

**CONSIGLIO NAZIONALE DELLE RICERCHE
PROGRAMMA SHORT TERM MOBILITY 2008**

Proponente: Prof. Carmelo Giacobazzo
c/o Istituto di Cristallografia (Bari)
Fruitore: Dott. Dritan Siliqi
c/o Istituto di Cristallografia (Bari)
Istituto ospitante: Los Alamos National Laboratory (Los Alamos, NM, USA)

Rapporto scientifico per l'attività svolta presso *Los Alamos National Laboratory* nell'ambito del
Programma dal fruitore Dott. Dritan Siliqi

Nell'ambito del programma Short Term Mobility-2008 il fruitore ha affrontato un progetto di ricerca in collaborazione con *Protein Crystallography Station* (PCS) presso *Bioscience Division* di *Los Alamos National Laboratory* (LANL). Il progetto è stato svolto in due parti:

- 1) Dato che la diffrazione dei neutroni fornisce risultati complementari a quella dei raggi X e che, in particolare, è utile per localizzare gli atomi leggeri (laddove i raggi X localizzano quelli pesanti), essa ora sta diffondendosi per determinare la posizione dell'idrogeno anche nelle macromolecole come le proteine (che per questo vengono spesso deuterizzati), ad esempio nello studio degli enzimi nel campo farmaceutico. LANL dispone di un centro per effettuare misure da diffrazione neutronica sui cristalli di proteine (*Los Alamos Neutron Science Center*, LANSCE) che è la facility scientifica più importante della LANL. Per localizzare gli atomi dell'idrogeno nelle proteine è stato sviluppato anche un software (nCNS). Il metodo usato è quello geometrico. La difficoltà di questa procedura è nel determinare specialmente gli idrogeni legati con un atomo di carbonio con ibridizzazione sp^3 e specialmente determinare se un atomo di idrogeno è stato sostituito da un atomo di deuterio nella procedura di deuterizzazione.

Durante il periodo finanziato dal *Programma Short Term Mobility 2008* abbiamo studiato una tecnica alternativa ed innovativa: adattare la procedura "FreeLunch" (inclusa nel pacchetto "ILMILIONE" sviluppato presso Istituto di Cristallografia - CNR) per la cristallografia da neutroni sfruttando anche il *know-how* del team che lavora nella struttura ospitante.

La nostra procedura "FreeLunch" usa l'extrapolazione dei dati osservati (le intensità) partendo da una mappa di densità elettronica sperimentale (ottenuta da una tecnica di fase). La nuova procedura battezzata "nFreeLunch" parte da una mappa iniziale neutronica ottenuta dalle intensità osservate (dalla diffrazione neutronica sul cristallo della proteina) e dalle fasi ottenute dal "modello iniziale", cioè il modello determinato dalla cristallografia dei raggi X (senza le posizioni degli idrogeni). Come strutture test sono stati usati i dati raccolti presso LANSCE (mioglobina, rubredoxina e tripsina). Nella mappa iniziale si potevano identificare solo una decina di atomi di idrogeno (su un numero totale di

300-1000 atomi) con una distanza media pari a 0.6 Å. Nella mappa finale ottenuta dalla nostra nuova procedura abbiamo ottenuto circa il 40% degli atomi di idrogeno e con una distanza media pari a 0.2 Å.

I risultati finali ottenuti ed i principi della nuova procedura sono stati esposti in un seminario presso LANSCE.

Questi risultati incoraggianti saranno pubblicati su di una rivista scientifica internazionale e si spera di portare un impatto importante nella comunità di cristallografia neutronica delle proteine e la possibilità di sinergie tra progetti di ricerca tra CNR e LANL

- 2) Il fruitore ha partecipato nella analisi degli idrogeni degli enzimi tramite il metodo della diffrazione dei neutroni con TOF-Laue, una tecnica unica al mondo, in funzione presso PCS, partecipando ai vari stadi (dalla cristallizzazione al montaggio del cristallo nei capillari e dalla raccolta dei dati fino all'uso di vari programmi per l'estrazione delle intensità delle immagini di diffrazione, fino alle procedure di affinamento).

Bari, 10 /07/2008

In fede
Dott. Dritan Siliqi



Proponente
Prof. Carmelo Giacobazzo

