

# Multikanonik Simülasyon Yöntemi ile Peptidlerin Sıvı İçindeki Yapılarının İncelenmesi

Handan ARKIN

Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Fizik Mühendisliği Bölümü, Beytepe /ANKARA  
Alınış tarihi: 06.10.2006, Kabul: 23.05.2007

**Özet:** Tropoelastin molekülünün en önemli tekrar motifi olan Val-Pro-Gly-Val-Gly diziliminin sıvı içindeki yapısı multikanonik simülasyon yöntemi ile elde edilmiştir ve düşük enerjili ve termodinamik olarak kararlı yapıları belirlenmiştir. Sıvı teriminin yapılar üstündeki etkisi Ramachandran grafikleri ile analiz edilmiştir. Sıvı teriminin moleküle esneklik getirdiği, vakum içinde çok sınırlı bir bölgeye hapsolmuş bulunan konfigürasyonların sıvı içinde değiştiği gözlenmiştir. Sıvı içinde beşli-peptidin sahip olduğu en düşük enerji değeri belirlenmiştir.

**Anahtar kelimeler:** Multikanonik Simülasyon, Peptidler, Sıvı Enerjisi Terimi.

## Investigation of Structures of Peptides in a Solvent by Multicanonical Simulation Method

**Abstract:** Structures of the common repeat motif Val-Pro-Gly-Val-Gly of tropoelastin are studied in aqueous solution by multicanonical algorithm, in order to determine and compare their low-lying microstates and thermodynamically stable conformations. The effects of solvation term on the conformations are determined by analyzing Ramachandran plots. The structures in solvent has become flexibility which is constrained in a small area in vacuum simulations. The pentapeptides global energy minimum in solvent are determined.

**Keywords:** Multicanonical Simulation, Peptides, Solvation Energy Term.

### Giriş

Günümüzde protein ve peptidlerin simülasyonunda çok farklı modeller ve simülasyon teknikleri kullanılmaktadır. Protein ve peptidlerin, biyolojik olarak aktif oldukları doğal ortamlarındaki katlanma prosesinin anlaşılabilmesinin yolu, bu proteinlerin doğal ortamlarının mümkün olduğunca gerçekçi ve olası tüm fiziksel etkileşmelerin göz önüne alınarak betimlenebilmesinden geçer (Vasquez vd., 1994).

Protein ve peptidlerin katlanma süreçlerini irdeleyen simülasyon çalışmaları, büyük ölçüde bu moleküllerin vakum içerisindeki ve yalnızca iç fiziksel etkileşmeleri göz önüne alınarak yapılmıştır. Hangi model çerçevesinde hesaba katılırsa katılsın sıvı etkileri; protein ve peptidlerin hidrojen bağı yapma ve helisel yapı oluşturma yatkınlığı, helix-coil faz geçişinin derecesi ve faz geçiş sıcaklığı gibi parametreler üzerinde büyük bir etkiye sahiptir. Fiziko-kimyasal olarak ele alındığında, su moleküllerinin; polipeptit içi hidrojen bağı oluşma kapasitesini etkilemesinin yanında su köprüsü adı verilen polipeptit zinciri ile oluşturduğu hidrojen bağının da proteinlerin stabilitesi bakımından büyük öneme sahip olduğu kanıtlanmıştır (Scheraga, 1994).

Proteinlerinin atomik etkileşmeleri, temel olarak yarı deneysel potansiyel enerji fonksiyonu ile modellenmektedir. Binlerce atom içeren bu sistemlerde sadece bir enerji hesabı bile bu durumda birçok terimin hesaplanmasını dolayısıyla güçlü bilgisayar hesaplarını gerektirmektedir. Güçlü teknikler geliştirilmeden yapılan simülasyonlar hem çok fazla zaman alırken aynı zamanda

limitli sayıda konfigürasyon örneklemeyle istenen fiziksel nicelikler hakkında bilgi vermekten uzaktır (Hansmann ve Okamoto, 1999). Bunun yanı sıra, protein ve peptidlerin düşük enerji durumları birbirinden yüksek enerji bariyerleri ile ayrılmış olduğundan, birçok enerji minimumundan gelen bilgileri değerlendirmek veya serbestlik derecesi çok yüksek sistemlerin kararlı konfigürasyonlarını belirlemek zordur.

Özellikle düşük sıcaklıklarda, bilinen geleneksel Monte Carlo (MC) ve Moleküler Dinamik simülasyonları yerel minimumlardan birine takılıp kaldığından ve konfigürasyon uzayının sadece küçük bir kısmını örneklediğinden (çok fazla sayıda simülasyon adımı yapılmasına rağmen) fiziksel niceliklerin hesaplanması ve sistemin global minimumunun bulunması çok zordur.

Bahsedilen tüm bu zorluklara karşın, çok sayıda güçlü simülasyon algoritmaları önerilmekte (Hansmann ve Okamoto, 1999a,b) ve protein katlanma probleminin çözüm getirilmeye çalışılmaktadır. Önerilen algoritmaların ortak özelliği, Boltzmann olasılığının dışına çıkılarak potansiyel enerji uzayında rasgele yürüyüş (random walk) sağlamalarıdır. Bu rasgele yürüyüş enerji bariyerlerinden kurtularak, konfigürasyon uzayında çok daha geniş alanları tarama olanağı vermektedir.

Son zamanlarda önerilen en güçlü simülasyon tekniği Multikanonik Monte Carlo yöntemidir (Berg ve Neuhaus, 1992; Berg ve Çelik, 1992; Berg, 1998). Global

güncelleme yöntemlerinden olan multikanonik simülasyon yöntemi fizikte, kimyada ve biyolojide çok geniş uygulama alanlarına sahiptir. Çok geniş bir sıcaklık aralığında sistemi değerlendirmeye olanak tanıdığından spin camları, birinci derece faz geçişleri, heliks-coil faz geçişi ve protein katlanma problemlerinde kullanılan efektif bir simülasyon yöntemidir. Bundan sonraki bölümde simülasyon yönteminin detayları üzerinde durulacaktır.

### Multikanonik Yöntem

Bu yöntem, her sistem için önceden bilinmeyen bir parametrisasyon ile enerji uzayında sabit bir olasılık

dağılımının oluşturulmasını gerektirir. Fiziğin çok sayıda alanında uygulamaya açık olan multikanonik yöntem bazı ferromagnetizma ve spin camı modellerinde test edilmiştir (Berg vd., 1994). Bu yöntemin en büyük avantajı, belli bir sıcaklık aralığında örnekleme yaptığından, tek bir simülasyon ile istenilen sıcaklıktaki termodinamik niceliklerin hesaplanmasına olanak vermesidir (Berg ve Neuhaus, 1992). En yoğun olarak kullanılan klasik tekniklerden Monte Carlo tekniğinde (kanonik küme) sistemin olası konfigürasyonlarının örnekleme Boltzman olasılık fonksiyonuna göre yapılır. Boltzman olasılık fonksiyonu,

$$P^B(x) = \exp[-E_x / k_B T] / Z \quad (1)$$

şeklinde verilir.  $P^B(x)$ ,  $x$  konfigürasyonunun olasılığı,  $E_x$  bu konfigürasyonun enerjisi,  $Z$  üleşim fonksiyonudur. Multikanonik kümede ise  $E$  enerjili bir  $x$  konfigürasyonunun olasılığı,

$$P^{MU}(x) = \frac{1}{Ln(E_x)} = \frac{\exp[-S(E)/k_B]}{L} \quad (2)$$

ifadesi ile verilmektedir. Burada  $L$  sistemin farklı enerji düzeylerinin sayısıdır. Herhangi bir  $E$  enerjisi için bu olasılık ,

$$P^{MU}(E) = n(E)\omega^{mu} = n(E) \frac{1}{Ln(E)} = \frac{1}{L} \quad (3)$$

şeklinde verilir. Bu ifade, tüm enerjilerin eşit olasılıklı olduğunu göstermektedir. Ancak  $\omega^{mu}$  (durum yoğunluğu) önceden bilinmemektedir ve rekursif bir bağıntı ile hesaplanması gerekir.

Öncelikle  $\Delta E$  aralıklarıyla enerji  $L-2$  segmente bölünür. Her bir segment  $i$  ile tanımlandığında

$$E_{\min} \text{ ne olacağı bilinmediği için } E_i - E_{i-1} = \Delta E_i > 0 \quad i = 2, \dots, L-1 \quad (4)$$

$$E_0 = -\infty \quad \text{ve} \quad E_L = +\infty \quad (5)$$

şeklinde iki segment daha tanımlanır. Sabit bir  $T$  sıcaklığında kanonik termodinamik bağıntı

$$S = (E - F)/T = E/T + k_B \ln Z \quad (6)$$

ile benzetme yapıldığında  $S(E)$  segmenti için ,

$$S_i(E)/k_B = -b_i E + a_i \quad b_i = \frac{1}{k_B T_i} \quad E_{i-1} \leq E \leq E_i \quad (7)$$

yazılabilir.  $a_i$  ise

$$a_i = \ln Z(T_i) + \text{sabit} \quad (8)$$

Bunların sonucunda multikanonik ağırlık faktörü,

$$\omega_i(x) = \exp(-b_i E_x + a_i) \quad E_{i-1} \leq E_x \leq E_i \quad (9)$$

formunu alır. Tüm enerjinin eşit olasılığa sahip olması için bilinmeyen bu iki parametrenin simülasyon sırasında rekursif bağıntı ile hesaplanması gerekir. Rekursif

hesaplamalar uygun bir T sıcaklığında kanonik kümede Monte Carlo simülasyonu ile başlar. İlk basamak simülasyonu esnasında

$$b_i = \beta = \frac{1}{k_B T_i} \quad \text{ve} \quad a_i = 0 \quad i = 1, \dots, L \quad (10)$$

olarak alınır.  $m=1,2,3,\dots$  basamaklarında örneklenen her bir E enerjisi için histogram  $H_i^m$  aşağıdaki bağıntıya göre

$$H_i^m = H_i^{m-1} + 1 \quad E_{i-1} \leq E \leq E_i \quad (11)$$

için oluşturulur.

Bu simülasyonlarda histogramlar

$$H_i^m \approx \int_{E_{i-1}}^{E_i} dE n(E) \omega_i^{m-1}(E) \cong n_i \omega_i^{m-1} \quad (12)$$

ile ilişkilendirilir ve tanımdan

$$n_i = \int_{E_{i-1}}^{E_i} dE n(E) \quad \text{ve} \quad \omega_i^{m-1} = -b_i^{m-1} E_{i-1} + a_i^{m-1} \quad (13)$$

olur. Bu iki bağıntıdan anlaşılacağı üzere histogram  $H_i^m$  başlangıç değerleri tüm m için sıfırdır. (m-1)inci simülasyon adımından sonra  $\omega_i^{m-1}$  bilindiğinden m.

Simülasyon adımına tanımlanan olasılık ile geçilebilir. (m-1)'den m'e geçiş

$$\omega_i^m \approx \frac{\omega_i^{m-1}}{H_i^m} \quad (14)$$

ile orantılı olacağından

$$b_{0,i-1}^m = b_{0,i-1}^{m-1} + [\ln H_i^m - \ln H_{i-1}^m] / \Delta E_i, \quad i = 1, \dots, L \quad (15)$$

eşitliğiyle olur. Diğer parametremiz  $a_i$  ise

$$a_{i-1} = a_i + (b_{i-1} - b_i) E_{i-1} \quad (16)$$

eşitliğiyle hesaplanır. Bu şekilde histogram tekniği ile rekursif olarak multikanonik ağırlık fonksiyonu  $\omega^{mu}$  hesaplanır.

## Materyal ve Metot

Seçilen pentapeptid, Val-Pro-Gly-Val-Gly olarak verilen amino asit dizilişinden oluşmaktadır ve Tropoelastin proteininin en önemli tekrar motifidir (Urry vd., 1985). Simülasyonlarımızda neutral NH<sub>2</sub>-Grubu N-terminus olarak, neutral-COOH grubu ise C-terminus olarak peptidin iki ucuna bağlanmıştır. Enerji hesabı için

kullanılan potansiyel enerji fonksiyonu E (toplam), elektrostatik enerji terimi, 12-6 Lennard-Jones terimi, hidrojen bağı terimi ve tüm atom çiftleri arasında tanımlanan torsiyon açıları için yazılan torsiyon terimlerinden oluşmaktadır:

$$E(\text{toplama}) = E_C + E_{LJ} + E_{HB} + E_{tor.}$$

$$E_C = \sum_{\langle i,j \rangle} \frac{332q_i q_j}{\epsilon r_{ij}}$$

$$E_{LJ} = \sum_{\langle i,j \rangle} \left( \frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \quad (17)$$

$$E_{HB} = \sum_{\langle i,j \rangle} \left( \frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right)$$

$$E_{tor.} = \sum_n U_n (1 \pm \cos(n_n \chi_n))$$

Bu ifadelerdeki  $r_{ij}$ ,  $i$  ve  $j$  atomları arasındaki uzaklık,  $\chi_n$  ise  $n$  kimyasal bağının torsiyon açısıdır.  $A_{ij}$ ,  $B_{ij}$ ,  $C_{ij}$ ,  $D_{ij}$ ,  $U_n$  ve  $n_n$  parametreleri ECEPP/2'den alınmıştır (Empirical Conformational Energies of Polypeptides and Proteins (Momany vd., 1975; Sippl vd., 1984). Peptid

bağdaki dihedral açı  $\omega$  sabit değer 180 alınabilir veya değişken olarak serbestlik derecesine dahil edilebilir.  $\omega$  lar sabit alınırsa sistemin serbestlik derecesini  $\phi$ ,  $\psi$  ve  $\kappa$  açıları oluşturmaktadır. Simülasyonlarda kullanılan kuvvet alanları genellikle rijit geometri temelinde hesaplama yapar. Yani bağ açıları ve bağ uzunlukları sabit alınmaktadır (Freyberg vd., 1993a,b; Freyberg ve Braun, 1993). Bu durumda amino asit molekülünün tüm serbestlik dereceleri  $\psi$ ,  $\phi$  ve  $\chi$  dihedral açılara indirgenmiş olur. Böylece amino asit molekülünün üç boyutlu konfigürasyonu dihedral açılar tarafından belirlenir.  $\phi$  ve  $\psi$  dihedral açılarının birbirine karşı grafiği Ramachandran grafiği olarak bilinir ve polipeptitlerin ikincil yapılarının konfigürasyon analizinde önemli bir yere sahiptir. Bu grafik, polipeptit zincirindeki her bir amino asit molekülü için çizilir ve molekülün o sıcaklıktaki izinli konfigürasyonlarını gösterir. Sıvı etkisi ise yukarıdaki potansiyel terimlerine ek olarak aşağıdaki ifade ile verilmektedir. Bu model ASA (Accesible Surface Area) şeklinde isimlendirilir (Freyberg ve Braun, 1993).

$$E_{solvent} = \sum_i \sigma_i A_i \quad (18)$$

$A_i$ ,  $i$ . atomun solvent erişebilir yüzeyi (konfigürasyona bağlı),  $\sigma_i$ ,  $i$ . atomun çözülme parametresidir. Böylece sıvı içinde yapılan simülasyonda toplam enerji terimi

$$E_{ECEPP/2} + E_{solvent} \quad (19)$$

şeklinde olacaktır.

Peptidin primer amino asit dizilimi verildikten sonra, örneğin Val-Pro-Gly-Val-Gly için dihedral açı sayısı belirlenerek tüm açılar ilk adımda 180 alınarak simülasyona başlanmaktadır. Simülasyonu gerçekleştirmek istenen peptid için ilk olarak 50 K ve 600 K değerlerinde kanonik simülasyonlar yapılmıştır. Bu sıcaklıklarda elde edilen histogramlar yardımı ile enerji aralığı belirlenmiştir. Yine bu aralığın kaç enerji bölmesi oluşturulacağı yüksek sıcaklıkta yapılan kanonik simülasyonun histogramı yardımcı olmaktadır. Herbir Multikanonik simülasyon adımı konfigürasyondaki bir dihedral açı [-180: 180] aralığında rasgele olarak değiş tirilmektedir.

Simülasyonlara tamamen rasgele başlangıç konfigürasyonları ile başlanmaktadır ve multikanonik yöntemin büyük avantajı olarak bir tek simülasyon ile sistemin istenen tüm sıcaklık değerlerinde bütün termodinamik büyüklükleri ve ayrıca en kararlı 3-boyutlu konfigürasyonu belirlenebilmektedir (Yaşar vd., 2002; Arkin ve Çelik, 2002).

## Bulgular

Bu çalışmada, multikanonik simülasyon tekniği ile Val-Pro-Gly-Val-Gly diziliminin gaz ve sıvı içerisinde simülasyonu gerçekleştirilmiştir. Oda sıcaklığında (290-300K), Val-Pro-Gly-Val-Gly molekülüne ait hem

vakumda hem sıvı içinde elde edilen ve izinli konfigürasyonları gösteren Ramachandran grafikleri Şekil 1'de görülmektedir (Proline residüsü hariç olmak üzere). Proline amino asidinin sadece tek ana zincir açısı bulunmaktadır. Bu sebeple Ramachandran grafiği çizilmemektedir). Birinci kolon 290-300K sıcaklığında vakumda yapılan simülasyonda elde edilen minimize edilmiş konfigürasyonları, ikinci kolon ise yine aynı sıcaklık değerinde sıvı içinde yapılan simülasyonda elde edilen minimize edilmiş konfigürasyonları göstermektedir. Ramachandran grafikleri simülasyonlarımız sonucu elde edilen ve minimize edilmiş olası tüm durumları göstermektedir. Tüm konfigürasyonlar taranmıştır ve bunlar minimize edilerek ait oldukları enerji vadileri belirlenmiştir. Böylelikle kararlı yapıları ait olan ana zincir açıları belirlenmiştir. Ayrıca düşük sıcaklıklarda Ramachandran grafikleri incelenerek molekülün katlandığı farklı ana zincir özelliği gösteren konfigürasyonlar elde edilmiştir. Bu enerji vadilerinin 290-300K sıcaklığında elde edilen grafiklerin bir alt grubu olduğu bulunmuştur (Data gösterilmemiştir). Yani molekül aynı enerji vadisindedir. Gaz içindeki simülasyonlar ve sıvı içindeki simülasyonlar karşılaştırıldığında, şekilden de görüldüğü gibi, sıvı enerji terimi molekülün esnekliğini artırmıştır. Molekül sıvı içinde açılma eğilimi göstererek gaz içindeki konfigürasyonlarına göre daha farklı ana zincir açılarında da sahip olabilir hale gelmiştir. Oysa gaz halinde ana

zincir açıları çok dar bir bölgeye hapsolmuş olduğu net olarak görülmektedir.

Düşük sıcaklıklarda yapılan konfigürasyon taraması sonucu, sıvı içinde molekülün elde edilen tipik konfigürasyonlarının enerji değerleri ve global enerji minimumuna kıyasla hesaplanan RMS (root mean square) değerleri Tablo 1'de verilmiştir. Düşük enerji bölgesinde

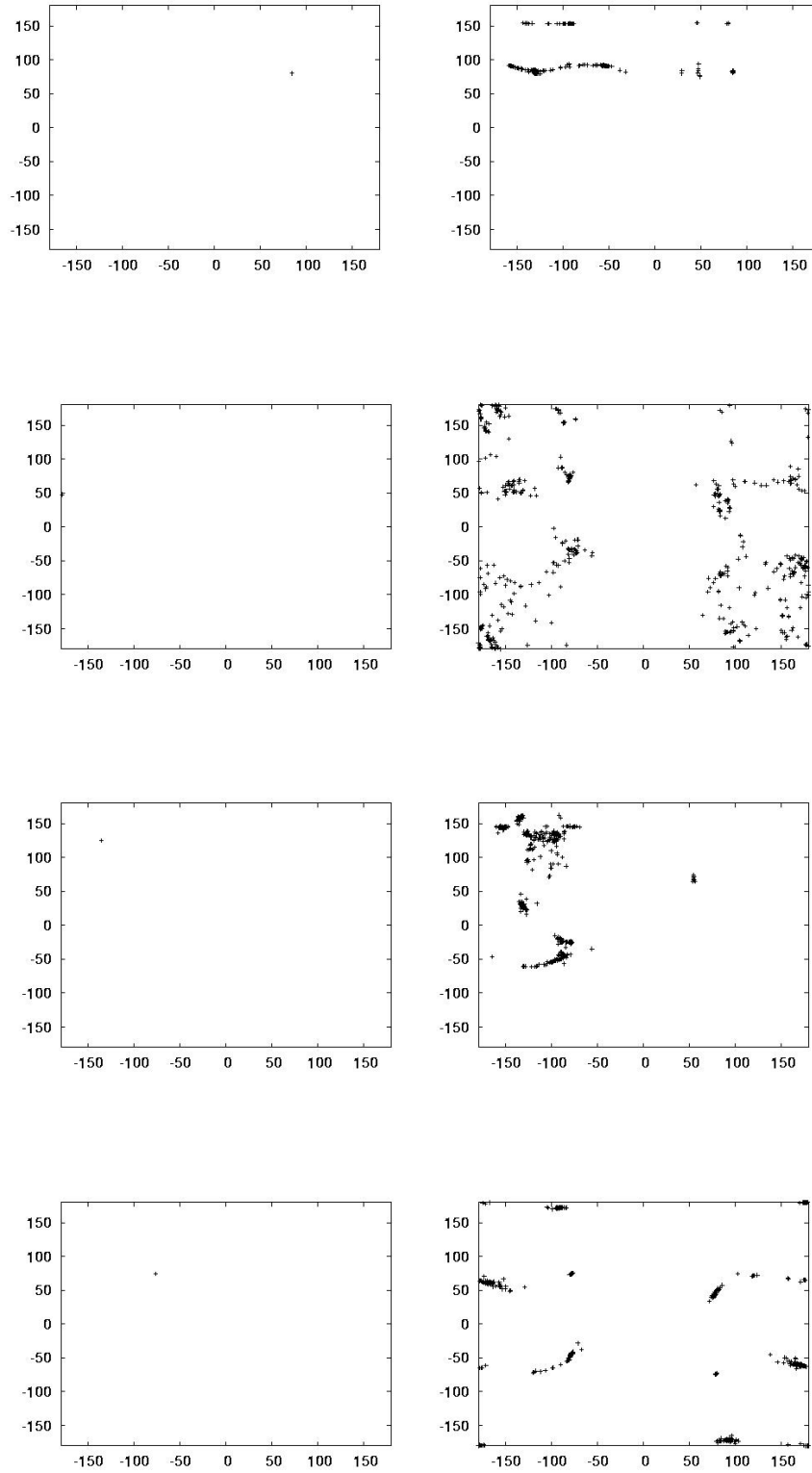
birbirine yakın enerjili dejenere durumların bulunması protein ve peptidlerin tipik bir özelliğidir. Bu özellik bu analizle de karşımıza çıkmıştır. Yani birbirine çok yakın enerjili ancak yüksek enerji bariyerleri ile ayrılmış vadiler protein ve peptid gibi karmaşık sistemlerin en belirgin özelliğidir. Simülasyon sonucu elde edilen molekülün sıvı içindeki global minimumu yani doğal yapısına ait açı değerleri de Tablo 2'de verilmiştir.

**Tablo 1.** Pentapeptid Val-Pro-Gly-Val-Gly diziliminin sıvı içinde elde edilen düşük enerjili konfigürasyonlarının (A,B,C,D) enerji ve Global minimuma(sıvı) göre hesaplanan RMS değerleri. RMS değerleri VMD (Visual Molecular Dynamics) programı ile hesaplanmıştır.

Konfigürasyonlar	RMS	Enerji (kcal/mol)
Global Minimum (sıvı)	-	-19.35
Global Minimum (gaz)	0.931	-4.40
A	0.001	-19.34
B	0.850	-19.23
C	2.263	-19.10
D	2.272	-19.00

**Tablo 2.** Pentapeptid Val-Pro-Gly-Val-Gly diziliminin sıvı içinde elde edilen global enerji minimumuna ait konfigürasyonun ana zincir açıları.

	$\phi$ (°)	$\psi$ (°)
VAL	-56.66	92.54
PRO	-	-19.58
GLY	170.79	-52.00
VAL	-89.311	-50.44
GLY	79.71	-73.90



**Şekil 1.** Ramachandran grafikleri (yukarıdan aşağıya sırasıyla Val1, Gly3, Val4, Gly5 ). Grafiklerde x eksenini  $\phi$  açısını ve y eksenini  $\psi$  açısını göstermektedir. Birinci kolon 290-300K sıcaklığında vakumda yapılan simülasyonda elde edilen minimize edilmiş konfigürasyonları, ikinci kolon ise yine aynı sıcaklık değerinde sıvı içinde yapılan simülasyonda elde edilen minimize edilmiş konfigürasyonları göstermektedir.

## Tartışma ve Sonuç

Bu çalışmada, beşli peptid Val-Pro-Gly-Val-Gly diziliminin Multikanonik simülasyon yöntemi ile hem sıvı içinde hem vakum ortamda simülasyonları yapılmıştır. Simülasyonlara tamamen rasgele başlangıç konfigürasyonları ile başlanmıştır ve multikanonik yöntemin büyük avantajı olarak bir tek simülasyon ile sistemin istenen tüm sıcaklık değerlerinde olası konfigürasyonları taranmıştır ve Ramachandran grafikleri elde edilmiştir. Bu grafiklerden kararlı yapılara ait olan ana zincir açıları belirlenmiştir. Sıvı teriminin moleküle esneklik getirdiği, vakum içinde çok sınırlı bir bölgeye hapsolmuş bulunan konfigürasyonların sıvı içinde değiştiği gözlenmiştir. Sıvı içinde beşli-peptidin sahip olduğu en düşük enerji değeri belirlenmiştir ve bu enerji değerine karşılık gelen konfigürasyon yani molekülün doğal yapısı bulunmuştur.

## Kaynaklar

- Arkın, H., Çelik, T. 2002. Comparison of the Energy Landscape Paving and Multicanonical Methods in Simulation of the Heptapeptide Deltorphan. *Eur. Phys. J. B* 30, 577.
- Berg, B. A., Çelik, T. 1992. A New Approach to Spin Glass Simulations. *Phys. Rev. Lett.* 69, 2292.
- Berg, B. A., Neuhaus, T. 1992. Multicanonical Ensemble: A New Approach to Simulate First-Order Phase Transitions. *Phys. Rev. Lett.* 68, 9.
- Berg, B. A., Hansmann, U. H. E., Çelik, T. 1994. Groundstate Properties of the 3d Ising Spin Glass. *Phys. Rev. B* 50, 16444.
- Berg, B. A. 1998. Algorithmic Aspects of Multicanonical Simulations, *Nucl. Phys. B (Proc. Suppl.)* 63A-C, 982.
- Freyberg, B. von, Schaumann, T., Braun, W. 1993. FANTOM User's Manual and Instructions: ETH Zürich, Zürich.
- Freyberg, B. von, Richmond, T. J., Braun, W. 1993. Surface Area Included in Energy Refinement of Proteins- A Comparative Study on Atomic Parameters. *J. Mol. Biol.* 233, 275.
- Freyberg, B. von Braun, W. 1993. Minimization of Empirical Energy Functions in Proteins Including Hydrophobic Surface Area Effects. *J. Comp. Chem.* 14, 510.
- Hansmann, U. H. ve Okamoto, Y. 1999. New Monte Carlo Algorithms for Protein Folding , Current Opinion in Structural Biology 9, 177.
- Hansmann, U. H., Okamoto, Y. 1999. Finite-Size Scaling of Helix-Coil Transitions in the Poly-Alanine Studied by Multicanonical Simulations. *J. Chem. Phys.* 110, 1267.
- Momany, F. A., McGuire, R. F., Burgess, A. W., Scheraga, H. A. 1975. Empirical Conformational Energies of Polypeptides and Proteins (ECEEP). *J. Phys. Chem.* 79, 2361.
- Scheraga H. A. 1994. Treatment of hydration in conformational energy calculations on polypeptides and proteins, Structure and reactivity in aqueous solution ACS symposium series, 568, 360-370.
- Sippl, M. J., Nemethy, G., Scheraga, H. A. 1984. Intermolecular Potentials from Crystal Data - Determination of Empirical Potentials for Hydrogen Bonds from Packing Configurations. *J. Phys. Chem.* 88, 6231.
- Urry, D., T. Trapane, M. Iqbal, C. Venkatachalam, K. Prasad. 1985. Carbon-13 NMR relaxation studies demonstrate an inverse temperature transition in the elastin polypentapeptide. *Biochimie.* 24, 5182-5189.
- Vasquez, M., Nemethy, G., Scheraga, H. A. 1994. Conformational energy Calculations on Polypeptides and Proteins. *Chem. Rev.* 94, 2183.
- Yaşar, F., Arkın, H., Çelik, T., Berg, B. A., Meirovitch, H. 2002. Efficiency of the Multicanonical Method as Applied to Peptides of Increasing Size: The Heptapeptide Deltorphan. *J. Comp. Chem.* 23, 12-1127.