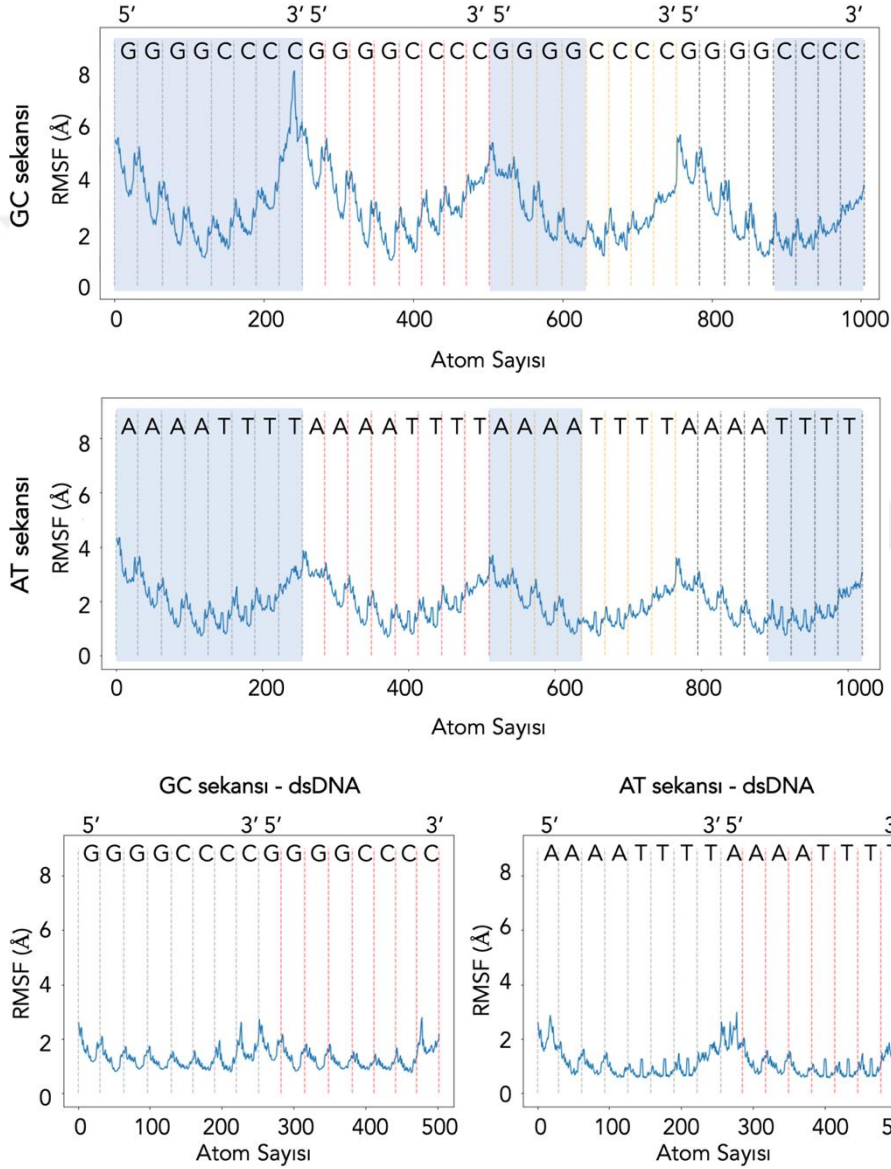


Şekil 3.22: Hem GC hem de AT sekansları için her 1 ns'de kaydedilen konformasyonlar arasındaki ikili RMSD grafikleri. Her bir renge karşılık gelen RMSD değerleri renk skalasında verilmiştir, koyu mavi en benzer konformasyonları ve koyu kırmızı en farklı konformasyonları temsil etmektedir.

GC sekansı için Sarmal 1, dsDNA'ya benzer şekilde simülasyon boyunca sabit kalırken (Şekil 3.22 b), Sarmal 2'nin farklı zaman aralıklarında iki ayrı konformasyon sergilediği görüldü (Şekil 3.22 a, Sarmal 2). AT sekansında ise DNA origaminin her iki sarmalının da simülasyon boyunca kararlı olduğu ve dsDNA'ya benzer şekilde davrandığı gözlemlendi (Şekil 3.22 c ve d).

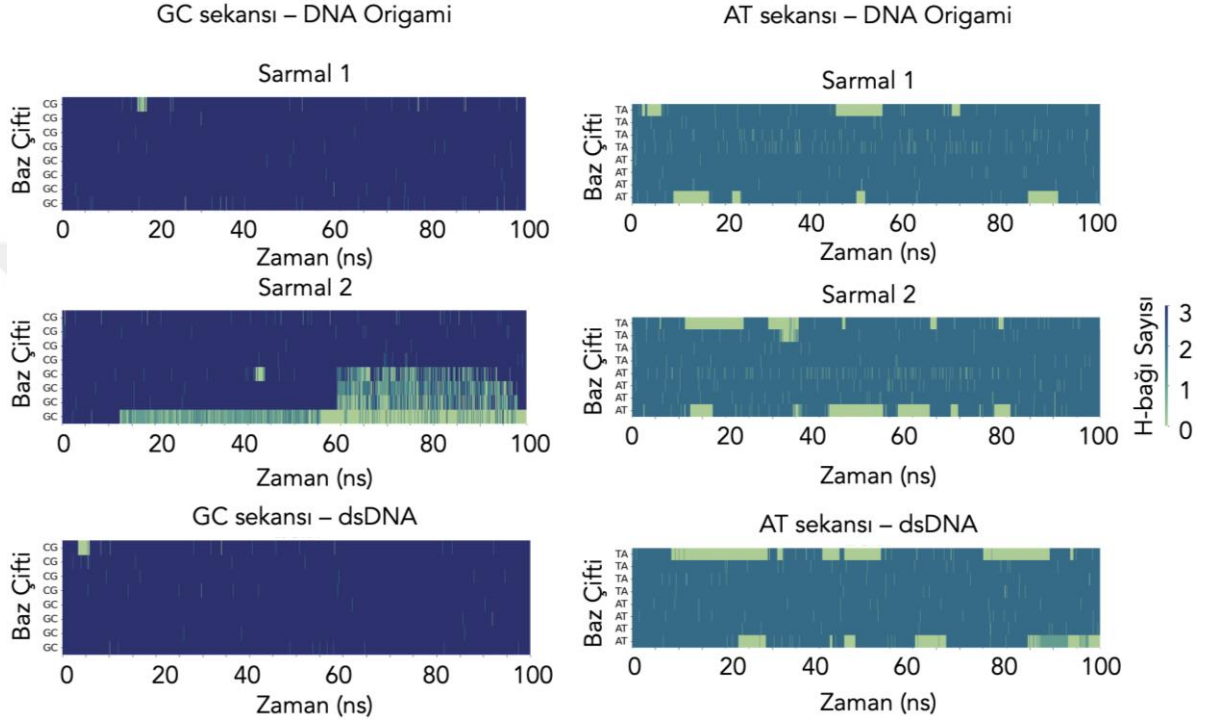
Geçiş bölgelerinin yapı kararlılığı üzerindeki etkilerini anlamak için, Şekil 3.23'te gösterilen, yapılardaki her bir atomun simülasyon süresi boyunca RMSF değerleri hesaplandı. Grafiklerde her bir nükleotide denk gelen bölgeler birbirlerinden ayrılmış ve DNA origami yapısı için Sarmal 2'yi temsil eden atomlar açık mavi dikdörtgenler ile vurgulanmıştır. Yapılardaki sekansların uç nükleotidlerine karşılık gelen ve DNA'nın 3' ve 5' uçları grafiklerin yukarısında yazılmıştır. DNA origami yapılarında geçiş bölgeleri tam olarak her bir ipliğin ortasındaki nükleotidlere denk gelmektedir.

Tüm yapılar karşılaştırıldığında, DNA'nın uç bölgelerindeki RMSF değerlerinin geri kalan bölgelere göre daha yüksek olduğu görüldü. DNA origami yapılarında geçiş bölgelerinin bulunduğu, her bir DNA sarmalının merkez bölgesinde, RMSF değerlerinin uç bölgelere göre düşük olduğu belirlendi. Geçiş bölgelerindeki hareketlerin uç bölgelerden düşük olması, bu kısımların DNA sarmallarının kendi içerisindeki kararlılığı ciddi anlamda etkilemediğine dair yorum yapılabilir.



Şekil 3.23: 100 ns MD simülasyonunda karşılaşılan her bir konformasyon kullanılarak hesaplanan atom başına düşen RMSF değerleri. Üstteki iki grafik, DNA origami yapılarının sonuçlarına karşılık gelir ve en alttaki iki çizim ise hem GC hem de AT sekansları için dsDNA yapılarının sonuçlarını gösterir. Grafik üzerindeki kesikli şeritler arasında iplikler arası ayırım yapmak için farklı renklendirilmiştir. Grafiklerde vurgulanan mavi bölgeler, sarmal 2 ile ilişkili DNA origami atomlarına karşılık gelmektedir.

Her bir sarmal içerisindeki baz çiftleri arasındaki hidrojen bağı sayısının değişimi incelenerek yapıların daha detaylı analizi gerçekleştirildi. Şekil 3.24'te DNA origaminin ve dsDNA'nın baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları (H-bağları) sayısındaki zamansal değişimi verilmiştir. Grafiklerde koyu mavi alanlar baz çiftleri arasındaki üç hidrojen bağı temsil ederken, açık yeşil alanlar baz çiftleri arasında hidrojen bağının kurulmadığı durumları göstermektedir.

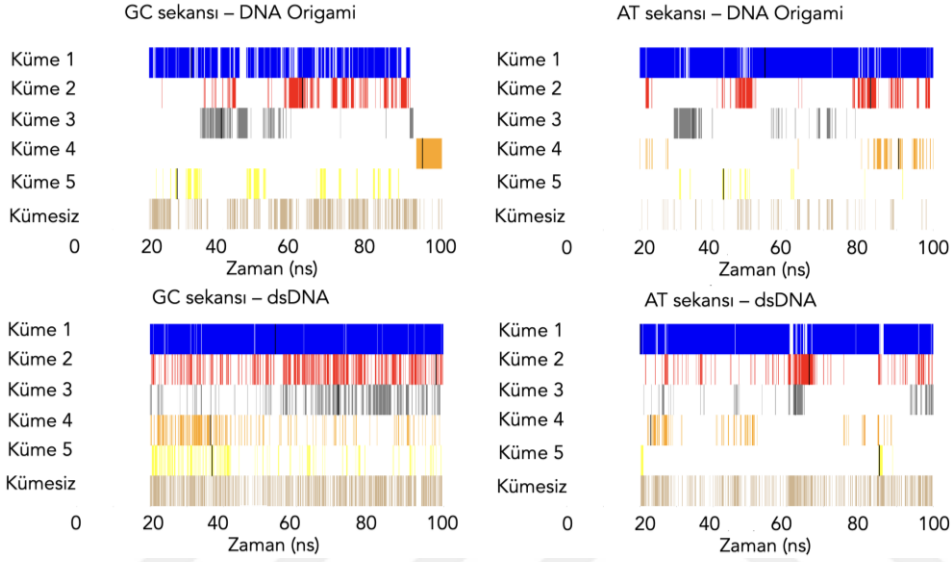


Şekil 3.24: Simülasyonlar sırasında DNA baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarındaki zamansal değişim.

Bu hesaplamalar ile H-bağları sayısının tüm durumlar için ara sıra düşüşlerle dalgalandığı gösterildi. GC sekansına sahip dsDNA ve DNA origaminin Sarmal 1'i için AT sekansı yapılarına göre daha kararlı H-bağlarına sahip olduğu görüldü. GC sekansı için 60 ns zaman diliminde, Sarmal 2 için H-bağlarının sayısında önemli düşüşler olduğu gözlemlendi. Bu hesaplama ile ikili RMSD analizlerinde Sarmal 2'de farklı bir konformasyon görülmesinin, yapı içerisinde bozulan hidrojen bağlarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

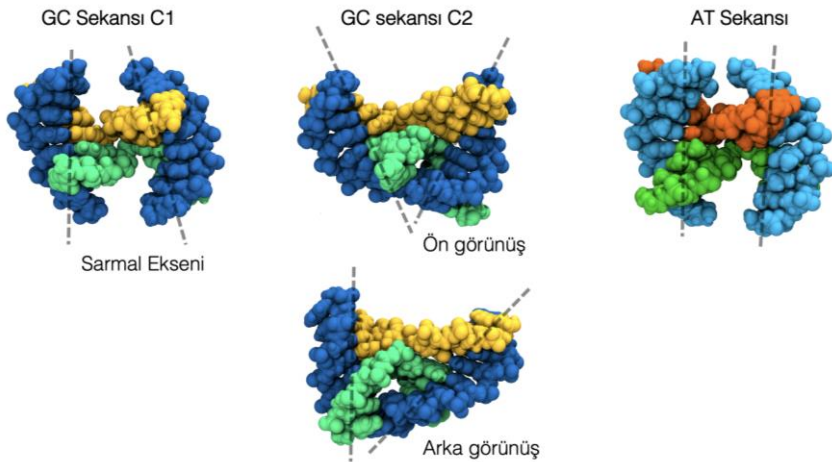
Simülasyonlardan elde edilen konformasyonların zamana göre değişimleri analiz edilerek, en çok karşılaşılan konformasyonun belirlenmesi sağlandı. Bunun için VMD programı içerisinde bulunan, RMSD tabanlı kümeleme (DNA origamiler için 2,5 Å, dsDNA için 1,75 Å kesme değeri ile) algoritmaları kullanılarak simülasyonda en çok karşılaşılan beş konformasyon kümesine odaklanıldı. Şekil 3.25'te her bir küme için

karşılaşılan konformasyonların zaman bilgileri verilmiştir. Çift sarmal DNA'lar ve AT sekanslı DNA origami için, kümeler arasında zamana göre konformasyonlarda dalgalanmalar olduğu gözlenmiştir. GC sekanslı origamiye bakıldığında ise en yoğun konformasyona sahip Küme 1'in yerini Küme 4'te bulunan konformasyona bıraktığı gözlenmiştir. DFT hesaplamaları için en yoğun kümeden temsili yapılar seçilerek hesaplamalar gerçekleştirildi.



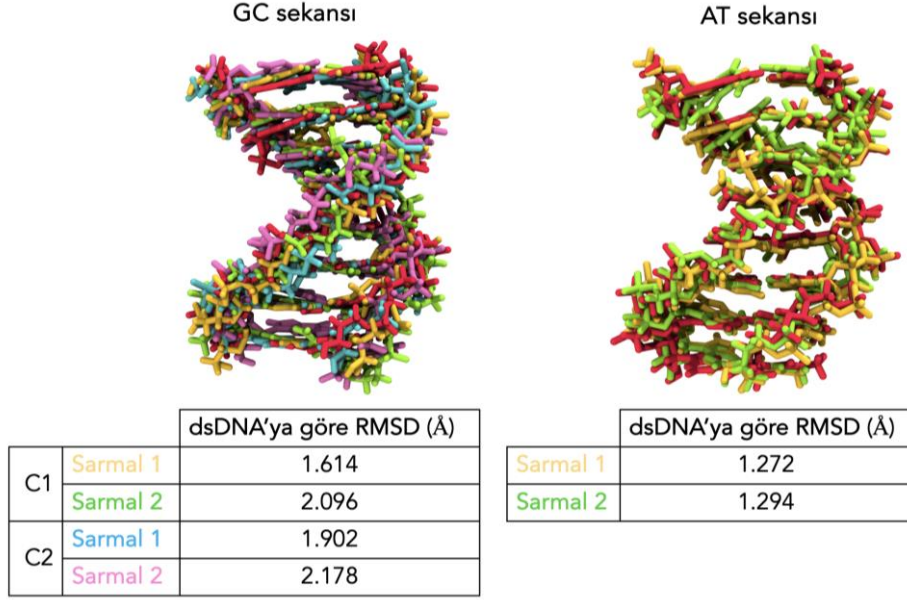
Şekil 3.25: Her sekans için MD simülasyonlarında karşılaşılan farklı kümeler.

Burada GC sekansına sahip DNA origami belirgin iki farklı konformasyon sergilediği için bu sekansın iki farklı temsili yapı seçildi. Bu yapılar C1 (Şekil 3.25-Küme 1) ve C2 (Şekil 3.25-Küme 4) olarak adlandırıldı ve yapıların üç boyutlu görüntüleri Şekil 3.26'ta sunulmuştur.



Şekil 3.26: GC ve AT sekansları için DNA origami MD simülasyonlarından seçilen temsili konformasyonlar.

Daha sonra, seçilen her bir konformasyonda sarmallar arasındaki yapısal farklılıklar araştırıldı. Bunun için DNA origamideki her bir sarmal dsDNA ile RMSD analizi kullanılarak karşılaştırıldı. Şekil 3.27’de DNA origamilerin ve dsDNA’nın sarmallarının üst üste çizdirilmiş hali ve dsDNA’ya göre RMSD farkı gösterilmektedir.

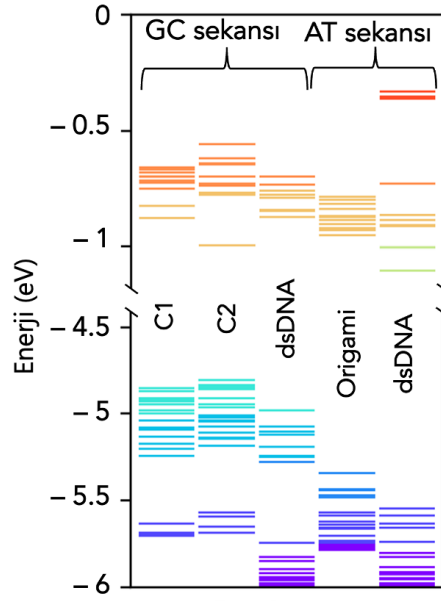


Şekil 3.27: GC ve AT sekansları için DNA origami sarmallarının dsDNA ile hizalanması ve sarmallar arasındaki RMSD değerleri.

DNA origaminin bireysel sarmalları GC sekansı için 1,5 – 2 Å ve AT sekansı için 1,2 Å’a RMSD değerlerine sahip olduğu görülmektedir. Şekil 3.26’da görüldüğü gibi sarmallar arasındaki farklı açılara rağmen, Şekil 3.21’de bahsedildiği gibi sarmalların aslında kendi içlerinde temsili dsDNA benzer yapıda olduğu görülmüştür.

Seçilen her bir temsilci yapıdaki elektriksel özellikleri araştırmak için enerji minimizasyonu gerçekleştirilip, DFT hesaplamaları yapıldı. Şekil 3.28’de, DFT hesaplamaları ile elde edilen, her yapının ilk 20 dolu (HOMO seviyesi) ve 11 boş (LUMO seviyesi) enerji seviyesi gösterilmektedir.

Enerji bant diyagramı grafiklerinde hem GC sekansı için hem de AT sekansı için DNA origamide bulunan ekstra sarmalın sisteme yeni enerji seviyelerini eklediği görüldü. Ayrıca moleküler orbitallerin daha yüksek enerjilere kaydığı gözlemlendi. Her sekans için dsDNA'ya kıyasla DNA origami nanoyapılarının bant boşluğunun düştüğü görüldü.



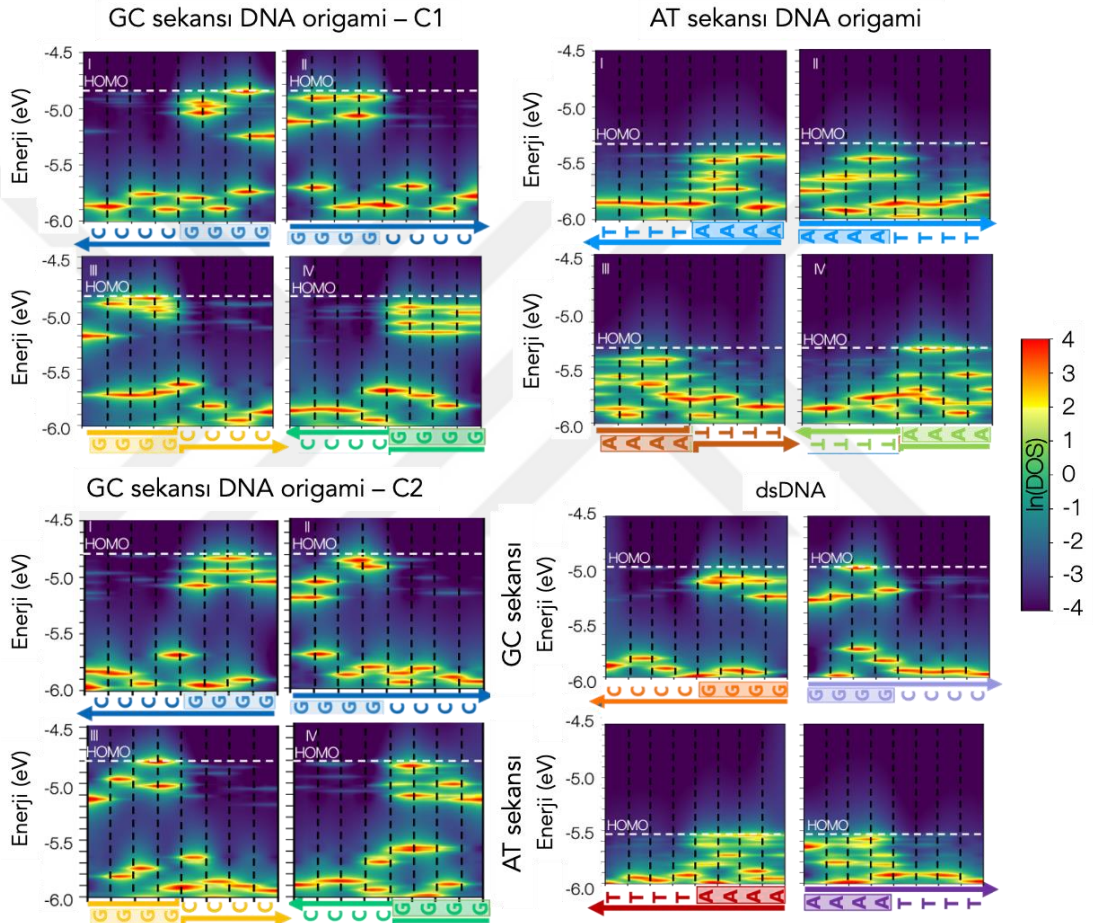
Şekil 3.28: Her yapı için HOMO-LUMO aralığının yakınında bulunan 20 dolu ve 11 boş moleküler orbital için enerji bandı diyagramı.

HOMO-LUMO enerji diyagramlarından sonra, moleküler orbitallerin yük iletimine katkılarını analiz etmek için durum yoğunlukları (DOS) hesaplandı. DOS değerleri DNA'ların bireysel iplikleri boyunca enerjinin bir fonksiyonu olarak Şekil 3.29'da verilmiştir. Bu grafiklerde yüksek DOS değerleri kırmızı renkle, düşük DOS değerleri ise koyu mavi renk ile gösterilmiştir. Her bir yapının HOMO değerleri beyaz kesikli çizgi ile grafikler üzerinde vurgulanmıştır. Farklı iplikler I, II, III ve IV olmak üzere numaralandırılmış ve grafiklerin sol üst köşesinde belirtilmiştir.

Bu analiz ile hem DNA origami hem de dsDNA'da daha yüksek DOS değerlerinin Guanin ve Adenin nükleotidleri üzerinde bulunduğu gözlemlendi. Yük iletiminde önemli olan orbitallerden olan HOMO ve HOMO-1'in, hem dsDNA hem de DNA origami yapılarında farklı iplikler üzerinde lokalize olduğu görüldü. HOMO ve HOMO-1 arasındaki enerji ne kadar düşük ise yüklerin bir enerji seviyesinden diğerine geçmeleri o kadar kolay olacaktır. Bunun yanı sıra, bu orbitallerin molekül üzerindeki uzlamsal konumları da önemlidir. Farklı ipliklerde olmaları durumunda, aynı iplik üzerinde olan orbitallere göre daha az iletim beklenmektedir.

Grafikler, HOMO ve HOMO-1 arasındaki enerji farkının DNA origami ve dsDNA'da farklı olduğunu göstermektedir. Örneğin, GC sekansı DNA origaminin (C1) HOMO'su, iplik I'in 5' ucundaki Guaninlerde ve HOMO-1'nin iplik III'teki 5' ucundaki Guaninlerde olduğu belirlendi. Bu iki moleküler orbital arasındaki enerji ayrımının ise 19 meV olduğu belirlendi (Şekil 3.29 GC sekansı DNA origami – C1).

Benzer şekilde, AT sekansı DNA origami yapısında, HOMO iplik IV’de bulunurken, HOMO-1’in iplik III’te lokalize olduğu gözlemlendi (Şekil 3.29 AT sekansı DNA origami). AT sekansı incelendiğinde HOMO ve HOMO-1 enerji seviyelerinin, GC sekansından daha fazla ve 92 meV olduğu bulundu. GC sekanslı dsDNA’da ise HOMO ve HOMO-1 farklı sarmallarda konumlanmış ve aralarındaki enerji farkı 100 meV olduğu belirlendi. AT sekansının dsDNA yapısı için, iki orbital arasındaki enerji farkının 38 meV olduğu bulundu.



Şekil 3.29: GC ve AT sekanslı DNA origami ve dsDNA yapısının her bir DNA ipliğindeki farklı enerji seviyeleri için durum yoğunlukları (DOS).

DOS grafiklerinden, HOMO’ya yakın orbitallerin hepsinin nükleotidler üzerinde olduğu görülmektedir. Geçiş bölgelerinin ise hem GC hem de AT sekansı için HOMO’ya yakın enerji seviyelerinde düşük DOS değerlerine sahip olduğu ve bu bölgelerdeki yüksek DOS değerlerinin -5.5 eV çevresinde olduğu belirlenmiştir. Geçiş bölgeleri için HOMO civarında gözlenen düşük DOS değerlerinin sebebinin, bu

spesifik bölgede DNA nükleotidleri yerine omurga atomlarının varlığı olduğu düşünülmektedir.

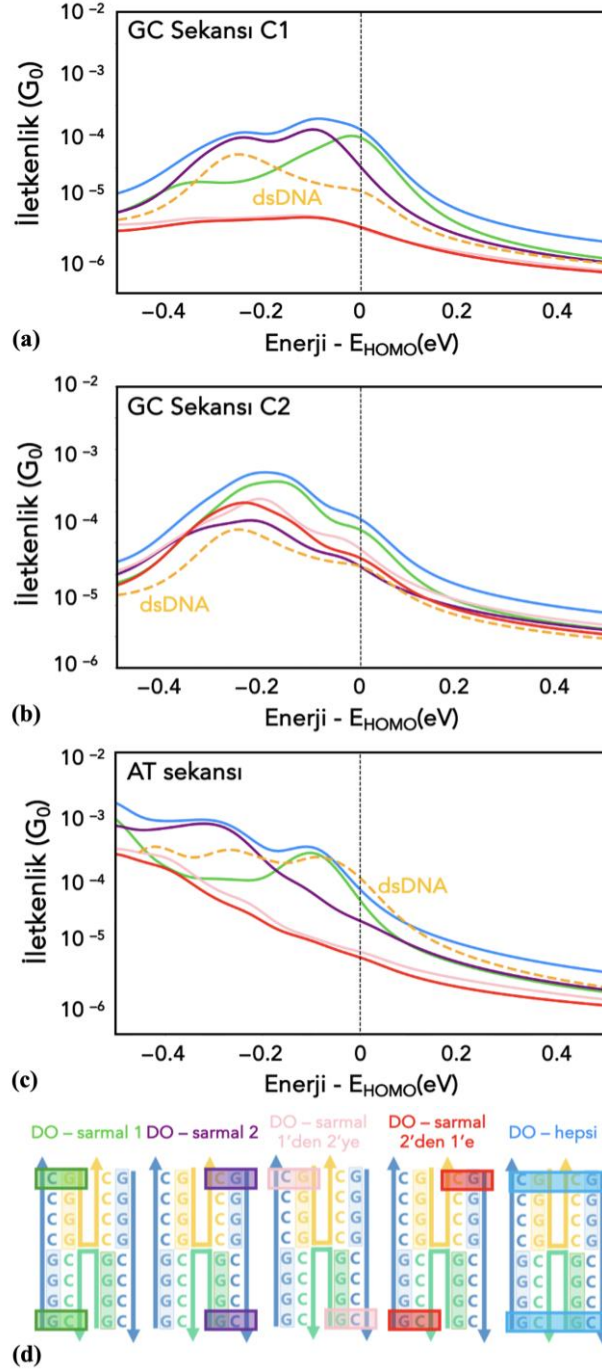
DFT hesaplamalarından *Fock* ve *Overlap* matrisleri elde edilip, daha önceki bölümlerde bahsedildiği gibi yük taşınım hesaplamaları gerçekleştirildi (Şekil 3.30). GC origami konformasyonları (C1 ve C2), AT origami ve dsDNA'lar için iletkenlik hesaplamalarının sonuçları Şekil 3.30'da verilmiştir. Sarmallar üzerinde farklı temas noktaları seçilerek, geçiş bölgesinin elektriksel iletkenlikteki etkileri araştırıldı. Grafikteki farklı durumlar sarmal numaralarına göre adlandırılmıştır: DNA origaminin tek bir sarmalının iki ucunda olan durum sarmal 1 üzerindeyse DO – sarmal 1, sarmal iki üzerindeyse DO – sarmal 2 olarak; Sarmal 1'in üst baz çiftinden sarmal 2'nin alt baz çiftine temas atomlarının seçilmesi durumu DO – sarmal 1'den 2'ye, bu durumun tam tersi DO – sarmal 2'den 1'e olacak şekilde; son olarak hem sarmal 1 hem de sarmal 2'den temas atomlarının aynı anda seçildiği durum DO – hepsi olarak adlandırılmıştır. Şekil 3.30'da bölgelerinin şematik gösterimi ve isimleri verilmiştir.

GC sekansı C1 konformasyonu ve AT sekansı için HOMO seviyesinde ($E=0$), DO – sarmal 1 (yeşil), DO – sarmal 2 (mor) ve DO – hepsi (mavi), DO-sarmal 1'den 2'ye (pembe) ve DO sarmal 2'den 1'e (kırmızı) göre daha yüksek iletkenliğe sahip olduğu görüldü. Burada altta yatan fiziksel nedenin, geçiş bölgelerinde HOMO çevresinde düşük DOS değerlerinin görünmesi olduğu düşünülmektedir.

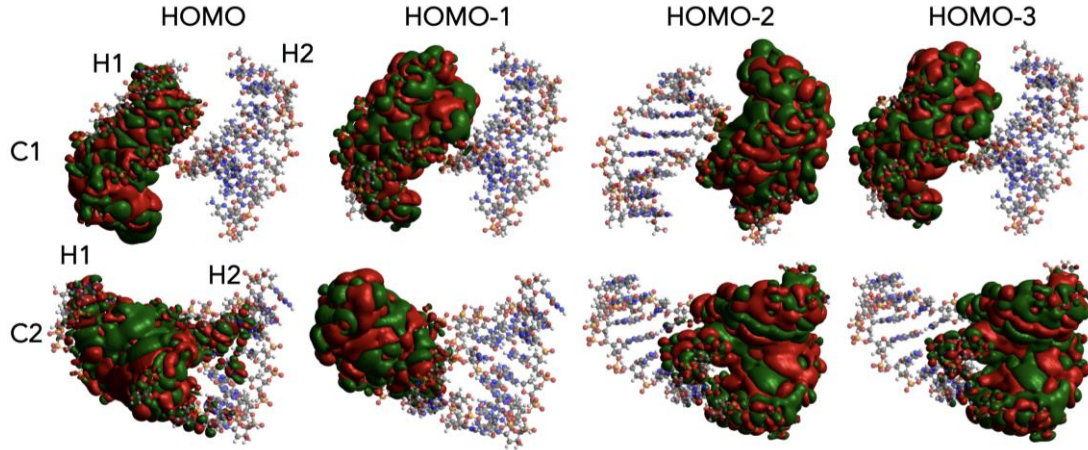
Geçiş bölgeleri, GC C1 ve AT konformasyonları için sistemin HOMO'suna yakın yüksek DOS değerlerine sahip değildir. İki temas atomu arasında geçiş bölgesinin bulunması durumlarında (DO sarmal 1'den 2'ye ve DO sarmalı 2'den 1'e), yüklerin bulunabileceği bir enerji seviyesi olmadığı için iletkenlikte düşüş görüldüğü düşünülmektedir.

HOMO enerji değerinde ($E=0$) dsDNA'nın iletkenliği, GC sekansı C1 konformasyonu ve AT sekansı DO – sarmal 1'den 2'ye ve DO sarmal 2'den 1'e durumundan sırasıyla üç ve on kat daha yüksektir. Benzer durum, GC sekansı C2 konformasyonunun iletkenlik grafiklerinde de gözlenmiştir. C2 durumunda, Şekil 3.26'da gösterildiği gibi, sarmal 2'nin uçları helisel eksenindeki dönüş nedeniyle sarmal 1 ile temas halindedir. Bu, Şekil 3.31'de gösterildiği gibi iki sarmal arasında bir orbital etkileşiminin oluştuğunu düşündürmektedir. C1 konformasyonunda, moleküler orbitaller belirgin bir şekilde Sarmal 1 veya 2'de bulunurken, C2 konformasyonunda, Sarmal 1'deki orbitallerin Sarmal 2'ye doğru yayıldığı görülmektedir. Bunun DO – sarmal 1'den 2'ye

ile DO – sarmal 2’den 1’e durumlarında daha yüksek yük taşınımının sebebi olduğu düşünülmektedir.



Şekil 3.30: Farklı noktalardan temas atomu seçilerek hesaplanan yük taşınımı grafikleri.



Şekil 3.31: GC sekansı için farklı temsili konformasyonlarına yansıtılan HOMO'dan HOMO-3'e moleküler orbitaller.

DNA origami dsDNA'nın yük taşınımı karşılaştırıldığında, GC sekansı için DNA origamiye göre düşük, AT sekansı için DNA origamiden biraz yüksek iletkenlik değerine sahip olduğu görüldü. Daha önce bahsedildiği gibi, dsDNA'nın HOMO ve HOMO-1'i arasındaki enerji ayrımı, GC sekansı C1 ve C2'deki DNA origamiden daha büyüktür. Öte yandan, AT sekansında, dsDNA'nın enerji seviyeleri, Şekil 3.27'de gösterildiği gibi, DNA origamininkinden daha yakındır. Bu nedenle GC sekansı için dsDNA daha düşük iletkenlik gösterirken, AT sekansı için daha yüksek iletkenlik gösterdiği düşünülmektedir.

Sonuç olarak, bu bölümde gerçekleştirilen MD simülasyonları ile DNA origami yapılarında, sarmalların birbirlerine göre hareket ederken, kendi içlerinde kararlılıklarını koruyabildikleri ve çift sarmal DNA'ya benzer salınımlar yaptıkları belirlendi. DFT ve yük taşınımı hesaplamaları ile DNA origami yapılarının, aynı diziyeye sahip dsDNA'dan daha fazla moleküler orbitallere sahip olduğu görüldü. Bununla beraber orbitaller arasındaki enerji seviyesi farkının dsDNA'lara göre azaldığı gözlemlendi. Geçiş bölgelerinin, DNA sarmalları arasındaki tek etkileşim olması durumunda iletkenlikte düşüşe neden olduğu belirlendi. Geçiş bölgelerinin HOMO enerji seviyesi yakınlarında düşük durum yoğunluğunun olmasının bu düşüşün sebebi olabileceği düşünüldü. Elektrot temas noktalarının ayrı sarmallar üzerindeki konumu, origami yapısındaki sarmalların aynı diziyeye sahip olmalarına rağmen, bu sarmalların yapı boyunca moleküler orbital dağılımına bağlı olarak farklı elektronik özelliklere sahip olabileceği gözlemlendi. Bu çalışmalar, geçiş bölgesindeki omurga atomlarının başka moleküller ile modifiye edilmesi ve bu modifikasyonların iletkenlik

üzerindeki etkileri araştırılması ile geliştirilebilir. Bu sayede, origami tabanlı elektronik tabanlı yeni cihazların geliştirilmesinin önü açılabilir.

3.4 DNA Origami Yapısına Geçiş Bölgesi Dağılımı ve İyon Konsantrasyonu Etkisi

DNA origamilerin elektriksel özelliklerine geçiş bölgelerinin (GB) etkisi bir önceki bölümde gösterildi. GB'lerin, DNA sarmalları arasındaki itici kuvvetleri dengelemesi nedeniyle DNA origami yapılarının kararlılığını korumada önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Xin vd., 2022). Bununla beraber, literatürde yapılan çalışmalar ile çift sarmal DNA ile ilgili yapılan birçok teorik (Auffinger vd., 2000; Chen vd., 2012; Lipfert vd., 2014) ve deneysel (Kriegel vd. 2017; Fu vd., 2020) çalışmadan bilindiği üzere DNA'nın konformasyonu ortamdaki solüsyona (su, etanol, vb.), etkileştiği iyonların tipine ve konsantrasyonuna (Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , vb.) ve çeşitli biyolojik moleküllere (ilaç molekülleri, peptitler, vb.) bağlıdır. DNA origamilerin de farklı tuz konsantrasyonlarında yapısal bütünlüklerinin değiştiği deneysel olarak gösterilmiştir (Kielar vd., 2018). Bu deneylerde, yapılar AFM veya TEM ile karakterize edildiği için, DNA origami nanoyapıları genellikle bir yüzey ile etkileşim halindedir. Bu çalışmalarda GB'lerin etkisinin yanı sıra DNA'ların yüzey ile etkileşimlerinden kaynaklanan yapısal değişimlerin de mevcut olabileceği düşünülmektedir. Bu nedenle, deneysel çalışmalardan yalnızca GB'lerin etkilerini açığa çıkartmak oldukça zordur ve bilgisayarlı hesaplamalı yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Bu bölümde, DNA origamilerde farklı GB sayısına ve pozisyonuna sahip yapılarda tuz konsantrasyonunun konformasyon üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Bunun için, tamamen aynı sekansa (M13 fajından izole edilen m13mp18 (Rothmund, 2006) viral genomun sekansı kullanıldı) sahip, altı sarmaldan oluşan (Şekil 3.32) ve farklı GB tasarımlarına sahip üç DNA origami yapısı oluşturuldu (Şekil 3.33).

```

1 T G A T A G A C G G T T T T T C G C C C T T T G A C G T T G G A G T C C A C G T T C
  A C T A T C T G C C A A A A A G C G G G A A A C T G C A A C C T C A G G T G C A A G

2 G A A C G T G G A C T C C A A C G T C A A A G G G C G A A A A A C C G T C T A T C A
  C T T G C A C C T G A G G T T G C A G T T T C C C G C T T T T T G G C A G A T A G T

3 T G A T A G A C G G T T T T T C G C C C T T T G A C G T T G G A G T C C A C G T T C
  A C T A T C T G C C A A A A A G C G G G A A A C T G C A A C C T C A G G T G C A A G

4 G A A C G T G G A C T C C A A C G T C A A A G G G C G A A A A A C C G T C T A T C A
  C T T G C A C C T G A G G T T G C A G T T T C C C G C T T T T T G G C A G A T A G T

5 T G A T A G A C G G T T T T T C G C C C T T T G A C G T T G G A G T C C A C G T T C
  A C T A T C T G C C A A A A A G C G G G A A A C T G C A A C C T C A G G T G C A A G

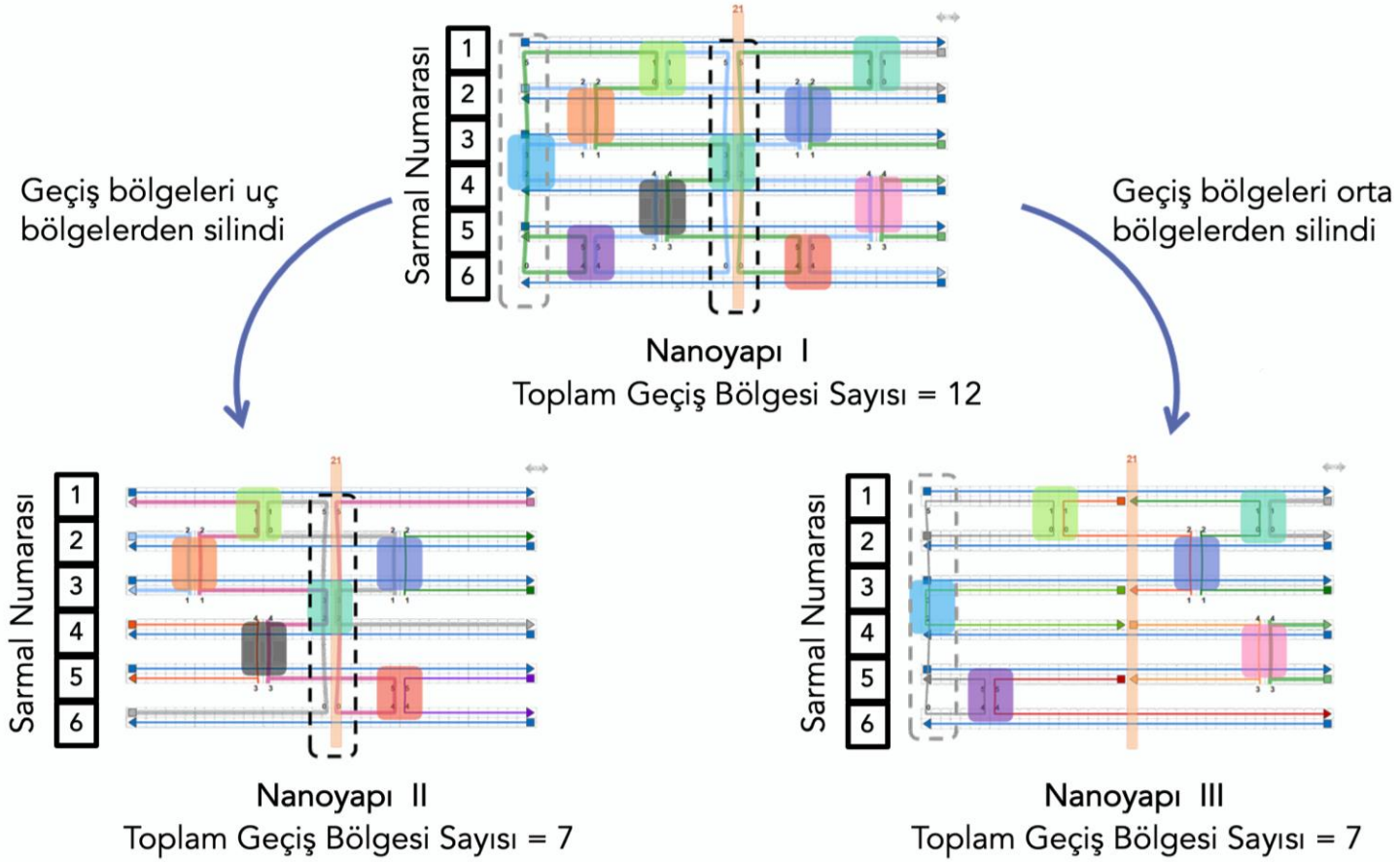
6 G A A C G T G G A C T C C A A C G T C A A A G G G C G A A A A A C C G T C T A T C A
  C T T G C A C C T G A G G T T G C A G T T T C C C G C T T T T T G G C A G A T A G T

```

Şekil 3.32: İyon konsantrasyonu ve geçiş bölgesi sayısı etkilerini anlamak için tasarlanan altılı sarmal DNA origamisindeki her bir sarmalın sekansları (m13mp18 (Rothemund, 2006) viral genomun sekansı kullanıldı).

İlk yapıda GB'ler caDNAo programının önerdiği şekilde her bir sarmalda iki adet GB (toplamda 12 adet GB) olacak şekilde oluşturuldu ve böylece GB'lerin nanoyapı içerisinde homojen bir şekilde dağılması sağlandı. Oluşturulan yapı Nanoyapı I olarak adlandırıldı. Daha sonra bu yapı üzerinden uçlara ve merkeze yakın bölgelerden beşer adet GB silinerek yapı içerisinde GB'lerin heterojen dağıldığı yeni iki yapı oluşturuldu ve bu yapılar Nanoyapı II ve Nanoyapı III olarak isimlendirildi (Şekil 3.33).

Literatürdeki çalışmalardan yararlanılarak (Roodhuizen vd., 2019; Kielar vd., 2018) 15 mM ve 50 mM olmak üzere iki farklı konsantrasyon, örnek inceleme olarak seçildi ve oluşturulan yapılar bu solüsyonlar içerisinde, NAMD (Phillips, 2005) programı ile, tamamen aynı prosedür uygulanarak, 200 ns için simüle edildi. Bu prosedürde, ilk olarak, DNA origami molekülü hareketsiz tutulup 48000 adımda eşlenik gradyan metodu ile enerji minimizasyonu gerçekleştirildi. Daha sonra, simülasyon kutusunun ve sistemin dengeye gelebilmesi için DNA origamilerin hareketi belirli bir kuvvet oranında kısıtlanarak dengeleme simülasyonları uygulandı.

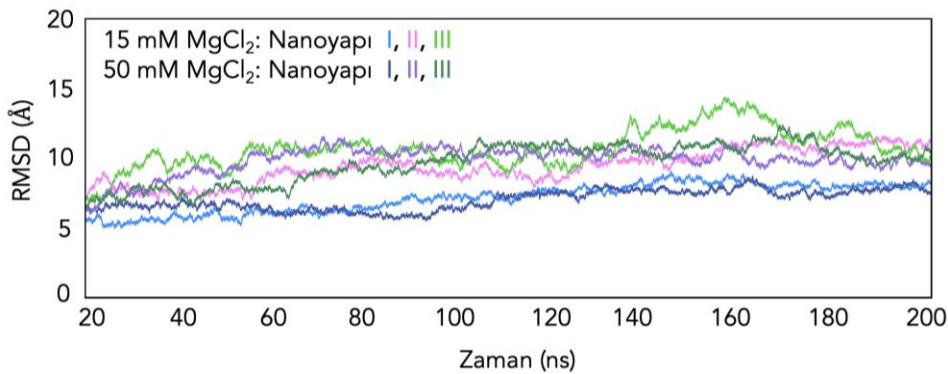


Şekil 3.33: İyon konsantrasyonu ve geçiş bölgesi sayısı etkilerini anlamak için tasarlanan DNA origami yapılarının caDNAno şematik gösterimi

Kısıtlama kuvveti, k , her 4,8 nslik simülasyon süresi sonunda kademeli olarak azaltılarak ($k = 0,5, 0,1, 0,01$ ve 0 (kcal/mol/Å²)) olacak şekilde ~20 ns boyunca dengeleme simülasyonları gerçekleştirildi. Bunun sonunda sabit basınç altında (NPT) periyodik sınır koşulları kullanılarak 200 ns MD simülasyonları tamamlandı.

Simülasyon sırasında DNA molekülleri için CHARMM-36 (Huang vd., 2013) kuvvet alanı kullanırken su molekülleri ve iyonlar için TIP3P (Jorgensen vd., 1983) kullanıldı. Simülasyonlarda, van der Waals ve kısa menzilli elektrostatik enerjiler (non-bonded), 8 ve 10 Å kademeli kesme değeri (switched cutoff) kullanılarak hesaplandı. Uzun menzilli elektrostatik etkileşimler için ise PME algoritması kullanıldı. Langevin dinamik kullanılarak sıcaklık 300 K'de sabit tutuldu. Simülasyonlar her 2 fs zaman dilimi için hesaplatıldı ve her 4 fs'de bir kaydedildi. Simülasyon parametreleri ve prosedürü literatürde bulunan çalışmalar göz önüne alınarak seçildi (Yoo ve Aksimentiev, 2013; Göpfrich vd., 2016; Maffeo vd., 2012). MD analizleri yapılırken ilk 20 ns dengeleme simülasyonları olduğu için çıkartıldı ve tüm analizler 20 – 200 ns arasındaki MD koşumu üzerinden gerçekleştirildi.

MD simülasyonlarında yapısal kararlılık analizleri RMSD ile hesaplandı. Şekil 3.34'te her bir yapı ve ortam koşulu için elde edilen RMSD değerlerinin 20 – 200 ns arasındaki zamana göre değişimleri verilmiştir. RMSD dalgalanmaları, her iki çözelti içerisinde de Nanoyapı I'in yaklaşık 6 Å RMSD değeri ile en az konformasyonel değişikliğe sahip olduğunu göstermektedir. Nanoyapı II ve III'e bakıldığında ise ortalama olarak 10 Å'a kadar RMSD değerlerine sahip oldukları görülmektedir.

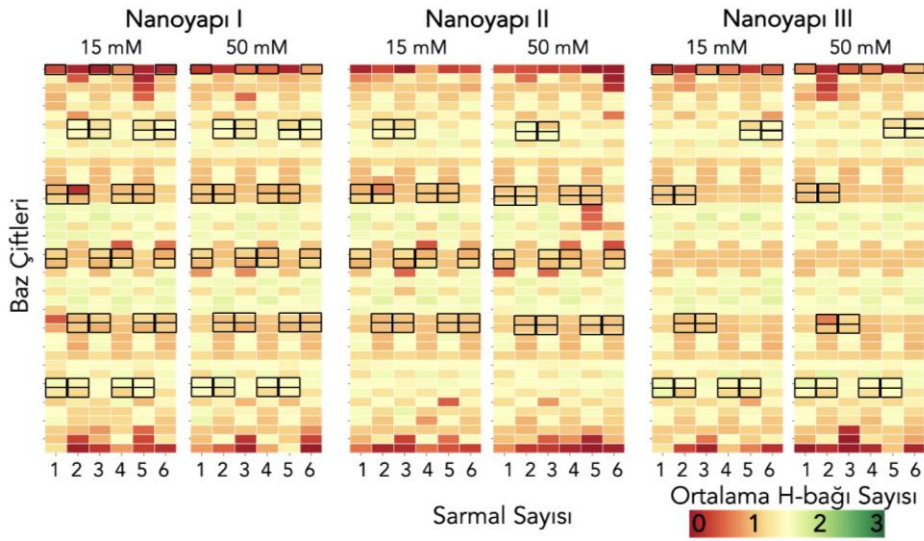


Şekil 3.34: İki farklı tuz konsantrasyonu içerisinde tüm DNA origami yapıları için RMSD ve zaman grafikleri. Açık renkler düşük MgCl₂ konsantrasyonunu ve koyu renkler yüksek MgCl₂ konsantrasyonunu temsil etmektedir.

RMSD grafiklerinde, DNA origami yapılarından uç veya merkeze yakın bölgelerden GB'lerin çıkarılmasının direkt olarak yapılarda daha çok salınımlara neden olduğu ve başlangıç durumuna göre daha çok konformasyonel değişikliğe uğradıkları

gözlendi. Farklı tuz konsantrasyonlarının RMSD grafikleri karşılaştırıldığında ise, grafikler arasında belirgin farklara rastlanmamıştır.

Baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları DNA'nın çift sarmal yapısını korumak için kritik bir bileşendir. Bu nedenle, DNA origamilerin içerisinde bulunduğu ortamın yapısal kararlılığa olan etkisini anlamak için baz çiftleri arasındaki hidrojen bağları incelendi. Şekil 3.35, farklı tuz konsantrasyonları altında tasarlanan üç origami yapısı için ortalama hidrojen bağlarını göstermektedir.

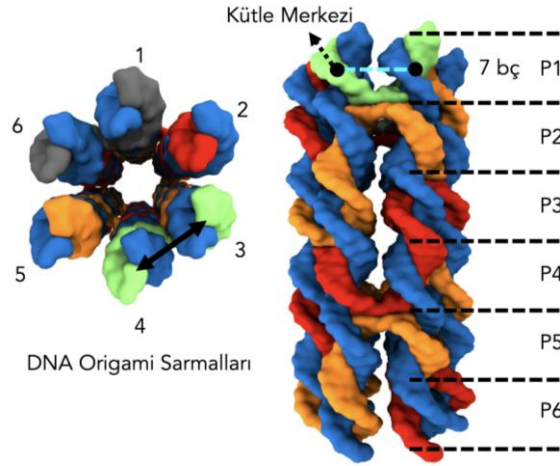


Şekil 3.35: İki farklı tuz konsantrasyonu içerisinde ortalama hidrojen bağ sayısının baz çiftleri üzerinde gösterimi. Siyah kutular geçiş bölgelerinin bulunduğu baz çiftlerini göstermektedir.

Bu analiz ile tuz konsantrasyonundan bağımsız olarak, tüm yapılarda terminal baz çiftlerindeki hidrojen bağlarının bozulduğu görüldü. Bu bozulmalar AT baz çiftlerinde daha belirgindir. Nanoyapı I için tuz konsantrasyonu 15 mM'den 50 mM'ye yükseltildiğinde, GB'ler etrafındaki ortalama hidrojen bağ sayısında bir artış gözlemlendi ancak bu trendin tüm yapıya yayılmadığı görülmektedir. Nanoyapı II'de merkez alana yakın bölgelerde, özellikle sarmal 5'te, baz çiftleri arasındaki ortalama hidrojen bağ sayısında bir azalma gözlemlendi, fakat yapının diğer bölgelerinde gözle görülür bir fark bulunamadı. Ayrıca, Nanoyapı III'te ortalama hidrojen bağ sayısının büyük ölçüde değişmeden kaldığı gözlemlendi.

DNA origami yapılarının kararlılığının sarmalların kendi içindeki baz çiftleri arasındaki etkileşimlerine ek olarak, başka faktörlere de bağlı olabileceği düşünülmektedir. DNA omurgasının negatif yüklü doğası nedeniyle, DNA sarmalları arasındaki elektrostatik etkileşimler, tuz konsantrasyonundaki ile değişebilir. Bu

hipotezi test etmek için sarmallar arasındaki dinamik değişimler analiz edildi (Şekil 3.36).

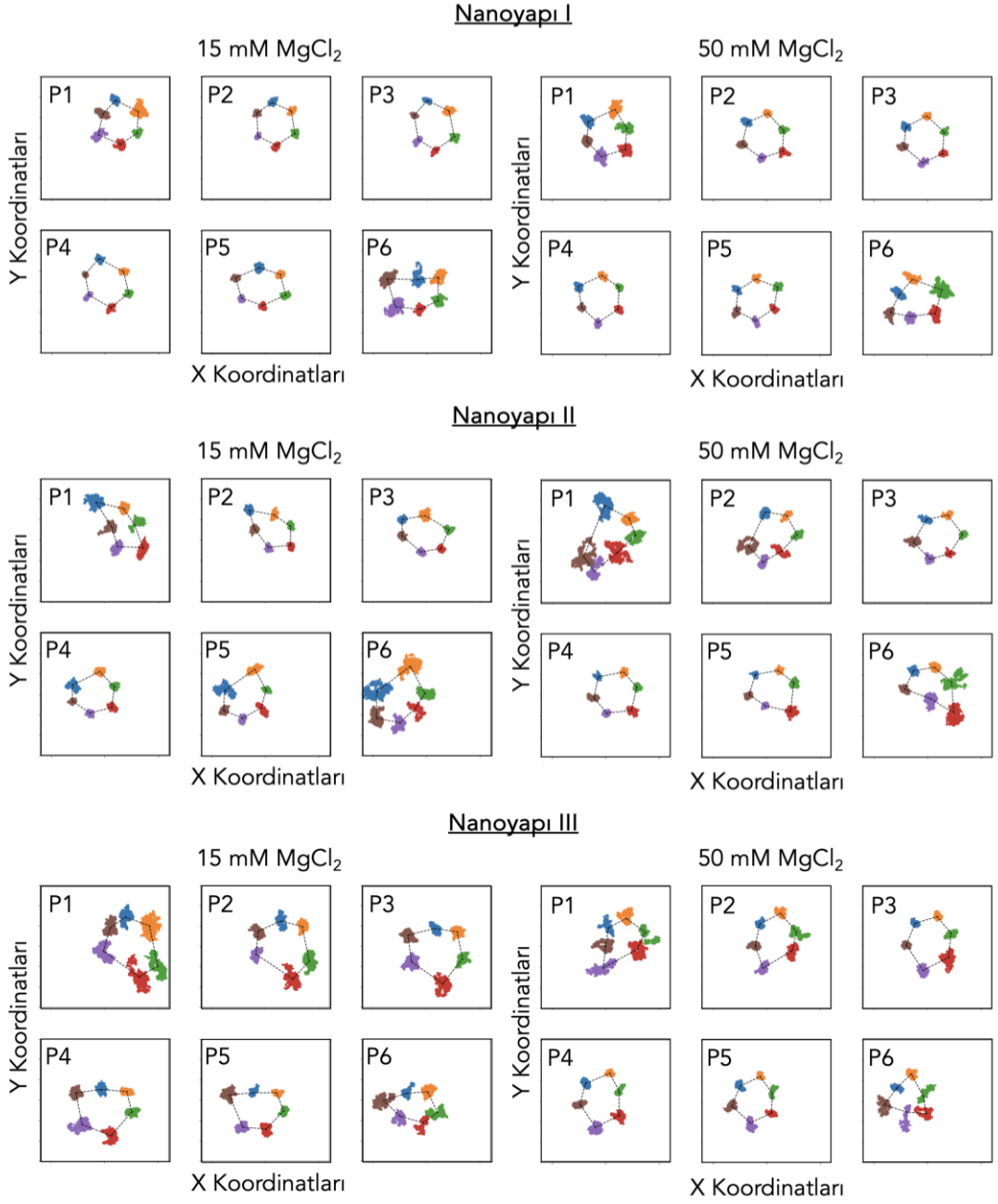


Şekil 3.36: DNA origami sarmalları arasındaki etkileşimleri incelemek için kullanılan her 7 baz çifti (bç) bölgesinin şematik gösterimi.

42 baz çiftinden oluşan DNA origami, P1' den P6'ya altı adet 7'lik baz çiftinden oluşan bölgelere ayrıldı. Her bir bölge için ayrı ayrı kütle merkezi koordinatlarının zamana göre değişimi incelendi. Origami yapıları büyük olduğu için bu şekilde bölgelere ayırarak analiz yapmak yapıları karşılaştırma açısından kolaylık sağlamaktadır.

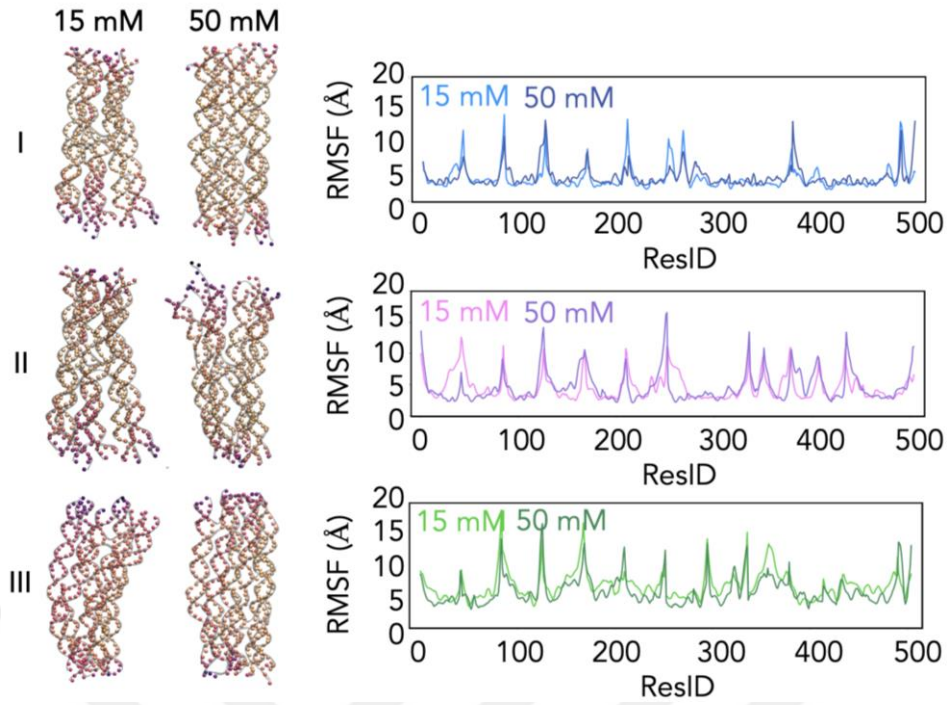
Şekil 3.37, DNA origami sarmallarının her bir 7 baz çifti (bç) bölgesinin kütle merkezinin XY düzleminde koordinatlarının zamana göre değişimini göstermektedir. Grafiklerde verilen siyah noktalar ise kütle merkezi hareketinin ortalama değerlerini göstermektedir.

Tüm yapılarda, ilk ve son 7 bç (P1 ve P6) bölgelerinin, yapıların geri kalanından önemli ölçüde daha yüksek salınım yaptığı görüldü. Aynı konsantrasyon altında Nanoyapılar (I, II ve III) karşılaştırıldığında Nanoyapı I'de diğer iki yapıya göre önemli oranda daha az salınım olduğu fark edildi. Bunun nedeninin sarmallar içerisinde GB'lerin homojen bir şekilde dağılması olduğu düşünülmektedir. Tuz konsantrasyonuna göre bölgeler karşılaştırıldığında Nanoyapı I'de iki tuz konsantrasyonu arasında benzer davranışlar görüldü. Nanoyapı II'de P1'de tuz konsantrasyonunun artırılması ile daha fazla salınım olurken P6'da daha az bir salınım, Nanoyapı III'te ise P2 ve P3'te tuz konsantrasyonunun artması ile salınımların azaldığı görülmektedir.



Şekil 3.37: Her bir 7 baz çifti (bç) bölgesinin kütle merkezinin XY düzleminde koordinatlarının zamana göre değişimini.

Daha sonra, her bir baz üzerindeki hareketli bölgelerin karşılaştırılması için RMSF değerleri hesaplandı. Şekil 3.38’de sağ tarafta RMSF değerlerinin her bir nükleotide (ResID) göre değişimi verilmiştir. Sol tarafta ise bu değerlerin üç boyutlu DNA origami üzerindeki karşılığı sunulmuştur. Yapı üzerinde verilen koyu renkler RMSF’in büyük, açık renkler ise düşük olduğu değerleri temsil etmektedir. Grafiklerde, yüksek tepe noktalarına sahip alanlar, her sarmaldaki uç nükleotidlere karşılık gelmektedir.



Şekil 3.38: Her bir DNA origami yapısı için RMSF değerleri ve ortalama yapı üzerinde gösterimi.

RMSF grafikleri incelendiğinde, uç bölgelerdeki RMSF değerlerinde az da olsa bir düşüş görüldüğü söylenebilir. Özellikle Nanoyapı II'deki ellinci ResID civarında RMSF'te ciddi bir düşüş görülmektedir. Ancak, genel olarak tüm yapıya bakıldığında tuz miktarı artışıyla ciddi bir RMSF değişikliğine rastlanmamıştır.

Bu bölümde yapılan MD çalışmaları ile GB sayısı ve konumlarının DNA origami yapılarının konformasyonlarını etkilediği gösterildi. Sarmallar içerisinde sekanslar birebir aynı olsa bile GB pozisyonlarının ve sayısının değişimi sonucu baz çiftleri arasındaki hidrojen bağlarını anlamlı ölçüde etkilemediği görüldü. RMSF değerleri karşılaştırıldığında her üç yapı için de tasarımdan bağımsız olarak uç bölgelerde salınımların yüksek olduğu gözlemlendi. Fakat, yapılan simülasyonlarda farklı tuz konsantrasyonlarının yapısal kararlılık üzerindeki etkisinin anlaşılması için yeterli olmadığı sonucuna varıldı. Bunun için ileriki çalışmalarda aynı yapıların birden fazla moleküler dinamik simülasyonları gerçekleştirilebilir, istatistiksel analiz yapılabilir ve farklı tuz konsantrasyonlarında simülasyonlar gerçekleştirilebilir. Burada üretilen analiz yöntemleri kullanılarak tuz konsantrasyonunun yapısal değişimler üzerindeki etkisi incelenebilir. Böylece, hem DNA origami tabanlı cihazlarda kullanılacak DNA origamilerin konformasyonları tahmin edilebilir, hem de istenilen konformasyon için gerekli tuz konsantrasyonu tayin edilebilir.

3.5 Biyoelektronik Uygulamalar için DNA Origami Nanogözenek Yapısı

Günümüz bilgi teknolojilerinin temeli elektron ve boşlukların yarı iletken cihazlar içerisinde kontrollü hareketine dayanmaktadır. Aksine, canlı sistemlerde bilgi işleme, moleküllerin ve iyonların farklı proteinler ve enzimler aracılığıyla kesin ve düzenli hareketlerini içerir. Bu hareket, herhangi bir yarı iletken cihazda görülmeyen bir çözünürlükte ve karmaşıklıkta çok çeşitli iyon kanalları ve pompaları tarafından gerçekleştirilmektedir. Bu karmaşık biyolojik sistemlerin yarı iletken teknolojileri ile ara yüzey oluşturulup bir cihaz haline getirilmesi, silikon bazlı elektronik cihazların ötesinde yeni terapi ve biyosensör uygulamalarını ortaya çıkarma potansiyeline sahiptir. Bu sayede, hücre içerisinden daha hızlı bilgi alma ve birçok hastalığın erken teşhisi sağlanabilir.

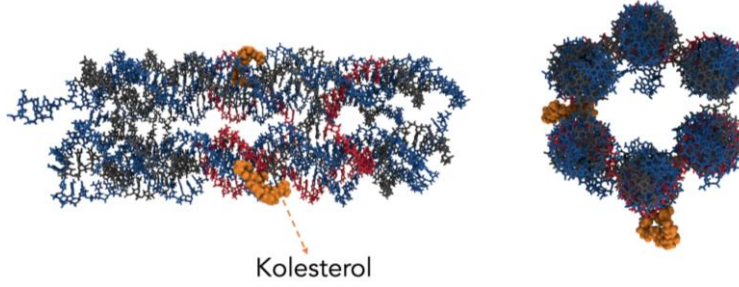
Moleküler ölçekte nükleik asit sarmallarını kontrol etmenin kolaylığı nedeniyle, DNA origami teknolojisi, zar proteinlerini taklit etme ve nano gözenekler oluşturmak için yüksek potansiyele sahiptir. Zar proteinlerinin aksine, DNA origami ile istenilen boyutta ve fonksiyonda nanogözeneklerin oluşturulması mümkündür. Ayrıca iyi tanımlanmış şekli ve farklı boyutları sayesinde DNA origaminin bir yüzey üzerinde litografik sabitleştirilmesi sağlanabilir. Böylece, bir cihaz için istenilen sayıda DNA origami, istenilen şekilde bir araya getirilebilir. Tüm bu sebepler DNA origami nanoyapılarını zar proteinlerinin yanında avantajlı konuma getirmektedir.

DNA origaminin bu avantajı kullanılarak MIT, UC Santa Cruz (UCSC) ve UW ile ortak yapılan bir proje ile yeni bir organik – inorganik biyosensör prototipi geliştirilmesi üzerine çalışmalar yürütüldü. Bu cihazda protonların DNA nanogözenekten geçerek, altta bulunan paladyum malzemesiyle etkileşime geçmesi ve bu etkileşim sonucunda elektriksel akım oluşturması ile proton konsantrasyonunun elektronik sinyale dönüştürülmesi hedeflenmektedir. Bu proje kapsamında deneyler MIT ve UCSC’da, teorik çalışmalar ve modeller ise TOBB ETU ve UW ortak çalışması olarak gerçekleştirildi.

Bu tez kapsamında, bu proje için geliştirilecek nanogözenek tabanlı biyosensör için DNA origami nanoyapısının deneylerde memeli hücre zarlarında bolca bulunması nedeniyle kullanılan 1,2-dioleoil-sn-glisero-3-fosfokolin (DOPC) lipit çift tabakası ile etkileşimi MD simülasyonları ile incelendi. Bunun için öncelikle DNA origami nanoyapısı diğer bölümlerde olduğu gibi caDNAo programı kullanılarak oluşturuldu. DOPC lipit tabakası CHARMM-GUI (Jo vd., 2008) platformu kullanılarak

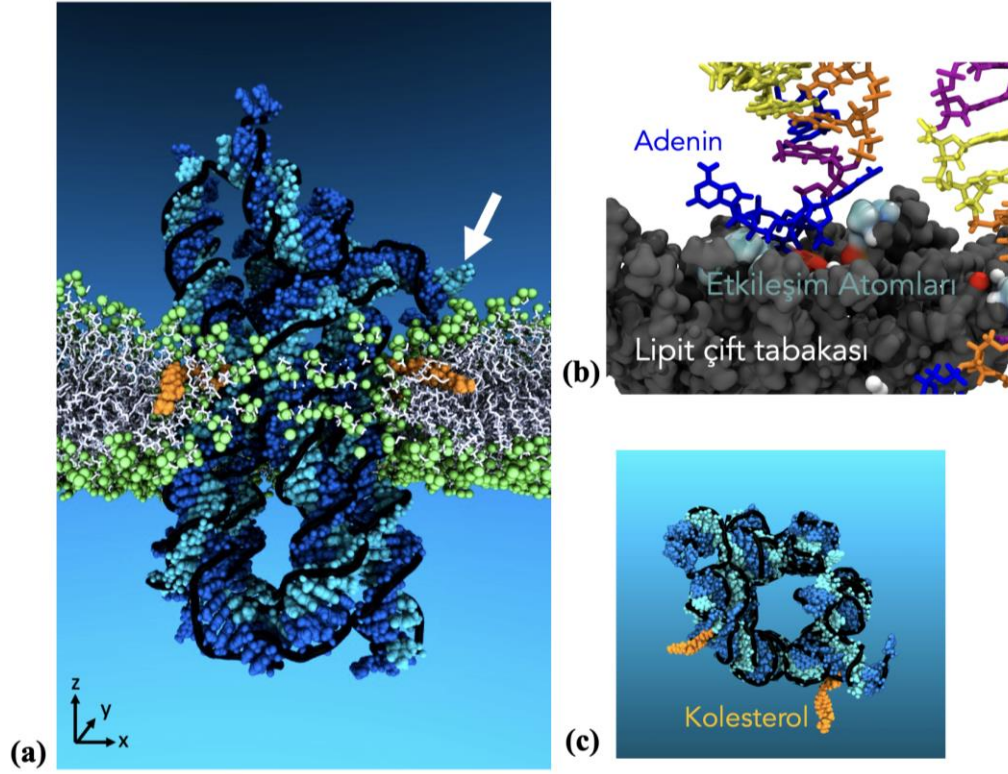
modellendi. Kolesterol-TEG uzantılarını, literatürde (Joshi vd., 2019) sağlanan parametreler kullanılarak oluşturuldu ve bağlayıcı ipliklerin 3' ucuna kovalent olarak bağlandı. Daha sonra Kolesterol-TEG uzantılı altı sarmaldan oluşan DNA origami (Şekil 3.39) nanogözenek yapısı CHARMM-GUI kullanılarak önceden dengeye getirilmiş DOPC lipid çift tabakası içerisine yerleştirildi.

Başlangıç Kolesterol-DNA Origami Yapısı



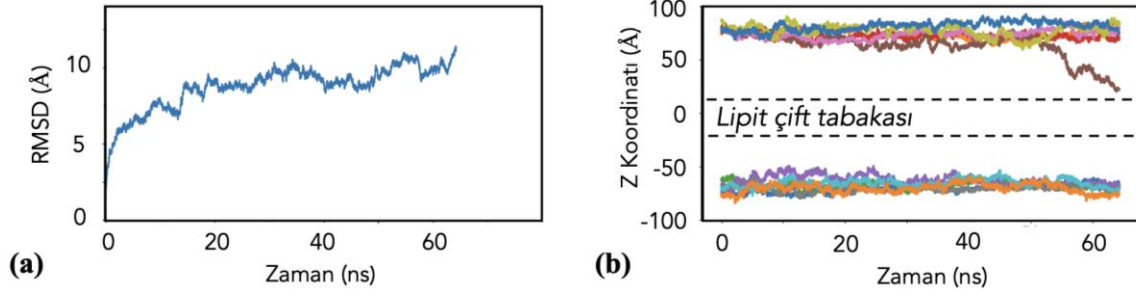
Şekil 3.39: Lipit çift tabakası arasına yerleştirilen kolesterol ile fonksiyonelleştirilmiş DNA origami yapısının simülasyon başlangıç yapısı.

DNA ve kolesterol modifikasyonları simülasyonda CHARMM 36 ve CGenFF kuvvet alanları, su molekülleri ve iyonlar ise TIP3P kuvvet alanı kullanılarak modellendi. Tüm sistem hücre içi ortama yakınsayacak şekilde 0.15 KCl elektrolit çözeltisi içerisine yerleştirildi. Sistem oluşturulduktan sonra, Kolesterol-TEG konjuge DNA origami yapısı sabit tutularak lipid moleküllerine 50000 adım enerji minimizasyonu uygulandı. Daha sonra, diğer 50000 adım için Kolesterol-TEG konjuge DNA origamisi harmonik olarak kısıtlama altındayken tüm sistem simüle edilerek lipid çift tabakası ve su moleküllerinin dengeye gelmesi sağlandı. Bir sonraki adımda tüm harmonik kısıtlamalar serbest bırakılarak, tüm sistem 3 ns MD simülasyonu ile dengelendi. Son olarak, her 4 fs'de bir koordinatlar kaydedilerek tüm sistem 295 K'de 64 ns için 2 fs zaman adımıyla modellendi. Simülasyonlar sırasında VDW kesme değeri 12 Å olarak alınırken, elektrostatik etkileşimler PME yöntemi ile hesaplandı. SHAKE algoritması hidrojen atomu ile ilgili bağları sınırlandırmak için kullanıldı. Tüm sistem 64 ns MD simülasyonuna tabi tutuldu. Simülasyonlar sonunda elde edilen yapı Şekil 3.40'ta gösterilmiştir. Simülasyon sonucunda DNA ile lipid tabakasının toroidal bir şekilde etkileştiği görüldü. Bu gözlemin literatürde yapılan diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu görüldü (Xing vd., 2022; Krishnan, vd., 2016; Göpfrieh, vd., 2016).



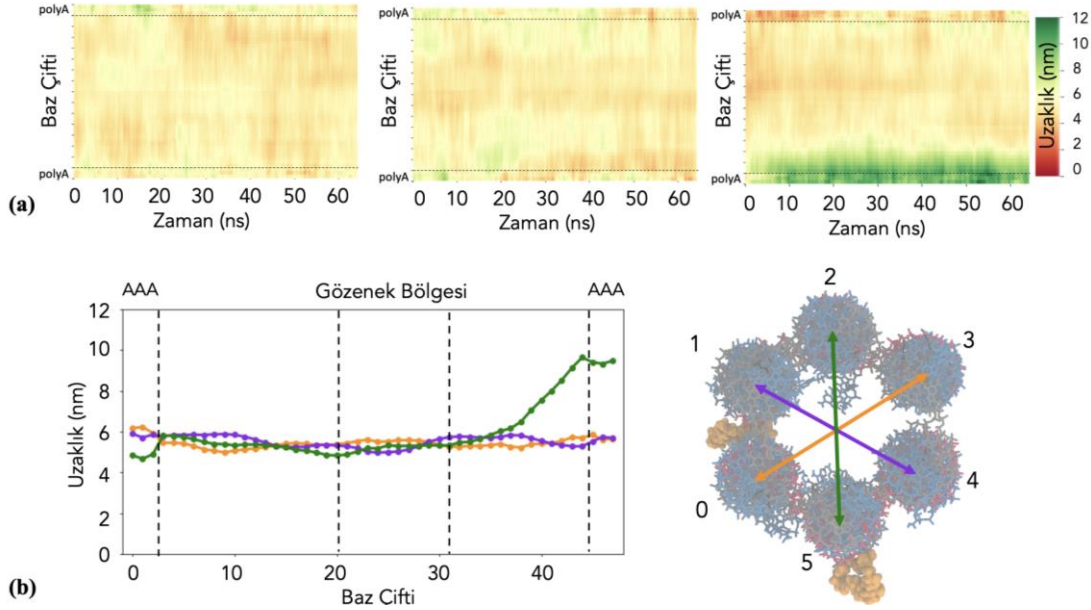
Şekil 3.40: Kolesterol-TEG ile modifiye edilmiş DNA origaminin lipit çift tabakası içerisinde yapılan 64 ns MD simülasyonu sonucunda elde edilen yapıların üç boyutlu görüntüsü. A) DNA origami lipit içerisindeki iken z-x düzleminden görüntü, sistemin daha net görülebilmesi için lipit moleküllerinin bir kısmı, su molekülleri ile iyonlar gösterilmemektedir. B) DNA origaminin lipit yüzeyi ile etkileşen nükleotitlerinin yakınlştırılmış gösterimi. C) Nanogözenegin yukarıdan görüntüsü (daha net bir görüntü için lipit ve su molekülleri gösterilmemektedir).

Şekil 3.41’de MD simülasyonlarında elde edilen RMSD grafiği ve DNA origamde sarmalların ucunda bulunan Adenin nükleotidlerinin lipit çift tabakasına olan uzaklıklarının zamana göre değişimleri gösterilmiştir. DNA origaminin lipit çift tabakası içerisinde kararlı bir şekilde kalabilmesi bu nanogözenek sisteminin kullanılabilmesi için önemlidir. RMSD grafiğine bakıldığında RMSD değerlerinin 20. ns’den sonra 7.5-10 Å bandında değiştiği görüldü. Şekil 3.40’ta gösterildiği gibi, 64 ns sonunda helikslerden biri yüzey lipit molekülleri ile etkileşime girmektedir. Her bir DNA ucundaki bazların kütle merkezinden yüzey atomlarının kütle merkezine olan uzaklığı zamana göre değişimi incelendi (Şekil 3.41 B).



Şekil 3.41: MD simülasyonlarından elde edilen RMSD grafiği ve DNA uç kısımlarının lipit çift tabakasına olan uzaklığının zamana göre değişimi.

DNA sarmallarından sadece birinin lipit yüzeyi ile etkileştiği ve bunun da 50 ns sonunda ortaya çıktığı gözlemlendi. Bu davranış, DNA origaminin lipit moleküller ile etkileşime sokularak daha kararlı bir bağlanma yapılabileceğini düşündürmektedir. Geliştirilecek cihaz için önemli olan gözenek bölgesindeki dinamik değişimlerin anlaşılabilmesi için karşılıklı DNA origami sarmallarının baz çiftleri arasındaki mesafelerin zamana göre değişimi incelendi (Şekil 3.42 A).



Şekil 3.42: A) DNA origami sarmallarının karşılıklı baz çiftleri arasındaki uzaklığın zamana göre değişimi ve B) ortalama uzaklıklar.

Sarmallar arasındaki mesafelerin belirli uzaklıkta salındığı gözlenirken, Sarmal 2 ve 5 arasındaki uzaklıkların 12 nm'ye kadar çıktığı gözlemlendi. Bunun sebebi, Şekil 3.40 ve 41'de de gösterildiği gibi sarmallardan birinin lipit yüzeyi ile etkileşime girmesidir. Ortalama uzaklıklara bakıldığında (Şekil 3.42 B) ise gözenek bölgesindeki 6 nm'lik açıklık simülasyon boyunca korunmuştur. Bir DNA çift sarmalının yarıçapının 1 nm olduğu göz önüne alındığında, ortalama gözenek boyutunun 3 ila 4 nm arasında

olacağı düşünülebilir. Lipit zar dışında kalan DNA sarmallarındaki hareketlilik, sarmalların birbirinden uzaklaşmasına neden olsa da RMSD grafiğinden de anlaşılacağı üzere Kolesterol-TEG uzantıları DNA origamiyi lipit çift tabakası içerisinde kararlı hale getirmektedir. Bu simülasyonlar ile, DNA origami uzunluğunun ve kolesterol modifikasyonlarının lipit çift tabakası içerisindeki kararlılığı bozmadan DNA origaminin nanogözenek özelliği sağlayacağı sonucunu desteklemektedir (Luo vd., 2023).





4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında, DNA origami nanoyapılarının yapısal kararlılıkları moleküler dinamik simülasyonları ile araştırıldı. Çeşitli nanoteknolojik uygulamalar için, farklı DNA origamilerin üç boyutlu yapıları modellendi ve altın (111) yüzeyinin, farklı sekanslardan oluşan geçiş bölgelerinin ve tuz konsantrasyonu farkının konformasyon üzerindeki etkileri araştırıldı. Biyoprotonik uygulamalarda kullanılması için DNA origami nanoyapısının DOPC lipid çift tabakası içerisindeki yapısal kararlılığı incelendi. Genişletilmiş Hückel metodu, yoğunluk fonksiyonel teorisi ve yük taşınım hesaplamaları ile DNA origamilerin elektriksel iletkenliklerinde yola bağımlılık araştırıldı ve geçiş bölgelerinin elektriksel özelliklere etkisi açığa çıkarıldı. Çift sarmal DNA ile altın (111) yüzeyi arasındaki etkileşimler moleküler dinamik simülasyonları ile incelenerek altın yüzeyinin etkisi sonucu DNA'da oluşan yapısal deformasyonların DNA'nın elektriksel iletkenliğine olan etkileri incelendi.

Yapılan çalışmalar ile DNA origaminin altın (111) yüzeyine yerleştirilmesi sonucunda, yüzey ile etkileşimde olan DNA sarmalların terminal baz çiftlerinden deformasyona uğradığı gösterildi. Terminal baz çiftlerinin çift sarmal yapıyı bozup, yüzey ile etkileştiği gözlemlendi. Bu bilgi ışığında üç farklı çift sarmal DNA sekansı tasarlandı ve yapılar üç boyutlu olarak altın (111) yüzeyi üzerinde modellendi. MD simülasyonları sonucunda tüm konformasyonlar kümeleme algoritmaları kullanılarak gruplara ayrıldı ve her bir grubu temsil eden temsilci yapılar seçildi. Seçilen temsilci yapıların, enerji minimizasyonu yapıldıktan sonra DFT hesaplamaları ile elektronik bant yapıları ve moleküler orbitalleri incelendi. Her sekans için konformasyon değişimi ile altın yüzeyi ile etkileşimde olan atom sayısının, HOMO değerlerinin ve moleküler orbitallerin pozisyonlarının değiştiği gösterildi.

DNA origamide Genişletilmiş Hückel metodu kullanarak yapılan elektronik yapı ve Green fonksiyonu temelli yük taşınım hesaplamalarında, yapı içerisinde en kısa ve en uzun iletim yollarının seçilmesi durumunda iletkenliğin yola bağlı olarak değiştiği ve yol kısaltıkça elde edilen iletkenlik değerinin arttığı gösterildi. Daha sonra geçiş bölgeleri üzerine odaklanıldı ve farklı iki sekansta (GC ve AT sekanslı) birer geçiş bölgesine sahip DNA origami yapıları modellendi. DNA origamilerde HOMO enerji seviyesinin, çift sarmal DNA'ya göre, daha yüksek enerji seviyelerine doğru kaydığı

gözlemlendi. Moleküler orbitallerin konumları incelendiğinde özellikle HOMO ve HOMO'ya yakın orbitallerin hangi iplikte olduğundan bağımsız olarak Guanin bazları üzerinde konumlandığı gözlemlendi. Geçiş bölgeleri genellikle DNA omurgası ile oluşurken, geçiş bölgesindeki bazların her iki iplikçik içerisinde kendi eşleniği ile eşleşmeye devam ettiği gözlemlendi. Bu nedenle, geçiş bölgeleri üzerinde HOMO enerji seviyesi yakın orbitallerin bulunmadığı gösterildi. Sarmallar arasında bir etkileşim olmaması durumunda DNA origamilerdeki geçiş bölgelerinin iletkenliği düşürebileceği gözlemlendi.

Geçiş bölgesi sıklığı ve ortamda bulunan tuz konsantrasyonunun DNA origami konformasyonlarına olan etkisini araştırmak için aynı sekansa sahip üç farklı DNA origami yapısı modellendi. Yapılardan bir tanesi on iki adet geçiş bölgesine sahipken diğer ikisi yedi adet geçiş bölgesine sahip olacak şekilde oluşturuldu. Yedi geçiş bölgesine sahip yapılardan birinde geçiş bölgesi yoğunluğu uç bölgelerdeyken diğerinde yapının orta bölgelerinde olacak şekilde belirlendi. Üç yapı farklı tuz konsantrasyonlarında simüle edildi. Geçiş bölgesi sayısının yapısal kararlılığı arttırdığı görülürken, tuz konsantrasyonunun belirgin bir etkisine rastlanmadı. Geçiş bölgesi sayısının sarmallar arasındaki hareketleri etkilediği görüldü. Ancak geçiş bölgesi sayısının heliks içindeki hidrojen bağı sayılarında bir etkiye rastlanmadı.

Ortak çalışma gruplarımız ile geliştirmeye devam ettiğimiz DNA origami tabanlı nanogözenek cihazı için DNA origami nanoyapısının lipit çift tabaka içerisindeki yapısal kararlılığı moleküler dinamik simülasyonu ile incelendi. DOPC lipit çift tabakası içerisinde gözenek oluşturan DNA origami nanoyapısının, lipit tabaka dışarısında kalan bölgelerdeki artan salınımlara rağmen kolesterol molekülleri ile modifiye edilmesi ile kararlı bir şekilde lipit tabaka içerisinde tutulabildiği gösterildi. 42 baz çiftinden oluşan bu yapının biyosensör uygulamaları için yeterli uzunlukta olduğu ve kararlı bir nanogözenek oluşturduğu gösterildi.

Bu tezden elde edilen sonuçlar doğrultusunda ileride DNA origami nanoyapıların farklı yüzeyler üzerindeki konformasyonel değişimleri incelenebilir. DNA origami yapılarının yüzeyden dolayı uğradığı deformasyonların azaltılması için kullanılan yüzeylerin hangi malzemelerle kaplanması gerektiği araştırılabilir. DNA origamilerde yola bağlı olarak değişen iletkenlik özellikleri kullanılarak, farklı origami tasarımlarında iletkenlik değerleri karşılaştırılabilir. Geçiş bölgelerindeki durum yoğunluğunun artırılması için faydalı olabilecek moleküller araştırılabilir. DNA sarmalları arasında iletkenlik düşüşünü engelleyecek moleküler köprülerin kurulumu

incelenebilir. Farklı yüzeylerin elektriksel iletkenlik üzerindeki etkileri çalışılabilir ve bu etkilerin anlaşılabilmesi için yeni hesaplama yöntemleri geliştirilebilir. DNA origami yapılarına iyonların etkisinin daha iyi anlaşılabilmesi için farklı konsantrasyon ve geometrilerde simülasyonlar gerçekleştirilebilir. Farklı kuvvet alanlarının iyon etkisini modelleme üzerindeki etkileri ve sistemi daha iyi modellememizi sağlayacak yeni kuvvet alanları araştırılabilir. Protein data bankası (PDB)'ye yüklenen DNA origami cryo-EM yapıları kullanılarak yapısal özellikler araştırılabilir. İleride yapılacak kapsamlı deneyler ile, farklı kararlılıkta tasarlanan DNA origami nanoyapılarının elektriksel özellikleri karşılaştırılarak, istenilen uygulamaya göre tasarım parametrelerinin optimizasyonu sağlanabilir. Böylece, nanoteknolojide kolay üretim ve tasarım sağlayan bu DNA origami nanoyapılarının endüstriyel kullanımı mümkün hale getirilebilir.



KAYNAKLAR

- Aghebat R. A., Pirzer, T., Scheible, M. B., Kostina, A. & Simmel, F. C.,** (2014). Surface-assisted large-scale ordering of DNA origami tiles, *Angew. Chemie Int. Ed.* 53, 7665–7668.
- Albrechts, B., Hautzinger, D. S., Krüger, M., Elwenspoek, M. C., Müller, K. M., Korvink, J. G.,** (2010). Adsorption studies of dna origami on silicon dioxide, *21st Micromechanics and Micro Systems Europe workshop*, 1-4. University of Twente.
- Arbona, J. M., Aim, J-P., and Elezgaray, J.,** (2013). Cooperativity in the annealing of DNA origamis, *The Journal of Chemical Physics*, 138, 015105.
- Artés, J., Li, Y., Qi, J., Anantram M.P., Hihath, J.,** (2015). Conformational gating of DNA conductance, *Nature Communication* 6, 8870.
- Auffinger, P. ve Westhof, E.** (2000). Water and ion binding around RNA and DNA (C,G) oligomers. *J. Mol. Biol.*, 300, 1113–1131.
- Aviram, A. ve Ratner, M.A.,** (1974). Molecular rectifiers, *Chemical Physics Letters*, 29, 277-283.
- Bai, X. C., Martin, T. G., Scheres, S. H. W., Dietz, H.,** (2012). Cryo-EM structure of a 3D DNA origami object, *PNAS*, 109, 20012–20017.
- Besteman, K., Van Eijk, K., Lemay, S.,** (2007). Charge inversion accompanies DNA condensation by multivalent ions, *Nature Physics*, 3, 641–644
- Brassat, K., Ramakrishnan, S., Bürger, J., Hanke, M., Doostdar, M., Lindner, J., Grundmeier, G., Keller, A.,** (2018). On the adsorption of dna origami nanostructures in nanohole arrays, *Langmuir* 34, 14757–14765
- Burke, K.; Wagner, L. O.,** (2012) DFT in a nutshell, *Int. J. Quantum Chem.*, 113 (2), 96–101.
- Burns, J. R., Gopfrich, K., Wood, J., Thacker, V., Stulz, E., Keyser U., Howarka, S.,** (2013). Lipid-bilayer-spanning DNA nanopores with a bifunctional porphyrin anchor, *Angewandte Chem. Inter. Ed.* 52.
- Braun, E., Y. Eichen, U. Sivan, and G. Ben-Yoseph,** (1998). DNA-templated assembly and electrode attachment of a conducting silver wire, *Nature*, 391, 775.
- Bruot, C., Xiang, L., Palma, J. L., Tao, N.,** (2015). Effect of mechanical stretching on DNA conductance, *ACS Nano*, 9, 88–94.

- Cai, L., H. Tabata, T. Kawai**, (2000). Self-assembled DNA networks and their electrical conductivity, *Appl. Phys. Lett.* 77, 3105.
- Case, D. A. vd.** (2016). Amber16. *AMBER 2016*, Univ. California, San Fr.
- Case, D. A. vd.** (2022). Amber22. *AMBER 2022*, Univ. California, San Fr.
- Chen, J., Seeman, N. C.**, (1991). Synthesis from DNA of a molecule with the connectivity of a cube, *Nature*, 3506319 350, 631–633.
- Chen, J., Reed, M. A., Rawlett, A. M., Tour, J. M.**, (1999). Large on-off ratios and negative differential resistance in a molecular electronic device, *Science*, 286, 1550.
- Chen, H., Meisburger, S.P., Pabit, S.A., Sutton, J.L., Webb, W.W. and Pollack, L.**, (2012). Ionic strength-dependent persistence lengths of single-stranded RNA and DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 109, 799–804.
- Collier, C.P., Wong, E.W., Belohradský, M., Raymo, F.M., Stoddart, J., Kuekes, P., Williams, R. S., Heath, J.**, (1999). Electronically configurable molecular-based logic gates, *Science*, 285, 391 5.
- Delaney S., Barton, J. K.**, (2003). Long-range DNA charge transport, *J. Org. Chem.*, 68, 6475–6483.
- Demir, B., Mohammad, H., Anantram M.P., Oren, E.E.**, (2023). DNA-Au (111) interactions and transverse charge transport properties for dna-based electronic devices, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 25, 16570-16577.
- Deng H, Bloomfield VA.**, (1999). Structural effects of cobalt-amine compounds on dna condensation, *Biophys J.*, 77, 1556-61.
- Dey, S., Fan, C., Gothelf, K.V., vd.**, (2021). DNA origami, *Nat. Rev. Methods Prim.*, 11 1, 1–24.
- Dietz, H., Douglas, S.M., Shih, W.M.**, (2009). Folding DNA into twisted and curved nanoscale shapes, *Science* 325, 725–730.
- Dunn, K.E., Dannenberg, F., Ouldrige, T.E., Kwiatkowska, M., Turberfield, A.J., Bath, J.**, (2015). Guiding the folding pathway of DNA origami, *Nature*, 525, 82–86.
- Douglas, S.M., Bachelet, I., Church., G.M.** (2012). A logic-gated nanorobot for targeted transport of molecular payloads, *Science*, 335, 831-834.
- Douglas, S.M., Dietz, H., Liedl, T., Högberg, B., Graf, F., Shih, W.M.**, (2009). Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes, *Nature*, 459, 414–418.

- Endres, R. G., Cox, D. L., Singh, R.R.P.,** (2004). Colloquium: The quest for high-conductance DNA. *Reviews of Modern Physics*, 76(1), 195–214.
- Fink, H. W., C. Schonenberger,** (1999), Electrical conduction through DNA molecules, *Nature*, 398, 407
- Frederick M., Liao, S., Kopatsch, J., Wang, T., Mao, C., Seeman, N.C.,** (2005). Six-Helix Bundles Designed from DNA, *Nano Lett.* 5, 661–665.
- Frisch, D. J., vd.,** (2016). Gaussian 16, Revision C.01, *Gaussian, Inc.,* Wallingford CT.
- Fu, H., Zhang, C., Qiang, X.W., Yang, Y.-J., Dai, L., Tan, Z.-J. and Zhang, X.-H.** (2020). Opposite effects of high-valent cations on the elasticities of DNA and RNA duplexes revealed by magnetic tweezers, *Phys. Rev. Lett.*, 124, 058101.
- Geng, Y., Pearson, A.C., Gates, E.P., Uprety, B., Davis, R.C., Harb, J.N., Woolley, A.T.,** (2013). Electrically conductive gold- and copper-metallized DNA origami nanostructures, *Langmuir* 29, 3482–3490.
- Genereux, J.C. ve Barton, J.K.,** (2010). Mechanisms for DNA charge transport, *Chem. Rev.*, 110, 1642–1662.
- Giese, B.,** (2000). Long-distance charge transport in DNA: The hopping mechanism, *Accounts of Chemical Research*, 33, 9, 631–636.
- Giese, B.,** (2002). Long-distance electron transfer through DNA, *Annu. Rev. Biochem.*, 71, 51–70.
- Giese, B., Amaudrut, J., Kohler, A.-K., Spormann, M. and Wessely, S.,** (2001). Direct observation of hole transfer through DNA by hopping between adenine bases and by tunnelling, 412, 3–5.
- Gittins, D. I., Bethell, D., Schiffrin, D. J., Nichols, R. J.,** (2000). A nanometer-scale electronic switch consisting of a metal cluster and redox-addressable groups, *Nature*, 408, 67.
- Gonzalez, M. A.** (2001). Force fields and molecular dynamics simulations, *Collection SFN*, 12, 169–200.
- Gopinath, A., Miyazono, E., Faraon, A., Rothemund, P.W.K.,** (2016). Engineering and mapping nanocavity emission via precision placement of DNA origami. *Nature*, 535, 401–405.
- Göpfrich, K., Li, C.Y., Ricci, M., vd.,** (2016). Large-Conductance Transmembrane Porin Made from DNA Origami, *ACS Nano*, 10, 8207–8214.
- Heinz, H., Lin, T.J., Kishore Mishra, R., Emami, F.S.,** (2013). Thermodynamically

consistent force fields for the assembly of inorganic, organic, and biological nanostructures: The INTERFACE force field, *Langmuir* 29, 1754–1765.

- Henderson, P.T., Jones, D., Hampikian, G., Kan, Y., Schuster, G.B.,** (1999). Long-distance charge transport in duplex DNA: The phonon-assisted polaron-like hopping mechanism, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96, 15, 8353–8358.
- Huang J, MacKerell AD Jr.,** (2013). CHARMM36 all-atom additive protein force field: validation based on comparison to NMR data, *J. Comput. Chem.* 34, 25, 2135-2145.
- Holliday, R.,** (1964). A mechanism for gene conversion in fungi, *Genet. Res. Camb.* 5, 282–304.
- Hoffmann, R.,** (1963). An Extended Hückel Theory. I. Hydrocarbons, *J. Chem. Phys.* 39, 1397–1412.
- Ijäs, H., Hakaste, I., Shen, B., Kostianen, M.A., Linko, V.,** (2019). Reconfigurable DNA origami nanocapsule for ph-controlled encapsulation and display of cargo. *ACS Nano* 13, 5959–5967.
- Ivani, I., Dans, P.D., Noy, A., vd.,** (2016). Parmbsc1: a refined force field for DNA simulations. *Nat. Methods* 13, 55–58.
- Jiang, Q., Song, C., Nangreave, J., vd.,** (2012). DNA origami as a carrier for circumvention of drug resistance, *J. Am. Chem. Soc.*, 134, 13396–13403.
- Joshi, H., Li, C.Y., Aksimentiev, A.,** (2023). All-atom molecular dynamics simulations of membrane spanning DNA origami nanogözenekes, *Methods Mol. Biol.*, 2639, 113-128.
- Jorgensen, W.L., Chandrasekhar, J., Madura, J.D., Impey, R.W., Klein, M.L.,** (1983). Comparison of simple potential functions for simulating liquid water. *J. Chem. Phys.* 79, 926–935.
- Jo, S., Kim, T., Iyer, V.G., Im, W.,** (2008). CHARMM-GUI: A web-based graphical user interface for CHARMM, *J Comput. Chem.*, 29, 1859–1865.
- Kasumov, A.Y., Kociak, M., Gueron, S., Reulet, B., Volkov, V.T.,** (2001). Proximity-induced superconductivity in DNA, *Science*, 5502, 280-282.
- Kearney, C.J., Lucas, C.R., O'Brien, F.J. & Castro, C.E.,** (2016). DNA Origami: Folded DNA-Nanodevices That Can Direct and Interpret Cell Behavior, *Adv. Mater.* 28, 5509–5524.
- Ke, Y., Douglas, S.M., Liu, M., vd.,** (2009). Multilayer DNA Origami Packed on a Square Lattice, *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 15903–15908.

- Kielar, C., Reddavid, F., Tubenhauer, S., vd.,** (2018). Pharmacophore nanoarrays on dna origami substrates as a single-molecule assay for fragment-based drug discovery, *Angew. Chemie* 130, 15089–15093.
- Kielar, C., Xin, Y., Shen, B., vd.,** (2018). On the stability of dna origami nanostructures in low-magnesium buffers. *Angew. Chemie Int. Ed.* 57, 9470–9474.
- Kim, H., Surwade, S.P., Powell, A., O'Donnell, C., Liu, H.,** (2014). Stability of DNA origami nanostructure under diverse chemical environments, *Chem. Mater.* 26, 5265–5273.
- Kimura-Suda, H., Petrovykh, D., Tarlov, M.J., Whitman, J.,** (2003). Base-dependent competitive adsorption of single-stranded DNA on gold, *J. Am. Chem. Soc.* 125, 9014-9015.
- Kiviaho, J. K., Linko, V., Ora, A., Tiainen, T., vd.,** (2016). Cationic polymers for dna origami coating – examining their binding efficiency and tuning the enzymatic reaction rates, *Nanoscale*, 2016, 8 (22), 11674–11680.
- Kriegel, F., Ermann, N. ve Lipfert, J.,** (2017). Probing the mechanical properties, conformational changes, and interactions of nucleic acids with magnetic tweezers, *J. Struct. Biol.*, 197, 26–36.
- Krishnan, S. Ziegler, D., Arnaut, V., vd.,** (2016). Molecular transport through large-diameter DNA nanogözenekes, *Nat. Commun.*, 7, 12787.
- Koo, K.M., Sina, A.I., Carrascosa, L.G., Shiddiky, M.J.A., Trau, M.,** (2015). DNA-bare gold affinity interactions: mechanism and applications in biosensing, *Anal. Methods*, 7, 7042–7054.
- Kresse G., Furthmuller, J.,** (1996). Efficient iterative schemes for ab initio total-energy calculations using a plane-wave basis set, *Physical Review B*, 54, 16, 11169.
- Kuzyk, A., Jungmann, R., Acuna, G. P., Liu, N.,** (2018). DNA Origami route for nanophotonics, *ACS Photonics*, 5, 1151–1163.
- Langecker, M., Arnaut, V., Martin, T., vd.,** (2012). Synthetic lipid membrane channels formed by designed DNA nanostructures, *Science*, 338, 932-936.
- Lewis, F. D., Liu, X., Liu, J., Miller, S. E., Hayes, R. T., Wasielewski, M. R.,** (2000). Direct measurement of hole transport dynamics in DNA, *Nature*, 6791, 51–53.
- Li, X.Q., Zhang, H., Yan, Y.A.,** (2001). Superexchange-mediated sequential hopping theory for charge transfer in DNA, *J. Phys. Chem. A*, 105, 9563–9567.

- Li, Y., Artés, J.M., Demir, B. vd.,** (2018). Detection and identification of genetic material via single-molecule conductance, *Nature Nanotech.* 13, 1167–1173.
- Liang, W. J., Shores, M., Bockrath, M., Long, J. R., Park, H.,** (2002). Kondo resonance in a single-molecule transistor, *Nature*, 417, 725.
- Lipfert, J., Doniach, S., Das, R. and Herschlag, D.,** (2014). Understanding nucleic acid–ion interactions, *Annu. Rev. Biochem.*, 83, 813–841.
- Linko, V., Shen, B., Tapio, K., vd.,** (2015). One-step large-scale deposition of salt-free DNA origami nanostructures. *Sci. Rep.*, 5, 15634.
- Liu, N., Liedl, T.,** (2018). DNA-assembled advanced plasmonic architectures, *Chem. Rev.* 118, 3032–3053.
- Lyubitelev, A.V., Studitsky, V.M., Feofanov, A.V., Kirpichnikov, M.P.,** (2017). Effect of sodium and potassium ions on conformation of linker parts of nucleosomes, *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.*, 72, 146–150.
- Maffeo, C., Bhattacharya, S., Yoo, J., Wells, D., Aksimentiev, A.,** (2012). Modeling and simulation of ion channels, *Chem. Rev.*, 12, 6250–6284.
- Majikes, J.M., Liddle, J.A.** (2021). DNA origami design: A how-to tutorial, *J. Res. Natl. Inst. Stand. Technol.* 126, 1260001.
- Martin, T.G., Dietz, H.,** (2012). Magnesium-free self-assembly of multi-layer DNA objects, *Nat. Commun.*, 3, 1–6.
- Mehrez, H., Anantram, M.P.,** (2005). Interbase electronic coupling for transport through DNA, *Phys. Rev. B.*, 71, 115405.
- Mohammad, H., Demir, B., Akin, C., vd.,** (2021). Role of intercalation in the electrical properties of nucleic acids for use in molecular electronics, *Nanoscale. Horiz.*, 6, 651–660.
- Ohmann, A., Göpfrich, K., Joshi, H., Thompson, R.F., Sobota, D., Ranson, N., Aksimentiev, A., Keyser, U.,** (2019). Controlling aggregation of cholesterol-modified DNA nanostructures, *Nucleic Acids Research*, 47, 21, 11441–11451.
- Owczarzy, R., You, Y., Moreira, B., vd.,** (2004). Effects of sodium ions on dna duplex oligomers: improved predictions of melting temperatures, *Biochemistry*, 43, 3537–3554.
- Park, S.H., Pistol, C., Ahn, S.J., vd.,** (2006). Finite-size, fully addressable dna tile lattices formed by hierarchical assembly procedures, *Angew. Chemie Int. Ed.*, 45, 735–739.

- Park J., Posupathy, A.N., Goldsmith, J., vd.,** (2002). Coulomb blockade and the Kondo effect in single-atom transistors, *Nature*, 417, 722.
- Patil, S.R., Mohammad, H., Chawda, V., Sinha, N., Singh, R.K., Qi, J. ve Anantram, M.P.,** (2021). Quantum transport in dna heterostructures: implications for nanoelectronics, *ACS Appl. Nano Mater.*, 4, 10029–10037.
- Petty, T., Wagner, C.E., ve Opdahl, A.,** (2014). Influence of attachment strategy on the thermal stability of hybridized dna on gold surfaces, *Langmuir*, 50, 15277–15284.
- Phillips, J.C., Braun, R., Wang, W., vd.,** (2005). Scalable molecular dynamics with NAMD, *J. Comput. Chem.* 26, 1781–1802.
- Piana, S. ve Bilic Ante,** (2006)., The Nature of the adsorption of nucleobases on the gold [111] surface, *J. Phys. Chem. B*, 110, 23467–23471.
- Pillers, M.A., Lieberman, M.,** (2014). Thermal stability of DNA origami on mica, *J. Vac. Sci. Technol. B*, 32, 040602.
- Rakitin, A., Aich, P., Papadopoulos, C., Kobzar, Y., Vedeneev, A. S., Lee, J. S., Xu, J. M.,** (2001). Metallic conduction through engineered DNA: DNA nanoelectronic building blocks, *Phys. Rev. Lett.* 86, 3670.
- Ramakrishnan, S., Ijäs, H., Linko, V., Keller, A.,** (2018). Structural stability of DNA origami nanostructures under application-specific conditions, *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, 16, 342–349.
- Ramakrishnan, S., Krainer, G., Grundmeier, G., Schlierf, M., Keller, A.,** (2017). Cation-induced stabilization and denaturation of DNA origami nanostructures in urea and guanidinium chloride, *Small* 13, 1702100.
- Ramakrishnan, S., Subramaniam, S., Stewart, A. F., Grundmeier, G., Keller, A.,** (2016). Regular nanoscale protein patterns via directed adsorption through self-assembled dna origami masks, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 8, 31239–31247.
- Rothmund, P.W.K.,** (2006). Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, 440, 297–302.
- Roodhuizen, J. A. L., Hendriks, P. J. T. M., Hilbers, P. A. J., Greef, T. F. A. de & Markvoort, A. J.,** (2019). Counterion-dependent mechanisms of dna origami nanostructure stabilization revealed by atomistic molecular simulation, *ACS Nano* 13, 10798–10809.
- SantaLucia, J., Hicks, D.,** (2004). The Thermodynamics of DNA structural motifs, *Ann. Rev. of Biophy. and Biomol. Str.*, 33, 415–440.

- Schreiner, S.M., Shudy, D.F., Hatch, A., ve Opdahl, A.,** (2010). Controlled and efficient hybridization achieved with DNA probes immobilized solely through preferential DNA-substrate interactions, *Anal. Chem.*, 82, 2803–2810.
- Seeman, N.C.,** (1982). Nucleic acid junctions and lattices, *J. Theor. Biol.* 99, 237–247.
- Serec, K., Babic, S.D., Podgornik, R., Tomic, S.,** (2016). Effect of magnesium ions on the structure of DNA thin films: an infrared spectroscopy study, *Nucleic Acids Research*, 44, 8456–8464.
- Schmidt, M.W., Baldridge, K.K., Boatz, J.A., vd.,** (1993). General atomic and molecular electronic structure system, *Journal of Comp. Chem.*, 14, 11, 1347–1363.
- Sharp. K.A, Honing, B.,** (1995). Salt effects on nucleic acids, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 5, 323–328.
- Shani, L., Tinnefeld, P., Fleger, Y., Sharoni, A., vd.,** (2021). DNA origami based superconducting nanowires, *AIP Advances*, 11, 015130.
- Sheheade, B., Liber, M., Popov, M., vd.,** (2019). Self-assembly of DNA origami heterodimers in high yields and analysis of the involved mechanisms, *Small*, 1902979.
- Shih, W.M., Quispe, J.D., Joyce, G.F.A,** (2004). 1.7-kilobase single-stranded DNA that folds into a nanoscale octahedron, *Nature*, 427, 618–621.
- Storm, A. J., J. van Noort, S. de Vries, C. Dekker,** (2001). Insulating behavior for DNA molecules between nanoelectrodes at the 100 nm length scale, *Appl. Phys. Lett.* 79, 3881.
- Suma, A., Stopar, A., Nicholson, A. W., Castronovo, M., Carnevale, V.,** (2020). Global and local mechanical properties control endonuclease reactivity of a DNA origami nanostructure, *Nucleic Acids Res.* 48, 4672–4680.
- Sun, Q., Berkelbach, T.C., Blunt, N.S., vd.,** (2018). PySCF: the Python-based simulations of chemistry framework, *WIREs Comput. Mol. Sci.* 8.
- Soler, J. M., Artacho, E., Gale, J. D., Garcia, A., Junquera, J., Ordejon, P., Sanchez D.,** (2002). The SIESTA method for ab initio order-N materials simulation, *J. of Phys.: Cond. Matt.*, 14, 11, 2745.
- Tan, Z. J., Chen, S. J.,** (2008). Salt dependence of nucleic acid hairpin stability. *Biophys. J.* 95, 738–752.
- Teschome, B., Facsko, S., Schönherr, T., Kerbusch, J., Keller, A., Erbe, A.,** (2016). Temperature-dependent charge transport through individually contacted dna origami-based au nanowires, *Langmuir* 32, 10159–

10165.

- Thubagere, A. J., Li, W., Johnson, R., vd.,** (2017). A cargo-sorting DNA robot. *Science*, 357.
- Tran, P., B. Alavi, G. Gruner,** (2000). Charge Transport along the λ -DNA Double Helix, *Phys. Rev. Lett.* 85, 1564.
- Qi, J., Anantram, M.P.,** (2014). Charge Transport through methylated DNA strand, *MRS Online Proceedings Library* 1689, 7–12.
- Qi, J., Govind, N., Anantram, M.P.,** (2015). The role of cytosine methylation on charge transport through a DNA strand. *J. Chem. Phys.*, 143, 094306.
- Qiu, X., Andresen, K., Kwok, L. W., Lamb, J., S., Park, H.Y., Pollack, L.,** (2007). Inter-DNA attraction mediated by divalent counterions, *Phys. Rev. Lett.* 99, 038104.
- Opdahl, A., Petrovykh, D.Y., Kimura-Suda, H., Tarlov M.J., Whitman, L.J.,** (2007). Independent control of grafting density and conformation of single-stranded DNA brushes, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 104, 9-14.
- Wang, D., Da, Z., Zhang, B., vd.,** (2015). Stability study of tubular DNA origami in the presence of protein crystallisation buffer, *RSC Adv.*, 5, 58734–58737.
- Wang, P., Rahman, M.A., Zhao, Z., vd.,** (2018). Visualization of the cellular uptake and trafficking of dna origami nanostructures in cancer cells, *J. Am. Chem. Soc.*, 140, 2478–2484.
- Wang, S., Zhou, Z., Ma, N., vd.,** (2020). DNA Origami-enabled biosensors. *Sensors*, 20, 1–18.
- Wei, X., Nangreave, J., Jiang, S., Yan, H., Liu, Y.,** (2013). Mapping the thermal behavior of DNA origami nanostructures, *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 6165–6176.
- Wickham, S., Endo, M., Katsuda, Y., vd.,** (2011). Direct observation of stepwise movement of a synthetic molecular transporter, *Nature Nanotech.* 6, 166–169.
- Woiczikowski, P.B., Kuba, T., Gutiérrez, R., Caetano, R. A., Cuniberti, G., Elstner, M.,** (2009). Combined density functional theory and Landauer approach for hole transfer in DNA along classical molecular dynamics trajectories, *J. Chem. Phys.*, 130, 215104.
- Woo, S., Rothmund, P.W.K.,** (2014). Self-assembly of two-dimensional DNA origami lattices using cation-controlled surface diffusion, *Nat. Commun.*, 2014 51 5, 1–11.

- Xiang, L., Palma, J.L., Bruot, C., Mujica, V., Ratner M.A. ve Tao, N.,** (2015). Intermediate tunnelling–hopping regime in DNA charge transport, *Nat. Chem.*, 7, 221–226.
- Xiang, L., Palma, J.L., Li, Y., Mujica, V., Ratner, M.A., ve Tao, N.,** (2017). Gate-controlled conductance switching in DNA, *Nat. Commun.*, 8, 1–10.
- Xin, Y., Piskunen, P., Suma, A., vd.,** (2022). Environment-dependent stability and mechanical properties of dna origami six-helix bundles with different crossover spacings, *Small*, 18, 2107393.
- Xing, Y., Dorey, A., Jayasinghe, L. Howorka, S.** (2022). Highly shape- and size-tunable membrane nanogözenekes made with DNA, *Nat. Nano.*, 17, 708–713.
- Xu, B., Tao, N.J.** (2003). Measurement of single-molecule resistance by repeated formation of molecular junctions, *Science*, 301, 1221–1223.
- Yakovchuk, P., Protozanova, E., Kamenetskii, M.,** (2006). Base-stacking and base-pairing contributions into thermal stability of the DNA double helix, *Nucleic Acids Research*, 34, 2.
- Yoo, J., Aksimentiev, A.,** (2013). In situ structure and dynamics of DNA origami determined through molecular dynamics simulations, *PNAS*, 110, 20099-20104.
- Yang J, Rau D.C.,** (2005). Incomplete ion dissociation underlies the weakened attraction between DNA helices at high spermidine concentrations, *Biophys J.*, 89, 1932-1940.
- Yoo, K.-H., D. H. Ha, J.-O. Lee, J. W. Park, J. Kim, J. J. Kim, H.-Y. Lee, T. Kawai, and H. Y. Choi,** (2001). Electrical conduction through poly(da)-poly(dt) and poly(dg)-poly(dc) DNA molecules, *Phys. Rev. Lett.*, 87, 19810.
- Zhang, Y., Seeman, N. C.,** (2002). Construction of a DNA-truncated octahedron, *J. Am. Chem. Soc.* 116, 1661–1669.
- Zhang, Y., R. H. Austin, J. Kraeft, E. C. Cox, N. P. Ong,** (2002). Insulating behavior of λ -dna on the micron scale, *Phys. Rev. Lett.*, 89, 198102.
- Zhang, Q., Jiang, Q., Li, N., vd.,** (2014). DNA origami as an in vivo drug delivery vehicle for cancer therapy, *ACS Nano* 8, 6633–6643.

Url-1 cadnano. <<https://cadnano.org/>>

Url- 2 Yan Lab Resources. <<http://yanlab.asu.edu/Resources.html>>

Url-3 oxView. <<https://sulcgroup.github.io/oxdna-viewer/>>

Url-4 GitHub - lcbb/athena: A GUI for automated sequence design of wireframe scaffolded DNA origami. <<https://github.com/lcbb/athena>>

Url-5 Adenita. <<https://www.samson-connect.net/element/dda2a078-1ab6-96ba-0d14-ee1717632d7a.html>>

Url-6 <<https://www.nanoandmore.com/what-is-atomic-force-microscopy>> alındığı tarih:18.04.2023.

Url-7 <<https://www.technologynetworks.com/analysis/articles/sem-vs-tem-331262>> alındığı tarih:18.04.2023.

Url-8 <<https://people.csail.mit.edu/gdp/cryoem.html>> alındığı tarih:18.04.2023.

Url-9 <<https://www.scienceservices.eu/afm-test-sample-dna-origami-rectangles.html>> alındığı tarih:18.04.2023.

Url-10 <<https://www.inkpenlab.org/molecular-scale-electronics>> alındığı tarih:18.04.2023.



EKLER

EK 1: MD analizlerinde kullanılan Jupyter Notebook kodu

EK 2: Y¼k taşınım analizleri için kullanılan Jupyter Notebook kodu

EK 3: DNA Origami caDNAno .cvs dosyaları



EK 1: MD analizlerinde kullanılan Jupyter Notebook kodu (dsDNA için gösterilmiştir)

```
import pytraj as pt
import matplotlib.pyplot as plt
%matplotlib inline
import numpy as np
import pandas as pd
from matplotlib import rcParams
import seaborn as sns
import nglview as nv
rcParams['figure.figsize'] = 20, 7
rcParams.update({'font.size': 20});
*****
traj = pt.load('alltraj_nuc.dcd', 'D5_H1_nuc.prmtop')
rmsd_data= pt.rmsd(traj, ref=traj[0])
rmsd_data_bb= pt.rmsd(traj, ref=traj[0],
mask=['@P,@OP1,@OP2,@C1\','@C2\','@C3\','@C4\','@C5\','@H1\','@H2\','@H2\'\
','@H3\','@H4\','@H5\','@H5\''\','@O4\','@O3\'''])
rcParams['figure.figsize'] = 10, 6
x=np.arange(len(rmsd_data))*0.002

plt.plot(x, rmsd_data, linewidth=3, label='dsDNA')
plt.xlim([-1, 100])
plt.ylim([0, 10])

plt.ylabel('RMSD ($\AA$)')
plt.xlabel('Time (ns)')
plt.legend(loc='upper left', ncol=3)
plt.show();
*****
rcParams['figure.figsize'] = 10, 7
rcParams.update({'font.size': 20})
pt.superpose(traj, ref=0)
rmsf_data = pt.rmsf(traj)

x_atom_st1=[0,31,64,97,130,160,190,220,251]
x_atom_st2=[282,315,348,381,411,441,471,502]
x_atom_st3=[533,566,599,632,662,692,722,753]
x_atom_st4=[784,817,850,883,913,943,973,1004]

plt.plot(rmsf_data.T[0], rmsf_data.T[1])
plt.vlines(x_atom_st1, ymin = 0, ymax = 9, colors = 'gray',
linestyle='dashed', alpha=0.5)
plt.vlines(x_atom_st2, ymin = 0, ymax = 9, colors = 'red',
linestyle='dashed', alpha=0.5)
plt.vlines(x_atom_st3, ymin = 0, ymax = 9, colors = 'orange',
linestyle='dashed', alpha=0.5)
plt.vlines(x_atom_st4, ymin = 0, ymax = 9, colors = 'black',
linestyle='dashed', alpha=0.5)
plt.xlabel('atom number')
plt.ylabel('RMSF ($\AA$)')
plt.xlim(-20,522)
plt.ylim(-0.5,9.5);
```

```

*****
rcParams['figure.figsize'] = 20, 7
rcParams.update({'font.size': 20})
mat_nuc = pt.pairwise_rmsd(traj, frame_indices=range(0, 50000, 500))
plt.imshow(mat_nuc, cmap='jet', vmin=0, vmax=6)
plt.xlabel('Time (ns)')
plt.ylabel('Time (ns)')
plt.title('ds-DNA')
cbar1 = plt.colorbar()
cbar1.set_label("RMSD (\AA)", fontsize = 20)
*****

view = nv.show_pytraj(traj)
view.clear_representations()
view.add_representation('licorice', selection='all')
view
*****

df_hbonds = pd.DataFrame(data.hb[1], columns = data.hb[0])
hbonds_new=df_hbonds.transpose()
df_hbondsxx = pd.DataFrame(data.hb[1])
*****

rcParams['figure.figsize'] = 20, 4
ax = sns.heatmap(df_hbondsxx, vmin=0, vmax=3, cmap="crest",
linewidth=0)
xx=np.arange(0,50001,2500)
plt.xticks(xx, ['0', '5', '10', '15', '20', '25', '30',
'35', '40', '45', '50', '55',
'60', '65', '70', '75', '80', '85', '90', '95', '100'], rotation=0)
plt.ylabel('Base Pair')
plt.xlabel('Time (ns)')
plt.title('ds-DNA')
plt.show();
*****

```

EK 2: Yük taşınım analizleri için kullanılan Jupyter Notebook kodu (dsDNA için gösterilmiştir)

```
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from matplotlib import rcParams
import seaborn as sns
import pandas as pd
import math
*****
#rcParams['figure.figsize'] = 10, 7
rcParams.update({'font.size': 30})
#load files-----
TR_D5_ds_all = pd.read_csv('T_D5_dsDNA_all.csv',header=None)
*****
#Rename the columns-----
TR_D5_ds_all.columns = ['Energy', 'PreTR']
#Add a column with logscale transmission-----
TR_D5_ds_all['Transmission'] = np.log10(TR_D5_ds_all['PreTR'])
Energy = TR_D5_ds_all['Energy']
Energy = Energy.values.tolist()
*****
#Conductance Function
RTK=0.026
def conductance(transmission,energy):
    conduct=[]
    #II=[None]*len(transmission)
    for i in range(len(transmission)):
        summ=0
        Ef=energy[i]
        for j in range(len(transmission)-1):
            x = math.exp((energy[j]-Ef)/(RTK))
            dF1 = -(x)/((x+1)**2)
            y = math.exp((energy[j+1]-Ef)/(RTK))
            dF2 = -(y)/((y+1)**2)
            summ = summ + ((transmission[j]*(-dF1)+transmission[j+1]*(-
dF2))/(2*RTK))*(energy[j+1]-energy[j])
        conduct.append(np.log10(summ))
    return conduct

#Add conductance column to the dataframe
TR_D5_ds_all['Conductance'] =
conductance(TR_D5_ds_all['PreTR'],TR_D5_ds_all['Energy'])
*****
# Plot
rcParams['figure.figsize'] = 15, 10
rcParams.update({'font.size': 25})
plt.plot(Energy, TR_D5_ds_all['Conductance'], label='dsDNA', color
="orange",linewidth=5,linestyle="dashed")
plt.xlim([-6, -4.5])
plt.ylim([-6.5, -3])
plt.xlabel('Energy (eV)')
plt.ylabel('Log(Conductance)')
plt.legend(loc="lower left", ncol=2)
#plt.title("ALL CONTACTS")
plt.show();
```

EK 3: DNA Origami caDNAno .cvs dosyaları

DNA Origami Tasarım I:

Start	End	Sequence	Length	Color
0[41]	1[41]	GAACGTGTCTATCA	14	#888888
4[41]	3[41]	GAACGTGTCTATCA	14	#007200
1[0]	5[41]	GAACGTGTCTATCAGAACGTGGACTCCAAAAACCGACTCCAACGTCA AAGGGCGAACGTCAAAGGGCGAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGACT CCAAAAACCGTCTATCA	112	#55aaff
2[41]	4[0]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGACTCCAACGTCAAAGGGCGAACGTCA AAGGGCGAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGACTCCAAAAACCGTCTAT CAGAACGTGTCTATCA	112	#007200

DNA Origami Tasarım II:

Start	End	Sequence	Length	Color
0[41]	0[0]	GAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAACGTCAAAGGGCGAACGTCA AAGGGCGAAAAACCGACTCCAAAAACCGTCTATCA	84	#b8056c
5[0]	3[41]	GAACGTGGACTCCAACGTCAAAGGGCGAACGTCAAAGGGCGAACGTCA AAAGGGCGAAAAACCGTCTATCA	70	#888888
1[0]	2[0]	GAACGTGTCTATCA	14	#55aaff
2[41]	1[41]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGTCTATCA	28	#007200
3[0]	4[0]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGTCTATCA	28	#f74308
4[41]	5[41]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGTCTATCA	28	#7300de

DNA Origami Tasarım III:

Start	End	Sequence	Length	Color
4[20]	5[41]	AGGGCGAAAAACCGACTCCAACGTCAAAGGGCGAAAAACCGTCTATCA	49	#cc0000
0[20]	2[21]	AGGGCGAACGTCAAAGGGCGAACGTCAA	28	#f74308
4[41]	3[41]	GAACGTGTCTATCA	14	#007200
0[41]	1[41]	GAACGTGTCTATCA	14	#888888
1[0]	4[0]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGTCTATCAGAACGTGTCTATCA	42	#888888
2[41]	0[21]	GAACGTGGACTCCAAAAACCGACTCCAACGTCAA	35	#007200
2[20]	3[20]	AGGGCGAAAAACCGTCTATCAGAACGTGGACTCCAACGTCAA	42	#57bb00
3[21]	4[21]	AGGGCGAAAAACCGACTCCAACGTCAA	28	#f7931e

DNA Origami GC sekansı:

Start	End	Sequence	Length	Color
0[35]	1[35]	GGGGCCCC	8	#cc0000
1[28]	0[28]	GGGGCCCC	8	#888888

DNA Origami AT sekansı:

Start	End	Sequence	Length	Color
0[35]	1[35]	AAAATTTT	8	#cc0000
1[28]	0[28]	AAAATTTT	8	#888888

DNA Origami Nanogözenek:

Start	End	Sequence	Length	Color
3[35]	5[41]	AGAGTTGGCGTATTGCGGGGA	21	#888888
5[0]	3[20]	TGTCGTGACGTGGATTCCGAAATCGGCAGGCGAAATGATTGCCCTTCAC	49	#cc0000
0[20]	2[0]	TCCACTATTAAAGACCAGCTGTTTCACCAGTGAGACAACAGCATCCTGT	49	#888888
2[41]	0[35]	AAGCGGTAATAGCCTGTCCA	21	#888888
3[21]	1[20]	CGCCTGGGGTTTGCCCCAGCAAAATCCC	28	#cc0000
0[34]	5[20]	GTTTGACCAACGCGGGCGCCAGGGTGGTTTTTCTCATTAAT	42	#cc0000
5[21]	3[34]	GAATCGGACAAGAGTTATAAATCAAAGCCACGCTCCCTGAG	42	#919191



ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : Büşra Demir
Uyruğu :
Doğum Tarihi ve Yeri :
E-posta :

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Doktora** : 2023, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mikro ve Nanoteknoloji (Tam Burslu, 3,86/4,00)
- **Yüksek Lisans** : 2018, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mikro ve Nanoteknoloji (Tam Burslu, 3,86/4,00)
- **Lisans** : 2017, TOBB Ekonomi ve Teknoloji Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Malzeme Bilimi ve Nanoteknoloji Mühendisliği (Tam Burslu, 3,64/4,00)

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

Yıl	Yer	Görev
2022 – 2023	Seattle, ABD	TUBİTAK Burslu Misafir Araştırmacı
2019 – 2022	Ankara	Tam Burslu Doktora Öğrencisi
2018	Ankara	Evrensel Koleji Proje Şenliği Gönüllü Juri
2017 – 2018	Ankara	Tam Burslu Yüksek Lisans Öğrencisi

Yıl	Yer	Ödüller
2022 – 2023	Seattle, ABD	TUBİTAK BİDEB 2214-A Yurtdışı Araştırma Burs Programı Bursiyeri
2019 – 2023	Ankara	TUBİTAK BİDEB 2211-A Genel Yurtiçi Doktora Programı Bursiyeri
2018	Safranbolu	12. CPC Konferansı Öğrenci Posterleri Birinciliği
2017	Ankara	TOBB ETÜ MBN Bitirme Projeleri Birinciliği
2013 – 2017	Ankara	Türk Eğitim Vakfı Yurtiçi Lisans Bursu

2013 – 2017 Ankara TOBB ETÜ Lisans Tam Bursu
2008 – 2013 Kocaeli TEVİTÖL Tam Burs

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

TEZDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Yayınlar

- **Demir, B.**, Mohammad, H., Anantram M.P. ve Oren, E.E., (2023). DNA-Au (111) interactions and transverse charge transport properties for DNA-based electronic devices, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 25, 16570-16577.
- Luo, L., Manda, S., Park, Y., **Demir, B.**, Vicente, J., Anantram, M.P., Oren, E.E., Gopinath, A., Rolandi, M., (2023) “DNA nanopore as artificial membrane channels for origami-based bioelectronics” Kabul edildi. *Nature Communications*.

Sunumlar

- **Demir, B.**, Mohammad, H., Akin, C., Oren, E.E., ve Anantram, M.P. DNA- gold (111) interactions for designing electrically readable DNA data storage devices, TECHCON21, Category: Memory & Storage – The Growth of Memory and Storage Demands, Sanal, Eylül, 13 – 17, 2021.

DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

Yayınlar

- Liu, B., **Demir, B.**, Akin, C., E. E., ve Hihath, J., (2023). Self-aligning nanojunctions for integrated single-molecule circuits, *ACS Nano* 'ya gönderildi.
- Wang, Y., **Demir, B.**, Mohammad, H., Oren, E.E., ve Anantram, M. P., (2023). Computational study of the role of counterions and solvent dielectric in determining the conductance of B-DNA, *Physical Review E*, 107, 044404.
- Alangari, M., **Demir, B.**, Akin Gultakti, C., Oren, E. E., ve Hihath, J., (2023). Mapping DNA conformations using single-molecule conductance measurements, *Biomolecules*, 13 (1), 129.
- Mohammad, H., **Demir, B.**, Akin, C., Luan, B., Hihath, J., Oren, E.E., ve Anantram, M.P. (2021). Role of intercalation in the electrical properties of nucleic acids for use in molecular electronics, *Nanoscale Horizons*, 6 (8), 651-660.
- Li, Y., Artés, J. M., **Demir, B.**, Gokce, S., Mohammad, H.M., Alangari, M., Anantram, M. P., Oren, E. E. ve Hihath, J., (2018). Detection and identification of genetic material via single-molecule conductance, *Nature Nanotechnology*, 13, 1167 - 1173.

Sunumlar

- Özkaya, D., Akın, Ç., **Demir, B.**, Ören, E. E., “Interactions between Au (111) surface and peptide sequences” E-MRS 2021 Fall Meeting, Symposium G: Computer-aided materials modeling: fundamental and applied insights merging physics and chemistry viewpoints at the atomic-scale, Sanal, 2021.
- Akın, Ç., **Demir, B.**, Mohammad, H., Hihath, J., Anantram, M.P., Oren, E.E., Effect of molecular doping on the molecular structure and electrical conductivity of DNA, E-MRS 2021 Fall Meeting, Symposium G: Computer-aided materials modelling: fundamental and applied insights merging physics and chemistry viewpoints at the atomic-scale, Sanal, 2021.
- Akın, Ç., **Demir, B.**, Ören, E.E., Effect of molecular doping on the molecular structure and electrical conductivity of DNA, 15th Nanoscience & Nanotechnology Conference, Antalya, Türkiye, Kasım 03-06, 2019.
- **Demir, B.**, Gokce, S., Mohammad, H. M., Patil, S. R., Li, Y., Artés, J. M., Hihath, J., Anantram, M. P. ve Oren, E. E., Effect of solvent on the molecular structure and electrical conductivity of DNA. MRS 2018 Fall Meeting, Symposium BM03: Multiscale modeling of soft materials and interfaces, Boston, MA, ABD, Kasım 25-30, 2018.
- Gokce, S., **Demir, B.**, Mohammad, H. M., Patil, S. R., Anantram, M. P. ve Oren, E. E., Effect of environment on DNA's structure and electrical conductivity. 12th Chemical Physics Congress, Safranbolu, Karabuk, Türkiye, Ekim 13, 2018.
- Patil, S. R., **Demir, B.**, Gokce, S., Ören, E. E., Qi, J. ve Anantram, M. P., Role of non-covalent interactions on charge transport. 2017 Physical Electronics Conference, Portland, Oregon, ABD, Haziran 27-29, 2017.
- **Demir, B.**, Qi, J., Gokce, S., Ören, E. E. ve Anantram, M. P. Environmental effects on DNA backbone and conductance. IMRC 2016, Symposium A2: Bionanodesign, Cancun, Meksika, Ağustos 14-19, 2016.
- Anantram, M.P., Qi, J. ve **Demir, B.**, Electron transport in DNA connected to metal contacts: Computational experiments. IMRC 2016, Symposium A2: Bionanodesign, Cancun, Meksika, Ağustos 14-19, 2016.
- Candaş, E., Gökçe, G., **Demir, B.**, Demirel, G. ve Ören, E. E., Modeling of morphological versatility in Self-Assembly of Val-Ala and Ala-Val Dipeptides. MRS 2015 Fall Meeting, Symposium WW: Modelling and theory driven design of soft materials, Boston, MA, ABD, Kasım 29-Aralık 04, 2015.