

## 1 Esame dei risultati delle simulazioni di 50 ns

1. sembra che lo stato nativo non sia stabile in soluzione; quale può essere il motivo?

(a) potenziale inadatto (AMBER95)

le simulazioni pubblicate sono state fatte con altri potenziali

alternativa: AMBER-03 corretto

(b) pressione diversa dalle condizioni di laboratorio

- si è fatta simulazione NVT; il solvente è stato preparato su un reticolo e poi rimosso nelle regioni in cui si sovrapponeva con la proteina (parametro INSERT). La scelta del raggio di sovrapposizione influenza molto il numero delle molecole rimosse e quindi la densità (e la pressione) del campione simulato
- è opportuno fare una simulazione NpT per avere la pressione corretta. Si parte da un alto valore del raggio di sovrapposizione e si permette alla cella di comprimersi sotto l'effetto della pressione esterna ( $0.1\text{MPa} = 1\text{atm}$ )

```
&SOLVENT
CELL SC
INSERT 1.4
COORDINATES ../pdb/water.pdb
GENERATE RANDOMIZE 10 10 10

&END
&SIMULATION
...
THERMOS
...
END
ISOSTRESS PRESS-EXT 0.1 BARO-MASS 10.

&END
```

---

## 2 Calcolo del $\Delta G$ di unfolding da simulazioni di Dinamica Guidata

Per studiare l'equilibrio tra la forma *folded* e quella *unfolded* della chignolina si può usare la relazione di Jarzynski che collega il  $\Delta G$  di unfolding alla distribuzione dei lavori fatti sul sistema da una forza esterna che la guida lungo una coordinata che causa lo spiegamento della proteina

$$\Delta G = \bar{w} - \frac{\beta\sigma^2}{2}$$

$$\bar{w} = \frac{1}{N} \sum w_i$$

$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum (w_i - \bar{w})^2}$$

## 2.1 preparazione input

- scegliere la coordinata appropriata (ad es. la distanza di legame tra i  $C^\alpha$  dei due residui terminali) e un valore per la costante di forza

```
&POTENTIAL
...
ADD_STR_BONDS 5 133 400.0 6.8 25.0
&END
```

- e la velocità di spostamento del valore di equilibrio della coordinata

```
&RUN
CONTROL 0
REJECT 10000.0
STEER 10000.0 20000.0
TIME 21000.0
MAXRUN 21000.0
PRINT 1000.0
PROPERTY 5000000.0
&END
```

- per salvare un file con la “traiettoria“ dei lavori si mette

```
&INOUT
...
PLOT STEER_ANALYTIC 90.0 OPEN WRK.jarz
&END
```