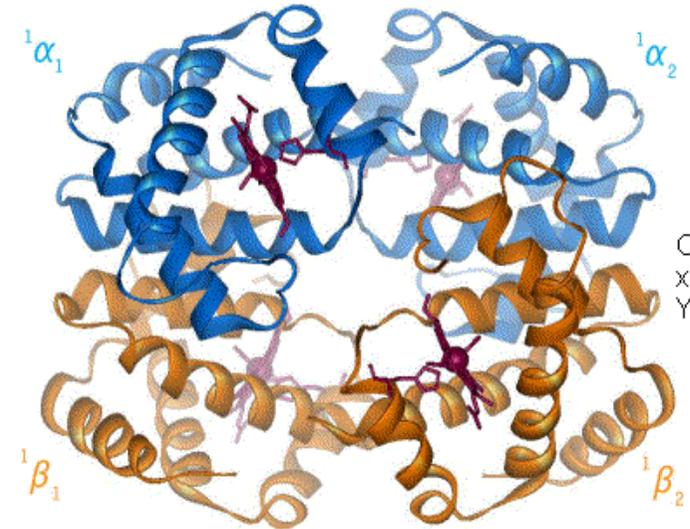
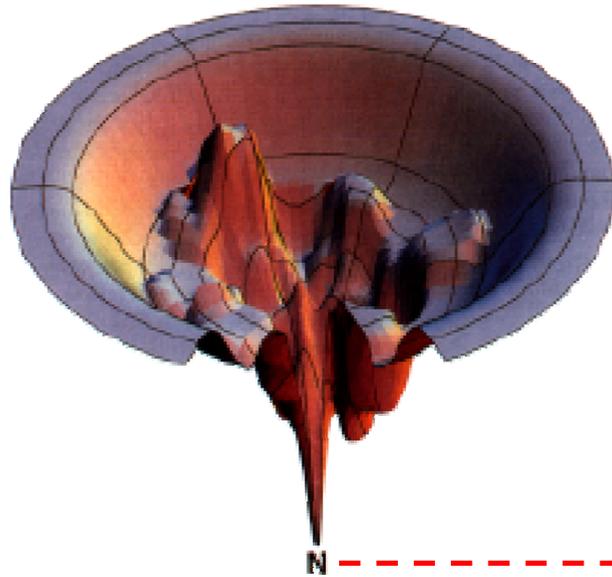
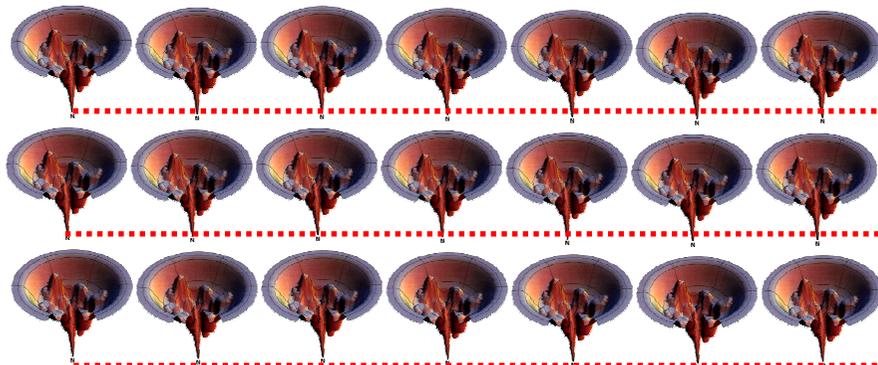


# Thermodynamics and Molecular Structure:



Structure & Function



...  $6 \times 10^{23}$

# Determinazione della struttura delle proteine

Due tecniche sperimentali (principalmente):

- **Cristallografia X-ray (1961 - Kendrew & Perutz)**



- **Spettroscopia NMR (1986 - Wuethrich)**



# La banca dati Protein Data Bank (PDB)



[www.rcsb.org](http://www.rcsb.org)

RCSB  
**PDB**  
PROTEIN DATA BANK

A MEMBER OF THE **PDB** MyPDB: Login | Register

An Information Portal to Biological Macromolecular Structures

As of Tuesday Mar 17, 2009 there are 56457 Structures | PDB Statistics

CONTACT US | FEEDBACK | HELP | PRINT

PDB ID or keyword Author  Site Search | Advanced Search

Home Search

- Home
- Getting Started
- Structural Genomics
- Electron Microscopy
- Download Files
- Deposit and Validate
- Dictionaries & File Formats
- Software Tools
- General Education
- Site Tutorials
- BioSync
- General Information
- Acknowledgements
- Frequently Asked Questions

Quick Tips:

Want to search by sequence? Click [here](#).

## A Resource for Studying Biological Macromolecules

The PDB archive contains information about experimentally-determined structures of proteins, nucleic acids, and complex assemblies. As a member of the **wwPDB**, the RCSB PDB curates and annotates PDB data according to agreed upon standards.

The RCSB PDB also provides a variety of tools and resources. Users can perform simple and advanced searches based on annotations relating to sequence, structure and function. These molecules are visualized, downloaded, and analyzed by users who range from students to specialized scientists.

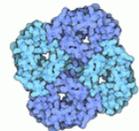
### Molecule of the Month: Hydrogenase



Hydrogen gas is an unusual substance. Normally, it is stable and must be coaxed with powerful catalysts to enter into chemical reactions. But when mixed with oxygen, a tiny spark will set off an explosive chain reaction. Hydrogen gas holds great promise to be the greenest of green energy sources. It has many advantages: compared with many fuels, it releases a lot of energy for its weight, and the reaction forms only energy and pure water. It has substantial disadvantages, however. It is dangerous to store, and it is difficult to perform the reaction in a controlled, non-explosive manner.

■ [Read more ...](#) ■ [Previous Features](#)

### PSI Featured Molecule: Aquaglyceroporin



Researchers at the PSI CSMP have revealed the mechanism of the dual-specificity aquaglyceroporin from the major parasite that causes malaria.

■ [Read more from PSI SGKB](#) ■ [Previous Features](#)

The RCSB PDB is managed by two members of the RCSB: Rutgers and UCSF, and is funded by NSF, NIGMS, DOE, NLM, NCI, NINDS, and NIDDK.

New user? Try the browser [compatibility check](#), information on [Getting Started](#), and a [narrated tutorial](#) about navigating the site.

### News

- Complete News
- Newsletter
- Discussion Forum
- Job Listings

17-March-2009

#### PDB Archive Version 3.15 Released

A newly standardized and enhanced version of the entire PDB archive at <ftp://ftp.wwpdb.org> has been released. [More >>](#)

#### Receive Email Alerts When New Structures Match Your Queries with MyPDB

MyPDB is a new feature that regularly sends out emails when structures that match customized queries are released. [More >>](#)

### Data Snapshots

Time-stamped yearly snapshots of the PDB archive are available via FTP at: <ftp://snapshots.wwpdb.org>. The snapshots provide readily identifiable data sets for research on the PDB archive.

© RCSB Protein Data Bank

MS

Confidential and Property of ©2005 Molecular Modeling Section  
Dept. Pharmaceutical Sciences – University of Padova - Italy

S. MORO – Biomodeling Biotech



# Allora perché potrebbe essere strategico predire strutture?

- Vediamolo in cifre:

⇒ 700,000+ sequenze proteiche

⇒ ~ 20,000 strutture, ~ 5,000 uniche

⇒ *La distanza tra sequenze e strutture note si sta allargando.*

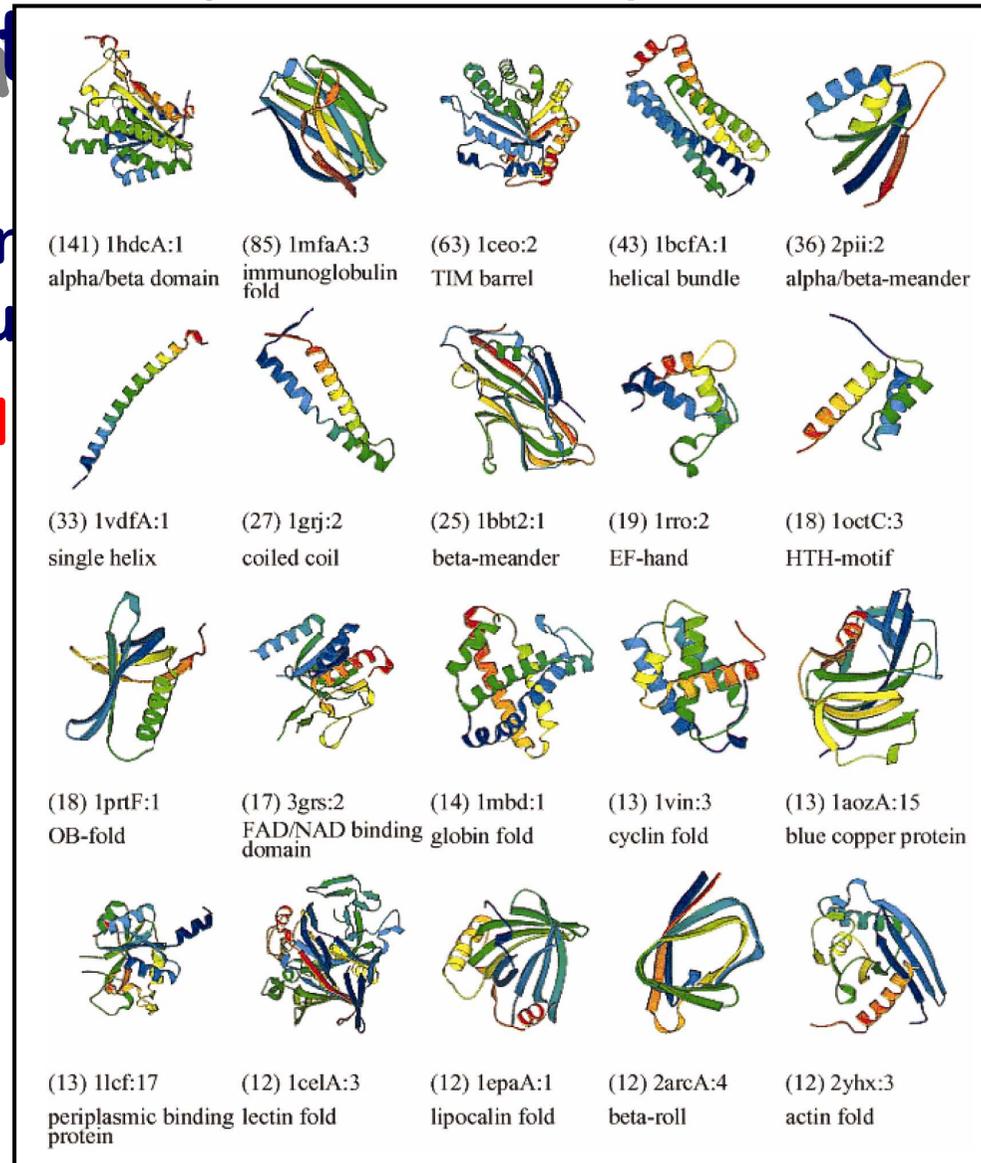




# Allora perché potrebbe essere struttura?

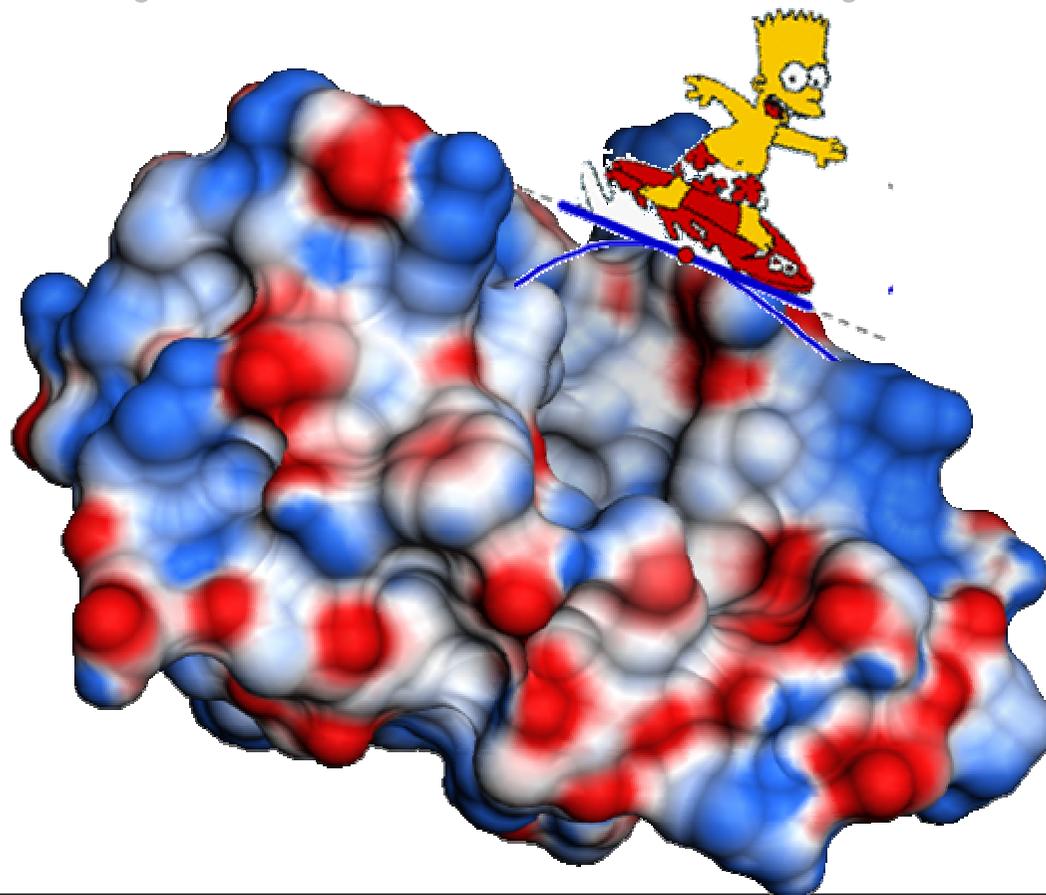
- Osservazioni della struttura

⇒ Numero 1



rapidamente

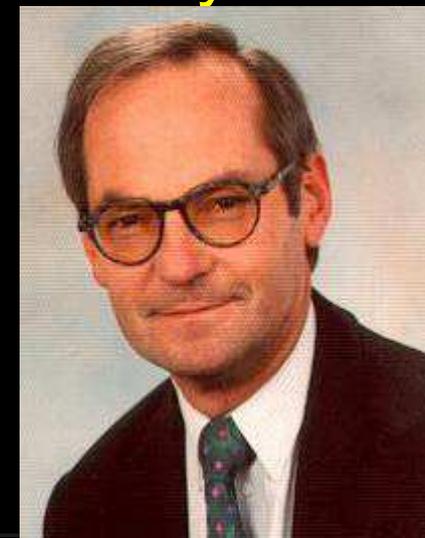
# Superfici Molecolari e Proprietà di Superficie



## Un momento di riflessione....

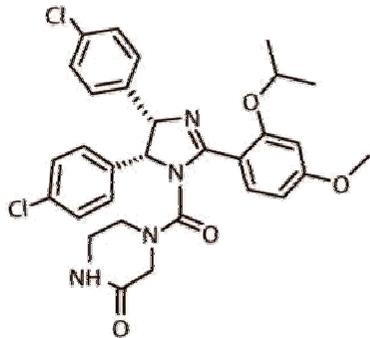
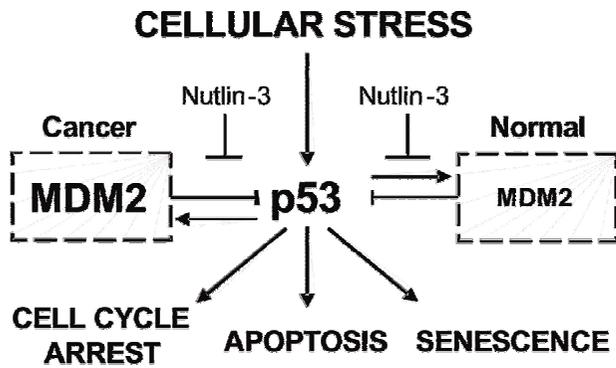
“It is generally accepted that receptor and substrate molecules recognize each other at their molecular surfaces. Therefore, the binding strength of a receptor-drug complex depends on the shape of the substrate surface and on the distribution of certain properties on this surface. Any method attempting to model biological activity should take into account this information and try to correlate it to biological activity...”

by Johann Gasteiger *et al* *J.A.C.S.* 1995, **117**, 7769-7775

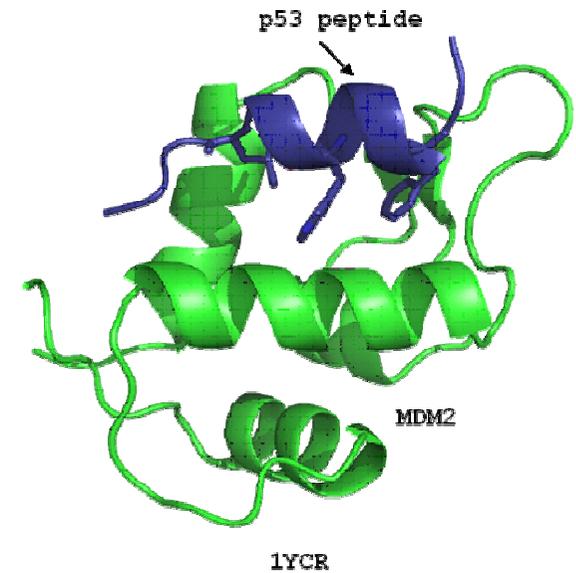
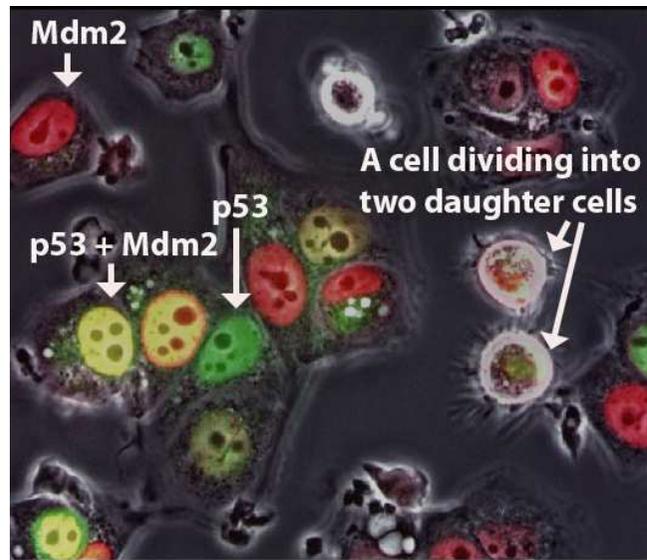
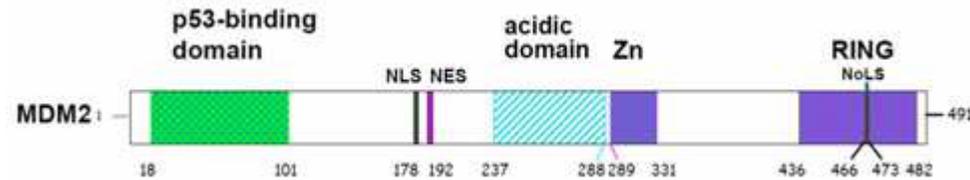


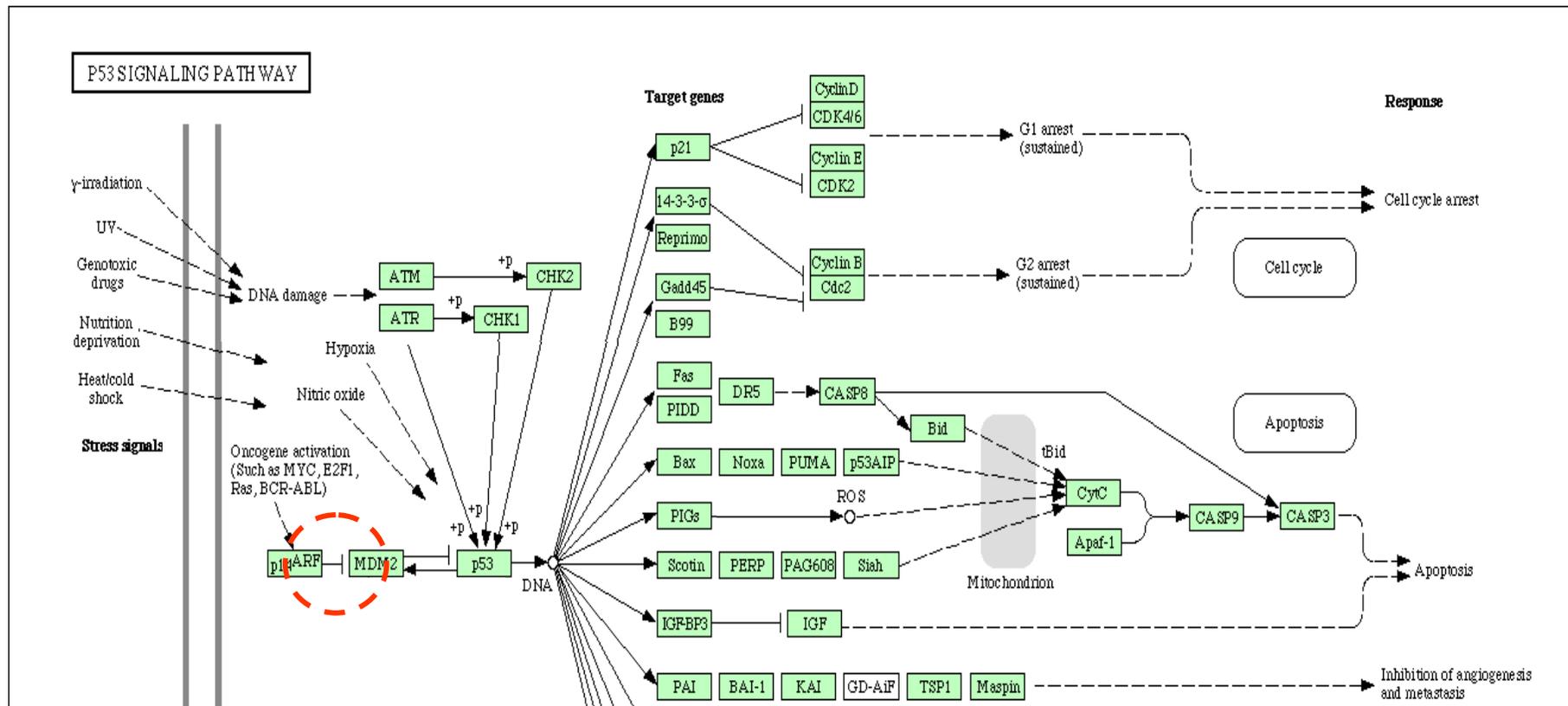


# Possiamo iniziare con il nostro esempio preferito: interazione!



Nutlin-3a



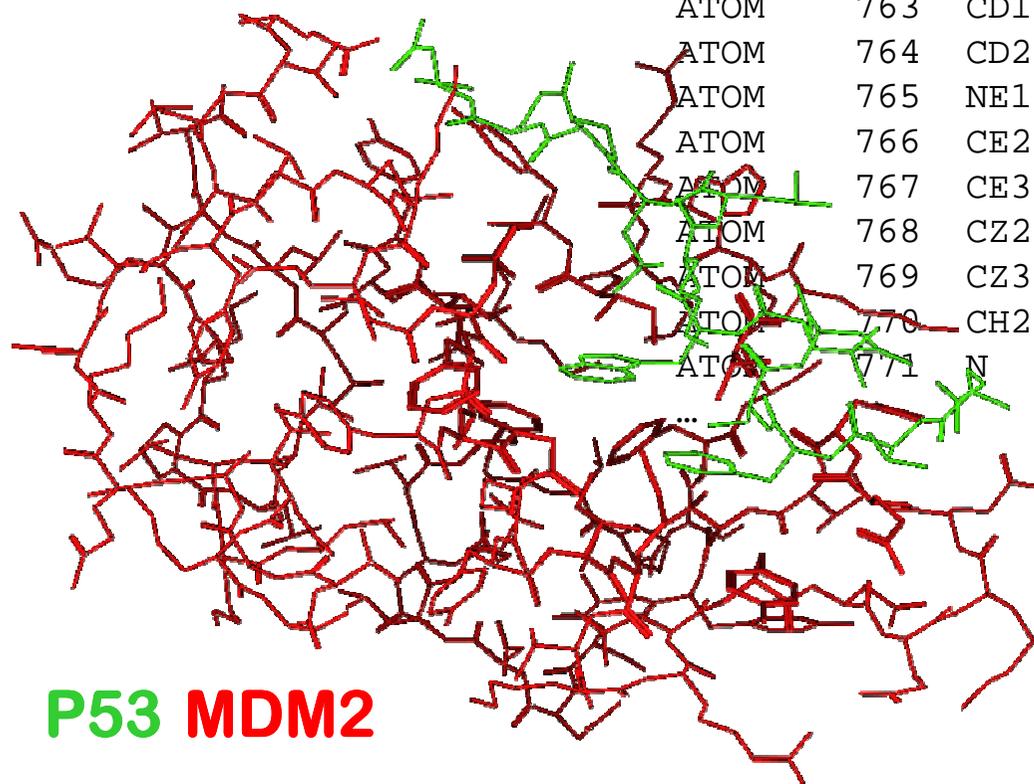


The murine double minute 2 (*mdm2*) gene encodes a negative regulator of the p53 tumor suppressor. Amplification of *mdm2* or increased expression by unknown mechanisms occurs in many tumors. Thus, increased levels of MDM2 would inactivate the apoptotic and cell cycle arrest functions of p53, as do deletion or mutation of p53, common events in the genesis of many kinds of tumors. MDM2 functions as an E3 ubiquitin ligase to degrade p53. MDM2 also binds another tumor suppressor, ARF. This interaction sequesters MDM2 in the nucleolus away from p53, thus activating p53.



# Spero sia chiaro altrettanto chiaro che:

...								
ATOM	756	CD2	LEU	B	22	31.236	-29.774	-8.020
ATOM	757	N	TRP	B	23	27.477	-25.871	-8.251
ATOM	758	CA	TRP	B	23	27.021	-24.553	-7.803
ATOM	759	C	TRP	B	23	25.532	-24.284	-8.011
ATOM	760	O	TRP	B	23	24.919	-23.498	-7.297
ATOM	761	CB	TRP	B	23	27.892	-23.448	-8.451
ATOM	762	CG	TRP	B	23	27.585	-22.055	-8.009
ATOM	763	CD1	TRP	B	23	26.730	-21.178	-8.613
ATOM	764	CD2	TRP	B	23	28.090	-21.382	-6.842
ATOM	765	NE1	TRP	B	23	26.659	-20.002	-7.892
ATOM	766	CE2	TRP	B	23	27.478	-20.101	-6.799
ATOM	767	CE3	TRP	B	23	28.990	-21.731	-5.830
ATOM	768	CZ2	TRP	B	23	27.738	-19.177	-5.784
ATOM	769	CZ3	TRP	B	23	29.251	-20.809	-4.825
ATOM	770	CH2	TRP	B	23	28.623	-19.548	-4.812
ATOM	771	N	LYS	B	24	24.939	-24.930	-8.991
...								

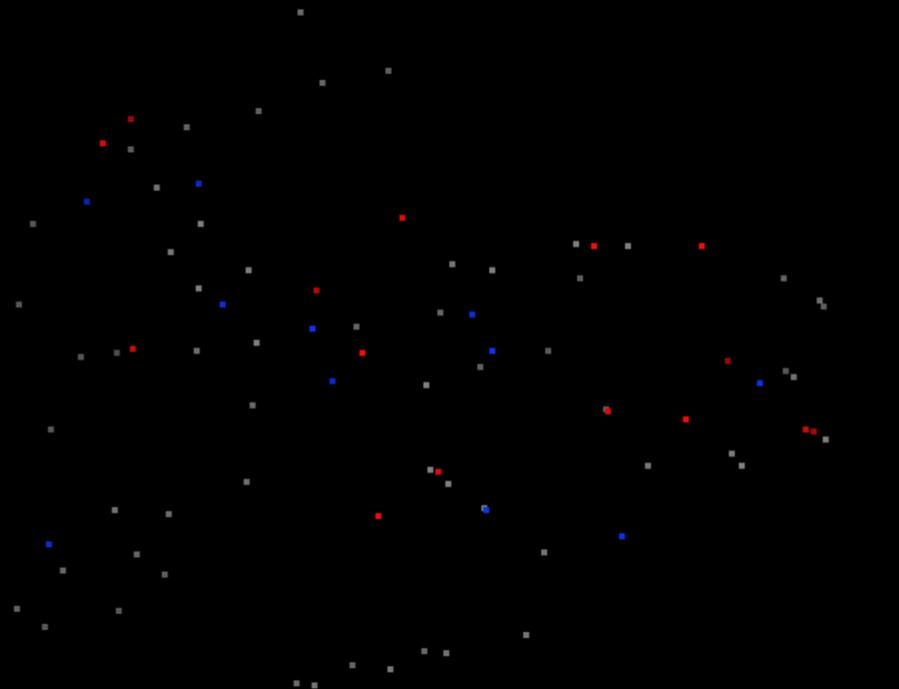
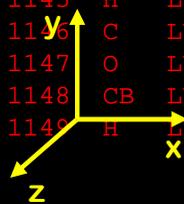


**P53 MDM2**



# Ma come possiamo utilizzare intelligentemente le coordinate cartesiane?

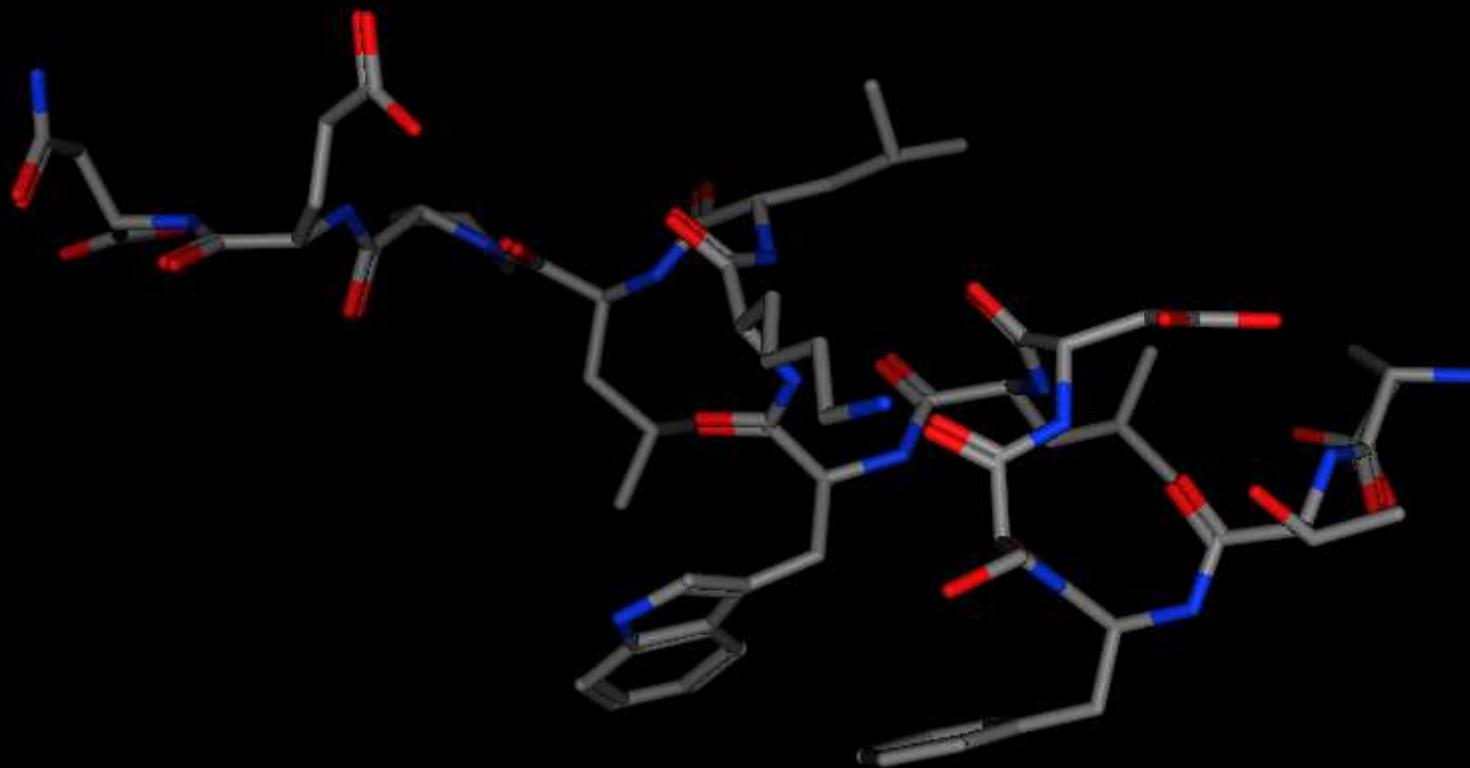
ATOM	1122	N	SER	A	92	33.974	-25.615	0.228
ATOM	1123	H	SER	A	92	33.596	-25.502	1.160
ATOM	1124	CA	SER	A	92	33.410	-26.647	-0.640
ATOM	1125	H	SER	A	92	34.023	-26.785	-1.517
ATOM	1126	C	SER	A	92	31.998	-26.260	-1.011
ATOM	1127	O	SER	A	92	31.141	-26.154	-0.135
ATOM	1128	CB	SER	A	92	33.359	-27.975	0.086
ATOM	1129	H	SER	A	92	34.383	-28.324	0.231
ATOM	1130	H	SER	A	92	32.917	-27.840	1.067
ATOM	1131	OG	SER	A	92	32.637	-28.952	-0.665
ATOM	1132	H	SER	A	92	32.812	-29.820	-0.259
ATOM	1133	N	LEU	A	93	31.733	-26.074	-2.301
ATOM	1134	CA	LEU	A	93	30.386	-25.685	-2.713
ATOM	1135	C	LEU	A	93	29.389	-26.754	-2.308
ATOM	1136	O	LEU	A	93	28.174	-26.507	-2.310
ATOM	1137	HN	LEU	A	93	32.451	-26.200	-2.985
ATOM	1138	CB	LEU	A	93	30.247	-25.424	-4.228
ATOM	1139	CG	LEU	A	93	28.840	-25.012	-4.695
ATOM	1140	CD1	LEU	A	93	28.380	-23.791	-3.899
ATOM	1141	CD2	LEU	A	93	28.814	-24.671	-6.186
ATOM	1142	N	LYS	A	94	29.894	-27.931	-1.964
ATOM	1143	H	LYS	A	94	30.896	-28.071	-2.002
ATOM	1144	CA	LYS	A	94	29.038	-29.008	-1.562
ATOM	1145	H	LYS	A	94	28.170	-29.057	-2.222
ATOM	1146	C	LYS	A	94	28.492	-28.850	-0.151
ATOM	1147	O	LYS	A	94	27.678	-29.652	0.283
ATOM	1148	CB	LYS	A	94	29.777	-30.320	-1.659
ATOM	1149	H	LYS	A	94	30.695	-30.289	-1.085





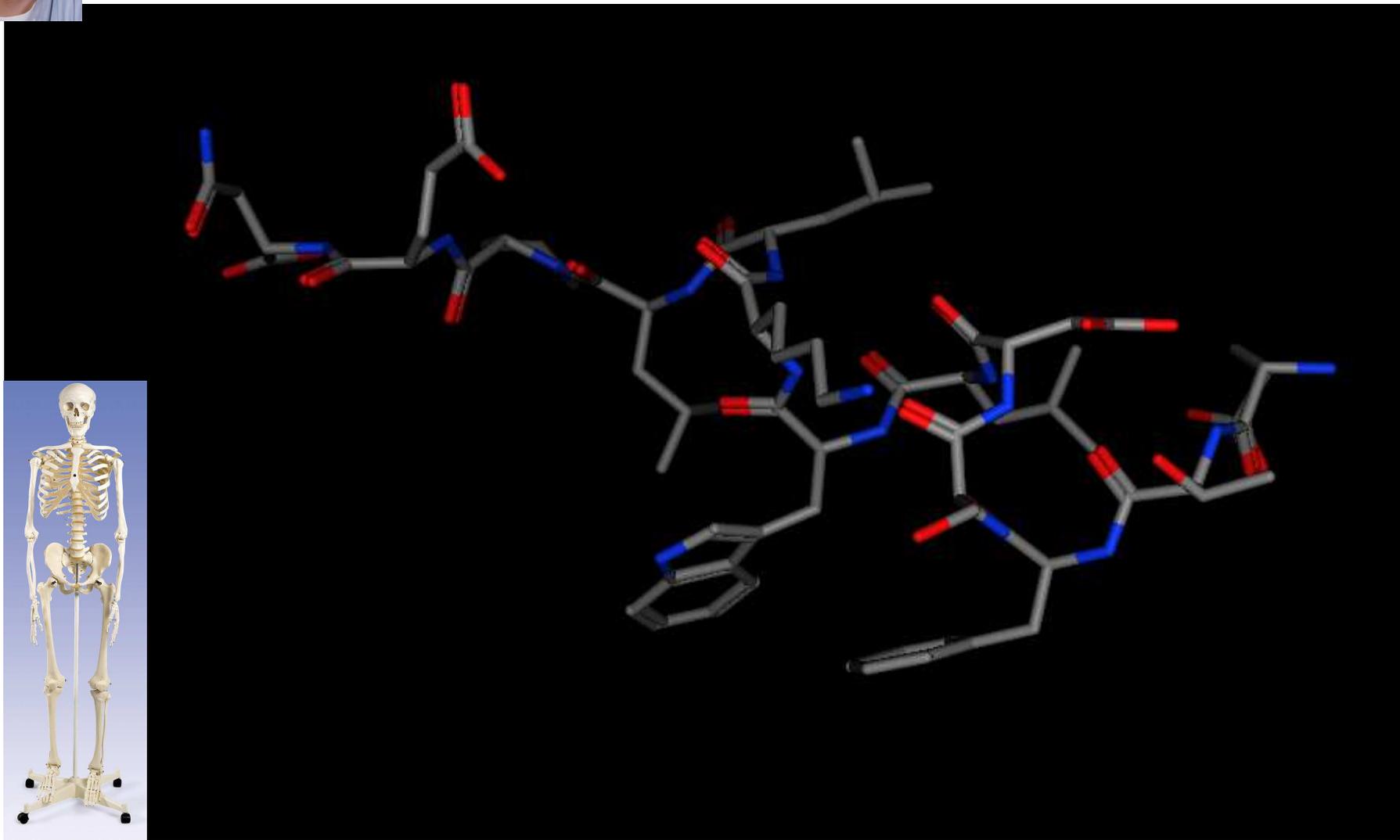
**Rendering!**

**Ovvero visualizzami distanze “provilegiate”!**





# Ma come possiamo ridare fisicità ai nostri modelli molecolari?





**Johannes Diderik van der Waals (23 novembre 1837 – 8 marzo 1923) è uno scienziato olandese famoso "per il suo lavoro sull'equazione di stato per i gas e i liquidi" , che gli valse il Premio Nobel per la fisica nel 1910. Van der Waals fu il primo a realizzare la necessità di tenere in considerazione il volume delle molecole e le forze intermolecolari ("*Forze di van der Waals*", come vengono generalmente chiamate oggi) nello stabilire la relazione tra pressione, volume e temperatura dei gas e dei liquidi.**

**Raggio di van der Waals : misura della dimensione di un atomo nelle direzioni in cui non forma un legame ed è uguale alla metà della distanza fra atomi adiacenti dello stesso tipo non legati.**



## un veloce ripassino...

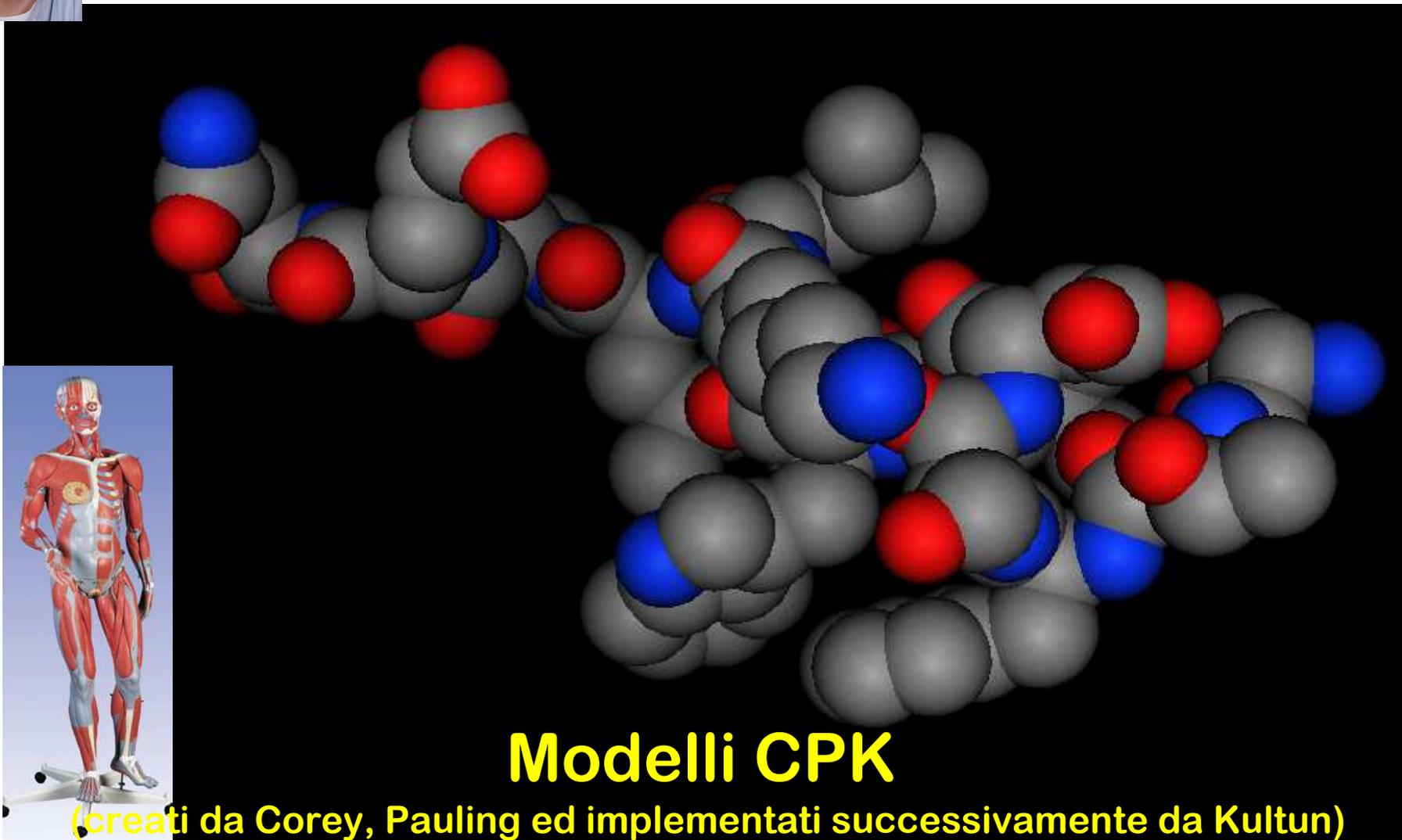
Element	radius (Å)
Hydrogen	1.20
Carbon	1.70
Nitrogen	1.55
Oxygen	1.52
Fluorine	1.47
Phosphorus	1.80
Sulfur	1.80
Chlorine	1.75
Copper	1.4

$$V_{vdW} = \frac{4}{3} \pi r_{vdW}^3$$

$$r_{vdW} = \sqrt[3]{V_{vdW} \frac{3}{4\pi}}$$

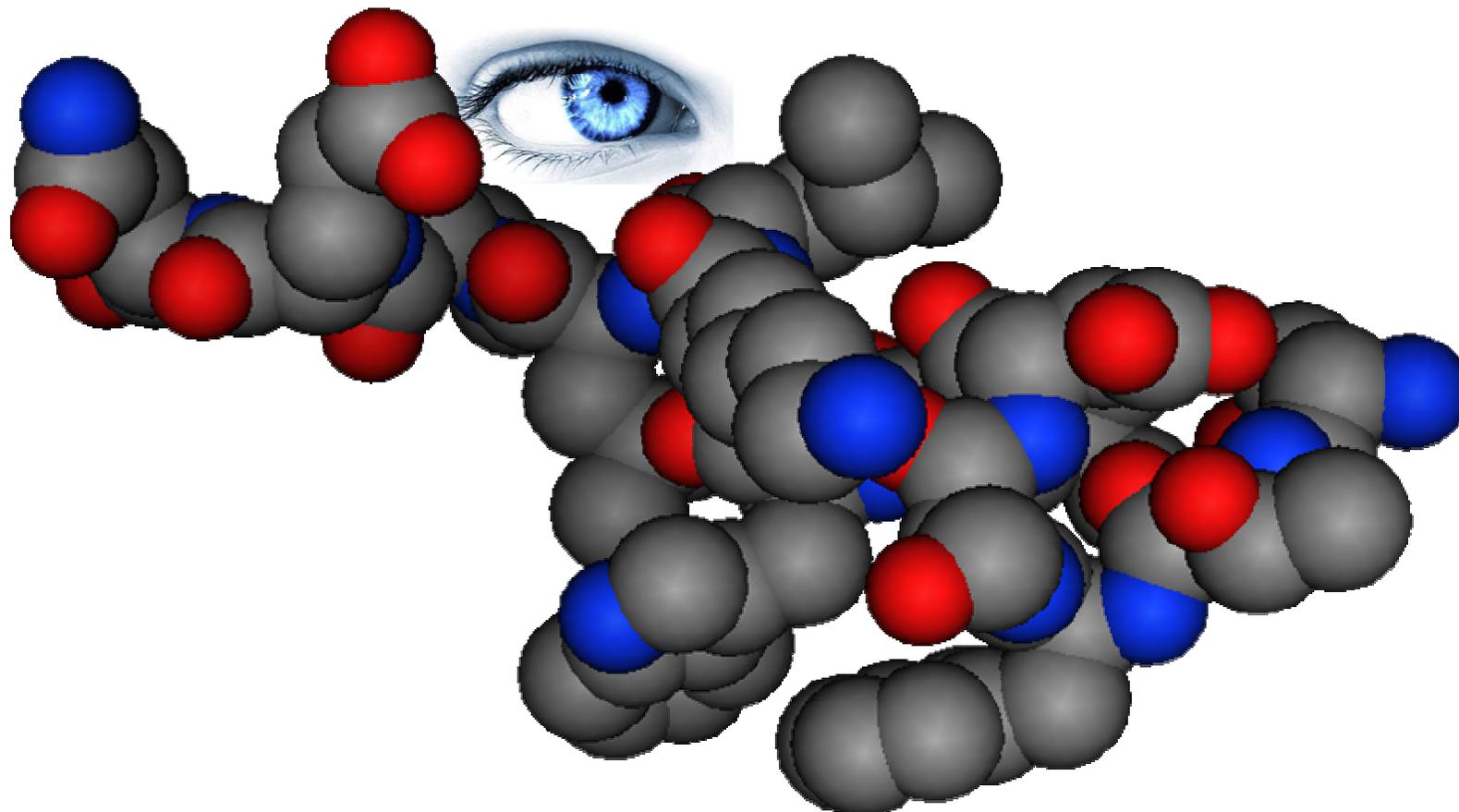


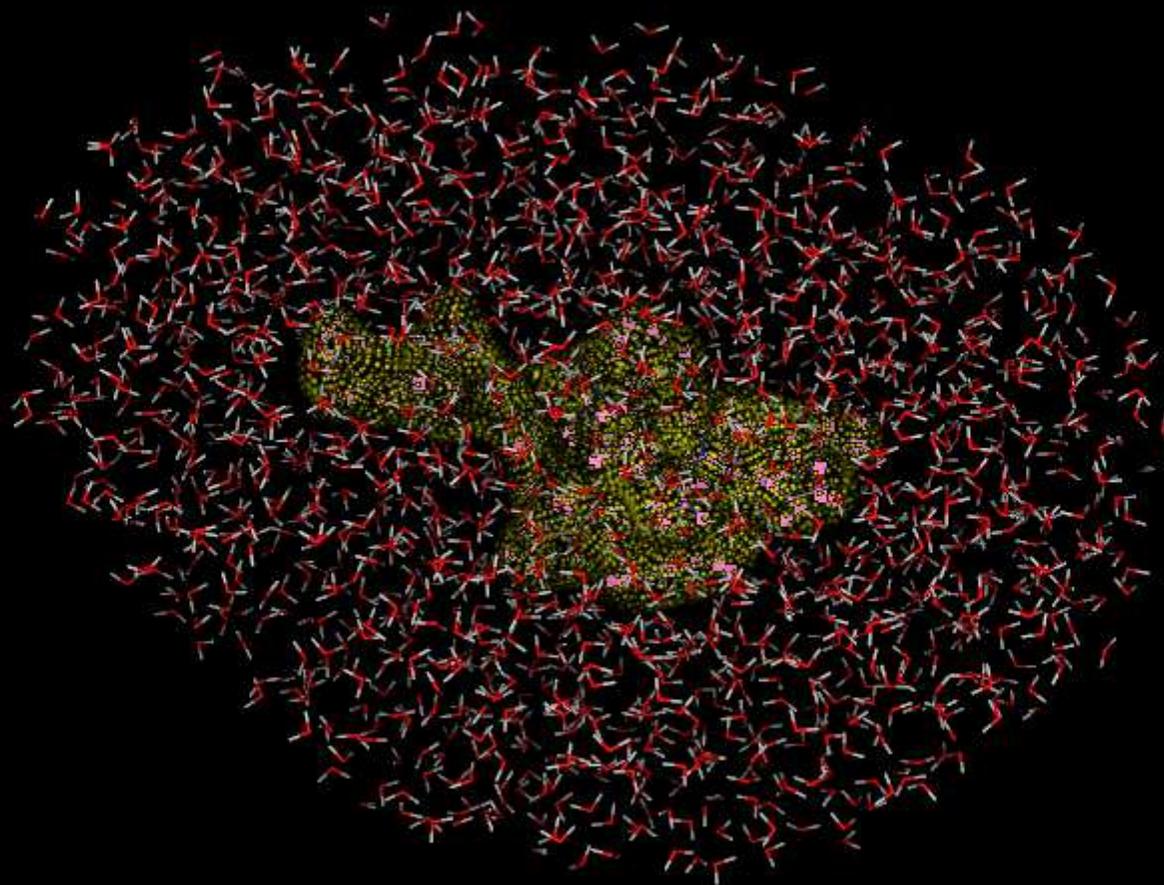
# Dalle coordinate cartesiane alle sfere di van der Waals:





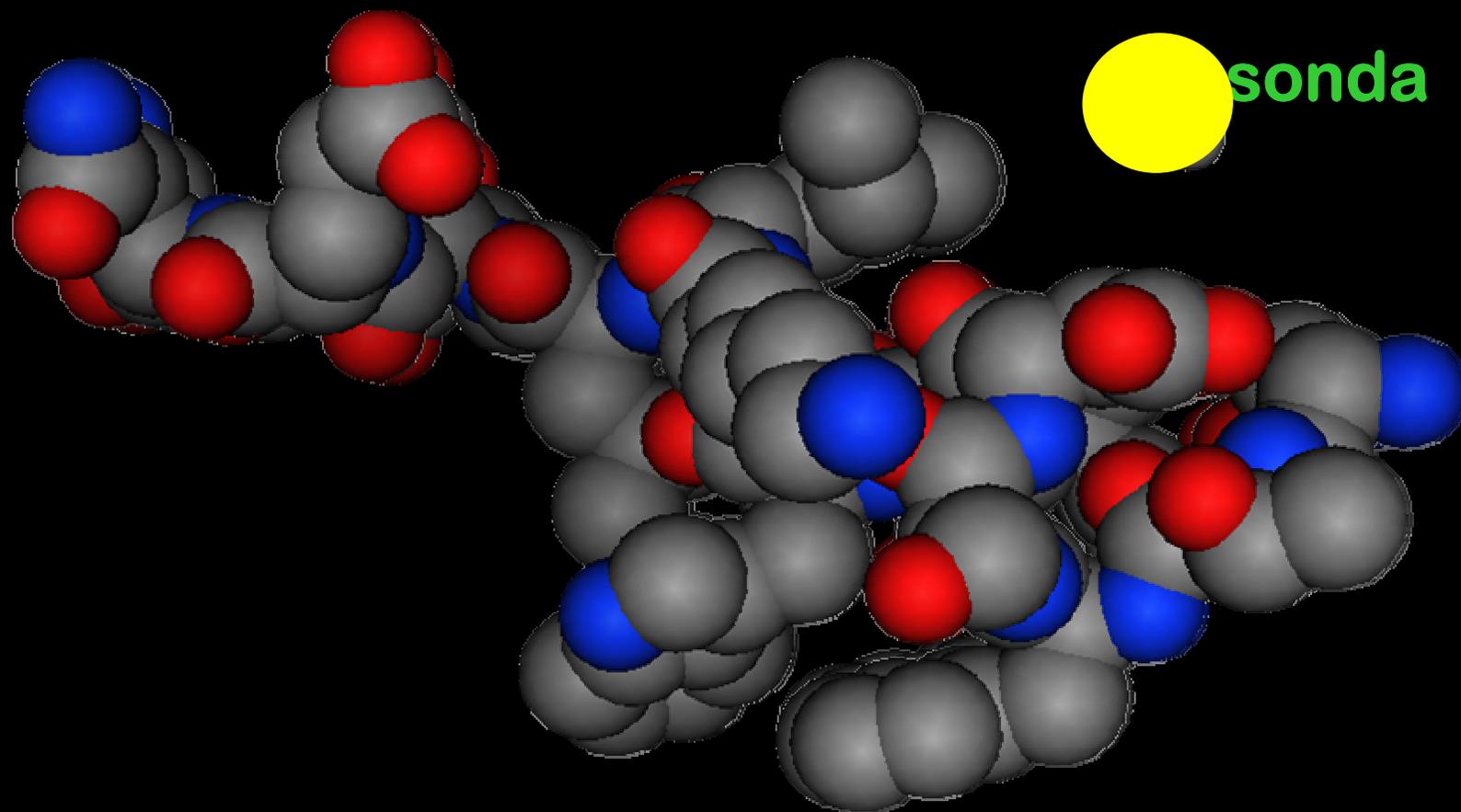
# Ma gli oggetti molecolari come si “vedono”?



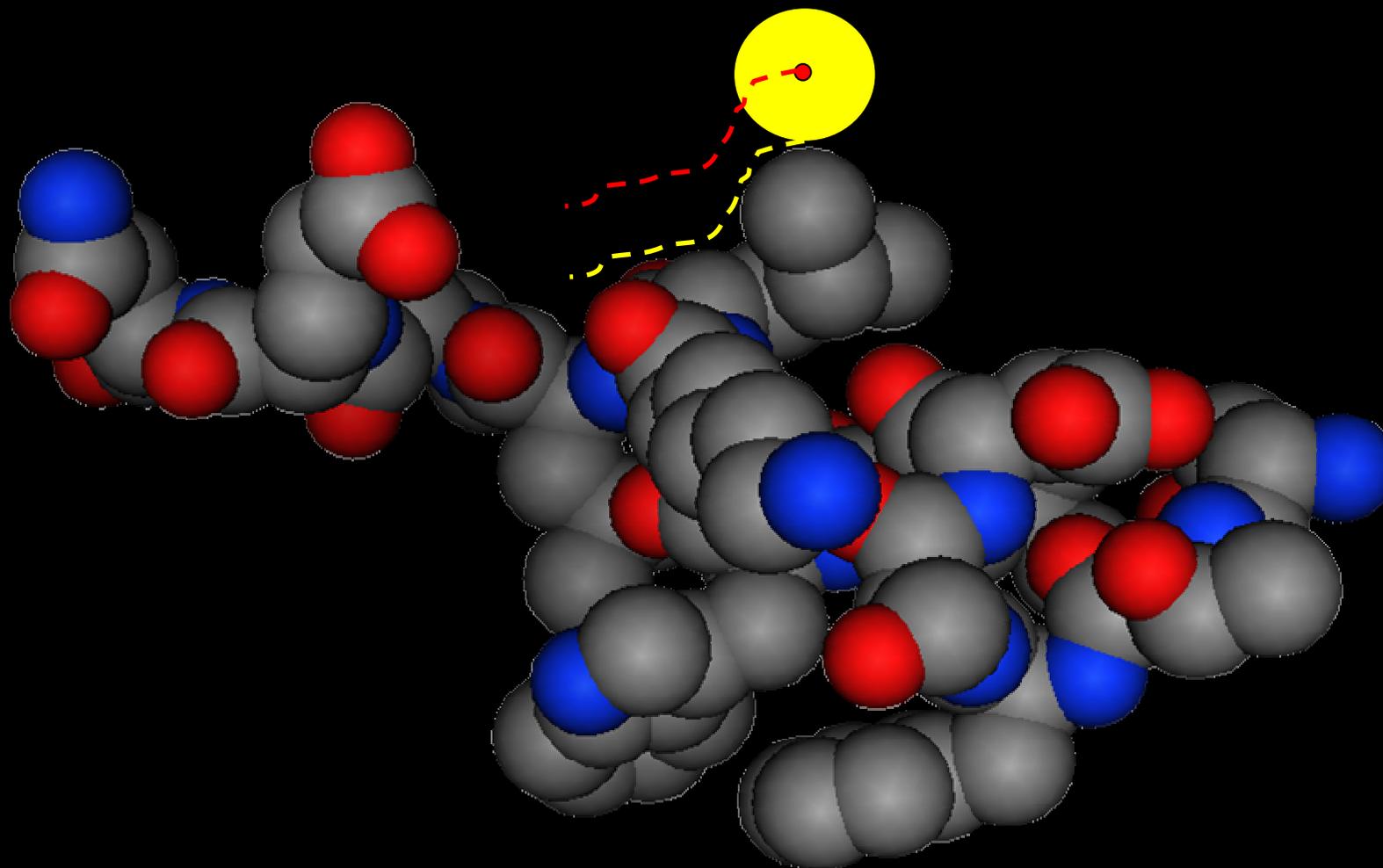




# Dai modelli CPK alle superfici molecolari:

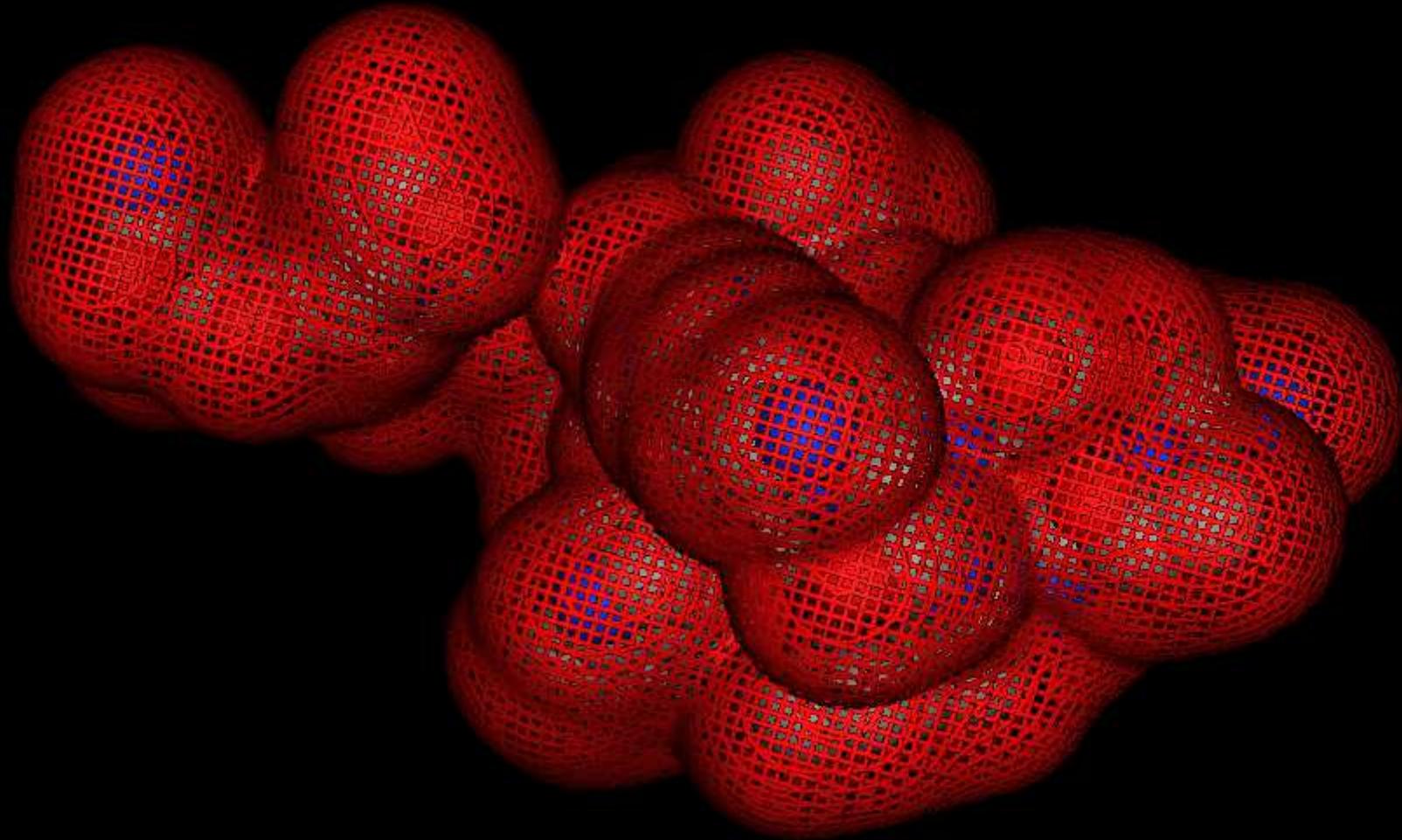


- Superficie di van der Waals o di contatto
- Superficie di Connolly o accessibile al solvente





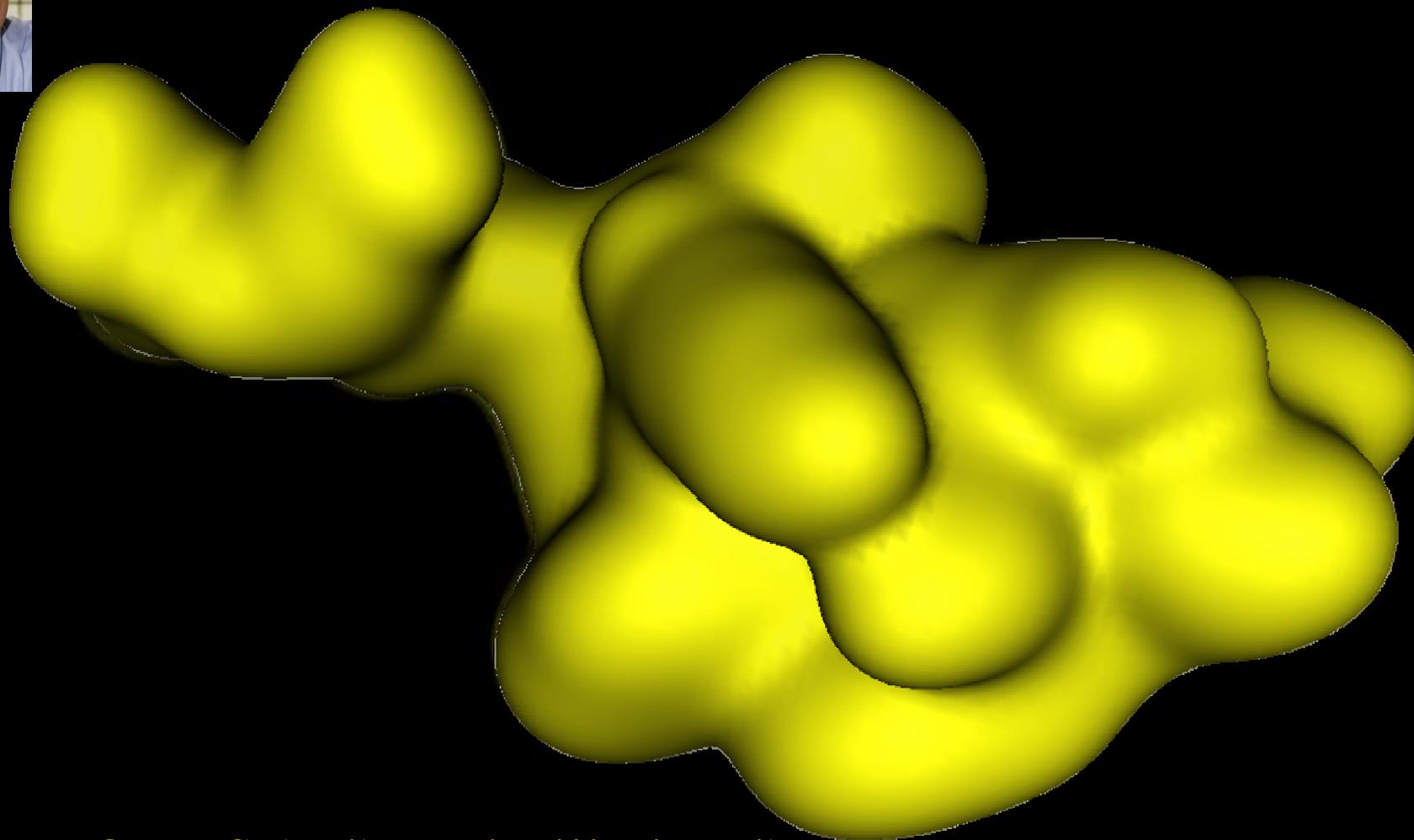
**eccole:**



----- **Superficie di Connolly o accessibile al solvente**



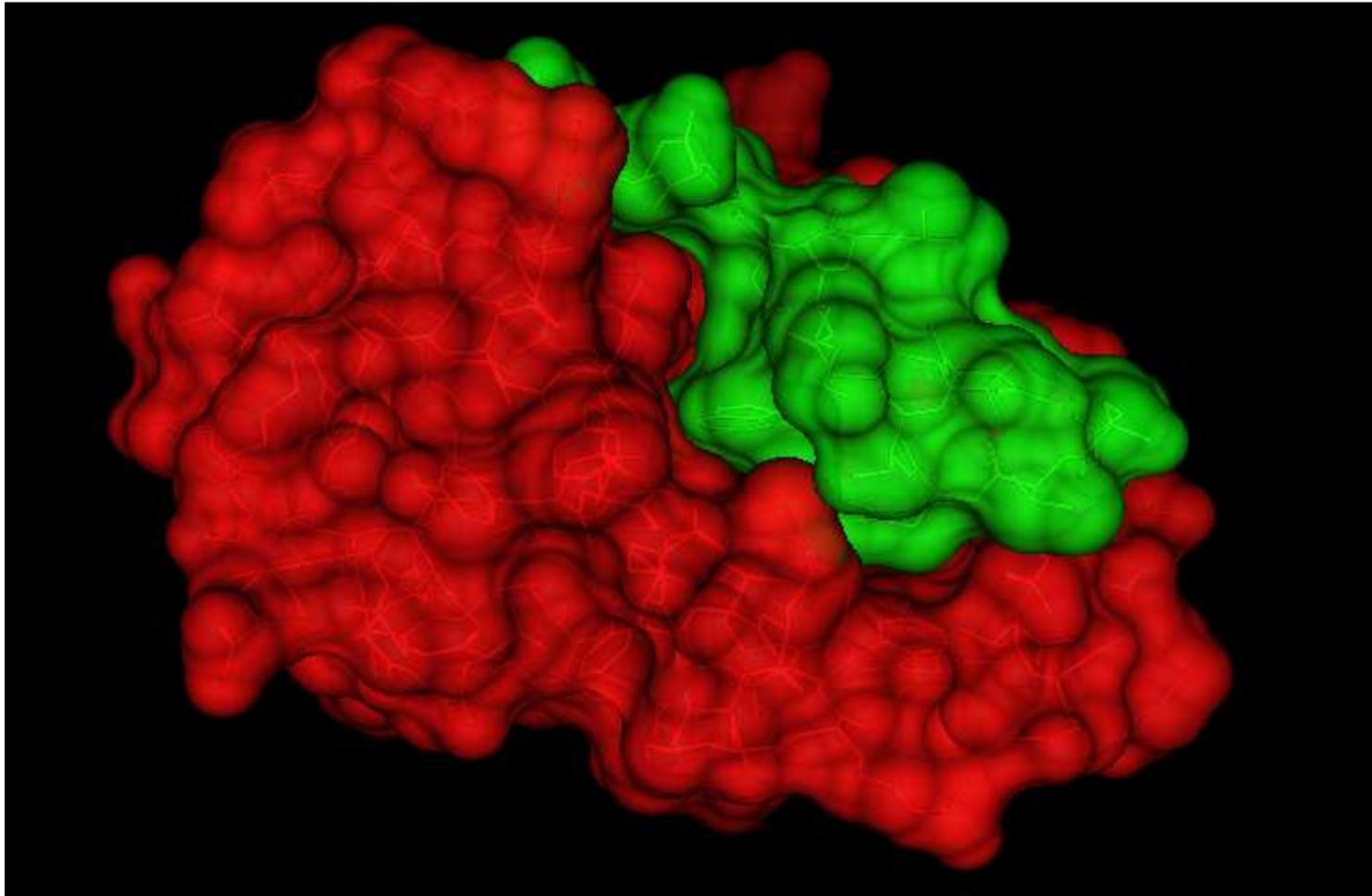
**Questo adesso è facile:**



----- **Superficie di van der Waals o di contatto**



**Spero sia chiaro: senza *struttura*  
niente studio sull'*interazione!***





Possiamo passare da così...

a così:





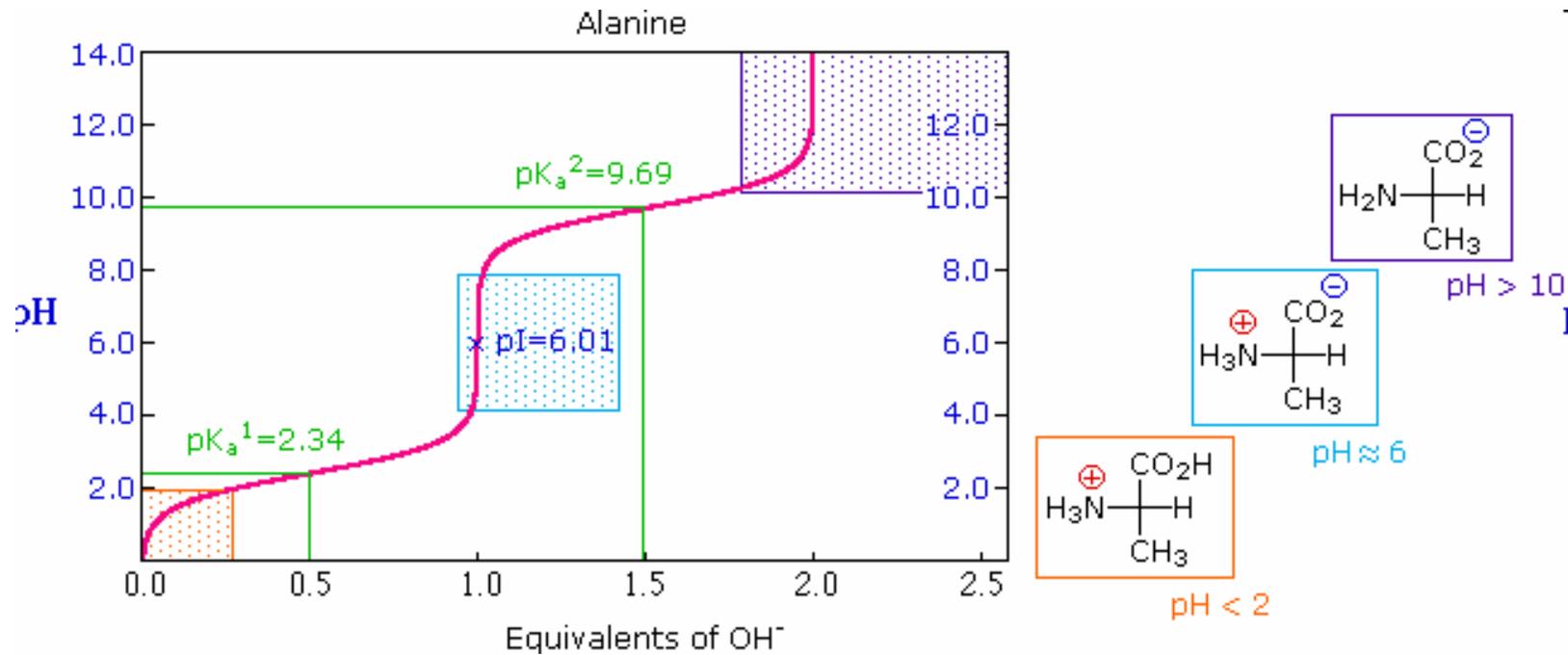
## Ma per prima cosa: gli idrogeni!!!

a. Gli atomi di idrogeno possono essere aggiunti saturando tutte le valenze degli eteroatomi rispettando i requisiti geometrici (distanze ed angoli di legame) sperimentalmente determinati:



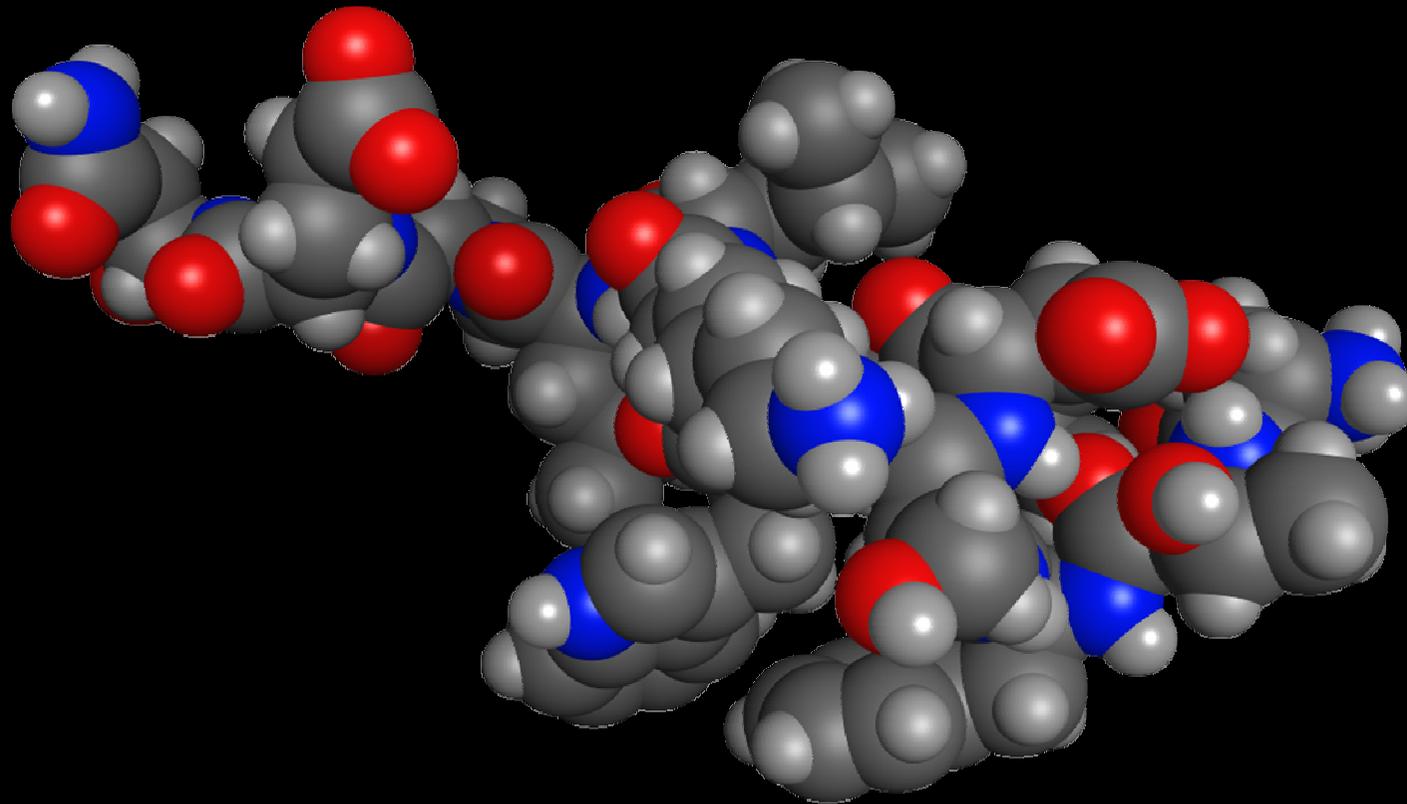
# Ma per prima cosa: gli idrogeni!!!

b. Gli atomi di idrogeno associati a gruppi ionizzabili vengono “titolati” in funzione del loro valore di pKa e del valore di pH del mezzo solvente:



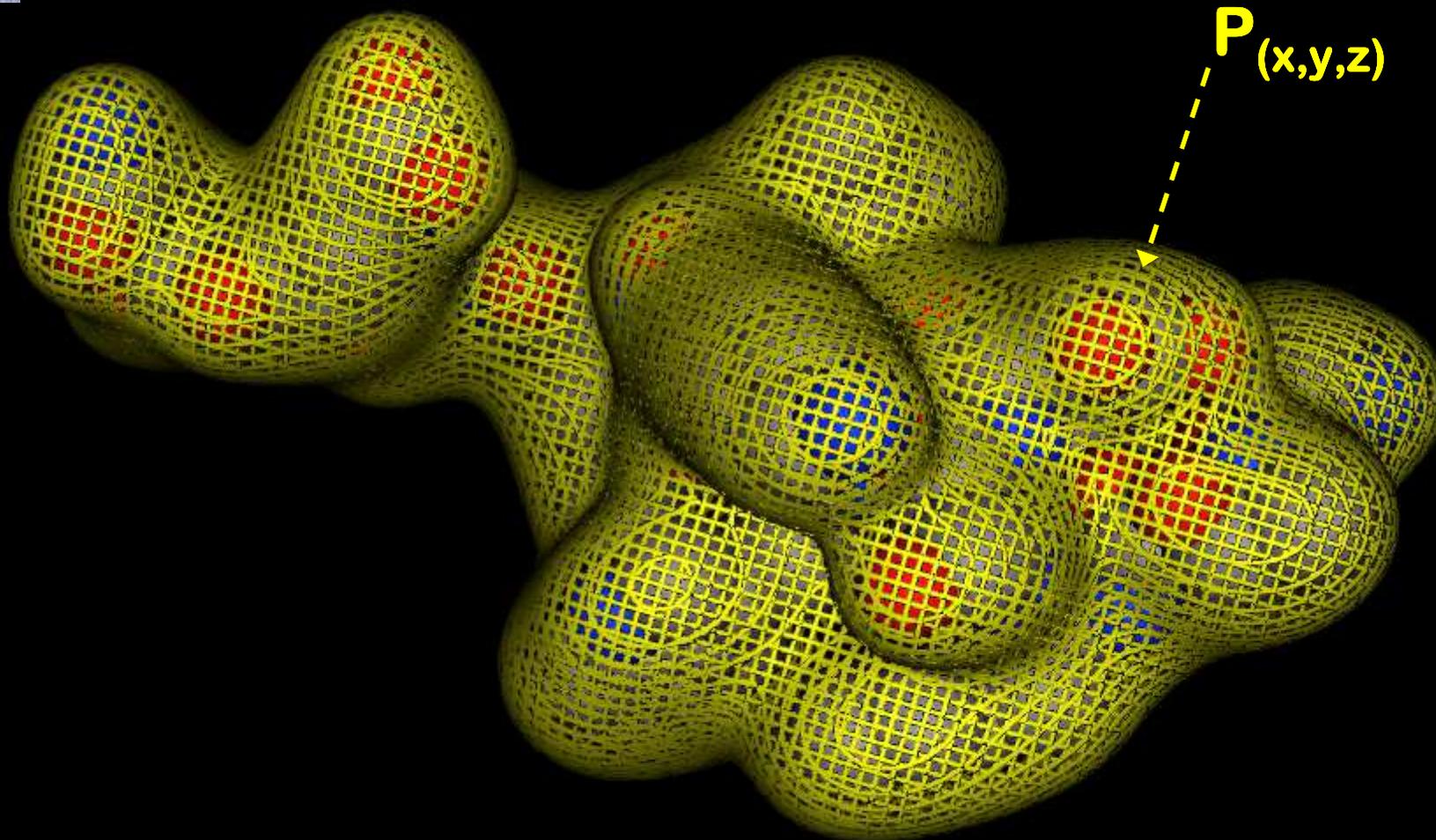


... eccoli!





# Le superfici molecolari come luogo geometrico per la proiezione di proprietà molecolari:



----- Superficie di van der Waals o di contatto



ma quali proprietà molecolari: cominciamo da lui!



Charles Augustin de Coulomb (Angoulême, 14 giugno 1736 – Parigi, 23 agosto 1806).

$$F_{el} = k_0 \frac{q_1 q_2}{r^2}$$

costante di Coulomb :  $k_0 = 9 \times 10^9 \frac{Nm^2}{C^2}$

$$k_0 = \frac{1}{4\pi\epsilon_0}$$

dove  $\epsilon_0$  è la costante dielettrica del vuoto

$$\epsilon_0 = 8,9 \times 10^{-12} \frac{C^2}{Nm^2}$$



provo a recitarla:

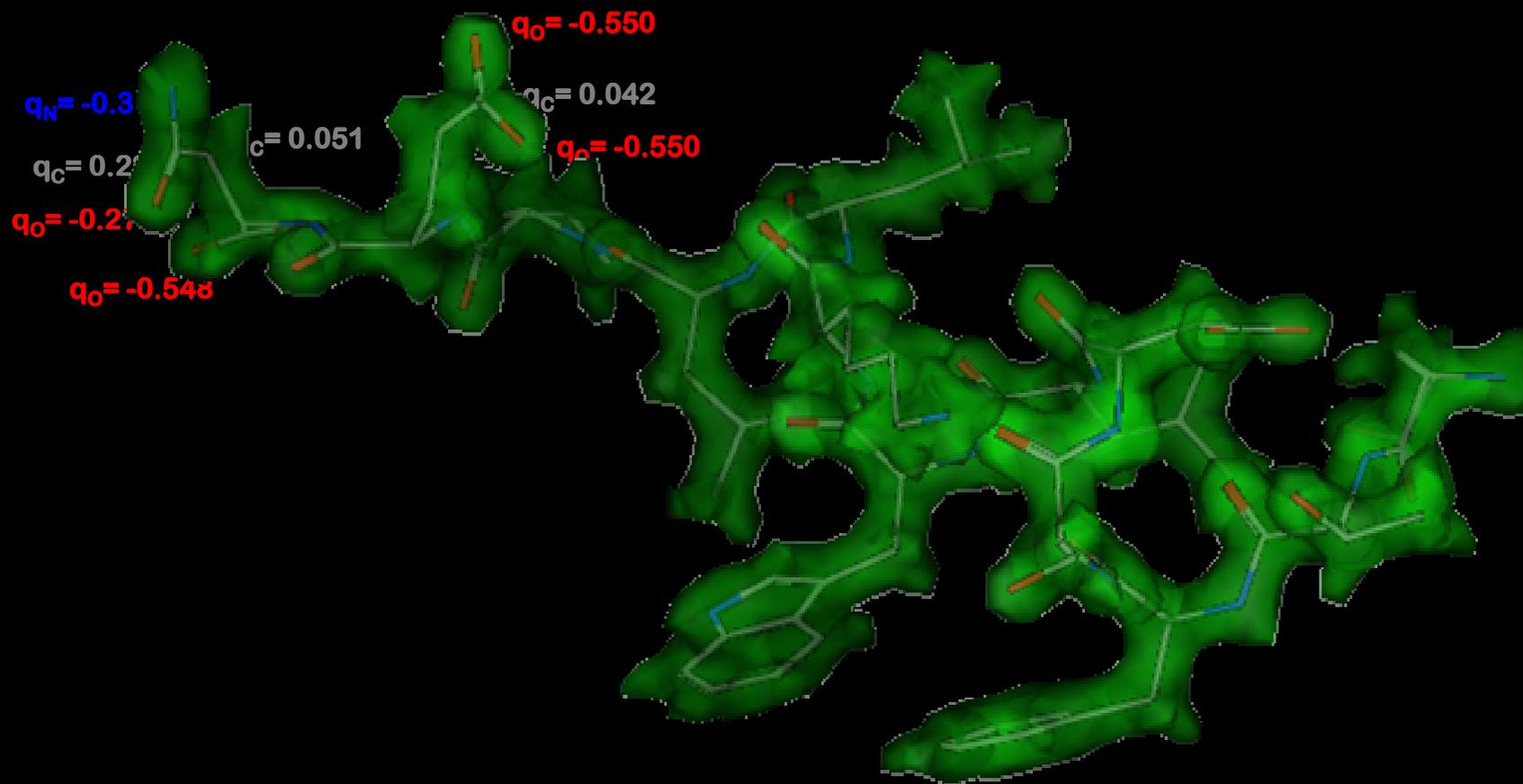
“due corpi carichi *puntiformi*, posti nel vuoto ad una distanza  $r$ , esercitano l'uno sull'altro una forza la cui intensità, è data da...”

Ora il concetto di *puntiformi* non si sposa bene con i nostri oggetti molecolari di cui rivendichiamo con forza la loro fisicità! Come possiamo trasformare il concetto di “*distribuzione di carica*” con quello di “*carica puntiforme*”?

Introducendo il concetto (non reale ma realistico) di *carica atomica parziale*.



# Le cariche atomiche parziali come ambasciatori *puntiformi* della densità di carica atomica.





## Esistono quattro differenti metodologie per il calcolo delle cariche atomiche parziali (Cramer, 2002):

**Classe I:** appartengono a questa classe tutti quei metodi non basati sulla meccanica quantistica bensì su metodi empirici. Questi approcci possono essere derivati da dati sperimentali come i momenti dipolari o i valori di elettronegatività.

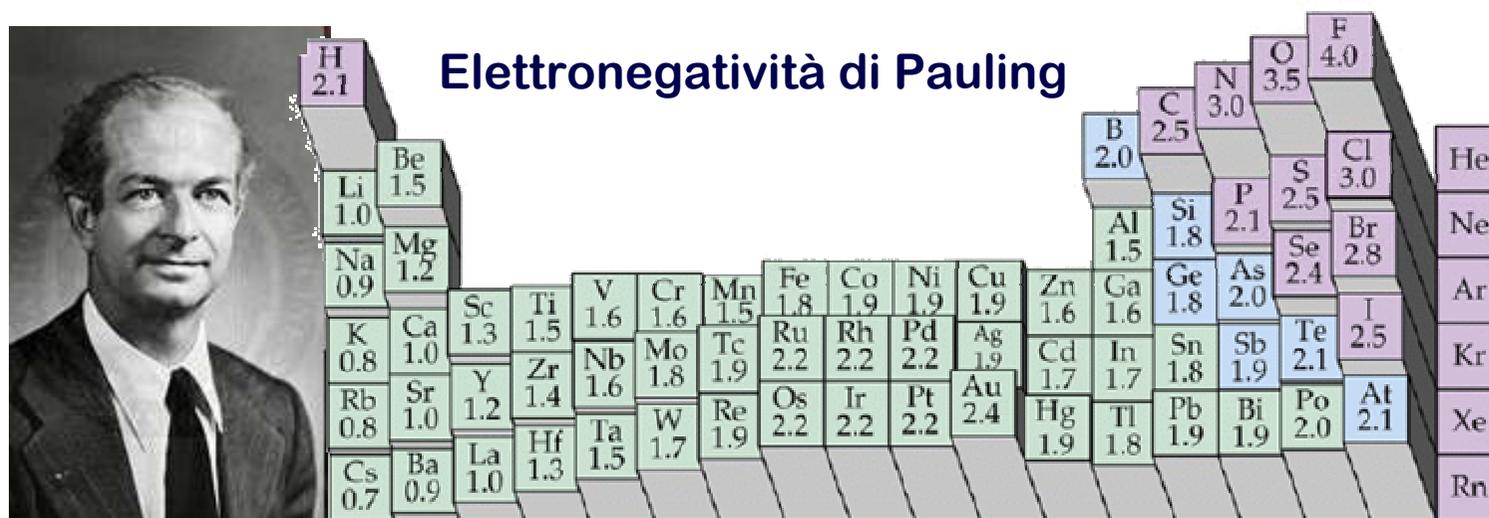
**Classe II:** sono metodi basati sulla partizione della funzione d'onda utilizzando l'approssimazione degli orbitali molecolari.

**Classe III:** sono metodi basati sulla partizione di alcune osservabili fisiche derivate dalla funzione d'onda come per esempio la densità elettronica.

**Classe IV:** sono metodi che attraverso procedure di calcolo di classe II o III portano a cariche in grado di riprodurre osservabili sperimentali come per esempio i momenti dipolari.



# Cariche atomiche parziali calcolate sulla base dei valori di elettronegatività (Classe I):





# Cariche atomiche parziali calcolate sulla base dei valori di elettronegatività (Classe I):

**H-H**

$$\Delta\chi = 0$$

$$\Delta q = 0$$

**H-F**

$$\Delta\chi = 1.9$$

$$\Delta q = \pm 0.xxx$$

**H-Cl**

$$\Delta\chi = 0.9$$

$$\Delta q = \pm 0.xxx$$

**H-Br**

$$\Delta\chi = 0.7$$

$$\Delta q = \pm 0.xxx$$

**Formalismo PEOE (Partial Equalization of Orbital Electronegativities)  
Gastaiger 1980:**

$$\text{Elettronegatività } \chi_A = \frac{\partial E}{\partial q_A} = \frac{1}{2}(IP + EA)$$

$$\chi_A = a_A + b_A q_A + c_A q_A^2$$

$$\chi_A^+ = a_A + b_A + c_A$$

$$q_A = \frac{1}{2} \frac{\chi_B - \chi_A}{\chi_A^+}$$

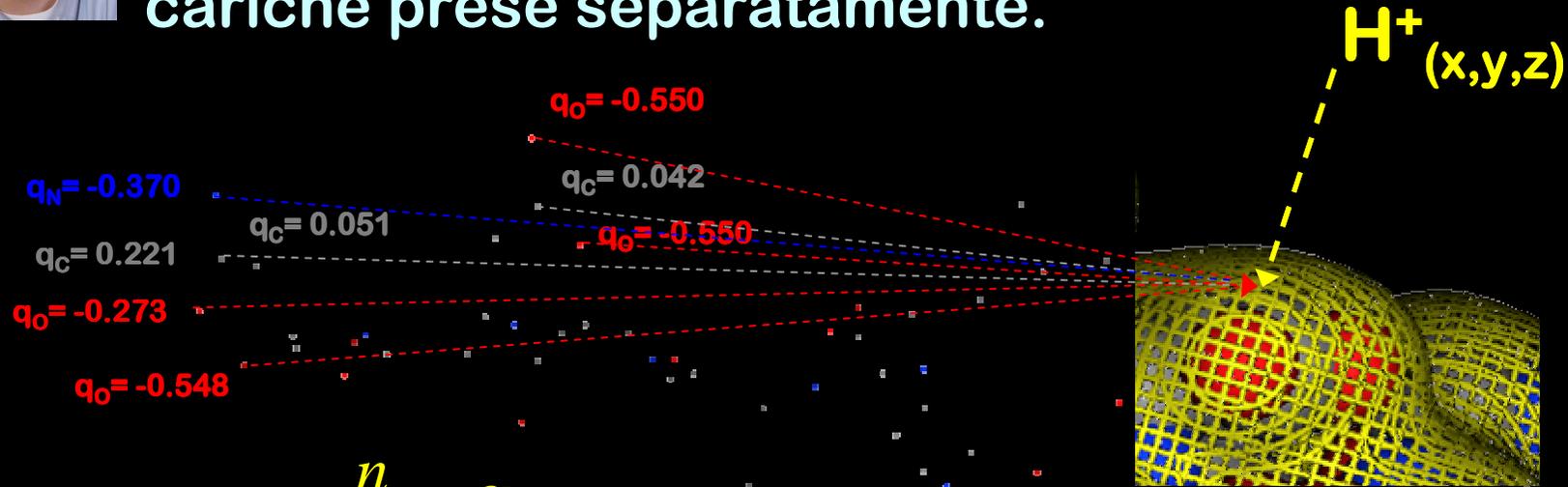
IP: potenziale di ionizzazione

EA: affinità elettronica

dove  $\chi_A^+$  è l'EN dello ione positivo di A



**Il principio di sovrapposizione:** il campo elettrico di due o più cariche puntiformi è uguale al vettore somma dei campi elettrici di ognuna di queste cariche prese separatamente.



$$F_{el} = k_0 \sum_1^n \frac{q_n}{r^2}$$

$$V_{el} = k_0 \sum_1^n \frac{q_n}{r}$$



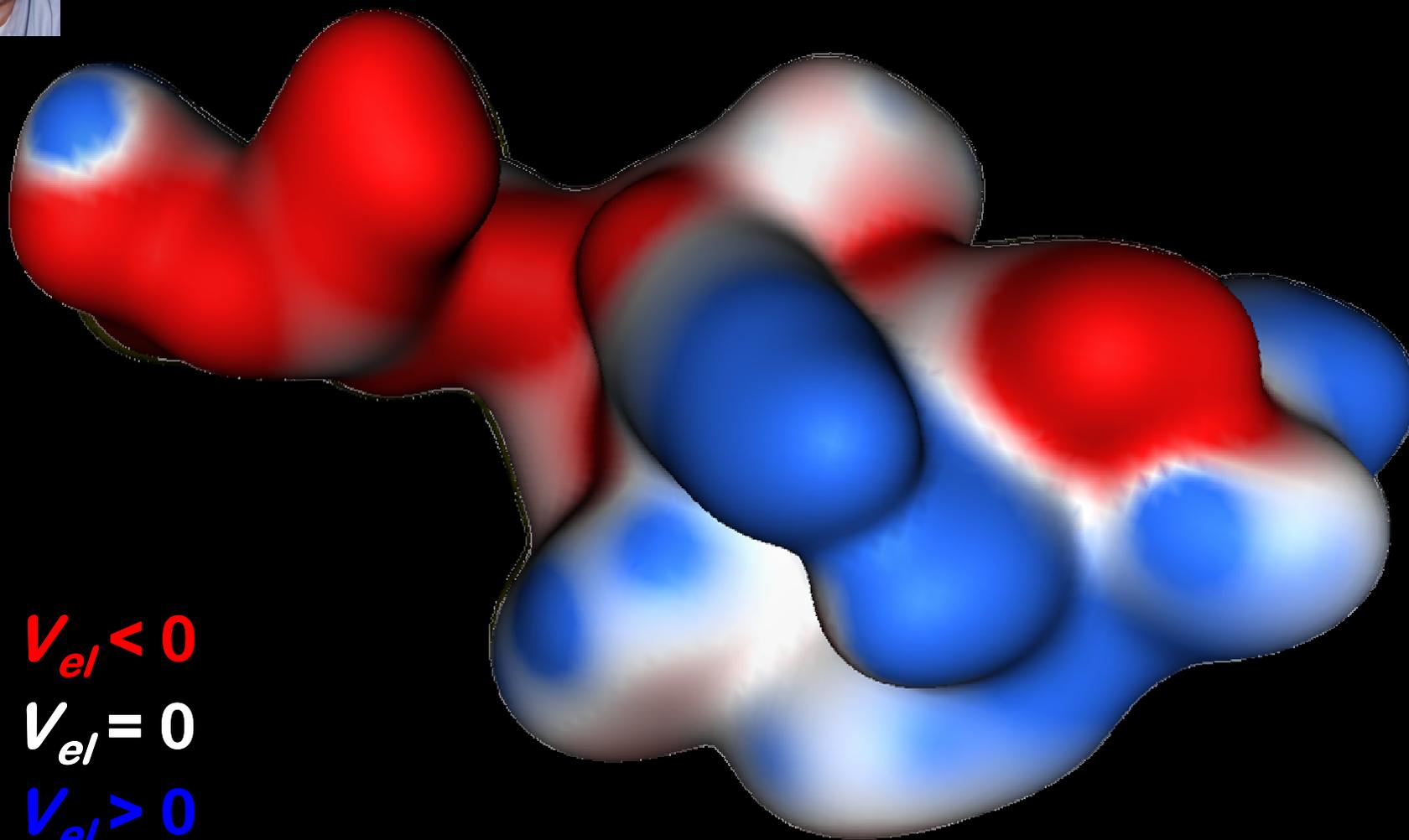
## ancora un veloce ripassino...

Il lavoro per spostare un punto materiale da A a B è, nel caso di forze conservative, uguale alla variazione di energia potenziale cambiata di segno.

$$\begin{aligned} V_{el} &= -\int_A^B F_{el} \times ds = -\int_A^B \frac{1}{4\pi\epsilon_0} \frac{q}{r^2} dr = \\ &= -\frac{q}{4\pi\epsilon_0} \int_A^B \frac{1}{r^2} dr = -\frac{q}{4\pi\epsilon_0} \left[ -\frac{1}{r} \right]_A^B = \frac{q}{4\pi\epsilon_0 r} \end{aligned}$$



**Bellissima!**



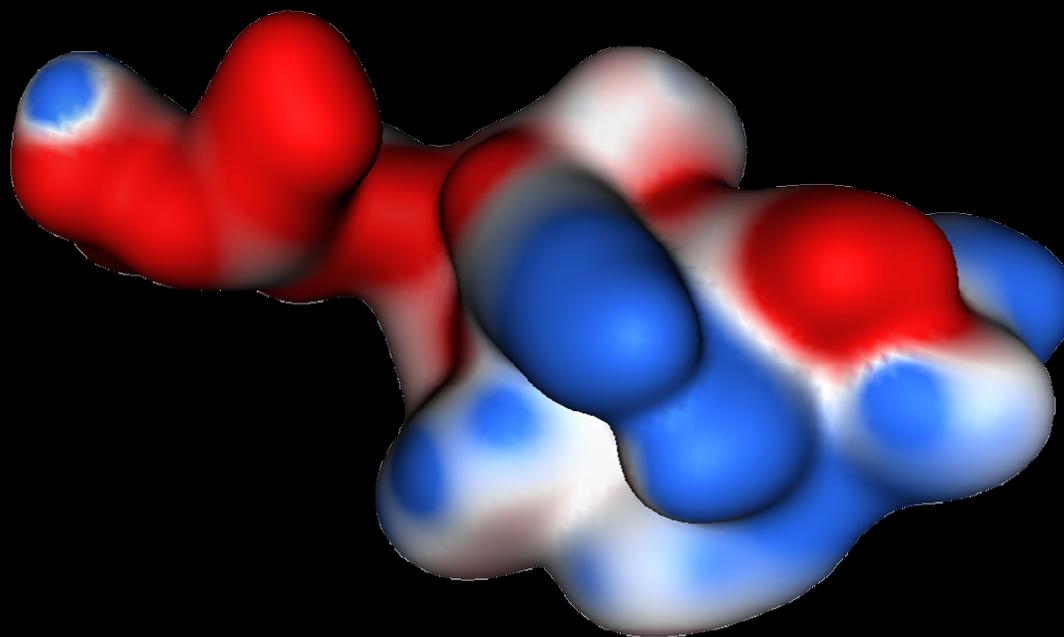
■  $V_{el} < 0$

■  $V_{el} = 0$

■  $V_{el} > 0$

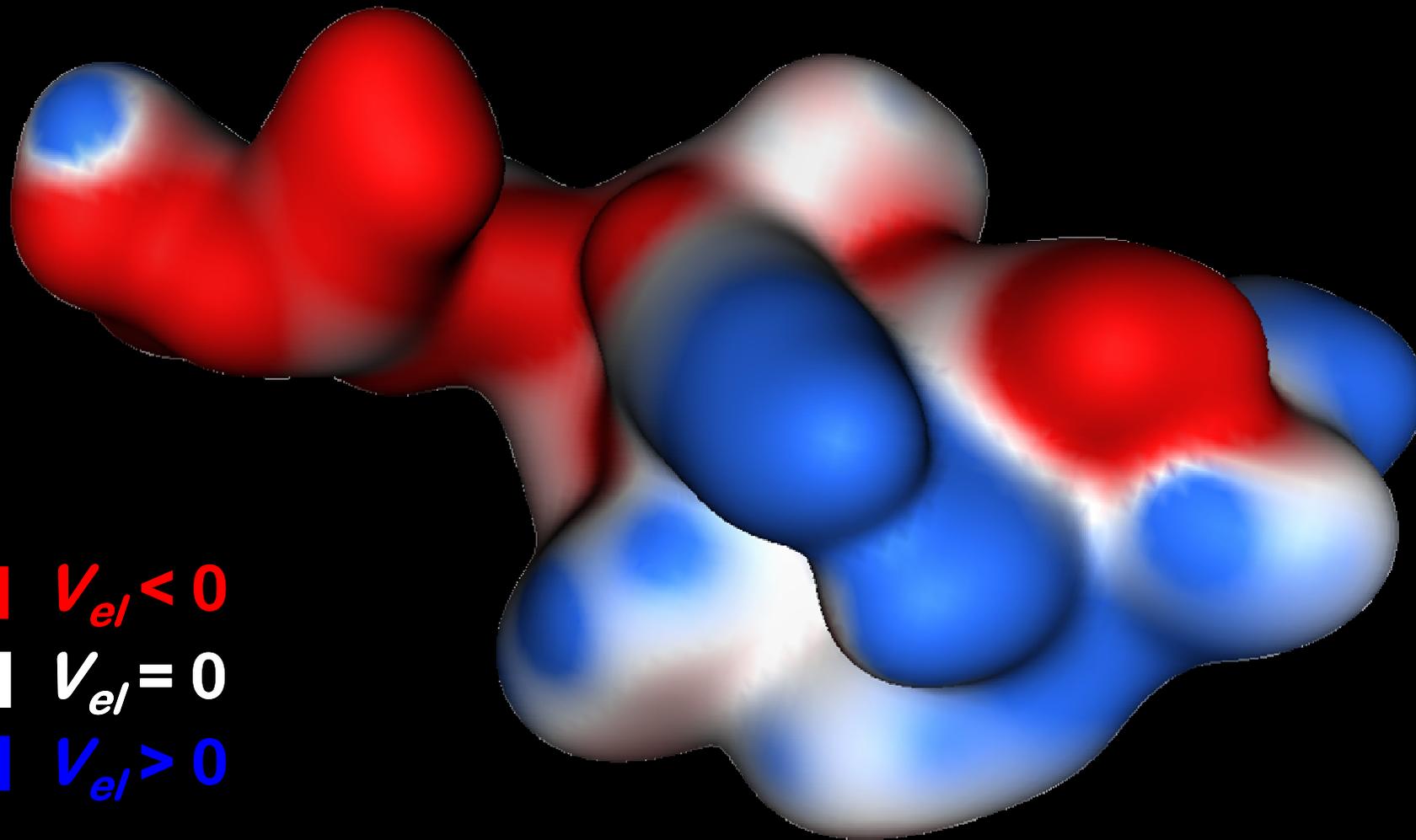


notate la somiglianza?





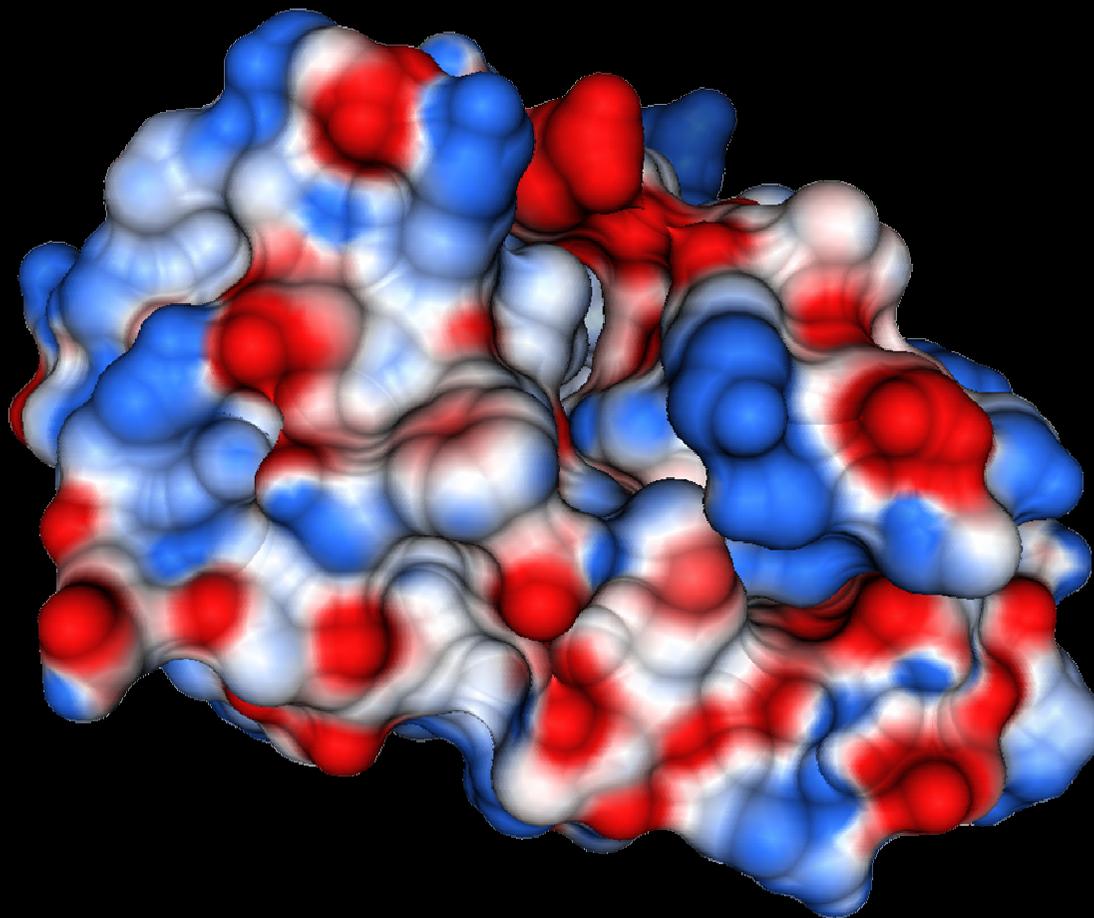
Viceversa... cominciate ad intravedere il concetto di complementarità topologica e di proprietà di superficie?



■  $V_{el} < 0$   
□  $V_{el} = 0$   
■  $V_{el} > 0$



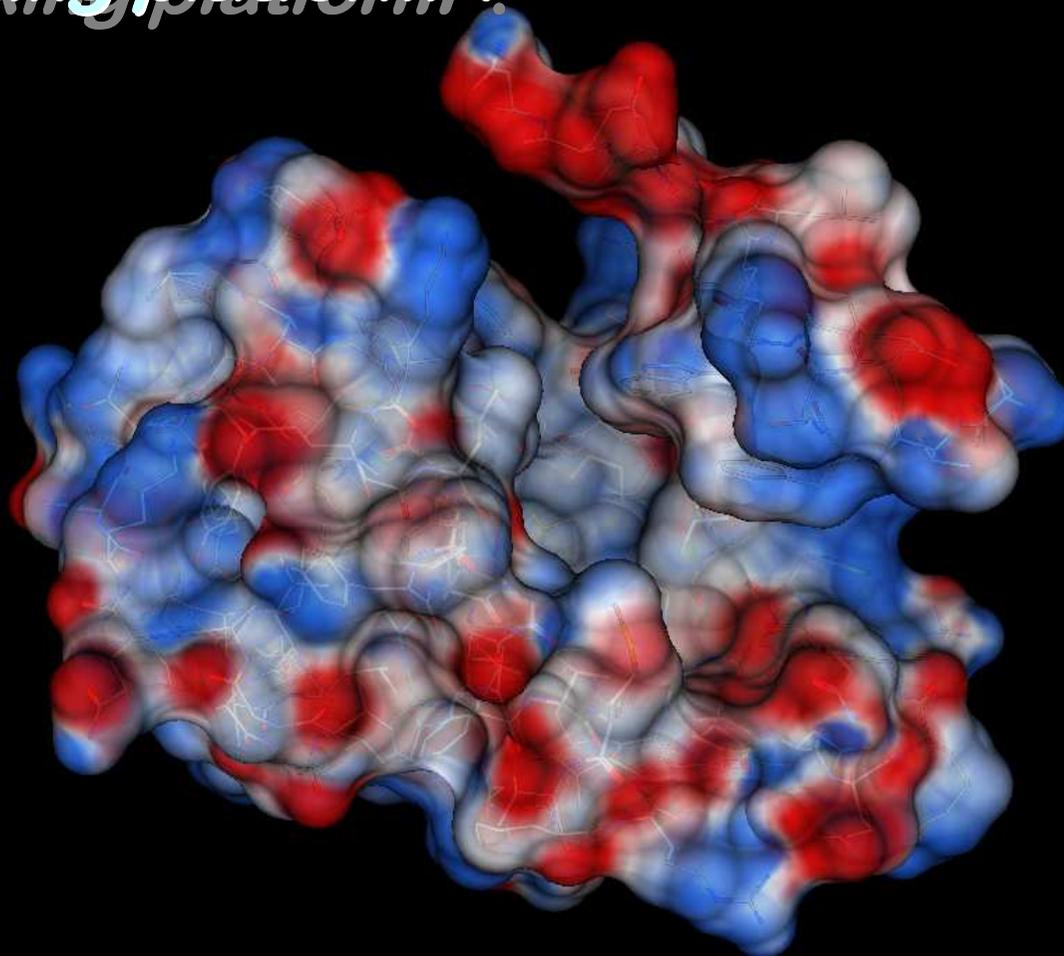
Viceversa... cominciate ad intravedere il concetto di complementarità topologica e di proprietà di superficie?



■  $V_{el} < 0$   
□  $V_{el} = 0$   
■  $V_{el} > 0$



# La superficie molecolare: una meravigliosa “*docking platform*”:





Recupereremo questo bellissimo concetto più avanti, ma prima rivediamo un altro straordinario concetto:



**modificazioni post- traduzione!!**



**e la magia delle modificazioni post-traduzionali... vediamo solo alcune:**

- 1. Fosforilazione;**
- 2. N-acetilazione;**
- 3. N- ed O-glicosilazione;**
- 4. N-metilazione;**
- 5. Nitrosilazione;**
- 6. Acilazioni (palmitoilazione, farnesilazione, miristoilazione);**
- 7. Ubiquitinazione e SUMOilazione;**



## Fosforirazione... in breve

**AA coinvolti: Ser, Thr, Tyr**

**$\Delta$ PM: 80 Da**

**$\Delta$ carica locale: neutro  $\rightarrow$  negativa**

**Reversibilità: ☺**

**>30% di tutte le proteine sono fosforilate  
molte di queste proteine sono poli-posforilate**

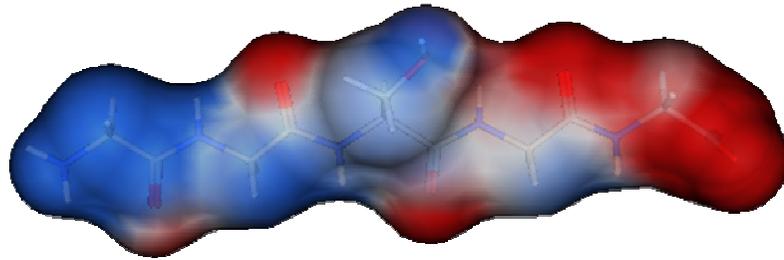
***Funzioni:***

**Ser, Thr associazione e attivazione di chinasi**

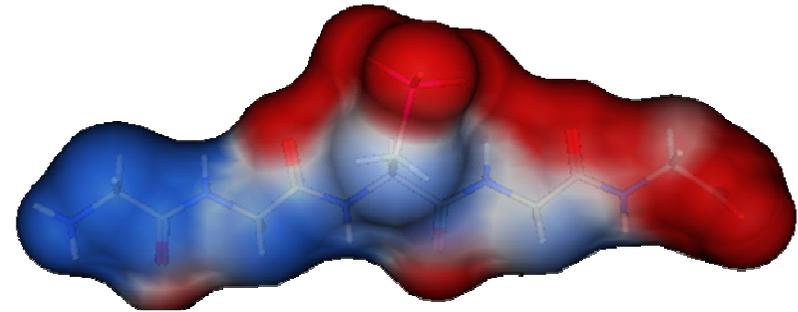
**Tyr dimerizzazione e attivazione recettoriale**



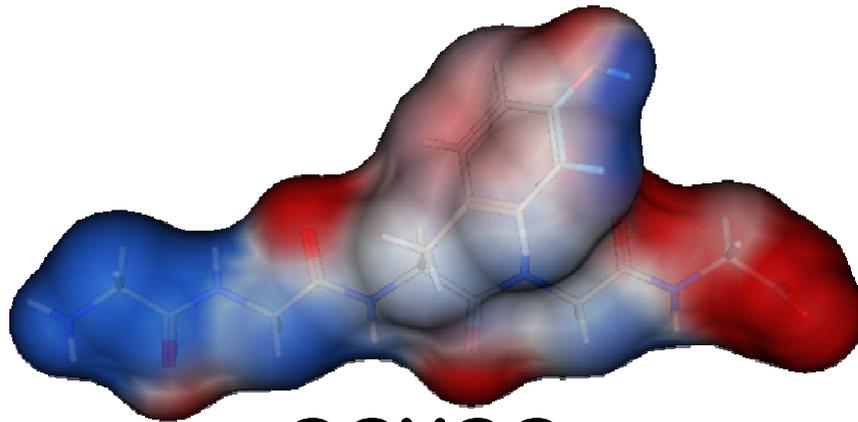
**ecco qui un possibile effetto locale di un processo fosforilativo...**



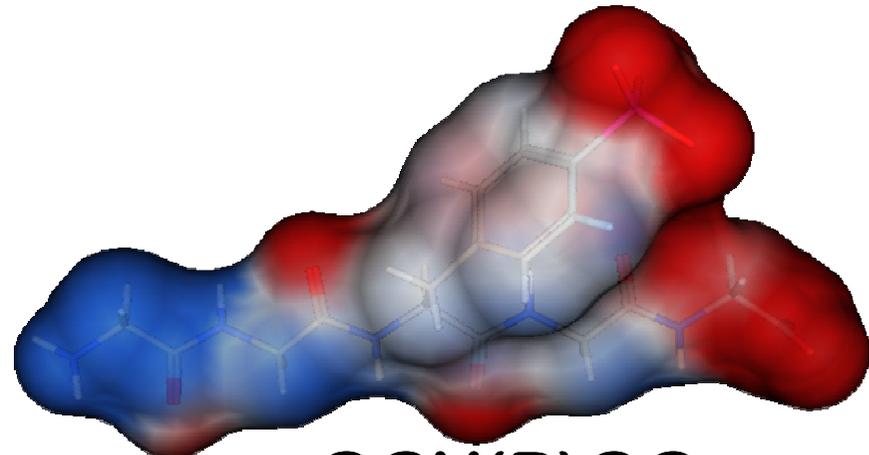
**GGSGG**



**GGS(P)GG**



**GGYGG**



**GGY(P)GG**



# Acetilazione... in breve

**AA coinvolti: residuo N-ter, Lys**

**$\Delta$ PM: 42 Da**

**$\Delta$ carica locale: positiva  $\rightarrow$  neutro**

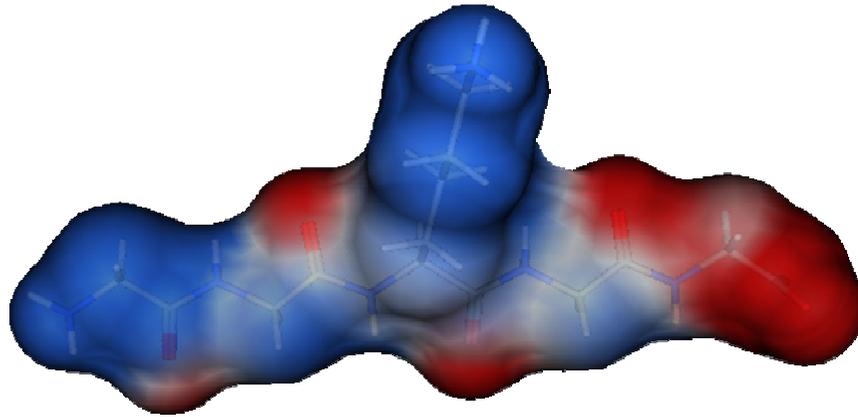
**Reversibilità: ☺**

***Funzioni:***

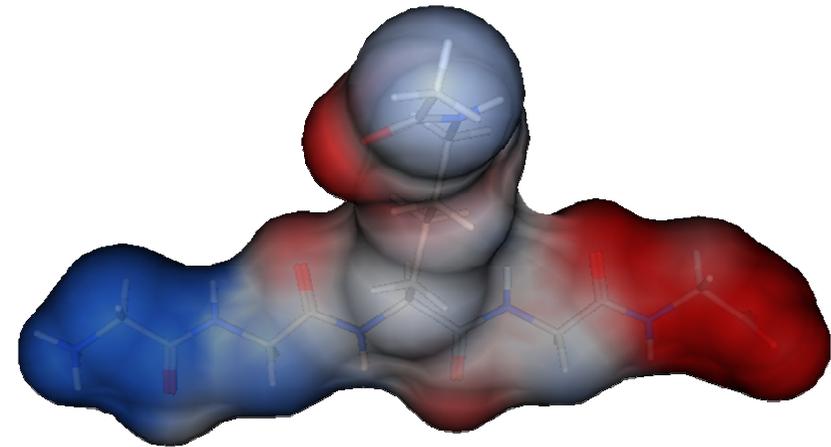
**cruciale nei meccanismi di controllo della  
funzionalista degli istoni**



ecco qui un possibile effetto locale di un processo di acetilazione ad una catena laterale di una Lys...



**GGKGG**



**GGK(Ac)GG**



## Glicosilazione... in breve

**AA coinvolti: N-glico, Asp**

**$\Delta$ PM: >800 Da**

**$\Delta$ carica locale: neutro  $\rightarrow$  variabile**

**Reversibilità: ☺**

**AA coinvolti: O-glico, Ser e Thr**

**$\Delta$ PM: 203 - >800 Da**

**$\Delta$ carica locale: neutro  $\rightarrow$  variabile**

**Reversibilità: ☺**

**Circa 50% delle proteine umane sono glicosilate;**

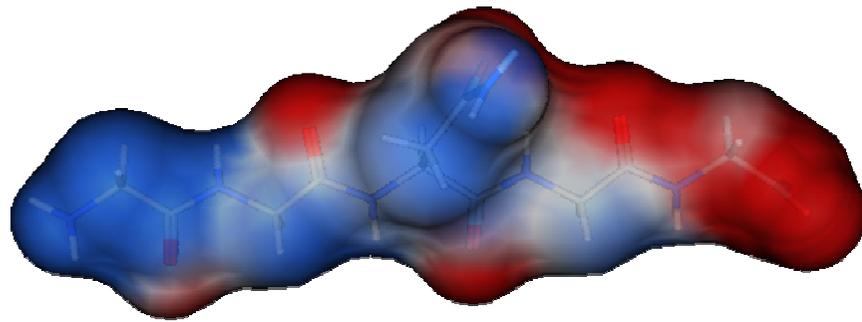
**Golgi e RE sono i laboratori cellulari deputati alla glicosilazione**

***Funzioni:***

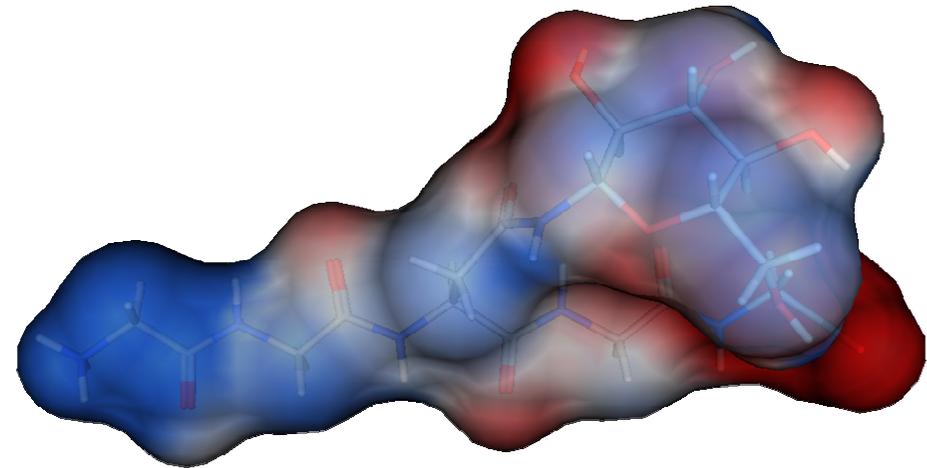
**stabilità e solubilità proteica, segnali di riconoscimento,**



**ecco qui un possibile effetto locale di un processo di glucosilazione ad una catena laterale di una Gln...**



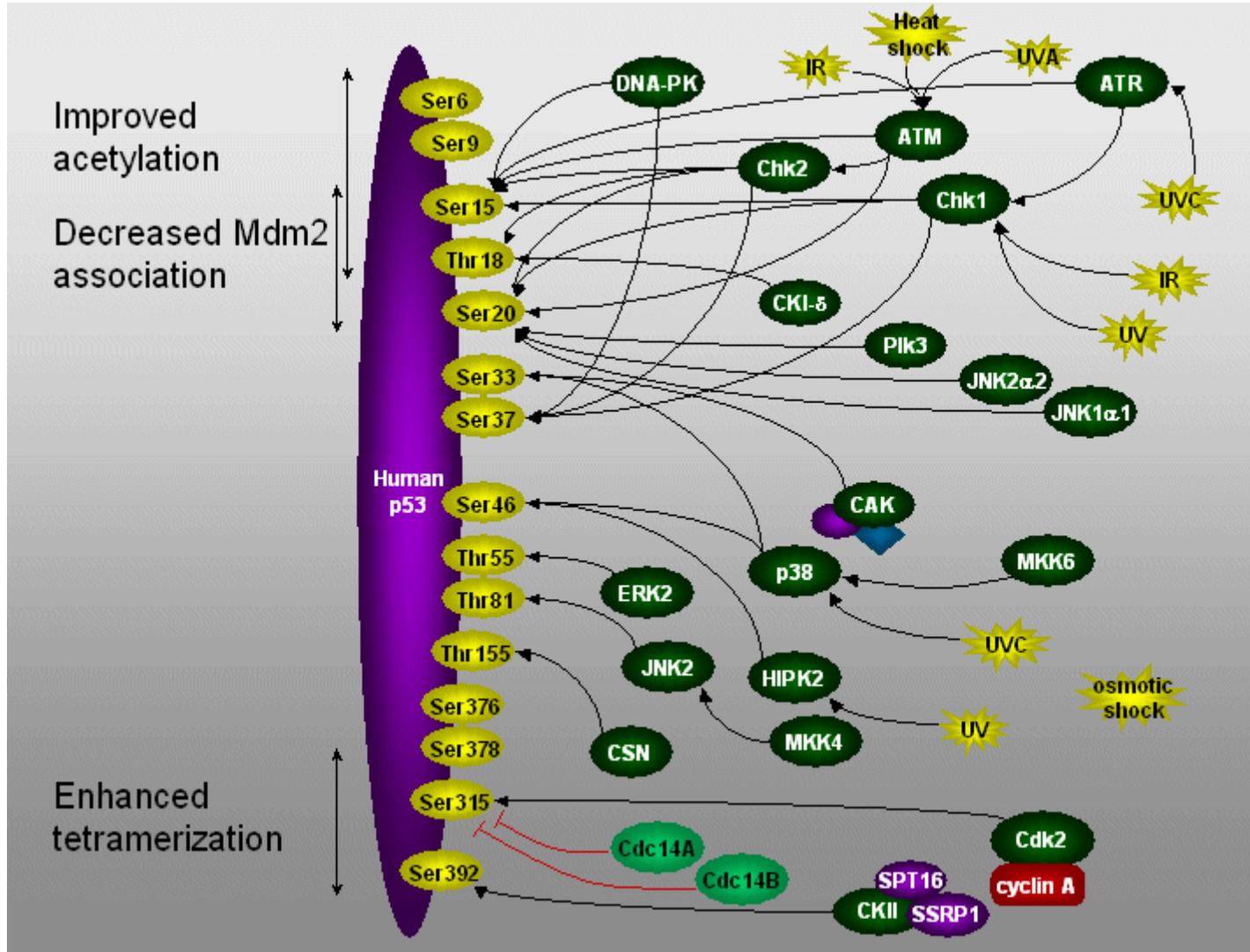
**GGNGG**



**GGN(glu)GG**

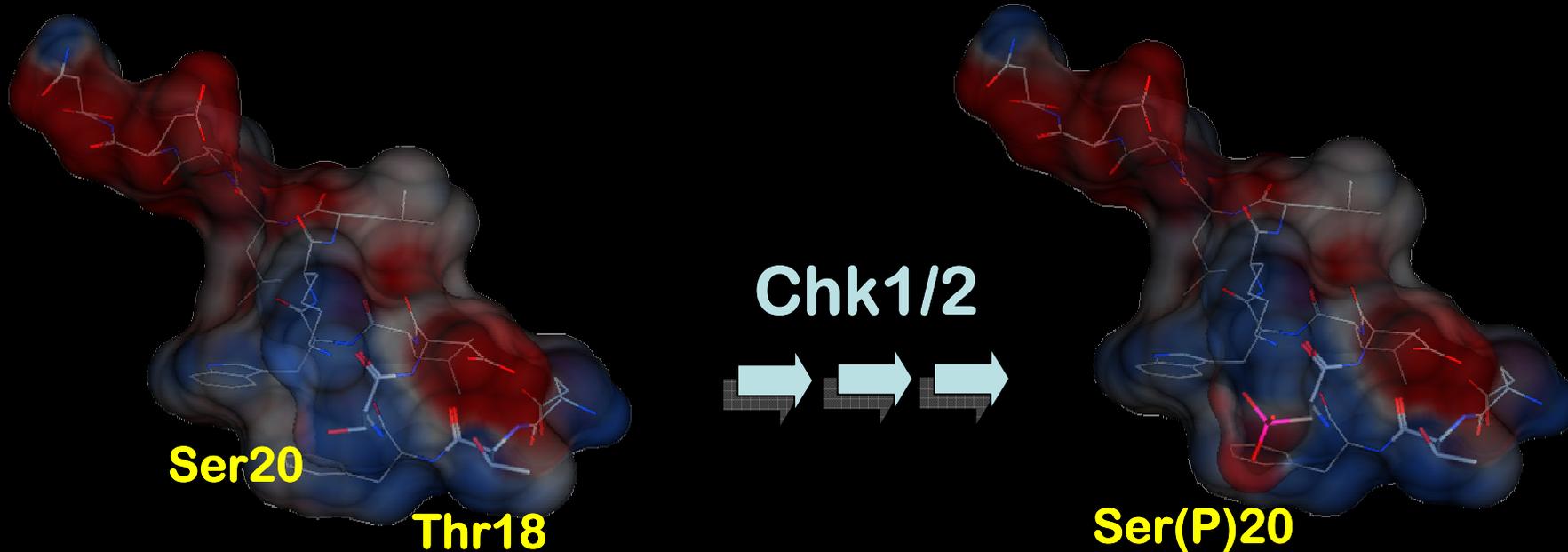


# torniamo al nostro p53...



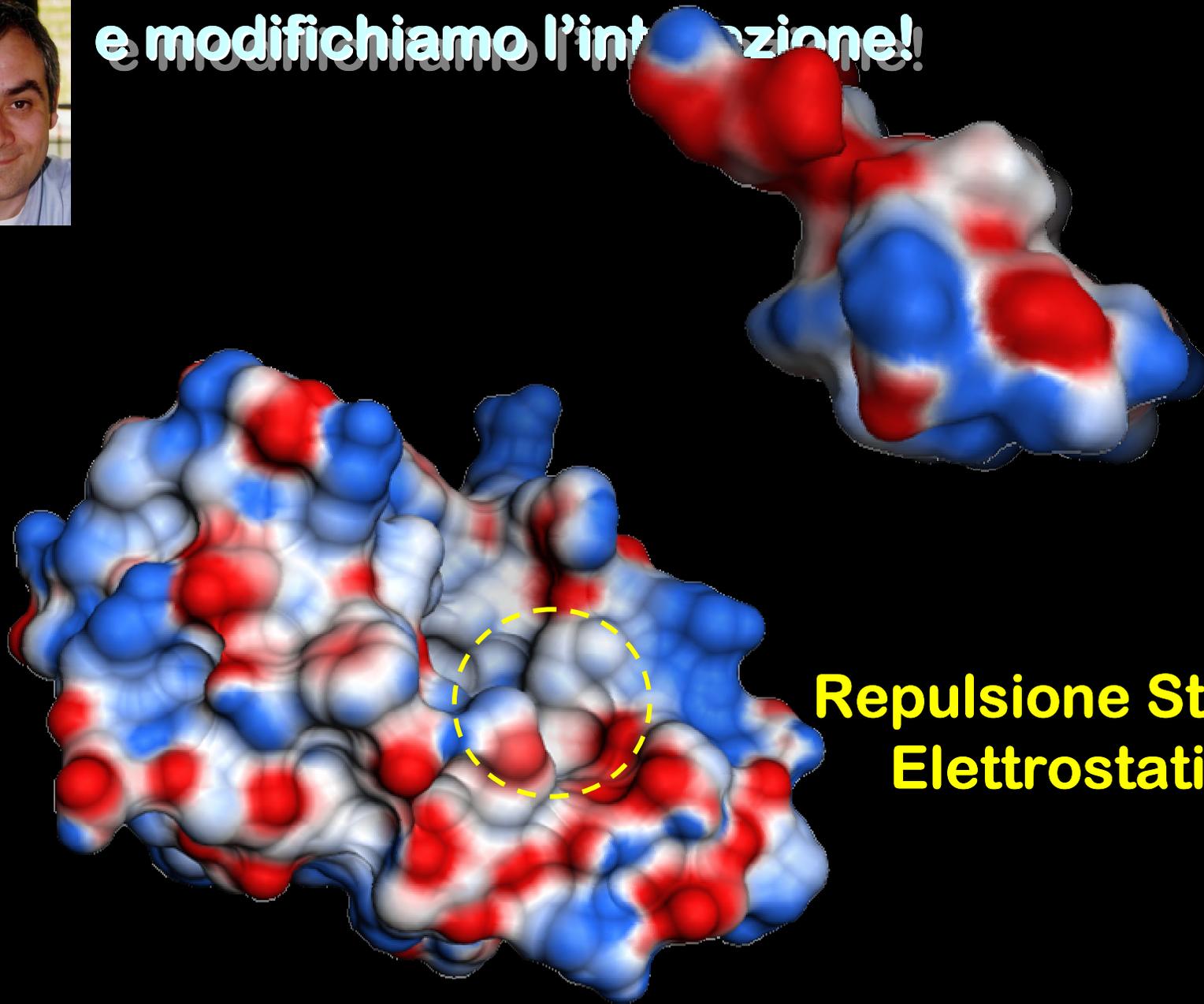


# Torniamo alla struttura già vista: fosforiliamo?





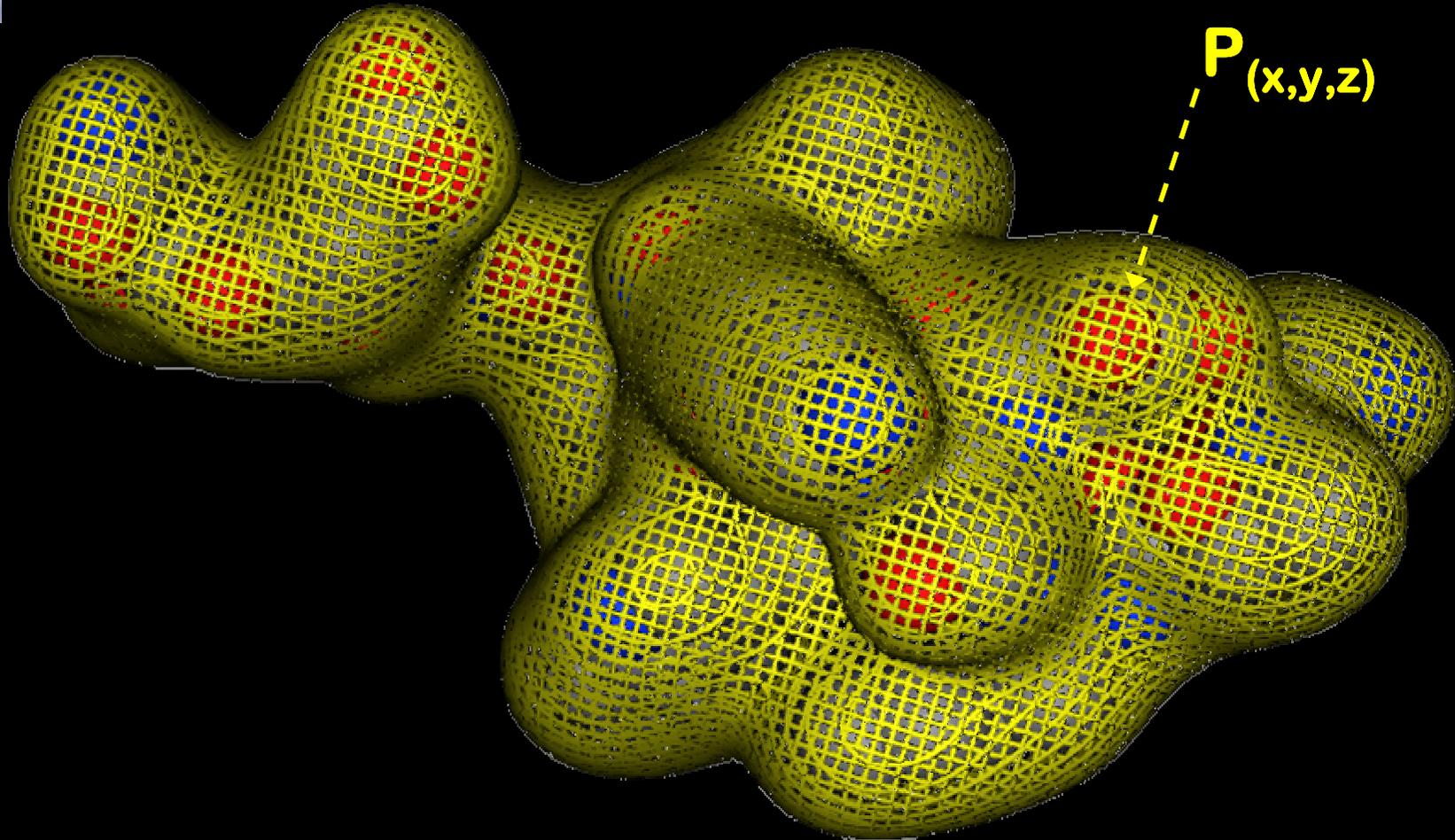
e modifichiamo l'interazione!



**Repulsione Sterico-Elettrostatica.**



# Qualche altra “utile” proprietà da proiettare?



----- Superficie di van der Waals o di contatto



**Ricordate il mitico *effetto idrofobico*?**

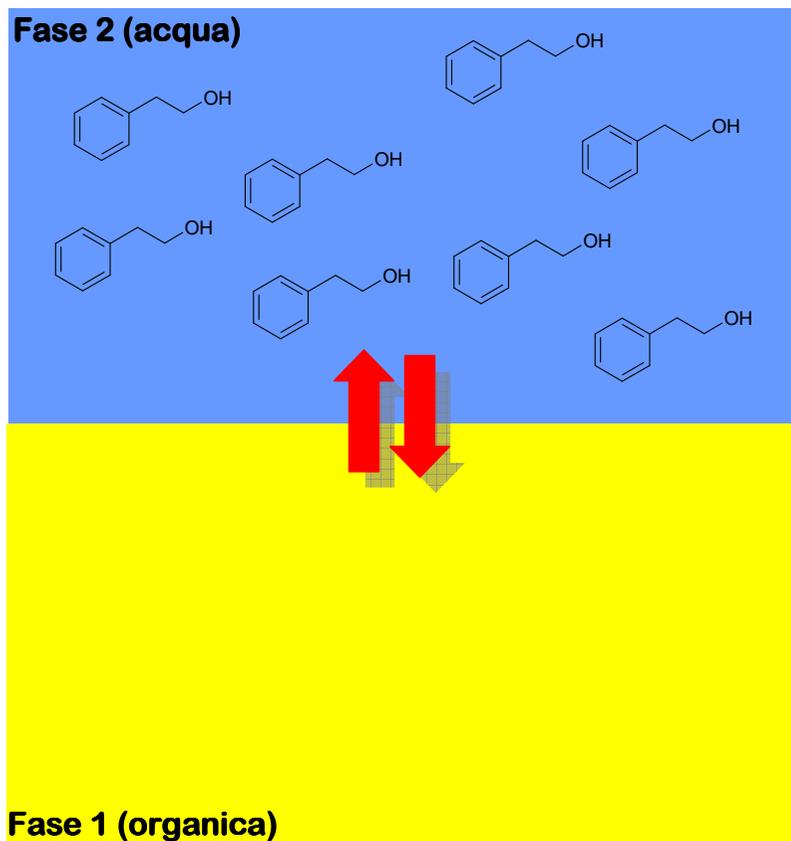
**Folding**

**Aggregazione**

**Riconoscimento**

# un brevissimo ripasso:

$$\mu_{(fase2)} = \mu_{(fase2)}^0 - RT \ln[C_{(fase2)}]$$



All'equilibrio:

$$\mu_{(fase1)} = \mu_{(fase2)}$$

$$\mu_{(fase1)}^0 - RT \ln[C_{(fase1)}] = \mu_{(fase2)}^0 - RT \ln[C_{(fase2)}]$$

$$\mu_{(fase1)}^0 - \mu_{(fase2)}^0 = RT \ln[C_{(fase1)}] - RT \ln[C_{(fase2)}]$$

$$\mu_{(fase1)}^0 - \mu_{(fase2)}^0 = RT \ln \left[ \frac{C_{(fase1)}}{C_{(fase2)}} \right]$$

$$\mu_{(fase1)} = \mu_{(fase1)}^0 - RT \ln[C_{(fase1)}]$$

$$\left[ \frac{C_{(fase1)}}{C_{(fase2)}} \right] = P \quad \text{Coefficiente di ripartizione}$$



$$\left[ \frac{C_{(fase1)}}{C_{(H_2O)}} \right] = P \quad \text{Coefficiente di ripartizione}$$

**Definiremo come: “*idrofobico*” un composto con  $P > 1$ ;  
“*Idrofilico*” un composto con  $P < 1$ .**

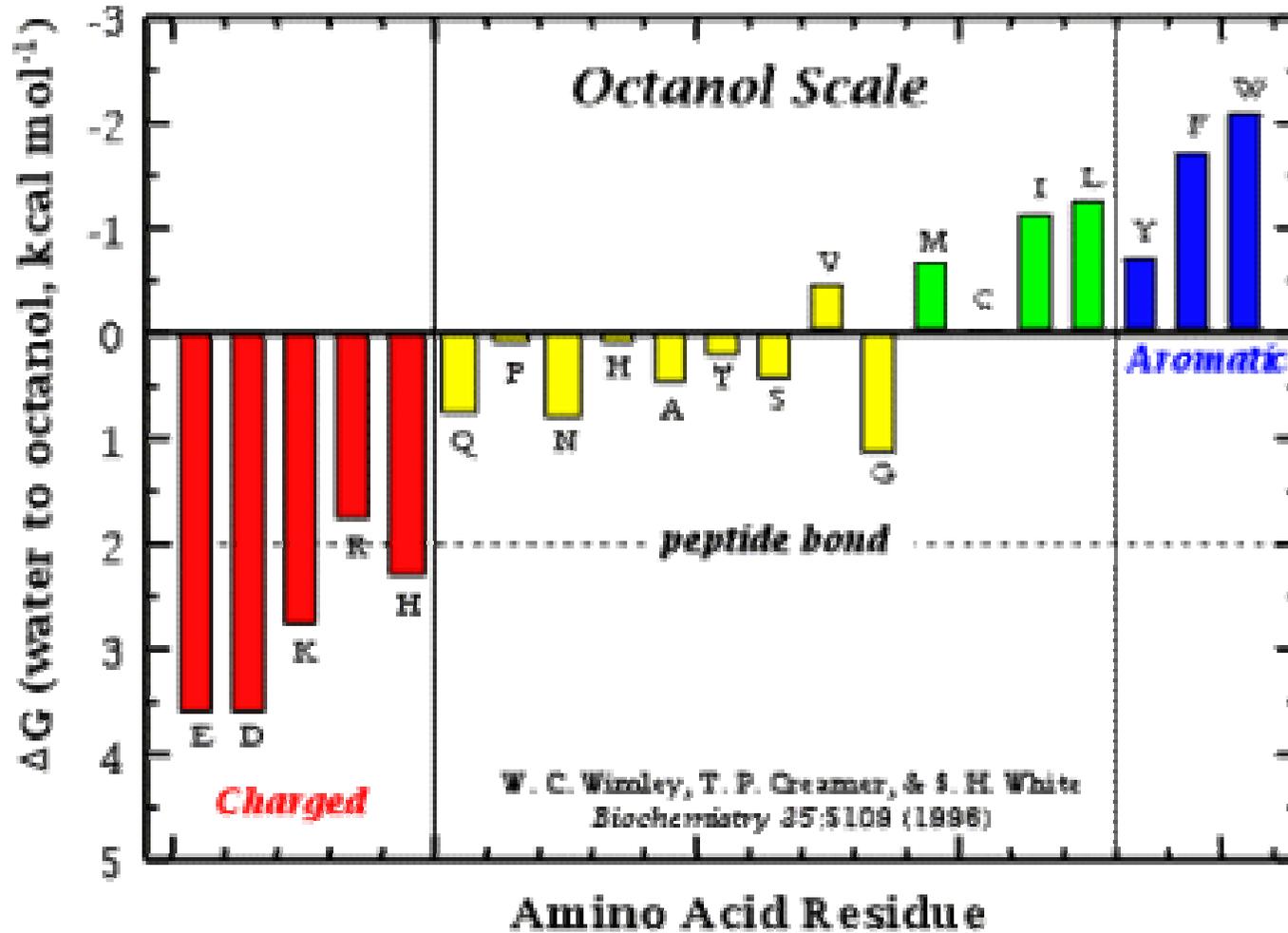
$$\log \left[ \frac{C_{(fase1)}}{C_{(H_2O)}} \right] = \log P$$

**Definiremo come: “*idrofobico*” un composto con  $\log P > 0$ ;  
“*Idrofilico*” un composto con  $\log P < 0$ .**



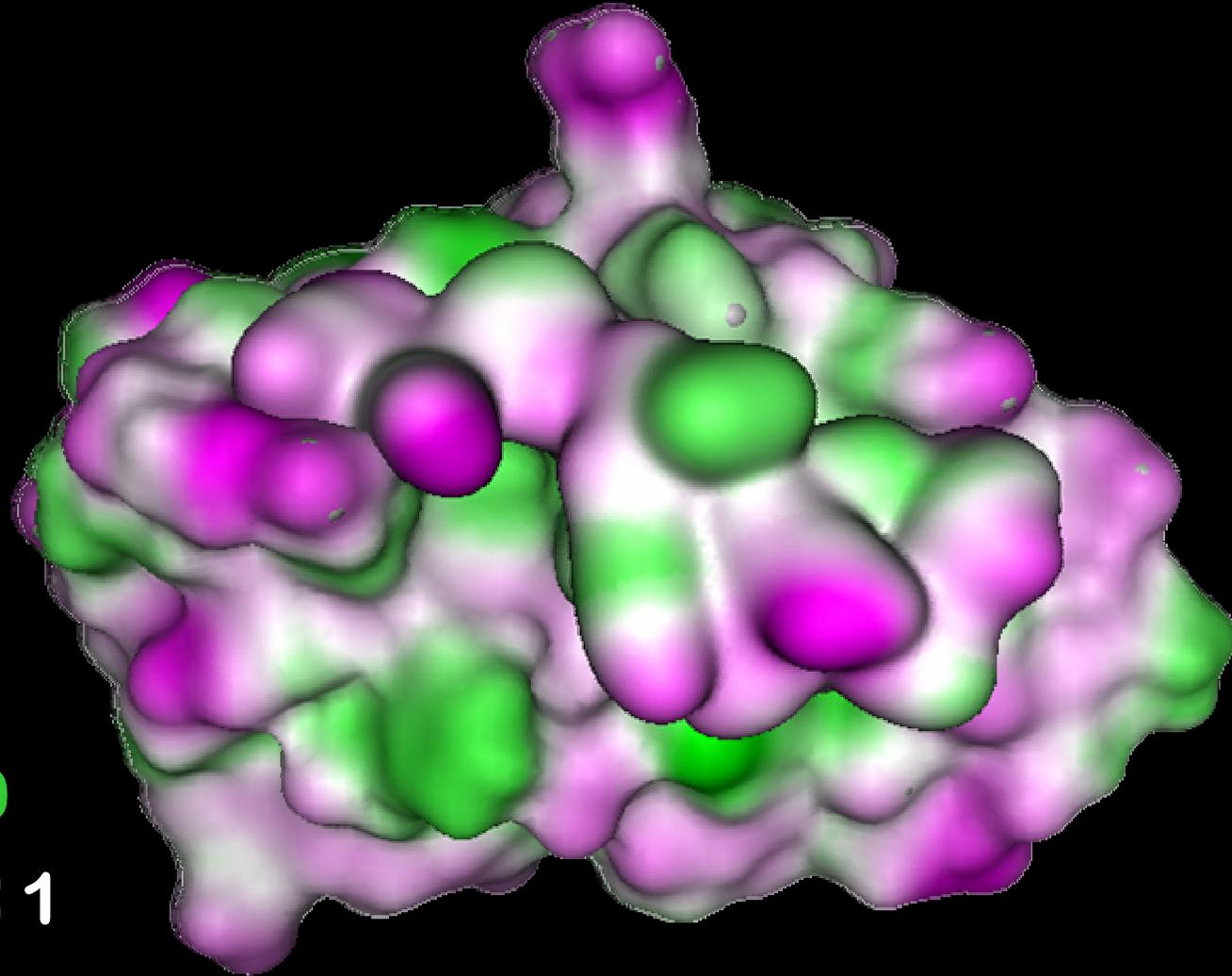


# Aminoacidi e idrofobicità:





Vediamo all'opera questa proprietà di superficie:



$$\Delta G_{w-o} < 0$$



$$0 < \Delta G_{w-o} < 1$$



$$\Delta G_{w-o} > 1$$



# L'idrofobicità di superficie come propensione dell'interazione tra proteine.

