

**IL METODO "MATRICIALE"
DELLA FUNZIONE DI PARTIZIONE
Modello di Zimm e Bragg per polipeptidi ad alto PM**

**Corso di
Proprietà di Biopolimeri**
Prof. R. Urbani

Dipartimento di Scienze Chimiche e Farmaceutiche
e-mail: rurbani@units.it
a.a. 2023-2024

MODELLI TERMODINAMICO-STATISTICI PER IL TRATTAMENTO DELLA TRANSIZIONE ELICA-COIL

Sono possibili due modelli:

1) viene considerata la coesistenza di regioni in elica e regioni in gomitolo, ma con la condizione di avere una sola regione elicoidale per catena (bassi pesi molecolari, «modello Zipper»)

2) **non ci sono limiti** al numero di regioni elicoidali che possono coesistere sulla stessa catena (alti pesi molecolari, «modello Zimm-Bragg»)



Ripassando.....

Per m residui adiacenti impegnati in legame idrogeno (formati dalla transizione $c \rightarrow h$ di m residui) :

$$\sigma s^m = \exp\left(-\frac{\Delta G_{nucl} + m\Delta G'}{RT}\right)$$

$$\text{con } \Delta G' = \Delta G_{prop}$$

$$\Delta G_{nucl} \approx -T\Delta S_{nucl} \quad \text{Il contributo dominante è quello entropico, il contributo entalpico può essere trascurato.}$$

$$\sigma = \exp\left(-\frac{\Delta G_{nucl}}{RT}\right) = \exp\left(\frac{\Delta S_{nucl}}{R}\right) \approx 10^{-2}$$

Da cui si ottiene per la transizione in cui m residui passano da coil ad elica:

$$\Delta G_{trans} = \Delta G_{nucl} + m \Delta G_{prop} = -RT(\ln \sigma + m \ln s)$$

Ripassando.....

La funzione di partizione è

$$q = 1 + \sum_{k=1,n} \Omega_k \sigma \cdot s^k$$

dove Ω_k è il numero di modi di mettere k unità elicoidali in sequenza in una catena di n residui, il suo valore è $(n-k+1)$ che si ottiene dallo sviluppo di

$$\binom{n}{k} = \frac{n!}{k!(n-k)!}$$

Ripassando.....

Utilizzando la funzione di partizione ci siamo calcolati l' ELICITÀ FRAZIONARIA

La probabilità $p(\mathbf{k})$ che una catena abbia $\mathbf{k}$ unità in conformazione elicoidale è:

$$p(k) = \frac{(n - k + 1)\sigma \cdot s^k}{q}$$

Il numeratore dell'espressione corrisponde semplicemente al termine della funzione di partizione associato a tutte quelle specie che hanno $\mathbf{k}$ unità $\mathbf{h}$ (ossia $\mathbf{k}$ legami idrogeno).

L'espressione per l'**elicità frazionaria** θ è:

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{n} = \frac{\sum_{k=1,n} kp(k)}{n} = \frac{\sum_{k=1,n} k(n - k + 1)\sigma \cdot s^k}{nq} = \frac{s}{nq} \frac{\partial \cdot q}{\partial \cdot s} = \boxed{\frac{1}{n} \frac{\partial \cdot \ln q}{\partial \cdot \ln s}}$$

Ripassando.....

$$\theta = \frac{\sigma \cdot s}{(s-1)^3} \left(\frac{ns^{n+2} - (n+2)s^{n+1} + (n+2)s - n}{n \left\{ 1 + \left[\frac{\sigma \cdot s}{(s-1)^2} \right] \left[s^{n+1} + n - (n+1)s \right] \right\}} \right)$$

Si nota che:

$\theta \rightarrow 0$ quando $s \rightarrow 0$
 $\theta \rightarrow 1$ al crescere di s

Valori piccoli di σ tenderanno favorire sequenze elicoidali più lunghe, mentre lo stato di tutto-gomitolo sarà favorito rispetto allo stato a sequenze elicoidali corte.

Questo succede perché più è piccolo il valore di σ , maggiore deve essere la lunghezza delle sequenze elicoidali per superare gli aspetti sfavorevoli (entropici) dell'iniziazione.

In questo modo il parametro σ regola la cooperatività della transizione

Modelli Zipper (bassi PM) e di Zimm-Bragg (alto PM) a confronto

- Il modello Zipper (basso PM) concorda bene con i dati sperimentali se **la proteina non è troppo grande**. Se la proteina è grande, un certo numero di sequenze elicoidali possono iniziare in posizioni remote della proteina. In questo limite, il modello Zipper non funziona più.
- Per affrontare le transizioni strutturali nelle proteine più grandi, è necessario un modello più realistico. Il modello Zipper richiede che la transizione da **c** a **h** avvenga solo in prossimità di un pre-esistente dominio **h**
- Nel modello di Zimm-Bragg, gli stati **h** non devono necessariamente verificarsi contigui, ma gli stati **h** non contigui sono energeticamente sfavorevoli e quindi sono statisticamente meno «pesanti» nella funzione di partizione.
- Nel modello di Zimm-Bragg si applicano le seguenti regole:

i. Come il modello Zipper (basso PM), il modello Zimm-Bragg è parametrizzato da **s** e **σ**.

Anche in questo caso il parametro **s** è una costante di equilibrio che caratterizza l'equilibrio $c \rightleftharpoons h$ tale che $s = [h]/[c]$.

ii. Il parametro **σ** è chiamato parametro di nucleazione. Un peso statistico di **σs** è assegnato se **h** è vicino a un **c** o è il primo **h** della sequenza.
Se **h** si trova accanto a un altro **h**, il suo peso è **s**.

iii. Nelle proteine, **s** tipicamente è leggermente maggiore di 1.

Il parametro **σ** varia tra 0,001 e 0,0001.

Modello Zimm-Bragg per polipeptidi ad alto PM

L'equilibrio tra sequenze lunghe e corte è in realtà il bilancio tra la tendenza a minimizzare l'energia e quella simultanea a massimizzare l'entropia.

Per catene molto lunghe la tendenza, entalpicamente favorita, di formare lunghe sequenze ordinate è controbilanciata dalla perdita di entropia complessiva.

Come risultato nella catena vi saranno **più centri di nucleazione** con sequenze di eliche relativamente lunghe separate da regioni in coil (per esempio: i β -turn in un filamento polipeptidico di una proteina globulare).

In questo caso bisogna introdurre la possibilità di avere più centri di nucleazione.

Consideriamo il calcolo della funzione di partizione nel caso generale in cui più sequenze elicoidali possano coesistere nella catena separate da zone disordinate (coil).

Una catena con n residui, ciascuno dei quali può essere in h o in c , senza restrizioni, può avere j centri di nucleazione (segmenti o sequenze elicoidali) in m unità elicoidali.

Allora per j centri di nucleazione e m residui adiacenti impegnati in legame idrogeno, la funzione di partizione configurazionale q è:

$$q = 1 + \sum_{\substack{m=1,n \\ j=1,m}} \Omega_{j,m} \sigma^j s^m$$

$$q = 1 + \sum_{\substack{m=1,n \\ j=1,m}} \Omega_{j,m} \sigma^j s^m$$

$$\sigma^j s^m = \exp\left(-\frac{j\Delta G_{nucl} + m\Delta G'}{RT}\right)$$

$\Omega_{j,m}$ = è la **degenerazione**, ossia il numero dei modi di disporre ***m*** unità elicoidali in ***j*** sequenze elicoidali distinte in polipeptide di lunghezza ***n***, ciascuna di esse separata dalle altre da una o più unità in gomitolo

ESEMPIO:

$$j=2$$

$$m=6$$

$$n=10$$

dobbiamo porre **6 unità h in 2 sequenze** distinte, del tipo:

chhccchhhh chhccchhhh hhccchhhh

chhhcccchhh chhhccchhhc hhhcccchhh

chhhhccchh chhhhccchhc hhhhccchhc.....

$\sigma^2 s^2$ Fattore di nucleazione assegnato alle 2 unità **h** all'inizio di ogni segmento elicoidale

$s^{m-2} = s^4$ Fattore assegnato alle restanti 4 unità **h**

$$\Omega_{j,m} = \Omega_{2,6} = \sigma^2 s^6 = \exp \left[- \frac{(2\Delta G_{nucl} + 6\Delta G')}{kT} \right]$$

Contributo di ciascuno degli stati $\Omega_{2,6}$

ESEMPIO:

Al caso $\mathbf{j} = \mathbf{3}$ e $\mathbf{m} = \mathbf{50}$, viene assegnato il fattore s^{m-3} alle 47 unità $\mathbf{h}$ che seguono un'altra unità $\mathbf{h}$, mentre viene assegnato il fattore $\sigma^3 \mathbf{s}^3$ alle tre unità $\mathbf{h}$ che si trovano all'inizio delle tre sequenze elicoidali.

Il contributo di ognuno di questi stati ($\mathbf{j}=\mathbf{3}$, $\mathbf{m}=\mathbf{50}$) è $\sigma^3 \mathbf{s}^{50}$.

Tuttavia ciascuna delle tre sequenze elicoidali può avere qualsiasi lunghezza tra 1 e 48, purché rimanga la condizione che il numero totale di unità $\mathbf{h}$ sia 50.

Il parametro $\Omega_{3,50}$ dà il numero di modi di sistemare 50 residui elicoidali in tre sequenze distinte.

Calcolo della funzione di partizione

- Utilizzando le regole viste si possono costruire i pesi statistici per tutte le otto sequenze trimeriche possibili e la funzione di partizione. Nella tabella sono riportate le sequenze trimeriche e i relativi pesi.

Trimer Sequences	CCC	HCC	CHC	CCH	CHH	HHC	HCH	HHH
Statistical Weights	1	σs	σs	σs	σs^2	σs^2	$\sigma^2 s^2$	σs^3

Con questi pesi statistici si costruisce la funzione di partizione

$$q = q_0 (1 + 3\sigma s + 2\sigma s^2 + \sigma^2 s^2 + \sigma s^3) = q_0 (1 + \sigma (3s + 2s^2 + \sigma s^2 + s^3))$$

- Si notino le differenze tra la funzione di partizione per il modello Zipper rispetto al modello Zimm-Bragg: l'intermedio **hch** non è ammesso nel modello Zipper ma è consentito nel modello Zimm-Bragg, che ha però una probabilità (più piccola) di $\sigma^2 s^2$.

Calcoliamo l'elicità frazionaria con, ad esempio, $\sigma = 0.006$ ed $s = 1$.

$$\begin{aligned}
 \theta_h &= \frac{\langle k \rangle}{3} = \frac{s}{3q} \frac{\partial q}{\partial s} = \frac{s}{3q} \frac{\partial}{\partial s} [1 + 3\sigma s + 2\sigma s^2 + \sigma^2 s^2 + \sigma s^3] \\
 &= \frac{s}{3q} [3\sigma + 4\sigma s + 2\sigma^2 s + 3\sigma s^2] = \left(\frac{1}{3} \right) \left(\frac{3\sigma s + 4\sigma s^2 + 2\sigma^2 s^2 + 3\sigma s^3}{1 + 3\sigma s + 2\sigma s^2 + \sigma^2 s^2 + \sigma s^3} \right) \\
 &= \left(\frac{\sigma}{3} \right) \left(\frac{3s + 4s^2 + 2\sigma s^2 + 3s^3}{1 + \sigma (3s + 2s^2 + \sigma s^2 + s^3)} \right) =
 \end{aligned}$$

$$\theta_h = \left(\frac{\sigma}{3} \right) \left(\frac{3s + 4s^2 + 2\sigma s^2 + 3s^3}{1 + \sigma(3s + 2s^2 + \sigma s^2 + s^3)} \right) = \left(\frac{0.0600}{3} \right) \left(\frac{3 + 4 + 2(0.0600) + 3}{1 + (0.0600)(3 + 2 + 0.0600 + 1)} \right)$$

$$\theta_h = (0.0200) \left(\frac{10.12}{1 + (0.0600)(6.06)} \right) = \frac{0.202}{1.36} = 0.149$$

Se confrontato con il valore calcolato per il modello Zipper ($\theta_h = 0.09$) il risultato è praticamente lo stesso.

I modelli Zipper e Zimm-Bragg non differiscono molto per piccoli s , perché la quantità di **hch** , per esempio, non è grande a piccoli s .

I risultati delle due teorie saranno differenti **quando s diventa grande**.

Modello di Ising

Reticolo monodimensionale

Catena di Ising: la probabilità di avere un dato stato ad un certo punto della catena dipende dallo stato conformazionale dei residui primi vicini.

Tipici sistemi «*binari*» in cui si applica il modello di Ising sono:

- Spin magnetici (+1 o -1)
- Siti di binding (occupati o vuoti)
- Subunità di polimero (*helix* o *coil*)
- ecc.

LA MATRICE DEI PESI STATISTICI.

Alle quattro configurazioni possibili di un dato residuo, relativamente alla configurazione del suo predecessore, vengono assegnati dei pesi statistici che sono tabulati in una tabella chiamata matrice dei pesi statistici.

Questi quattro stati ed i rispettivi pesi statistici sono:

- | | | |
|--|------|-------------------|
| • <i>c</i> che segue un altro <i>c</i> | (cc) | $p.s. = 1$ |
| • <i>c</i> che segue un <i>h</i> | (hc) | $p.s. = 1$ |
| • <i>h</i> che segue un <i>c</i> | (ch) | $p.s. = \sigma s$ |
| • <i>h</i> che segue un altro <i>h</i> | (hh) | $p.s. = s$ |

La matrice dei pesi statistici $\mathbf{M}$ è:

$$\mathbf{M} = \begin{matrix} & \begin{matrix} c & h \end{matrix} \\ \begin{matrix} c \\ h \end{matrix} & \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix} \end{matrix}$$

Questa matrice può essere interpretata nel modo seguente:

Un elemento della matrice viene indicato con $\mathbf{m}_{i,j}$.

L'indice di colonna caratterizza lo stato (c o h) del residuo che ci interessa,

l'indice di riga caratterizza lo stato del suo predecessore.

In questo modo l'elemento $\mathbf{m}_{1,2}$ è uguale a σs poiché è il peso statistico di un'unità elicoidale che segue un'unità in gomito.

CALCOLO DELLA FUNZIONE DI PARTIZIONE DALLA MATRICE DEI PESI STATISTICI.

La funzione di partizione per una catena di n unità può essere generata elevando M *all'n-esima potenza*.

Consideriamo per es. una catena di *due elementi*. Le quattro configurazioni possibili sono *cc, ch, hc e hh*;

se assumiamo che il "*predecessore ipotetico*" della prima unità sia analogo ad una unità in gomitolo allora i quattro *pesi statistici* delle possibili conformazioni saranno:

$$(1 \cdot 1) \quad (1 \cdot \sigma s) \quad (\sigma s \cdot 1) \quad (\sigma s \cdot s)$$

e la funzione di partizione sarà:

$$q = 1 + 2\sigma s + \sigma s^2$$

Calcolo tramite il prodotto delle matrici: $M = \begin{pmatrix} 1 & \sigma s \\ 1 & s \end{pmatrix}$

$$q = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} M M \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & \sigma \cdot s \end{pmatrix} M \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} =$$
$$\begin{pmatrix} 1 + \sigma \cdot s & \sigma \cdot s + \sigma \cdot s^2 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} = 1 + 2\sigma \cdot s + \sigma \cdot s^2$$

che equivale alla funzione di partizione vista prima, ma qui ottenuta con metodo matriciale:

$$q = 1 + 2\sigma s + \sigma s^2$$

Generalizzando per una catena di ***n*** unità:

$$q = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} M^n \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

Il calcolo può essere semplificato **diagonalizzando** la matrice ***M*** tramite una trasformazione di similarità.

Poiché la potenza ***n*-esima** di una matrice diagonale è data semplicemente dalla **potenza *n*-esima degli elementi diagonali**, il problema si semplifica molto.

per esempio

$$\begin{aligned} A^3 &= A \cdot A \cdot A = \begin{pmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 3 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 3 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 3 \end{pmatrix} = \\ &= \begin{pmatrix} 4 & 0 \\ 0 & 9 \end{pmatrix} \begin{pmatrix} 2 & 0 \\ 0 & 3 \end{pmatrix} = \\ &= \begin{pmatrix} 8 & 0 \\ 0 & 27 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 2^3 & 0 \\ 0 & 3^3 \end{pmatrix} \end{aligned}$$

DIAGONALIZZAZIONE DELLA MATRICE DEI PESI STATISTICI

$$T^{-1}MT = L = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{pmatrix}$$

T è matrice di trasformazione di M , con $TT^{-1} = I$, matrice unitaria
 λ_1 e λ_2 sono gli autovalori di M

Pre- e post-moltiplichiamo ogni fattore di matrice M del prodotto M^n per il termine TT^{-1} , in questo modo la funzione di partizione non è alterata poiché $TT^{-1} = I$

essendo $\mathbf{T}\mathbf{T}^1 = \mathbf{I}$

$$(\mathbf{T}\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}\mathbf{T}^1)^n = \mathbf{M}^n$$

$$(\mathbf{T}\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}\mathbf{T}^1) \underbrace{(\mathbf{T}\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}\mathbf{T}^1)} \underbrace{(\mathbf{T}\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}\mathbf{T}^1)} \dots (\mathbf{T}\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}\mathbf{T}^1) =$$

$$[\mathbf{T}(\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T})\underbrace{(\mathbf{T}^1\mathbf{T})} (\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}) \underbrace{(\mathbf{T}^1\mathbf{T})} \dots (\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}) \mathbf{T}^1] =$$

$$[\mathbf{T}(\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T})(\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}) \dots (\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}) \mathbf{T}^1] =$$

$$\mathbf{T} [\mathbf{T}^1\mathbf{M}\mathbf{T}]^n \mathbf{T}^1 = \mathbf{T} \mathbf{L}^n \mathbf{T}^1$$

con

$$\mathbf{L}^n = \begin{pmatrix} \lambda_1^n & 0 \\ 0 & \lambda_2^n \end{pmatrix}$$

$$q = \begin{pmatrix} 1 & 0 \end{pmatrix} M^n \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$= (1, 0) [TT^{-1}MTT^{-1}]^n \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$= (1, 0) T L^n T^{-1} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$L^n = \begin{pmatrix} \lambda_1^n & 0 \\ 0 & \lambda_2^n \end{pmatrix}$$

$$T^{-1}MT = L = \begin{pmatrix} \lambda_1 & 0 \\ 0 & \lambda_2 \end{pmatrix}$$

CALCOLARE GLI AUTOVALORI DELLA MATRICE $\mathbf{M}$ E COSTRUIRE LE MATRICI $\mathbf{T}$ E $\mathbf{T}^{-1}$

Gli autovalori di $\mathbf{M}$ sono ottenuti dal determinante dell'eq secolare $|\mathbf{M}-\lambda\mathbf{I}|$:

$$|\mathbf{M}-\lambda\mathbf{I}|=0$$

$$0 = \begin{vmatrix} 1-\lambda & \sigma \cdot s \\ 1 & s-\lambda \end{vmatrix} = (1-\lambda)(s-\lambda) - \sigma \cdot s = \lambda^2 - (1+s)\lambda + s(1-\sigma)$$

Le due radici dell'equazione sono:

$$\lambda_{1,2} = \frac{(1+s) \pm \sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}}{2}$$

λ_1 è ottenuta dal segno positivo e λ_2 da quello negativo

La matrice di trasformazione ***T*** è:

$$T = \begin{pmatrix} 1 - \lambda_2 & 1 - \lambda_1 \\ 1 & 1 \end{pmatrix}$$

la sua inversa è:

$$T^{-1} = \frac{1}{\lambda_1 - \lambda_2} \begin{pmatrix} 1 & \lambda_1 - 1 \\ -1 & 1 - \lambda_2 \end{pmatrix}$$

Sostituendo le matrici ***T*** e ***T*⁻¹** nell'equazione di ***q***:


$$q = (1 \quad 0) M^n \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix} = (1 \quad 0) \tilde{T} L^n T^{-1} \begin{pmatrix} 1 \\ 1 \end{pmatrix}$$

$$q = \frac{[\lambda_1^{n+1}(1 - \lambda_2) - \lambda_2^{n+1}(1 - \lambda_1)]}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

Poiché $\lambda_1 > \lambda_2$, per n grandi si avrà $\lambda_1^{n+1} \gg \lambda_2^{n+1}$ allora:

$$q \approx \frac{\lambda_1^{n+1}(1 - \lambda_2)}{\lambda_1 - \lambda_2}$$

$$\ln q = (n+1)\ln \lambda_1 + \ln(1 - \lambda_2) - \ln(\lambda_1 - \lambda_2)$$

$$= n \ln \lambda_1 + \cancel{\ln \lambda_1} + \ln(\simeq 1) - \cancel{\ln \lambda_1}$$



 0

$$\ln q \approx n \ln \lambda_1$$

CALCOLO DEI PARAMETRI ELICOIDALI DALLA FUNZIONE DI PARTIZIONE

Sia il numero medio, $\langle k \rangle$, di unità elicoidali che il valore dell'elicità frazionale θ vengono calcolati facilmente differenziando l'espressione di $\ln q$:

$$\langle k \rangle = \frac{\partial(\ln q)}{\partial(\ln s)} = n \frac{\partial(\ln \lambda_1)}{\partial(\ln s)}$$

$$\lambda_1 = \frac{(1+s) + \sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}}{2}$$

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{n} = \frac{s}{2\lambda_1} \left\{ 1 + \frac{[(s-1) + 2\sigma]}{\sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}} \right\}$$

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{n} = \frac{s}{2\lambda_1} \left\{ 1 + \frac{[(s-1) + 2\sigma]}{\sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}} \right\}$$

Poiché $\sigma \ll 1$ quando s è prossimo, ma inferiore, all'unità, tale che $(1-s)^2 > 4\sigma s$, allora il valore dell'espressione in parentesi graffa tende a zero e quindi $\theta \rightarrow 0$.

si noti che se s è vicino all'unità, allora $4\sigma s \cong 4\sigma$, e la condizione che $(1-s)^2 > 4\sigma$ significa che $(1-s) > 2\sigma^{1/2} \gg 2\sigma$ (per $\sigma \ll 1$).

Quindi, $|s - 1| \gg 2\sigma$; il quoziente all'interno della parentesi graffa è circa uguale a -1, e l'intera espressione all'interno della parentesi è circa uguale a zero.

Queste condizioni richiedono che $s < (1 - 2\sigma^{1/2})$.

$$\theta = \frac{\langle k \rangle}{n} = \frac{s}{2\lambda_1} \left\{ 1 + \frac{[(s-1) + 2\sigma]}{\sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}} \right\}$$

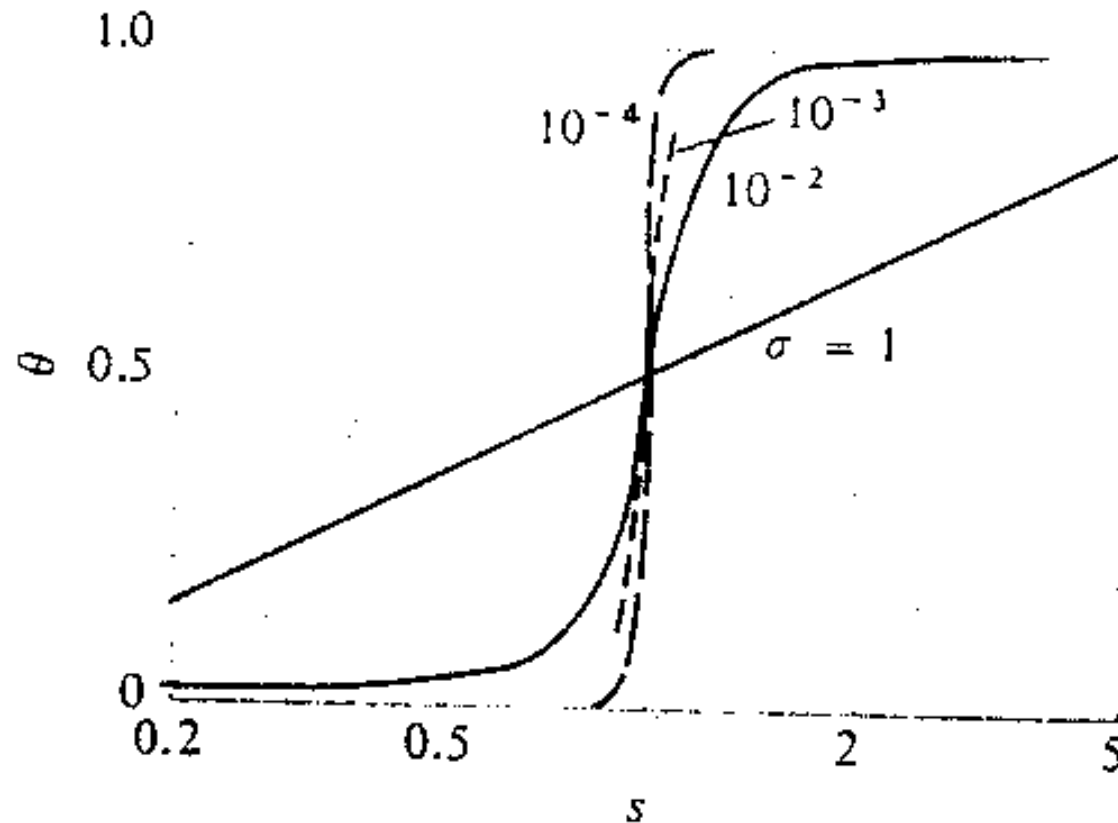
Quando **s** è prossimo all'unità, ma maggiore dell'unità,
e $(1-s)^2 > 4\sigma s$, allora $\lambda_1 \cong 1$ e pertanto $\theta \rightarrow 1$.

Si noti che, con **s** maggiore dell'unità il requisito che $(1-s)^2 > 4\sigma$ significa che **(s-1) > 2σ^{1/2} >> 2σ**; quindi, con **(s-1) >> 2σ** il quoziente tra parentesi graffa diviene approssimativamente uguale ad **1** e l'intera espressione tra parentesi graffa è approssimativamente uguale a **2**.

Le condizioni precedenti richiedono che **s > (1+2σ^{1/2})**.

Quindi la transizione avviene in un intervallo stretto che va da circa $s = 1 - 2\sigma^{1/2}$ a circa $s = 1 + 2\sigma^{1/2}$, la cui ampiezza è determinata da $\sigma^{1/2}$.

La figura seguente, dove θ è riportato in funzione di $\ln s$, illustra chiaramente la dipendenza della ripidità della zona di transizione dal valore di σ .



quando $\sigma = 1$ l'equazione si semplifica e si dimostra che:

$$\theta = \frac{s}{2\lambda_1} \left\{ 1 + \frac{[(s-1) + 2\sigma]}{\sqrt{[(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s]}} \right\} \longrightarrow \theta = \frac{s}{1+s}$$

Questa espressione corrisponde al caso **non cooperativo** nel quale ciascuna unità si comporta in modo indipendente ed indica che in assenza di cooperatività, si ha un aumento regolare di monomeri elicoidali all'aumentare di s.

Numero medio $\langle j \rangle$ di regioni elicoidali

$$q = \sum_{j,k} \Omega_{j,k} \sigma^j s^k$$

il valor medio di j può essere calcolato con una semplice derivata.
Cominciamo dalla definizione di $\langle j \rangle$

$$\langle j \rangle = \sum_{j,m} j P(j, m)$$

$$\langle j \rangle = \frac{\sum \sum j \Omega_{j,k} \sigma^j s^k}{q} = \frac{\sigma}{q} \frac{\partial \cdot q}{\partial \cdot \sigma} = \frac{\partial \ln q}{\partial \ln \sigma} = n \frac{\partial \ln \lambda_1}{\partial \ln \sigma}$$

Sostituendo il valore di λ_1 nell'espressione precedente ed eseguendo la derivata si ottiene:

$$\langle j \rangle = \frac{n\sigma \cdot s}{\lambda_1 \sqrt{(1-s)^2 + 4\sigma \cdot s}}$$

Il valore di $\langle j \rangle$ ha il suo massimo a metà transizione dove $s=1$, (a $T=T_m$) con:

$$\langle j \rangle_{\max} = \frac{n}{2} \sqrt{\sigma}$$

$$\langle j \rangle = \frac{n}{2} \sqrt{\sigma}$$

In un caso realistico si ha $\sigma=10^{-4}$, cosicché a metà transizione $\langle j \rangle = n/200$ ed, in media, una regione elicoidale separata si trova ogni 200 residui.

Poiché a metà transizione, $\langle k \rangle = n/2$, il rapporto $\langle k \rangle / \langle j \rangle = 1/\sigma^{1/2}$ (a metà transizione), corrisponde circa alla **lunghezza media della sequenza elicoidale** (indipendente dal numero di residui n).

Per $\sigma = 10^{-4}$, la lunghezza media di una sequenza elicoidale è di circa 100 residui.

In questo modo, a metà transizione e assumendo $\sigma = 10^{-4}$, una molecola ha in media delle sequenze elicoidali di 100 residui intervallate da sequenze in coil aventi la stessa lunghezza.

CONSIDERAZIONI FINALI

Si noti che la lunghezza media ($\sigma^{-1/2}$) è indipendente da n , per n grandi (condizione sotto la quale sono state ricavate le ultime equazioni).

Questa indipendenza significa semplicemente che le regioni elicoidali **non crescono indefinitamente**, ma raggiungono un limite finito.

Questi risultati sono l'effetto di **due processi competitivi**:

- 1) Il guadagno energetico (entalpico) dovuto alla formazione di sequenze elicoidali relativamente lunghe;
- 2) Il guadagno entropico legato alla presenza di più centri di nucleazione.

I vantaggi entropici di avere più sequenze elicoidali è controbilanciato dal costo entropico del processo di nucleazione.

Nelle macromolecole a basso p.m. le sequenze elicoidali sono troppo corte per avere più centri di nucleazione.

Per polipeptidi a basso p.m. il **processo di denaturazione** avverrà preferibilmente a partire dagli estremi della catena, mentre per polipeptidi ad alto p.m. la transizione avverrà con la stessa probabilità in tutti i punti della catena.

ESEMPIO:

a $T=T_m$:
$$\langle j \rangle = \frac{n}{2} \sqrt{\sigma}$$

Per un biopolimero a basso PM, $n=10^3$:

A) $\sigma=1 \times 10^{-4}$ $\langle j \rangle_{\max} \approx (n/2 \sigma^{1/2}) = 5$ $\langle k \rangle / \langle j \rangle = 1/\sigma^{1/2} = 100$

B) $\sigma=1 \times 10^{-2}$ $\langle j \rangle_{\max} \approx (n/2 \sigma^{1/2}) = 50$ $\langle k \rangle / \langle j \rangle = 1/\sigma^{1/2} = 10$

Ma per un biopolimero ad alto PM, $n=10^5$

A) $\sigma=1 \times 10^{-4}$ $\langle j \rangle_{\max} \approx (n/2 \sigma^{1/2}) = 500$ $\langle k \rangle / \langle j \rangle = 1/\sigma^{1/2} = 100$

B) $\sigma=1 \times 10^{-2}$ $\langle j \rangle_{\max} \approx (n/2 \sigma^{1/2}) = 5000$ $\langle k \rangle / \langle j \rangle = 1/\sigma^{1/2} = 10$

...riassumendo:

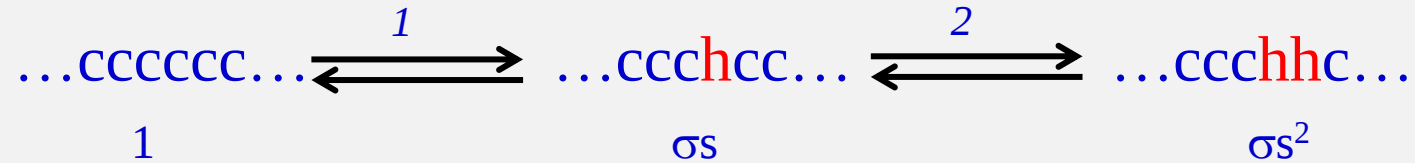
Dato l'equilibrio:



Nei biopolimeri ad alto PM le regioni elicoidali non crescono indefinitamente

Nei biopolimeri a basso PM le regioni elicoidali sono troppo corte per controbilanciare gli effetti avversi della nucleazione → singola zona elicoidale

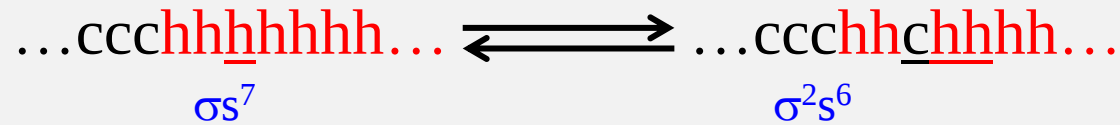
Qual è la probabilità che si formi l' α -elica in una catena disordinata?



equilibrio 1, la probabilità è: $\sigma s / 1 = \sigma s \ll 1$

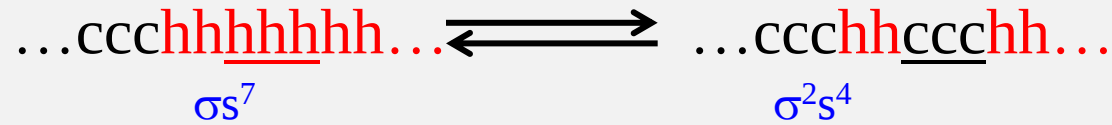
equilibrio 2, la probabilità è: $\sigma s^2 / \sigma s = s \gg \sigma s$ dato che $\sigma \ll 1$

Qual è la probabilità che si denaturi una catena, che formi un coil dall' α -elica?



la probabilità è: $\sigma^2 s^6 / \sigma s^7 = \sigma s^{-1} \ll 1$

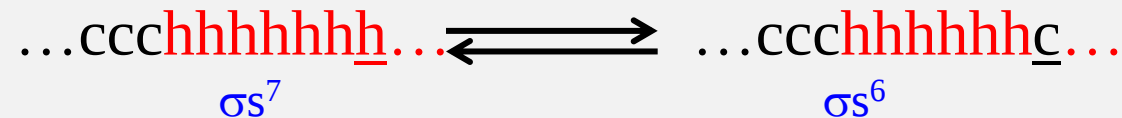
Per 3 unità:



la probabilità è: $\sigma^2 s^4 / \sigma s^7 = \sigma s^{-3} \ll \sigma s^{-1}$



Coil agli estremi



$\sigma s^6 / \sigma s^7 = s^{-1} \gg \sigma s^{-1}$