

Molecole biologiche

Macromolecole:

Proteine e **Acidi nucleici**

catene polimeriche di

aminoacidi e **nucleotidi**

formate da 10^3 a 10^6 atomi, con una massa molecolare compresa tra 10^3 a 10^{12} amu (1 amu è circa la massa di un atomo di idrogeno).

Il loro comportamento è determinato da

- Solvente (acqua, pH)
- Flessibilità (perché sono catene lunghe)
- Tempi caratteristici

Scale di tempi e di distanze

Movimenti **locali**:

- fluttuazioni e vibrazioni atomiche
- movimenti delle catene laterali

1 ÷ 500 pm

$10^{-15} \div 10^{-1}$ s

Movimenti di **corpo rigido**:

- movimento delle eliche

100 ÷ 1000 pm

$10^{-9} \div 1$ s

Movimenti su **larga scala**:

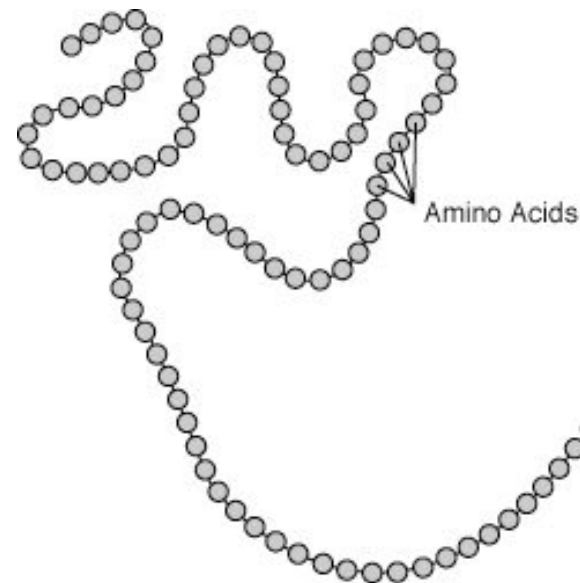
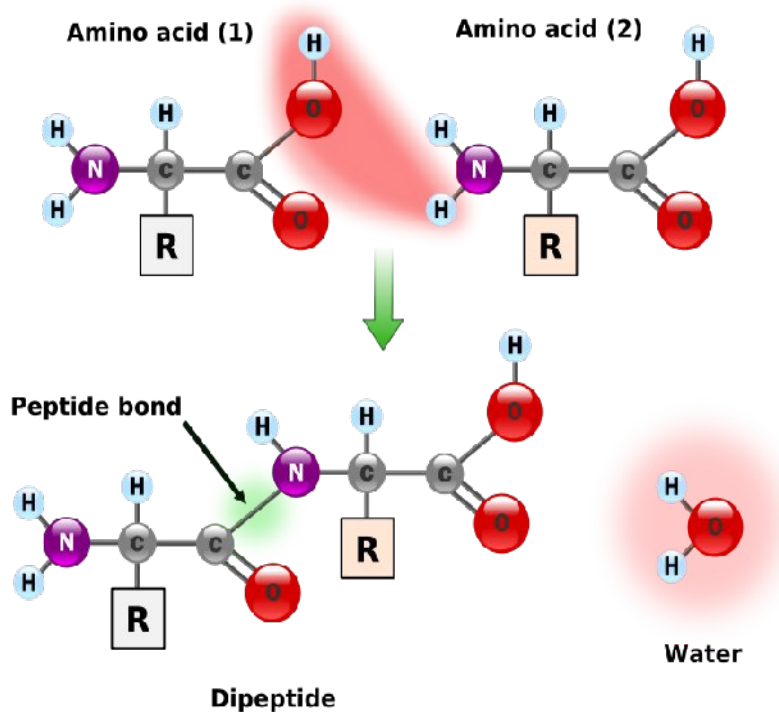
- transizioni elica - coil
- dissociazione/associazione
- folding e unfolding

500 ÷ 10000 pm

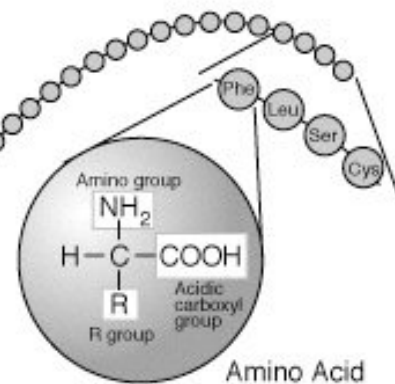
$10^{-7} \div 10^4$ s

I polipeptidi: catene molecolari

Un polipeptide (proteina) consiste in una lunga catena di aminoacidi:



Primary protein structure is sequence of a chain of amino acids



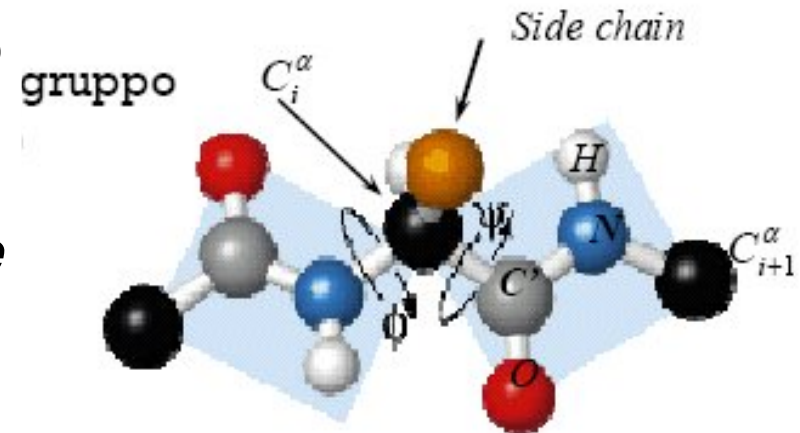
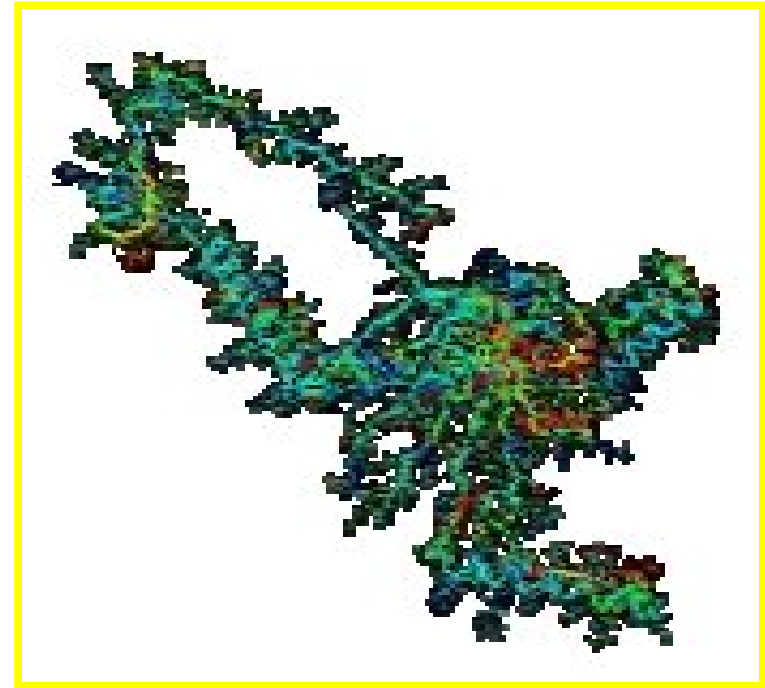
Proteine: proprietà strutturali

Molecole lineari formate da sequenze di 20 diversi tipi di aminoacidi ($N_{\text{atomi}} = 40 \div 10^3$ e più...).

Gli aminoacidi sono costituiti da un gruppo peptidico e una catena laterale (side chain)

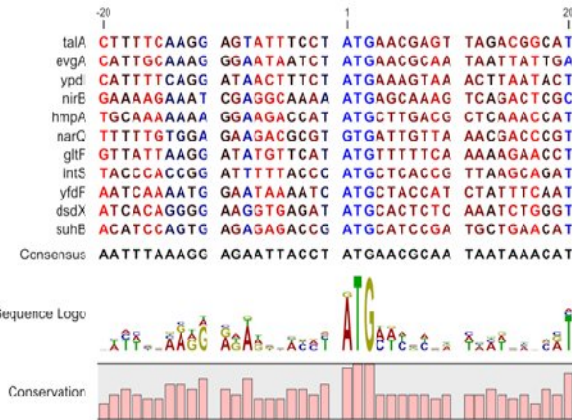
I gradi di libertà rotazionali dei legami peptidici rendono il backbone molto flessibile

I legami peptidici formano il *backbone* della proteina



Livelli di struttura

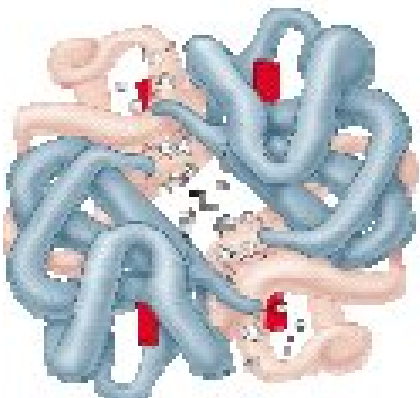
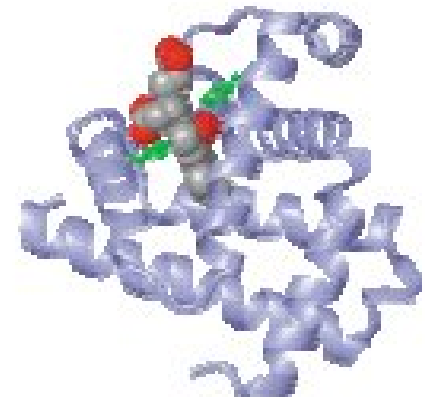
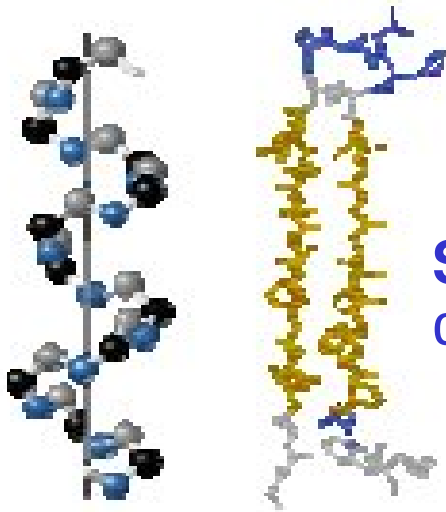
Primaria: la specifica sequenza degli aminoacidi



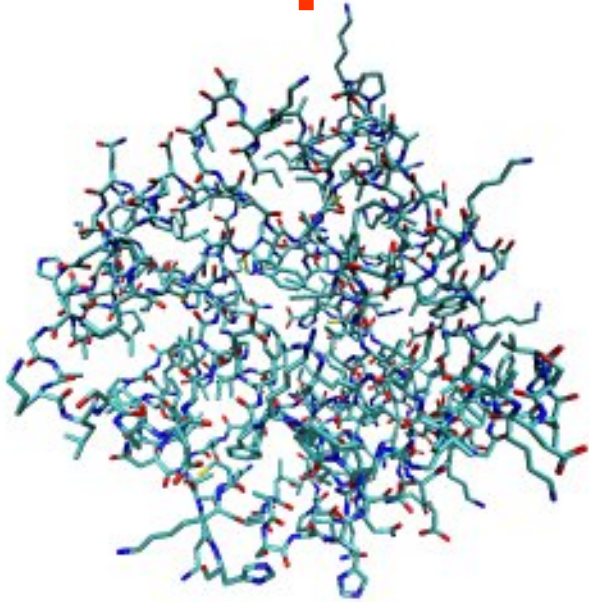
Secondaria: motivi conformazionali locali: α -eliche e β -sheets

Terziaria: la vera struttura 3D

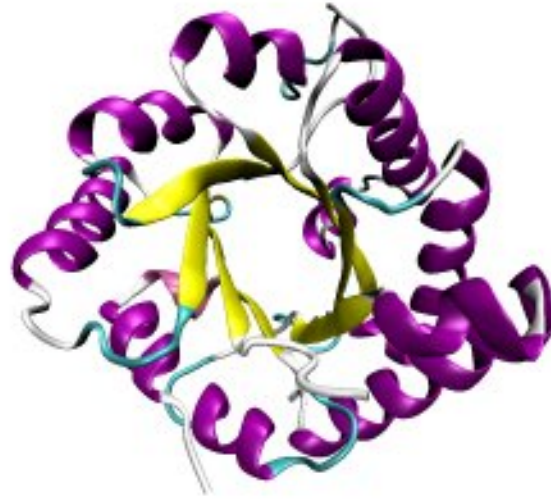
Quaternaria: organizzazione spaziale delle sub-unità molecolari in un complesso proteico



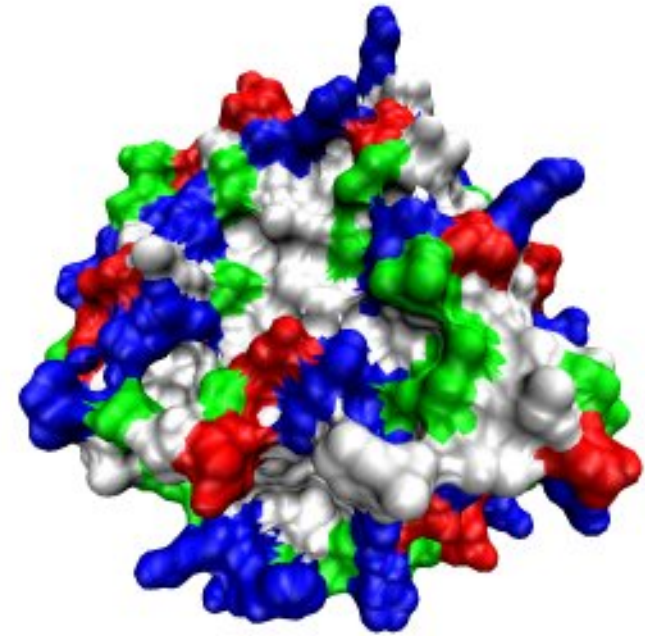
Esempio: triose phosphate isomerase



Rappresentazione all-atom,
colorata a seconda del tipo di
atomo



Rappresentazione semplificata
che descrive il backbone colorato
per tipo di struttura secondaria



Superficie esterna accessibile al
solvente, colorata a seconda del
tipi (acido - rosso, basico - blu,
polare - verde, nonpolare -
bianco) di residuo

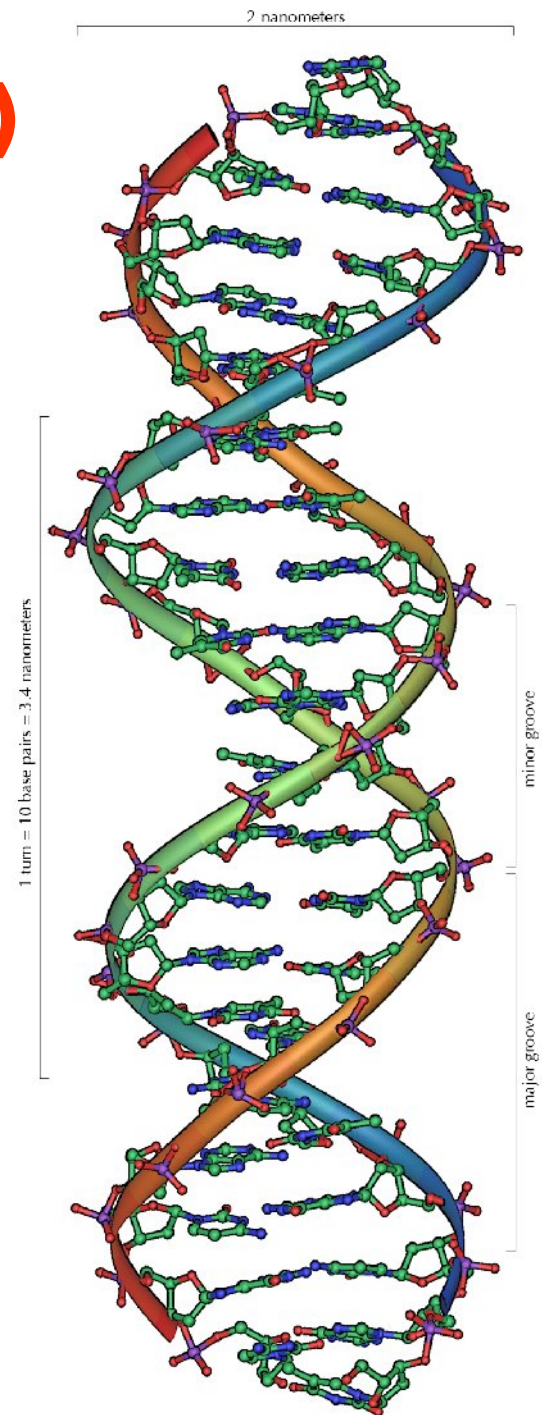
DNA (cenno)

Fino a circa $2 \cdot 10^8$ paia di nucleotidi (4+1 tipi), ognuno di circa 20 atomi.

Un backbone abbastanza rigido formato da pentosio e fosfato alternati.

Chiralità (\Rightarrow **attività ottica**) dei legami della catena, che si attorciglia spontaneamente.

Legami a idrogeno tra coppie di polimeri: struttura a doppia elica.



Limiti delle tecniche sperimentali

risoluzione **spaziale**

misure ad alta risoluzione di strutture molecolari sono possibili solo per sistemi relativamente rigidi

risoluzione **energetica**

misura delle energie di interazione e deformazione molecolare difficoltosa (i moti lenti di grande ampiezza sono spesso associati a energie piccolissime)

risoluzione **temporale**

i primissimi eventi dei processi biologici sono veloci, quindi di difficile misurazione

Limiti delle tecniche computazionali

Sistemi biomolecolari troppo complessi per una descrizione che contenga tutta la meccanica quantistica. Si usa invece la **meccanica classica** con funzioni empiriche per descrivere le interazioni tra gli atomi del un sistema molecolare

Simulazione del comportamento di un sistema molecolare su un computer: anche con queste semplificazioni, solo un numero limitato di atomi (di solito $10^3 \div 10^7$ atomi, $\ll N_A \simeq 6 \cdot 10^{23}$), per un limitato periodo di tempo ($1 \div 10$ ns) può essere simulato. Questo permette di studiare solo *sistemi piccoli*, per *fenomeni veloci* (tempi di rilassamento brevi)

Campionatura limitata dello spazio delle conformazioni (un **concetto statistico**!) di una macromolecola: necessario l'utilizzo dei dati sperimentali per restringerlo

Importanza della **complementarietà dell'approccio teorico-sperimentale!**

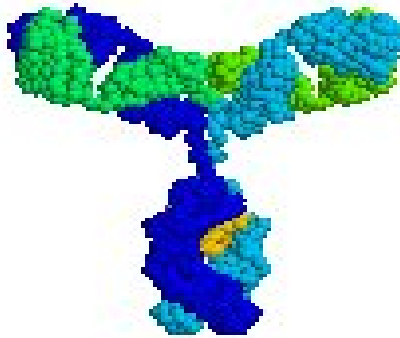
Complementarità di tecniche computazionali e sperimentali

L'utilizzo complementare di tecniche di tipo **sperimentale** e di tipo **computazionale** è attualmente l'approccio ottimale per lo studio della dinamica delle macromolecole e di molti processi biologici relativi

in particolare gli **aspetti strutturali** del problema, ovvero lo studio della conformazione, o variazione di conformazione, di una molecola biologica in relazione alla sua attività

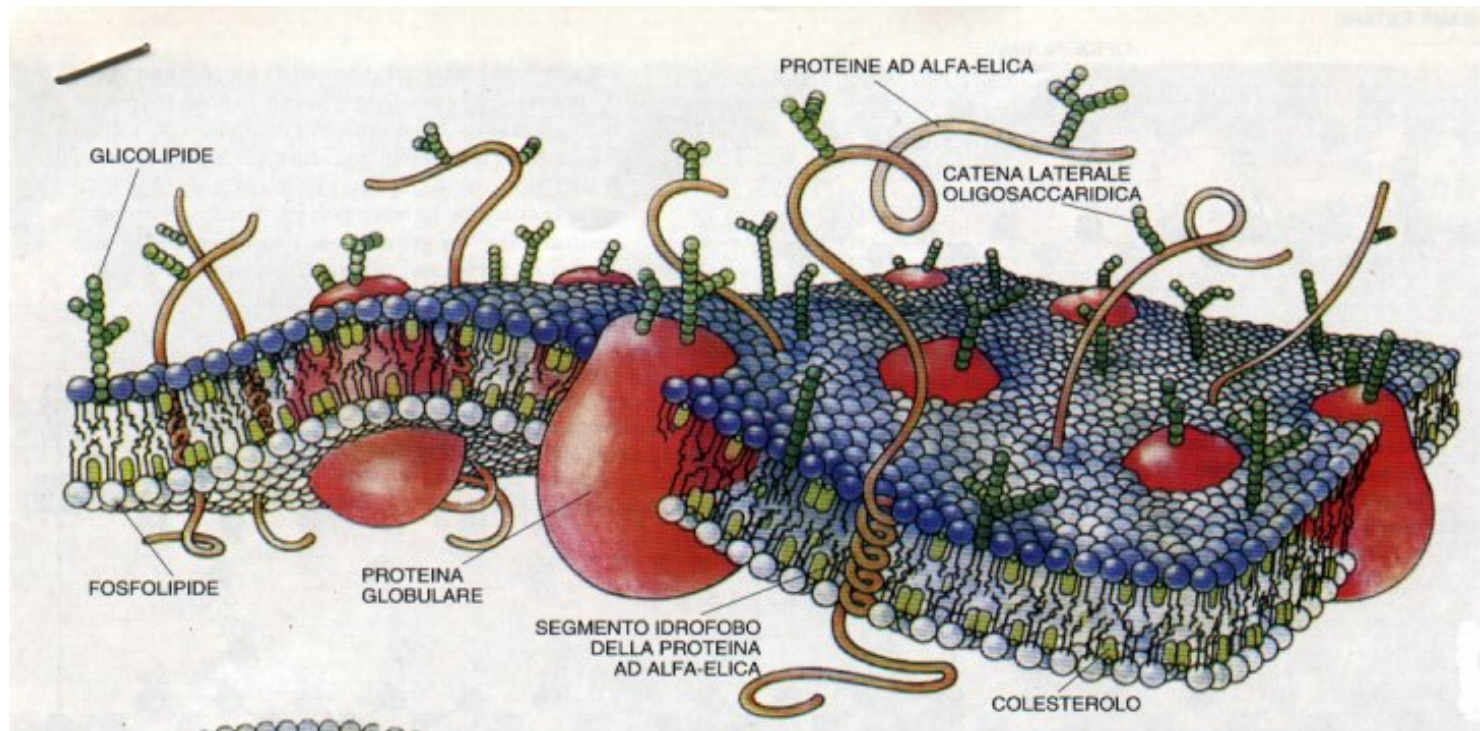
Alcune Applicazioni

Conoscere, comprendere, spiegare i meccanismi che portano alla **struttura nativa** a risoluzione atomica della molecola per comprendere, spiegare, ed eventualmente anche modificare, la sua attività biologica.

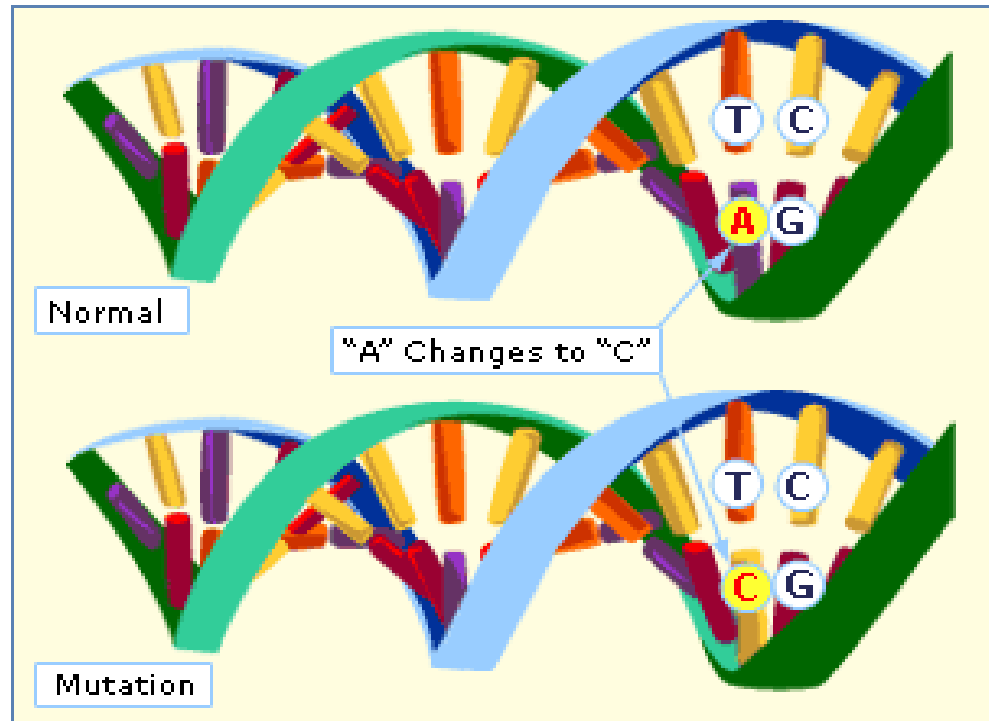


Alcune applicazioni

Monitorare i **cambiamenti strutturali** indotti su peptidi o proteine da parte di **membrane biologiche**



Alcune applicazioni

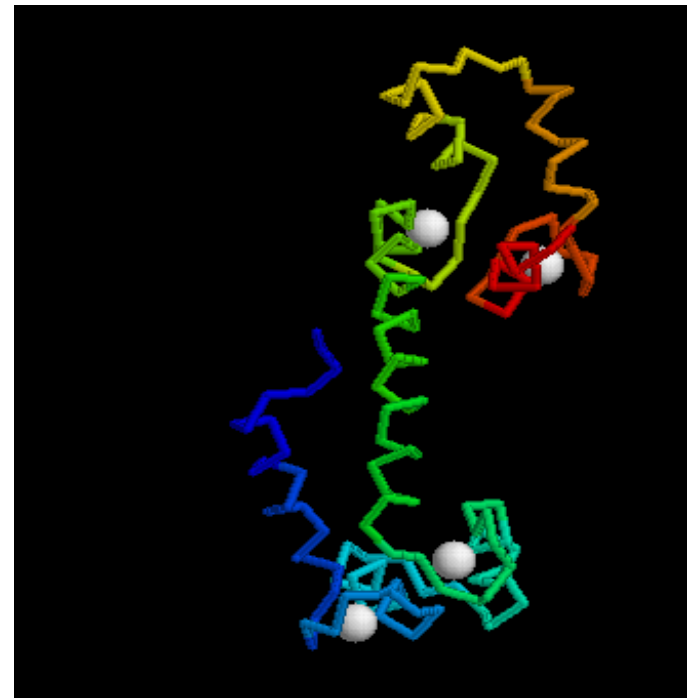


Effettuare **mutazioni puntiformi**, che possono fornire indicazioni utili per il riconoscimento del sito attivo o di strutture indispensabili all'attività della molecola o dirette ad una certa funzione.

Alcune Applicazioni

Studiare le **variazioni conformazionali** provocate dall'interazione della proteina con uno o più ligandi.

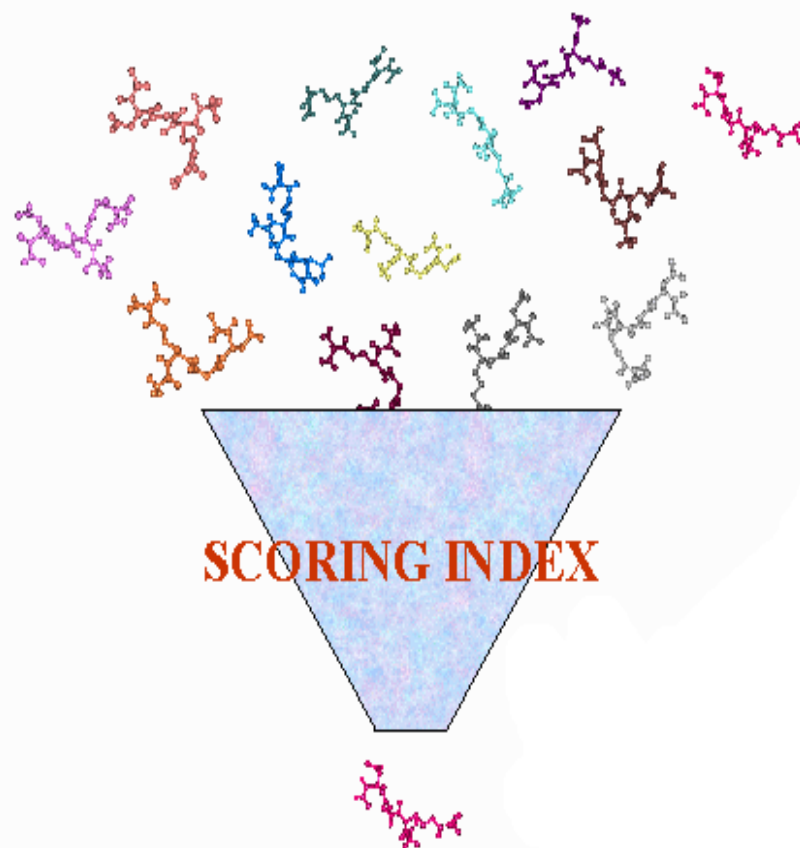
Attivazione o inattivazione di sezione necessaria a compiere la propria funzione biologica



Alcune applicazioni

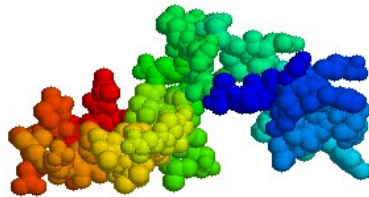
Applicazioni **farmacologiche**: viene fornita un'indicazione specifica, o quanto meno restrittiva, della struttura opportuna in funzione del bersaglio del farmaco.

In questo campo, la costruzione di strutture calibrate permette di ridurre la ricerca ad un ristretto raggio d'azione.

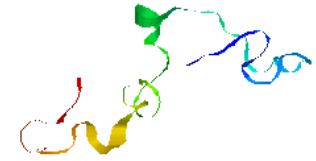


Alcune applicazioni

Comprendere il processo di **folding** delle proteine, ovvero il meccanismo di ripiegamento con cui raggiungono la conformazione nativa biologicamente attiva.



Protein folding



A dispetto della loro complessità, la maggior parte delle proteine reali si ripiegano (“foldano”) ad un **unico stato nativo** mediante un “rapido” e “sicuro” processo di folding

A causa di ciò, in genere si dice: lo **stato nativo** di una proteina è codificato nella sua sequenza primaria.

Capire come ciò sia possibile è un problema ***multidisciplinare*** (coinvolge dati biologici, biochimici, fisici, e richiede tecniche informatiche, statistiche, biotecnologiche) e ***multiscala*** (il processo di folding coinvolge movimenti strutturali che coprono scale temporali molto diverse).

Lo stato nativo non è lo stato in cui la proteina nasce!

Obiettivi principali

1) L'analisi e la comprensione dei fenomeni fisici essenziali alla base del folding:

questo potrebbe permettere, in principio, la costruzione, su base chimico-fisica, di efficienti algoritmi per la predizione di strutture

2) La predizione dello stato nativo a partire dalla sequenza degli aminoacidi di una proteina:

protein modeling

Meccanica molecolare

comprende

- la RICERCA DELL'ENERGIA CONFORMAZIONALE,
- la DINAMICA MOLECOLARE e
- il RICONOSCIMENTO MOLECOLARE (*DOCKING*).

Micro-Macro

Tali simulazioni generano informazioni a livello **microscopico** (posizioni, velocità degli atomi). Per convertire queste informazioni in osservabili **macroscopiche** (pressione, energia, capacità termica, ecc.) c'è bisogno di

Termodinamica + Meccanica Statistica

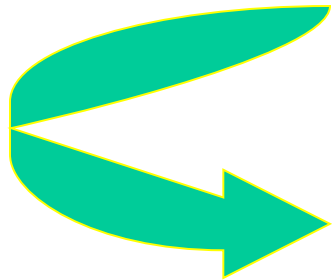
Termodinamica + Statistica

descrizione di sistemi a molte particelle

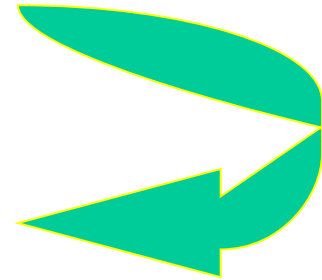
Le interazioni tra particelle sono essenziali per lo studio di un sistema di molte particelle, ma non bastano!

Coesistenza/competizione di effetti dovuti a

- Energia associata al sistema complessivo
- Molteplicità degli stati (+molteplicità = +disordine)



Termodinamica
Statistica



Termodinamica

- Descrive lo stato “medio” collettivo di sistemi macroscopici e gli scambi energetici attraverso funzioni e quantità macroscopiche (**funzioni di stato**)
- **Stati di equilibrio**: sono stati “semplici” perché possono essere specificati da pochi parametri: energia, volume, pressione, temperatura, numero di moli,...
Qualunque sistema tende spontaneamente verso uno stato d'equilibrio
- **Gradi di libertà**: necessari per descrivere lo stato microscopico o **microstato** di un sistema: posizioni e velocità di tutti gli atomi. Il loro numero è enorme rispetto ai pochi parametri medi necessari per la termodinamica di uno stato di equilibrio

Energia interna

- **Energia interna:** energia complessiva (cinetica + potenziale) del sistema.
- **I^a principio della termodinamica** (conservazione dell'energia): energia interna U varia attraverso scambi di calore Q e lavoro L :

$$\Delta U = \Delta Q - \Delta L$$



- Calore e lavoro sono energie che vengono trasferite. Una volta immesse nel sistema termodinamico, non è più possibile distinguerle una dall'altra.
- Il **calore** può essere visto come quella quantità di energia trasferita al sistema non attraverso lavoro meccanico.

Entropia

Trasformazione reversibile: si può ripercorrere esattamente i cambiamenti infinitesimi delle variabili in gioco (stati di equilibrio)

Trasformazioni irreversibili: processi spontanei, non è possibile invertire il processo, coinvolti stati di non-equilibrio.

$$\Delta S \geq 0$$

Includendo quella del sistema più quella dell'ambiente circostante

Entropia S: è una funzione di stato: **II^a principio della termodinamica**

$$S = \int \frac{dQ}{T}$$

unità di misura di S : J/K

Stati di equilibrio: relazione tra energia interna ed entropia

Energia interna ed entropia soddisfano le seguenti due affermazioni:

Tra tutti gli stati vincolati ad assumere U =costante, lo stato di equilibrio è quello con

S massima

Cioè: a data energia, max disordine molecolare

Tra tutti gli stati vincolati ad assumere S =costante, lo stato di equilibrio è quello con

U minima

Cioè: a dato disordine molecolare, minima energia

Esempio: il gas ideale

Sistema a molti corpi in cui le particelle (atomi o molecole) sono considerate puntiformi e non interagenti tra di loro.

Unica interazione: **particelle-pareti** del contenitore

Quantità di moto – impulso della forza scambiato con le pareti – dà la **pressione P**

$$P = \frac{1}{3} m \overline{v^2} \frac{N}{V} = \frac{2}{3} \bar{K} \frac{N}{V}$$

$$\bar{K} = \frac{3}{2} k_B T \text{ l'energia cinetica media di una molecola}$$

Meccanica Statistica

Scopo: estrarre informazioni sulle **proprietà termodinamiche** di un sistema di moltissime componenti elementari (atomi, molecole) **partendo dalle leggi che governano il suo moto microscopico.**

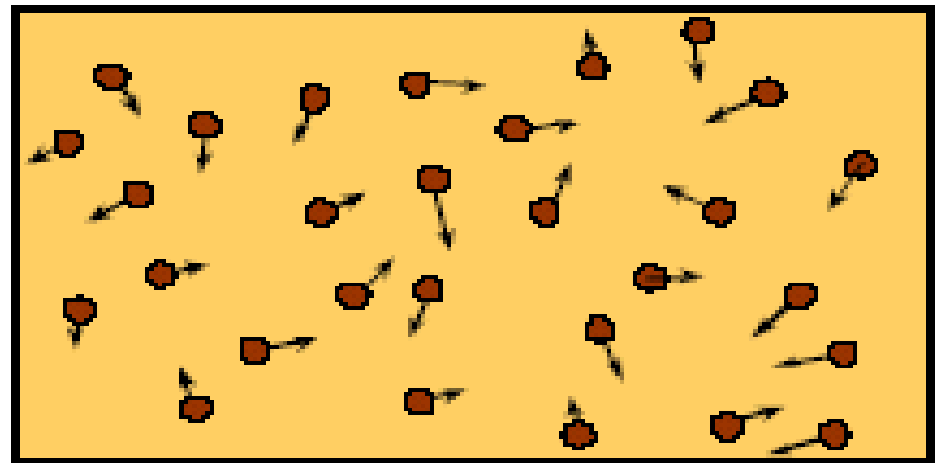
A questo scopo si può ad es. tentare di risolvere le equazioni del moto per tutte le “particelle” partendo dalla conoscenza delle interazioni reciproche tra le particelle. Questo è spesso

troppo difficile

non necessario

Lo stato microscopico richiede moltissime (troppe) informazioni (inutili?!):

Conviene usare le **leggi statistiche** che regolano i microstati di un sistema.



Microstato di un sistema di particelle

Microstati

Ipotesi fondamentale: un sistema isolato in equilibrio visita (prima o poi) tutti (o quasi) i microstati con uguale probabilità

$$G_{ave} = \langle G \rangle = \sum_v P_v G_v$$

G: grandezza fisica da misurare

v: microstato

G_v: valore di **G** nello stato **v**

G_{ave}: media di **G** quando il sistema interagisce debolmente con l'ambiente

P_v: probabilità che lo stato **v** sia visitato: è la distribuzione di probabilità oggetto della mecc. statistica

Legame micro-macro: gli *ensemble* statistici

- **Spazio delle fasi:** insieme degli stati ν che il sistema può assumere
- **Insiemi statistici:** insiemi di microstati con certe condizioni (U =costante, V =costante, ...)

$\langle G \rangle$ è una media sull'insieme statistico

- **Insieme microcanonico:** insieme dei microstati di un sistema con fissati N particelle, di volume V ed energia E
- **Insieme canonico:** insiemi dei microstati di un sistema con fissati N particelle e volume V ; E può essere scambiata
- **Insieme grancanonico:** insieme dei microstati di un sistema di fissato volume V ; N ed E variano (“fluttuano”)

Ensemble microcanonico: sistema isolato

Postulato: un sistema isolato di N particelle contenute in un volume V : tutti i microstati con energia E hanno la stessa probabilità di essere visitati.

$$\Omega(N, V, E_v) = \text{numero di microstati con energia } E_v$$

$$P_v = \frac{1}{\Omega(N, V, E_v)}$$

$$S(N, V, E) = k_B \ln \Omega(N, V, E)$$

Ensemble canonico

Se il sistema di N particelle contenute in un volume V , può scambiare energia E con l'ambiente, rappresentato da un termostato a temperatura T . i vari microstati v hanno probabilità diverse dipendenti solo dalla loro energia E_v , come segue:

$$P_v = \frac{1}{Z} e^{-\beta E_v} \quad Z(N, V, \beta = \frac{1}{k_B T}) = \sum_v e^{-\beta E_v} \quad \text{La funzione di partizione canonica}$$

Tutte le funzioni termodinamiche si possono valutare, ad es. l'**energia interna U è il valore medio** sull'insieme canonico

$$U(N, V, \beta) = \langle E_v \rangle = \sum_v P_v E_v = - \frac{\partial \ln Z}{\partial \beta} \Big|_{N, V}$$

Ensemble grancanonico

Se il sistema comprende quanto sta in un volume V , può scambiare e sia particelle che energia con l'ambiente a temperatura T . I vari microstati v hanno probabilità diverse dipendenti dalla loro energia E_v e numero di particelle N_v , tramite il **potenziale chimico** μ .

$$P_v = \frac{1}{Q} e^{-(\beta E_v + \beta \mu N_v)}$$

Q

La funzione di
partizione grancanonica

Tutte le funzioni termodinamiche si possono valutare, ad es. l'**energia interna** U e il **numero medio di particelle** N nell'insieme grancanonico sono dati da

$$U = - \frac{\partial \ln Q}{\partial \beta} \Big|_{N, \beta \mu} \quad N = \frac{\partial \ln Q}{\partial (\beta \mu)} \Big|_{E, \beta}$$

Significato statistico dell'entropia

L'entropia misura il **grado di disordine** compatibile con il dato macrostato.

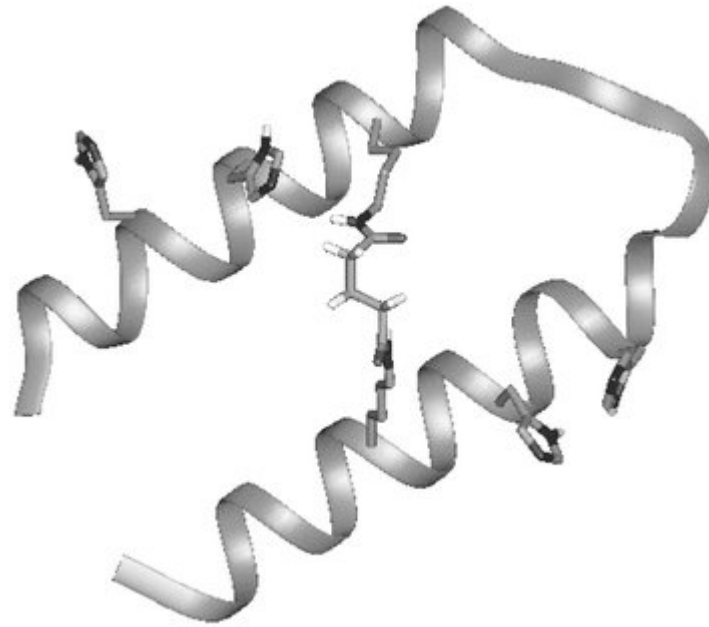
In pratica questo grado di disordine si misura con il logaritmo del **numero di microstati** compatibili con il dato macrostato:

$$S = k_B \log (N_{\text{stati}})$$

che si può esprimere in termini della Z canonica o Q grancanonica

Utilizzazioni della statistica

I metodi della termodinamica/meccanica statistica si usano spesso per calcolare/prevedere/interpretare le proprietà di sistemi complessi quali polimeri biologici...



... ma anche liquidi, miscele, soluzioni, reazioni chimiche, transizioni di fase (es. solido/liquido), proprietà di sistemi magnetici...