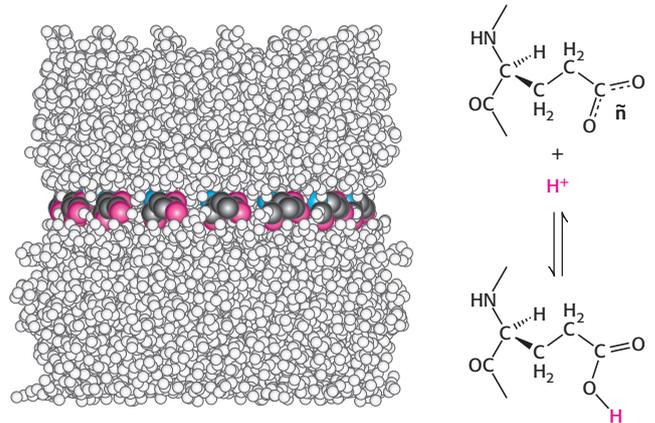
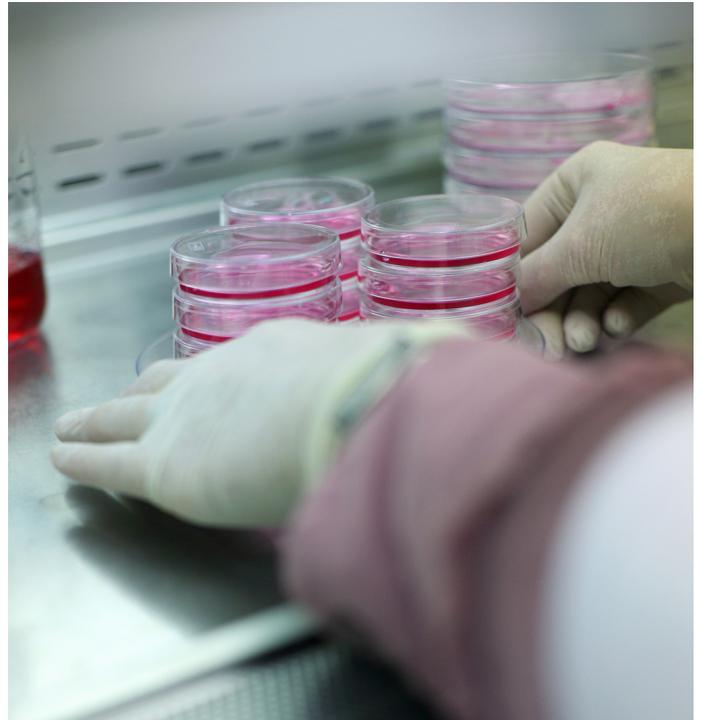


1

LA BIOCHIMICA: UNA SCIENZA IN EVOLUZIONE

La chimica in azione. Tutte le attività dell'uomo richiedono energia. L'interconversione tra le diverse forme di energia risulta possibile grazie all'intervento di grossi macchinari biochimici, costituiti da molte migliaia di atomi, come per esempio il complesso mostrato qui a fianco. Tuttavia, le funzioni di questi complessi macchinari dipendono da semplici reazioni chimiche, come per esempio la reazione di protonazione e di deprotonazione dei gruppi carbossilici, indicata a destra del complesso. [Foto © Emin KuliyeV/Shutterstock.com.]

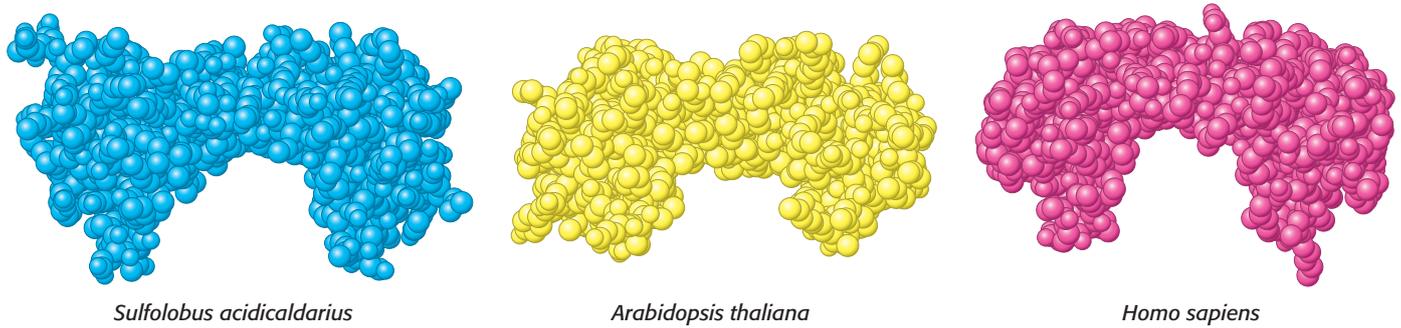


La biochimica è lo studio della chimica dei processi della vita. Dal 1828, quando fu scoperto che le molecole biologiche come l'urea possono essere sintetizzate da sistemi non viventi, molti scienziati si sono dedicati con grande impegno allo studio della chimica della vita. La messe di risultati fin qui ottenuti ha contribuito a risolvere molti dei problemi basilari che riguardano il funzionamento degli organismi viventi a livello biochimico. Certo, rimane molto da fare e, come spesso accade, ogni scoperta pone nuove domande, spesso più di quelle a cui ha risposto. Ci troviamo inoltre in un periodo che non ha precedenti per le opportunità che ci vengono offerte di applicare le conoscenze biochimiche ottenute alla medicina, all'agricoltura, alla medicina forense, all'antropologia, alle scienze ambientali e a molte altre discipline. Inizieremo il viaggio nel mondo della biochimica prendendo in considerazione una delle scoperte più sorprendenti del secolo scorso: l'uniformità di tutti i viventi a livello biochimico.

1.1 L'uniformità biochimica è la base della diversità biologica

Il mondo vivente è mirabilmente diversificato. Il regno animale è costituito da una grande quantità di specie, che vanno dagli insetti quasi microscopici, agli elefanti, e alle balene. Il regno vegetale comprende specie piccole e relativamente semplici, come le alghe, ma anche altre grandi e complesse, come le sequoie. Questa diversità è ancora maggiore se consideriamo la vita anche a livello microscopico. Gli organismi unicellulari, come i protozoi, i lieviti e i batteri, sono presenti in forme molto diversificate presenti nell'acqua, nel terreno, o come ospiti negli organismi superiori. Alcuni di questi possono sopravvivere, e anche riprodursi, in ambienti apparentemente ostili, come le sorgenti calde e i ghiacciai.

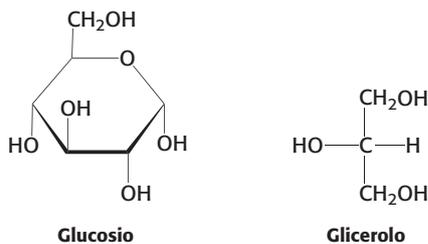
Il microscopio ha però messo in evidenza una caratteristica comune, da cui dipende la grande diversità esistente

**Figura 1.1** Diversità e similitudini in biologia

La forma di una molecola chiave nella regolazione genetica (la proteina che lega il TATA box) è simile in tre differenti organismi, separati l'uno dall'altro da miliardi di anni di evoluzione.

tra gli esseri viventi. Anche gli organismi di grandi dimensioni sono costituiti da *cellule*, molto simili agli organismi unicellulari. La costruzione di animali, piante e microrganismi a partire da cellule ha fatto supporre che tutti i viventi abbiano in comune più di quanto il loro aspetto esterno faccia pensare. Con lo sviluppo della biochimica si è visto che questa supposizione corrisponde al vero: a livello biochimico tutti gli organismi hanno caratteristiche comuni (**figura 1.1**).

Come si è detto, la biochimica è lo studio della chimica dei processi da cui dipende la vita. Questi processi implicano l'interazione tra due classi di molecole: da un lato le grandi molecole, come le proteine e gli acidi nucleici, dette *macromolecole biologiche*, e dall'altro molecole a basso peso molecolare, come il glucosio e il glicerolo, dette *metaboliti*, che subiscono continue trasformazioni nel corso dei processi biologici.



I membri di queste due classi di molecole sono gli sostan-

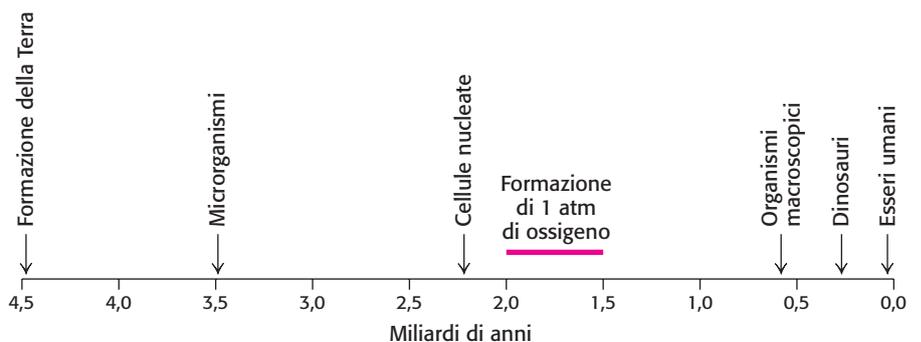
zialmente stessi in tutti gli esseri viventi. Per esempio, l'*acido deossiribonucleico* (DNA) conserva l'informazione genetica in tutti gli organismi cellulari. Le *proteine*, le macromolecole che partecipano in quasi tutti i processi biologici, sono formate in tutti gli organismi dalle stesse 20 unità costitutive. Inoltre, le proteine che svolgono ruoli simili in organismi diversi hanno spesso strutture tridimensionali altrettanto simili (vedi figura 1.1).

I processi metabolici fondamentali sono comuni a molti organismi. Per esempio, la successione delle trasformazioni chimiche, che convertono il glucosio in biossido di carbonio e acqua, è essenzialmente la stessa nei batteri, come l'*Escherichia coli* (*E. coli*), e nell'uomo. Anche processi che sembrano molto diversi hanno spesso caratteristiche comuni a livello biochimico. I sistemi biochimici attraverso cui le piante catturano l'energia luminosa per trasformarla in forme più utili sono molto simili a quelli utilizzati dagli animali per catturare l'energia rilasciata durante la demolizione del glucosio.

Da queste osservazioni si può ragionevolmente dedurre che tutti gli organismi viventi hanno un progenitore comune, da cui si sono evoluti fino a raggiungere le forme attuali. Da osservazioni di ordine geologico e biochimico è stato possibile ricostruire un percorso temporale del processo evolutivo (**figura 1.2**). Sulla base delle loro caratteristiche biochimiche i diversi organismi del mondo moderno si

Figura 1.2 Un possibile percorso temporale dell'evoluzione biochimica

Sono indicati alcuni eventi chiave del processo evolutivo. Si noti che la vita è comparsa sulla Terra circa 3,5 miliardi di anni fa, mentre l'uomo è comparso solo di recente.



possono dividere in tre gruppi principali, chiamati *domini*: gli *Eucaria* (eucarioti), i *Batteri*, e gli *Archaea*. Gli Eucaria comprendono tutti gli organismi multicellulari, inclusi gli esseri umani, e alcuni organismi microscopici unicellulari, come i lieviti. La principale caratteristica degli *eucarioti* è la presenza all'interno della cellula di un nucleo ben definito. Gli organismi unicellulari non possiedono il nucleo e vengono detti *procarioti*. Dopo la scoperta di Carl Woese nel 1977 che indicava che certi organismi, pur simili ai batteri, erano però biochimicamente distinguibili da tutte le specie batteriche fino ad allora caratterizzate, i procarioti sono stati suddivisi in due domini diversi. Questi organismi, che si sono separati dai batteri molto presto nel processo evolutivo, vengono chiamati *archaea*. Sulla base di osservazioni biochimiche è stato possibile costruire alberi evolutivi che da un progenitore comune giungono fino agli organismi attuali. Uno di essi è mostrato nella **figura 1.3**.

Gran parte di questo libro è dedicata all'analisi delle reazioni chimiche che avvengono negli organismi viventi, delle molecole che vi partecipano, e dei metaboliti che fanno parte di quei processi biologici comuni a tutti gli organismi. Questo approccio è possibile per l'uniformità biochimica di questi processi che avvengono negli organismi viventi. Organismi differenti presentano spesso specifiche necessità che possono dipendere dalla particolare nicchia biologica dove si sono evoluti e vivono attualmente. Confrontando i dettagli di specifiche vie metaboliche in organismi viventi differenti è possibile risalire ai meccanismi utilizzati per risolvere problemi di ordine biochimico. Nella maggioranza dei casi sembra che questi problemi siano stati risolti adattando macromolecole già esistenti a svolgere nuovi ruoli, senza dover produrre macromolecole interamente nuove tramite l'evoluzione.

La possibilità di esaminare dettagliatamente la struttura tridimensionale delle macromolecole biologiche ha contribuito notevolmente all'avanzamento della biochimica. Alcune di queste strutture sono semplici ed eleganti, mentre altre sono incredibilmente complicate. In ogni caso esse forniscono la base essenziale per la comprensione delle funzioni delle macromolecole biologiche. Inizieremo l'esplorazione del rapporto tra struttura e funzione dal materiale genetico, il DNA.

1.2 Il DNA illustra la relazione tra forma e funzione delle molecole

Una caratteristica fondamentale, comune a tutti gli organismi viventi, è l'uso di una particolare macromolecola, il DNA, per immagazzinare e conservare l'informazione genetica. La scoperta che il DNA svolge questo ruolo fondamentale è stata ottenuta negli anni 1940 nel corso di studi condotti sui batteri. Nel 1953 questa scoperta è stata seguita dalla delucidazione della struttura del DNA, che

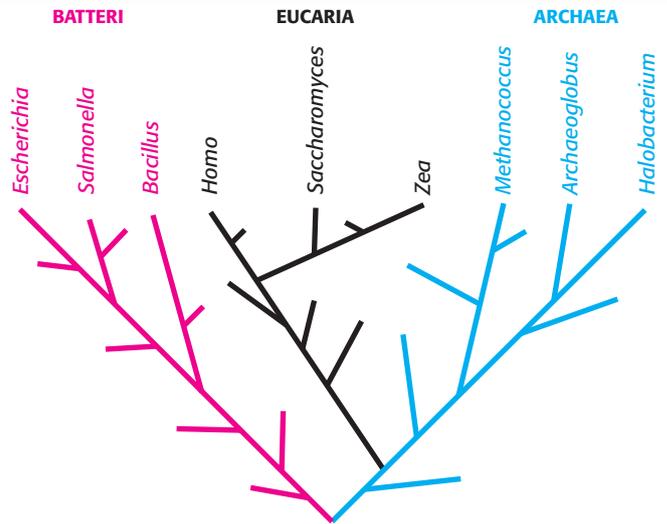


Figura 1.3 L'albero della vita

Un possibile percorso evolutivo da un progenitore comune, circa 3,5 miliardi di anni fa (parte bassa della figura), fino agli organismi che vivono oggi sulla Terra (parte alta della figura).

ha gettato le basi del rapido progresso della biochimica e di altre discipline, un processo che continua ancora oggi.

La struttura del DNA illustra molto bene un principio basilare, comune a tutte le macromolecole biologiche: la stretta relazione tra struttura e funzione. Le peculiari proprietà strutturali di questa macromolecola la rendono particolarmente adatta a fungere da efficiente e stabile veicolo dell'informazione genetica. Esamineremo prima la struttura covalente del DNA, da cui dipende la sua struttura tridimensionale.

IL DNA è formato da quattro unità costitutive

Il DNA è un *polimero lineare*, costituito da quattro tipi di monomeri. Possiede uno scheletro covalente, dal quale sporgono vari sostituenti (**figura 1.4**). Lo scheletro è formato da unità di zucchero-fosfato che si ripetono. Lo zucchero è il *deossiribosio*, dal quale il DNA prende il nome. Ogni unità di deossiribosio è legata a due gruppi fosforici. Inoltre, ciascuna unità di deossiribosio è orientata nello stesso modo e quindi la catena del DNA è polare, in quanto possiede due estremità. A ogni deossiribosio è legata una delle quattro basi: adenina (A), citosina (C), guanina (G) e timina (T).

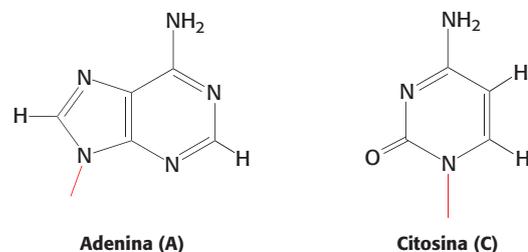
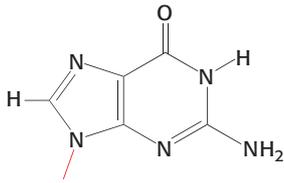
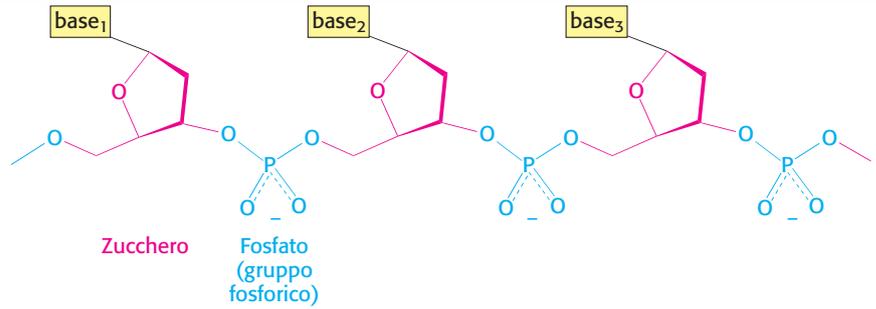
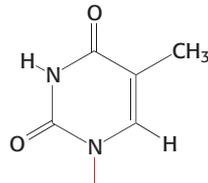


Figura 1.4 Struttura covalente di DNA

Ciascuna unità della struttura polimerica è composta da uno zucchero (deossiribosio), un gruppo fosforico e una delle quattro basi, che si estende fuori dello scheletro zucchero–fosfato.

**Guanina (G)****Timina (T)**

Queste basi sono unite agli zuccheri dello scheletro covalente del DNA tramite il legame mostrato nella figura 1.4. Tutte e quattro le basi sono planari, ma differiscono significativamente per altri aspetti. Ogni monomero di DNA consiste di una unità di zucchero–fosfato legato a una delle quattro basi. Lungo la catena di DNA le basi possono susseguirsi in qualunque ordine.

Due filamenti singoli si uniscono per formare una doppia elica

La maggior parte delle molecole di DNA consiste non di una ma di due strutture con un andamento elicoidale (**figura 1.5**). Nel 1953 James Watson e Francis Crick proposero una precisa disposizione reciproca dei due filamenti e quindi una possibile struttura tridimensionale del DNA. Questa

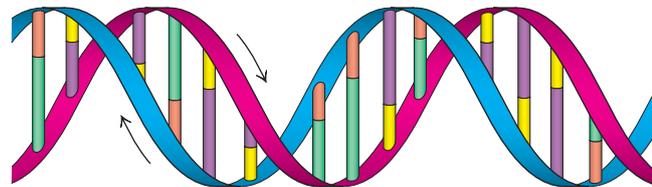
struttura è una *doppia elica*, composta da due catene che si avvolgono l'una all'altra, in modo tale che lo scheletro zucchero–fosfato sia all'esterno, e le basi all'interno della struttura. Il punto focale di questa organizzazione molecolare è la possibilità di formare *coppie di basi* (bp) specifiche, tenute unite da *legami idrogeno* (par. 1.3): l'adenina si appaia con la timina (A–T) e la guanina con la citosina (G–C), come mostrato nella **figura 1.6**. I legami idrogeno sono molto più deboli dei *legami covalenti*, come i legami carbonio–carbonio o carbonio–azoto con cui sono costruite le basi, ma sono essenziali in tutti i sistemi biologici: in quanto sono sufficientemente deboli da rompersi durante i processi biochimici, e sufficientemente forti da stabilizzare strutture come la doppia elica del DNA, quando esiste la possibilità di formarne molti.

La struttura del DNA spiega come viene immagazzinata e trasmessa l'informazione genetica

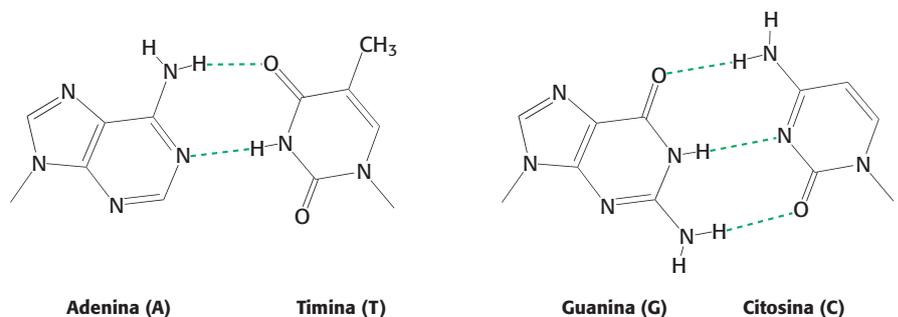
La struttura proposta da Watson e Crick ha due proprietà estremamente importanti che si adattano al ruolo che il DNA svolge nella trasmissione dell'informazione genetica. In primo luogo, la struttura è compatibile con qualsiasi se-

Figura 1.5 La doppia elica

La struttura della doppia elica del DNA proposta da Watson e Crick. Gli scheletri zucchero–fosfato delle due catene sono mostrati in rosso e in blu, e le basi in verde, viola, arancione e giallo. I due filamenti sono antiparalleli, cioè sono disposti in direzioni opposte, rispetto all'asse della doppia elica, come indicato dalle frecce.

**Figura 1.6** Appaiamenti delle basi di Watson e Crick

L'adenina si appaia con la timina (A–T), e la guanina con la citosina (G–C). Le linee verdi tratteggiate rappresentano i legami idrogeno.



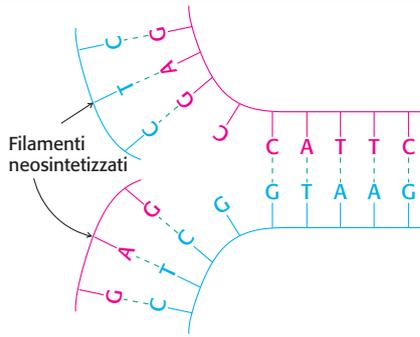


Figura 1.7 Replicazione del DNA

Se una molecola di DNA viene separata nei suoi due filamenti, ognuno di essi può fungere da stampo per generare il filamento complementare.

quenza di basi. Le due coppie di basi hanno essenzialmente la stessa forma (vedi figura 1.6) e quindi si collocano ugualmente bene nel centro della doppia elica, qualunque sia la loro sequenza. Non essendovi alcun impedimento alla formazione della sequenza delle basi, questa può fungere da deposito dell'informazione genetica. Questo è quindi il modo con cui viene conservata l'informazione genetica. La sequenza delle basi del DNA determina quella dell'acido ribonucleico (RNA), nonché la sequenza degli amminoacidi delle proteine, dalle quali dipende la gran parte delle attività cellulari.

Mediante appaiamento delle basi, la sequenza di basi di una catena determina la sequenza delle basi nell'altra. Watson e Crick scrissero, fin nel loro primo articolo in cui proposero la struttura del DNA: «Non è sfuggito alla nostra attenzione che lo specifico appaiamento delle basi da noi proposto suggerisce immediatamente un possibile meccanismo di copiatura del materiale genetico». Infatti la doppia elica si separa e ciascuna elica può fungere da stampo per la generazione dell'elica complementare corrispondente, attraverso la formazione di specifici appaiamenti di basi (figura 1.7). La struttura del DNA illustra brillantemente la stretta relazione tra forma e funzione.

1.3 I concetti base della chimica spiegano le proprietà delle molecole biologiche

Abbiamo visto come, servendoci dei principi della chimica che governano la formazione dei legami idrogeno tra le basi del DNA, si sia giunti alla comprensione di un importante processo biologico. Per rendere più facilmente comprensibili gli argomenti che verranno trattati in seguito nel libro, inizieremo lo studio della biochimica prendendo nuovamente in esame alcuni concetti della chimica, applicandoli ai sistemi biologici. Tratteremo brevemente i diversi tipi di legami chimici, la struttura dell'acqua, il solvente dove ha luogo la maggior parte dei processi biochimici, la prima e la seconda legge della termodinamica, e i principi chimici dei meccanismi acido-base. Utilizzeremo questi concetti

per esaminare uno degli archetipi dei processi biochimici, la formazione della doppia elica del DNA dai filamenti che la compongono. Si tratta solo di uno dei numerosi esempi che si sarebbero potuti scegliere per illustrare i principi chimici su elencati. Si tenga quindi presente che, anche se la discussione verterà sulla formazione della doppia elica del DNA, i concetti esposti hanno carattere generale e possono essere applicati alle altre classi di molecole e agli altri processi biochimici che verranno trattati in seguito nel libro.

La doppia elica può formarsi dai filamenti che la compongono

La scoperta che il DNA esiste sotto forma di una doppia elica, le cui basi sono appaiate secondo il modello di Watson e Crick, suggerisce, ma non prova, che le doppie eliche di DNA possano formarsi spontaneamente al di fuori dei sistemi biologici organizzati. Supponiamo di aver sintetizzato chimicamente due brevi segmenti di DNA, ognuno dei quali possieda una sequenza complementare a quella dell'altro: una volta mescolati essi dovrebbero formare una doppia elica come quella descritta da Watson e Crick. Supponiamo che le due sequenze siano CGATTAAT e ATTAATCG. Le strutture delle due molecole in soluzione possono essere esaminate, utilizzando tecniche diverse. Ogni singola catena isolata non si appaia con se stessa, e quindi in soluzione esiste esclusivamente come singola catena. Però, se le due sequenze vengono mescolate, si forma una doppia elica, le cui basi sono appaiate secondo il modello di Watson e Crick (figura 1.8). La reazione procede quasi fino a compimento.

Quali sono le forze responsabili del legame che unisce un filamento all'altro? Per analizzare la reazione che unisce i due filamenti dobbiamo tener presenti vari fattori: i tipi di interazione e di legame nei sistemi biologici e l'energia che rende possibile una specifica reazione. Bisogna anche tenere presente l'influenza delle condizioni della soluzione e in particolare le conseguenze delle reazioni acido-base.

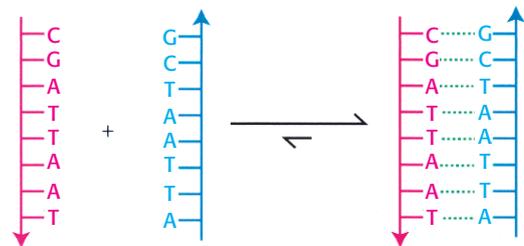


Figura 1.8 Formazione di una doppia elica

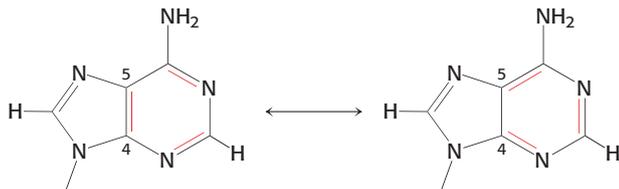
Quando due filamenti di DNA con sequenze di basi complementari vengono mescolati, questi si organizzano spontaneamente in forma di doppia elica.

I legami covalenti e non covalenti sono importanti per la struttura e per conferire stabilità alle molecole biologiche

Gli atomi interagiscono l'uno con l'altro, formando legami chimici. Tali legami includono i legami covalenti, che definiscono la struttura della molecola, ma anche i legami non covalenti, ugualmente importanti in biochimica.

I LEGAMI COVALENTI I legami più forti sono i legami covalenti, cioè quelli che tengono insieme gli atomi delle singole basi (vedi pp. 3-4). I legami covalenti si formano quando due atomi adiacenti condividono due elettroni. Un tipico legame covalente carbonio-carbonio (C—C) ha una lunghezza di 1,54 Å, e un'energia di legame di 355 kJ mol⁻¹ (85 kcal mol⁻¹).^{*} Essendo i legami covalenti così forti, è necessario spendere quantità considerevoli di energia per romperli. Se due atomi mettono in comune più di due elettroni, si formano legami covalenti multipli. Per esempio, tre delle basi della figura 1.6 hanno legami doppi C=O. Questi sono ancora più forti dei legami singoli C—C, hanno energie di legame vicine a 730 kJ mol⁻¹ (175 kcal mol⁻¹), ma sono alquanto più corti.

Nelle formule di alcune molecole i legami covalenti possono essere presenti in posizioni diverse. Per esempio, l'adenina può essere scritta in due formule equivalenti, chiamate *strutture di risonanza*.



Queste due formule dell'adenina mostrano due diverse disposizioni dei legami singoli e doppi all'interno della stessa struttura. Le forme di risonanza sono tra loro correlate da una freccia a due punte. La struttura reale dell'adenina è costituita da un insieme delle due forme di risonanza. Questa interconversione strutturale si riflette sulla lunghezza dei legami, come per esempio la lunghezza del legame che unisce gli atomi di carbonio C-4 e C-5, che è infatti di 1,40 Å, un valore intermedio tra quello del legame singolo C—C (1,54 Å) e quello del legame doppio C=C (1,34 Å). Una molecola che può essere scritta in

* UNITÀ DI LUNGHEZZA E DI ENERGIA

Le distanze interatomiche e le lunghezze dei legami vengono generalmente misurate in angstrom (Å): 1 Å = 10⁻¹⁰ m = 10⁻⁸ cm = 0,1 nm. Vengono comunemente usate varie unità di energia. Un joule (J) è il lavoro compiuto dalla forza di 1 newton per produrre lo spostamento di 1 metro. Un kilojoule (kJ) corrisponde a 1000 joule. Una caloria è la quantità di energia necessaria per aumentare la temperatura di 1 grammo di acqua di 1 grado Celsius. Una kilocaloria (kcal) corrisponde a 1000 calorie. Un joule è uguale a 0,239 calorie.

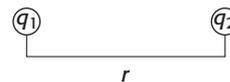
varie forme di risonanza, ciascuna delle quali ha approssimativamente la stessa energia, ha una stabilità maggiore di una molecola che non presenta alcuna possibilità di risonanza.

I LEGAMI NON COVALENTI I legami non covalenti sono più deboli di quelli covalenti, ma sono essenziali nei processi biochimici, come la formazione della doppia elica del DNA. I quattro tipi fondamentali di legami non covalenti sono le *interazioni elettrostatiche*, i *legami idrogeno*, le *interazioni di van der Waals* e le *interazioni idrofobiche*. Essi differiscono per geometria, forza e specificità e inoltre, sono influenzati in modi molto diversi dalla presenza di molecole di acqua. Consideriamo le principali caratteristiche di ciascuna di queste interazioni deboli:

1. *Le interazioni elettrostatiche.* Un gruppo carico presente in una molecola può attrarre un gruppo con carica opposta di un'altra molecola. L'energia dell'interazione elettrostatica è data dalla *legge di Coulomb*:

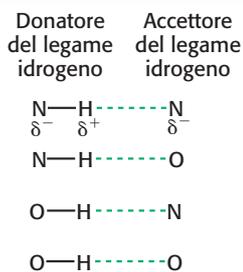
$$E = kq_1q_2/Dr$$

dove E è l'energia, q_1 e q_2 sono le cariche sui due atomi (in unità di carica elettronica), r è la distanza tra i due atomi (in angstrom), D è la costante dielettrica (che dipende dal mezzo), e k è una costante di proporzionalità ($k = 1389$, se l'energia viene misurata in kJ mol⁻¹, o 332 se misurata in kcal mol⁻¹).



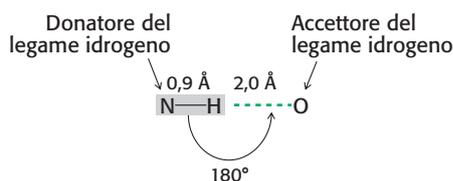
Per convenzione, un'interazione attrattiva ha un'energia con valore negativo. L'interazione elettrostatica tra due ioni, che hanno cariche opposte separate da 3 Å in acqua (che ha una costante dielettrica di 80), ha un'energia di -5,8 kJ mol⁻¹ (-1,4 kcal mol⁻¹). Si noti l'importanza della costante dielettrica del mezzo. L'energia di legame degli stessi ioni, separati da 3 Å in un solvente come il cicloesano (che ha una costante dielettrica di 2), è di -232 kJ mol⁻¹ (-55 kcal mol⁻¹).

2. *I legami idrogeno.* Queste interazioni sono essenzialmente di tipo elettrostatico. I legami idrogeno sono responsabili dello specifico appaiamento delle basi nella doppia elica del DNA. In un legame idrogeno, un atomo di idrogeno è condiviso da due atomi elettronegativi, per esempio azoto e ossigeno. Il *donatore del legame idrogeno* è il gruppo che include sia l'atomo a cui l'idrogeno è legato più saldamente, sia l'atomo di idrogeno stesso, mentre l'*accettore del legame idrogeno* è l'atomo legato meno saldamente all'idrogeno (figura 1.9). L'atomo elettronegativo, a cui l'idrogeno è legato covalentemente, spinge la nube elettronica lontano dall'atomo di idrogeno, che quindi acquista una parziale carica positiva (δ^+). Quindi questo atomo di idrogeno può interagire

**Figura 1.9** Legami idrogeno

I legami idrogeno sono indicati da linee tratteggiate verdi. Sono anche indicate le posizioni delle cariche parziali (δ^+ e δ^-).

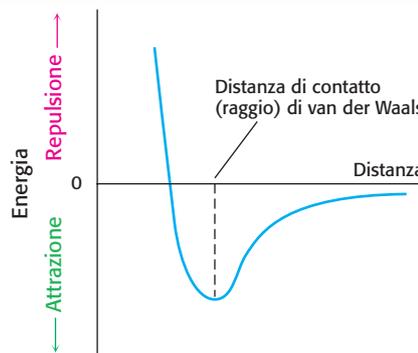
elettrostaticamente con un atomo che ha una parziale carica negativa (δ^-).



I legami idrogeno sono molto più deboli dei legami covalenti. Essi hanno energie che variano tra 4 e 20 kJ mol⁻¹ (da 1 a 5 kcal mol⁻¹). I legami idrogeno sono anche alquanto più lunghi dei legami covalenti; la loro lunghezza, misurata dall'atomo di idrogeno, varia da 1,5 Å a 2,6 Å; quindi i due atomi elettronegativi sono separati da una distanza variabile da 2,4 a 3,5 Å. I legami idrogeno più forti tendono a essere approssimativamente direzionali, cioè l'atomo elettronegativo donatore, l'idrogeno, e l'atomo elettronegativo accettore giacciono su una retta. I legami idrogeno sono responsabili di molte proprietà dell'acqua conferendole, come vedremo tra poco, speciali proprietà di solvente.

3. *Le interazioni di van der Waals.* Le interazioni di van der Waals dipendono da variazioni nel tempo della distribuzione della carica elettronica intorno agli atomi. In ogni istante, la distribuzione della carica in un atomo non è del tutto simmetrica. Questa asimmetria transitoria della carica elettronica induce un'asimmetria complementare nella distribuzione elettronica negli atomi circostanti; quindi un atomo e quelli vicini si attraggono l'un l'altro. L'attrazione aumenta man mano che gli atomi si avvicinano tra loro, fino a che sono separati solo dalla *distanza di contatto* (o *raggio*) di van der Waals (**figura 1.10**). A distanze più piccole della distanza di van der Waals prevalgono forze repulsive molto forti, in quanto le nubi elettroniche esterne degli atomi tendono a sovrapporsi.

Le energie associate con le interazioni di van der Waals sono molto piccole; l'energia di una tipica interazione varia da 2 a 4 kJ mol⁻¹ (0,5-1 kcal mol⁻¹) per coppia di atomi. Quando però sono due molecole di

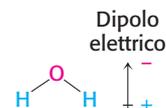
**Figura 1.10** Energia di una interazione di van der Waals, in funzione della distanza tra gli atomi

L'energia è più favorevole quando la distanza di contatto corrisponde al raggio di van der Waals dei due atomi. Se gli atomi si avvicinano ancora, l'energia cresce rapidamente a causa della repulsione tra gli elettroni.

grandi dimensioni che tendono ad avvicinarsi, un gran numero di atomi possono formare contatti di van der Waals e l'energia dell'interazione può diventare significativa.

LE PROPRIETÀ DELL'ACQUA L'acqua è il solvente in cui avvengono quasi tutte le reazioni biochimiche. Le sue proprietà sono fondamentali per la formazione delle strutture macromolecolari e per lo svolgimento delle reazioni chimiche. Due proprietà dell'acqua sono particolarmente rilevanti: la polarità e la coesività.

1. *L'acqua è una molecola polare.* La molecola dell'acqua non è lineare, ma ha una forma ripiegata; per questo la distribuzione delle cariche è asimmetrica. Il nucleo dell'ossigeno attrae gli elettroni dai nuclei di idrogeno. Quindi la regione che circonda ciascun atomo di idrogeno diventa carica positivamente. La molecola di acqua può quindi essere considerata una struttura elettricamente polare.



2. *L'acqua è altamente coesiva.* Le molecole di acqua interagiscono fortemente tra loro tramite legami idrogeno. Queste interazioni sono evidenti nella struttura del ghiaccio (**figura 1.11**) la cui struttura è mantenuta compatta da una rete di questi legami. Simili interazioni legano le molecole tra loro anche nell'acqua allo stato liquido e sono responsabili dell'elevato grado di coesione dell'acqua, anche se circa un quarto dei legami presenti nel ghiaccio sono persi durante la sua fusione. La natura polare dell'acqua è responsabile dell'elevato valore della sua costante dielettrica, pari a 80. Le molecole presenti in una soluzione acquosa reagiscono con le molecole di acqua attraverso la formazione di legami idrogeno o attraverso la formazione di interazioni ioniche. Questa reattività rende l'acqua un solvente particolarmente ver-

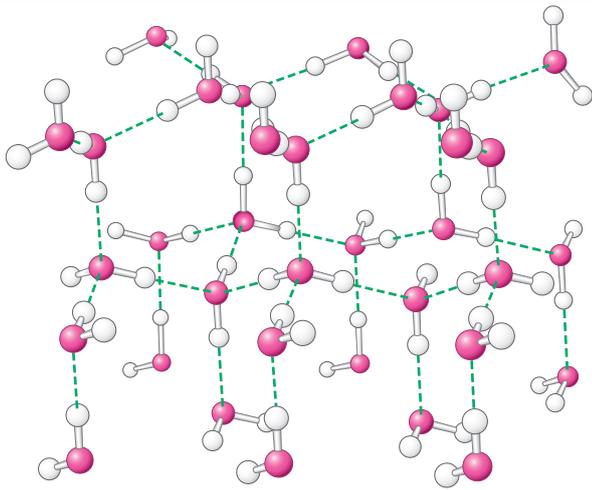


Figura 1.11 Struttura del ghiaccio

I legami idrogeno (rappresentati come linee tratteggiate verdi) si formano tra le molecole di acqua, dando origine a una struttura altamente ordinata.

satile, capace di sciogliere molte specie molecolari, cioè composti polari o carichi che possono dare origine a interazioni con l'acqua.

L'EFFETTO IDROFOBICO Un'altra interazione fondamentale, chiamata *effetto idrofobico*, è una manifestazione delle proprietà dell'acqua. Alcune molecole (chiamate *molecole non polari*) non possono formare legami idrogeno o interazioni ioniche. Le interazioni tra le molecole non polari e le molecole di acqua non sono così favorite come quelle che si generano tra molecole di acqua. Queste si organizzano intorno a queste molecole non polari formando delle «gabbie», in modo più ordinato rispetto alle molecole di acqua libere in soluzione. Quando due di queste molecole non polari vengono a contatto tra loro, alcune molecole di acqua che le avvolgevano si liberano dalle «gabbie» e vanno a interagire con altre molecole di acqua (**figura 1.12**). Il rilascio dell'acqua è favorito, per motivi che verranno discussi tra breve. Il risultato è che nell'acqua le molecole non polari tendono ad associarsi tra loro meglio che non in solventi meno polari. Questa tendenza si chiama «effetto idrofobico», e le interazioni a essa dovute sono dette *interazioni idrofobiche*.

La doppia elica è un'espressione delle regole della chimica

Vediamo ora come le quattro interazioni non covalenti cooperano tra loro per realizzare l'associazione dei due filamenti di DNA nel formare la doppia elica. Per prima cosa, ricordiamo che tutti i gruppi fosforici del DNA recano una carica negativa. Questi gruppi carichi negativamente tendono a respingersi; perciò, quando due eliche di DNA si avvicinano, le interazioni elettrostatiche saranno sfavorevoli. Ad ogni modo, questi gruppi fosforici si trovano separati

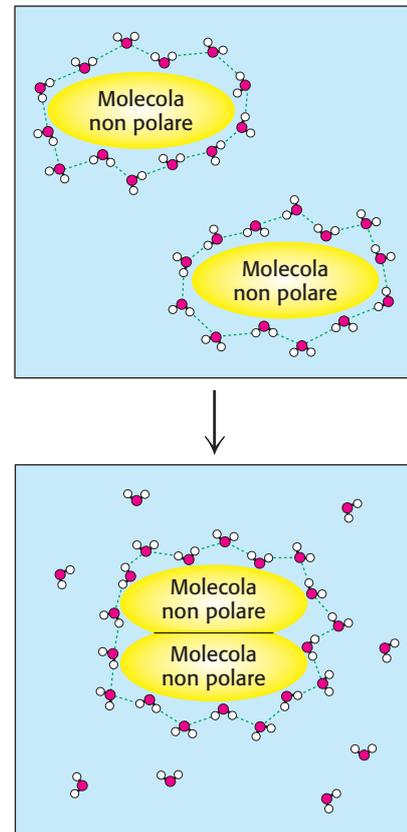
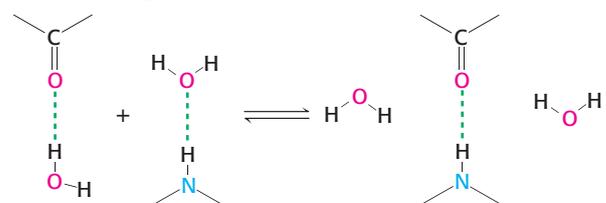


Figura 1.12 L'effetto idrofobico

L'aggregazione di gruppi non polari in acqua conduce al rilascio delle molecole di acqua che inizialmente interagivano con le superfici non polari presenti nel solvente acquoso. Il rilascio delle molecole di acqua in soluzione favorisce l'aggregazione dei gruppi non polari.

l'uno dall'altro nella doppia elica da più di 10 Å, ma queste cariche sono molto numerose (**figura 1.13**). Quindi le interazioni elettrostatiche negative tra le due catene dovrebbero opporsi alla formazione della doppia elica. In realtà la forza delle repulsioni elettrostatiche viene diminuita dalla costante dielettrica dell'acqua e dalla presenza di specie ioniche in soluzione, come Na^+ e Mg^{2+} . Questi ioni carichi positivamente interagiscono con i gruppi fosforici, e in parte ne neutralizzano le cariche negative.

In secondo luogo, abbiamo già evidenziato l'importanza dei legami idrogeno nella formazione di specifiche coppie di basi nella doppia elica. Però nella singola elica del DNA i gruppi donatori e accettori di legami idrogeno sono esposti al solvente e possono formare legami idrogeno con le molecole di acqua.



Quando due filamenti singoli si avvicinano, i legami idro-

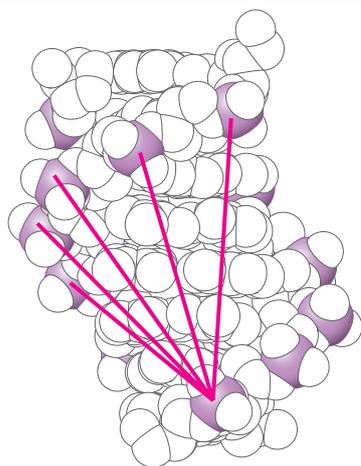


Figura 1.13 Interazioni elettrostatiche nel DNA

Ciascuna unità nella doppia elica del DNA ha un gruppo fosforico (l'atomo di fosforo è in colore viola), che reca una carica negativa. Le interazioni sfavorevoli (che tenderebbero a destabilizzare l'elica) tra un fosfato e gli altri sono rappresentati da linee rosse. Queste forze repulsive si oppongono alla formazione della doppia elica.

geno con le molecole di acqua si spezzano e si formano nuovi legami idrogeno tra gruppi presenti nelle basi. Poiché il numero dei legami idrogeno che si spezzano è lo stesso di quelli che si formano, il processo non contribuisce a stabilizzare la doppia elica. Però la specificità di legame tra le basi dipende dalla formazione dei legami idrogeno. Supponiamo che due basi che non si possono appaiare secondo il modello di Watson e Crick si avvicinino l'una all'altra. I legami idrogeno con l'acqua devono rompersi quando le basi vengono a contatto tra loro, ma non essendo le basi strutturalmente complementari, non tutti i legami idrogeno possono essere rimpiazzati contemporaneamente con nuovi legami idrogeno tra le basi. Quindi in questo caso la formazione della doppia elica non è favorita.

Inoltre, nella doppia elica le coppie di basi sono parallele e sovrapposte l'una all'altra. Di regola, ciascun piano formato da una coppia di basi è separato dal piano adiacente da $3,4 \text{ \AA}$ e le distanze tra gli atomi a più stretto contatto sono di circa $3,6 \text{ \AA}$. Questa distanza tra i piani corrisponde alla distanza di contatto di van der Waals (figura 1.14). Le basi tendono a sovrapporsi anche nelle molecole di DNA a singolo filamento, ma la sovrapposizione delle basi e le distanze dei contatti di van der Waals sono ottimali solo nel DNA a doppia elica.

Gli effetti idrofobici contribuiscono quindi a stabilizzare la sovrapposizione delle basi man mano che le superfici non polari si organizzano, le molecole di acqua vengono allontanate stabilizzando sempre più la struttura.

I principi che governano la formazione della doppia elica si applicano a molti altri processi biochimici. Molte interazioni deboli, alcune favorevoli, altre sfavorevoli, contribuiscono all'energia globale associata a ciascun processo. Una caratteristica fondamentale dei processi biologici è la

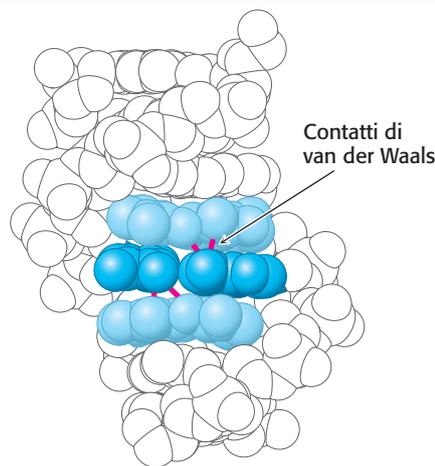


Figura 1.14 Sovrapposizione delle basi

Nella doppia elica del DNA le coppie di basi adiacenti sono quasi interamente sovrapposte l'una all'altra; quindi gli atomi di ogni coppia di basi sono separati tra loro da distanze pari ai contatti di van der Waals. La coppia di basi centrale è rappresentata in blu, e le coppie di basi adiacenti in azzurro. Alcuni contatti di van der Waals sono rappresentati in rosso.

complementarità delle superfici molecolari; quando queste strutture complementari si contrappongono, i gruppi donatori di legami idrogeno si allineano con i gruppi accettori e le superfici non polari si avvicinano, per massimizzare le interazioni di van der Waals e minimizzare l'esposizione all'ambiente acquoso delle superfici non polari. Le proprietà dell'acqua svolgono un ruolo chiave nel determinare la specificità delle interazioni tra le molecole.

Le leggi della termodinamica governano il comportamento dei sistemi biologici

Possiamo considerare la formazione della doppia elica del DNA da un altro punto di vista, quello della termodinamica. Le leggi della termodinamica sono principi generali che possono essere applicati a tutti i processi chimici e fisici. Queste leggi sono di grande importanza, in quanto determinano le condizioni che rendono possibili specifici processi. Considereremo le leggi prima da un punto di vista generale, per poi applicarle alla formazione della doppia elica.

Le leggi della termodinamica distinguono tra un sistema e il suo ambiente circostante. Il *sistema* si riferisce alla materia presente in una regione dello spazio ben definita. La materia del resto dell'universo è chiamata *ambiente esterno*. *La prima legge della termodinamica stabilisce che l'energia totale di un sistema e dell'ambiente esterno è costante*. In altre parole, l'energia dell'universo è costante, cioè l'energia non può essere né creata, né distrutta, ma può assumere forme diverse. Per esempio, il calore, una forma di energia, è una manifestazione dell'*energia cinetica* associata al movimento casuale delle molecole. Alternativamente, l'energia può trovarsi sotto forma di *energia potenziale*, cioè sotto forma di energia che può essere rilasciata per far avvenire un pro-

cesso. Consideriamo, per esempio, una palla ferma in cima a una torre, che possiede una considerevole energia potenziale. Quando viene lasciata cadere, la palla sviluppa energia cinetica associata al movimento che si genera durante la caduta. Se consideriamo una reazione chimica, l'energia potenziale a essa associata è correlata alla probabilità che gli atomi hanno di reagire gli uni con gli altri. Per esempio, una miscela di ossigeno e benzina possiede una elevata energia potenziale, in quanto i due composti possono reagire tra loro formando biossido di carbonio e acqua. La prima legge della termodinamica applicata alle reazioni chimiche stabilisce che l'energia rilasciata durante la formazione dei legami chimici deve essere utilizzata per rompere altri legami, rilasciata sotto forma di calore, oppure immagazzinata sotto qualche altra forma.

Un altro importante concetto termodinamico è quello dell'entropia, che può essere considerata come una misura del grado di disordine di un sistema. *La seconda legge della termodinamica stabilisce che durante una trasformazione spontanea l'entropia di un sistema sommata a quella dell'ambiente esterno tende ad aumentare.* Per esempio, il rilascio dell'acqua dalle superfici non polari, responsabile dell'effetto idrofobico, è favorito in quanto le molecole di acqua libere in soluzione si trovano in una situazione più disordinata rispetto a quando erano organizzate sulle superfici non polari. A prima vista la seconda legge della termodinamica sembra contraddire la nostra esperienza comune, in particolare per quanto riguarda i sistemi biologici. Molti processi biologici, come per esempio la formazione di una foglia dal biossido di carbonio gassoso e altri nutrienti, chiaramente aumentano il loro ordine interno, cioè diminuiscono la loro entropia. Quando si formano strutture ordinate, l'entropia può diminuire localmente, ma può aumentare della stessa entità (o anche di più) in altre parti dell'universo. La diminuzione locale dell'entropia spesso si accompagna a rilascio di calore, che fa aumentare l'entropia dell'ambiente esterno.

Possiamo analizzare questi concetti in termini quantitativi e consideriamo dapprima il sistema. L'entropia (S) del sistema può cambiare nel corso di una reazione chimica di una quantità pari a $\Delta S_{\text{sistema}}$. Se fluisce calore dal sistema all'ambiente esterno, allora il contenuto termico del sistema, spesso riferito come *entalpia* (H), diminuirà della quantità $\Delta H_{\text{sistema}}$. Per applicare il secondo principio della termodinamica bisogna determinare la variazione di entropia dell'ambiente esterno. Se il calore fluisce dal sistema all'ambiente circostante, l'entropia dell'ambiente esterno aumenta. L'entità precisa della variazione di entropia dell'ambiente esterno dipende dalla temperatura: è più elevata quando si somministra calore a un ambiente relativamente freddo, rispetto a quando si somministra calore a un ambiente già sufficientemente caldo, che quindi possiede un elevato grado di disordine. Per essere più precisi, la variazione di entropia dell'ambiente esterno è direttamente

proporzionale al calore trasferito dal sistema e inversamente proporzionale alla temperatura (T) dell'ambiente. Nei sistemi biologici, T [in kelvin (K), temperatura assoluta] è generalmente costante. Quindi la variazione di entropia dell'ambiente è data da

$$\Delta S_{\text{ambiente}} = -\Delta H_{\text{sistema}}/T \quad (1)$$

La variazione totale di entropia è data dall'espressione

$$\Delta S_{\text{totale}} = \Delta S_{\text{sistema}} + \Delta S_{\text{ambiente}} \quad (2)$$

Sostituendo l'equazione 1 nell'equazione 2, si ottiene

$$\Delta S_{\text{totale}} = \Delta S_{\text{sistema}} - \Delta H_{\text{sistema}}/T \quad (3)$$

Moltiplicando per $-T$ si ottiene

$$-T\Delta S_{\text{totale}} = \Delta H_{\text{sistema}} - T\Delta S_{\text{sistema}} \quad (4)$$

La funzione $-T\Delta S$ è espressa in unità di energia, e corrisponde all'*energia libera*, o *energia libera di Gibbs*, da Josiah Willard Gibbs, che introdusse questa funzione nel 1878:

$$\Delta G = \Delta H_{\text{sistema}} - T\Delta S_{\text{sistema}} \quad (5)$$

La variazione di energia libera, ΔG , verrà usata in questo libro per descrivere gli aspetti energetici delle reazioni biochimiche. L'energia libera di Gibbs sostanzialmente tiene conto sia dell'entropia del sistema (direttamente) sia dell'entropia dell'ambiente circostante (sotto forma di calore rilasciato dal sistema).

Bisogna ricordare che la seconda legge della termodinamica stabilisce che, quando un processo avviene spontaneamente, l'entropia dell'universo aumenta. L'equazione 3 mostra che l'entropia totale può aumentare solo se

$$\Delta S_{\text{sistema}} > \Delta H_{\text{sistema}}/T \quad (6)$$

Ovvero, moltiplicando per T , $T\Delta S_{\text{sistema}} > \Delta H_{\text{sistema}}$. In altre parole, l'entropia aumenterà se e solo se

$$\Delta G = \Delta H_{\text{sistema}} - T\Delta S_{\text{sistema}} < 0 \quad (7)$$

Quindi una reazione può procedere spontaneamente solo se la sua variazione di energia libera è negativa. *La variazione di energia libera è negativa quando la variazione di entropia totale dell'universo aumenta.* La variazione di energia libera è un singolo termine che dipende dall'entropia del sistema e dall'entropia dell'ambiente esterno.

Durante la formazione della doppia elica si libera calore

Vediamo ora come i principi della termodinamica si applicano alla formazione della doppia elica del DNA (**figura 1.15**). Immaginiamo di mescolare due soluzioni, ciascuna contenente un tipo di filamento. Prima che si formi la doppia elica, ciascuno dei filamenti è libero di spostarsi e di ruotare in soluzione, mentre nella doppia elica ciascun filamento deve muoversi insieme all'altro. Inoltre, i filamenti

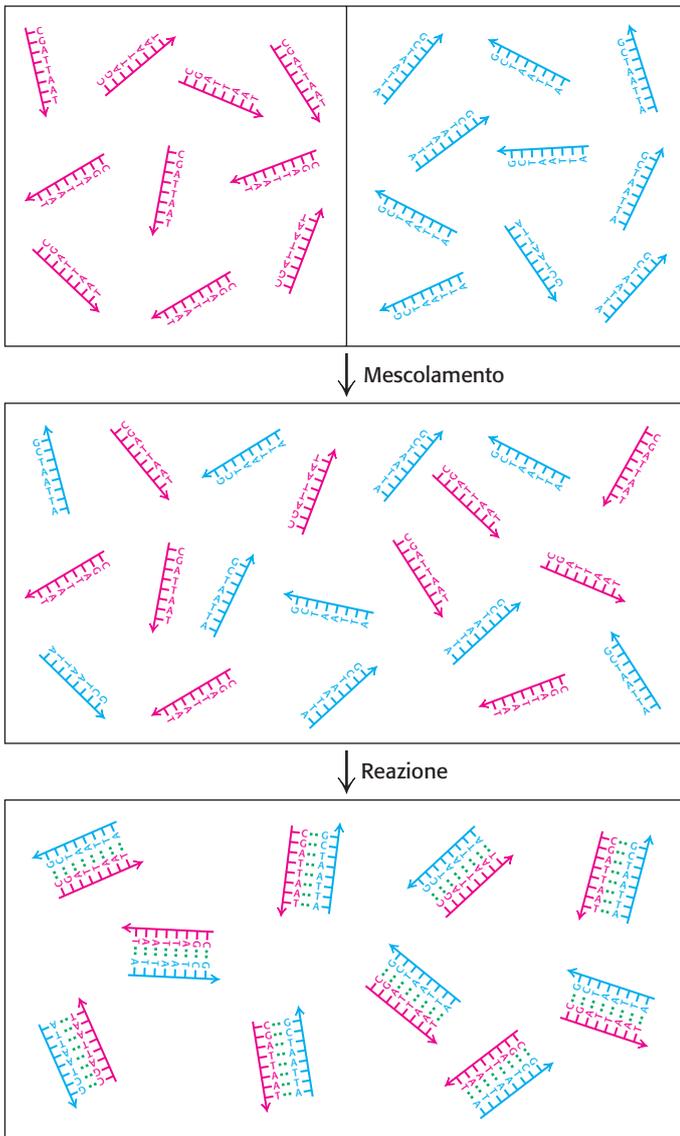


Figura 1.15 Formazione della doppia elica ed entropia
Quando vengono mescolate soluzioni contenenti filamenti di DNA con sequenze complementari, i filamenti reagiscono tra loro formando doppie eliche. Questo processo risulta in una diminuzione di entropia del sistema, per cui deve essere rilasciato calore verso l'ambiente esterno, per non violare la seconda legge della termodinamica.

singoli possiedono più possibili conformazioni di quando sono uniti l'uno all'altro nella doppia elica. Quindi la formazione della doppia elica da due singoli filamenti porta a un aumento dell'ordine del sistema, cioè a una diminuzione dell'entropia del sistema.

Sulla base di questa analisi, ci aspettiamo che la doppia elica non possa formarsi senza andare contro i dettami della seconda legge della termodinamica, a meno che non venga rilasciato calore per aumentare l'entropia dell'ambiente esterno. È possibile misurare sperimentalmente il calore rilasciato mescolando le due soluzioni contenenti i filamenti singoli che dovranno formare la doppia elica, all'interno di un bagno termostatico, che nel nostro caso rappresen-

ta l'ambiente esterno. Si può misurare così la quantità di calore che deve essere assorbita o rilasciata dall'acqua per mantenerla a temperatura costante. Questo esperimento rivela che viene rilasciata una notevole quantità di calore, corrispondente a circa 250 kJ mol^{-1} (60 kcal mol^{-1}). La variazione di entalpia del processo è quindi considerevole, pari a -250 kJ mol^{-1} ; questo risultato è in accordo con la nostra previsione che, per non violare il secondo principio della termodinamica, è necessario rilasciare calore durante il processo. Possiamo renderci conto in termini quantitativi in che modo può aumentare l'ordine all'interno di un sistema, rilasciando una quantità sufficiente di calore nell'ambiente esterno, in modo che l'entropia dell'universo possa ugualmente aumentare. Incontreremo nuovamente situazioni del genere in altri capitoli del libro.

Le reazioni acido-base svolgono un ruolo fondamentale in molti processi biochimici

Trattando la formazione della doppia elica abbiamo preso in considerazione solo i legami non covalenti, che si formano e si rompono durante il processo. Moltissimi altri processi biochimici comportano però la formazione e la rottura di legami covalenti. Tra questi, particolarmente importanti sono le *reazioni acido-base*.

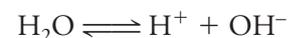
In queste reazioni gli idrogenioni si legano o sono rilasciati da particolari molecole. In altri capitoli del libro incontreremo molti processi in cui l'aggiunta o la rimozione di atomi di idrogeno sono eventi cruciali, come per esempio i processi metabolici che portano al consumo dei carboidrati e al rilascio di energia destinata ad altri utilizzi. Per questo motivo è di fondamentale importanza conoscere in maniera approfondita i principi alla base di queste reazioni. Lo ione idrogeno (o idrogenione), indicato quasi sempre come H^+ , corrisponde al protone. Però, in soluzione acquosa gli idrogenioni si legano alle molecole di acqua, formando gli *ioni idronio*, H_3O^+ . Per semplicità, continueremo a scrivere H^+ , ma bisognerebbe sempre ricordare che in realtà si tratta di una forma abbreviata e semplificata della specie presente in soluzione.

La concentrazione degli ioni idrogeno viene espressa dal pH. Il *pH* di una soluzione è così definito:

$$\text{pH} = -\log[\text{H}^+]$$

dove $[\text{H}^+]$ è espresso in moli per litro (molarità). Quindi pH 7,0 si riferisce a una soluzione per la quale $-\log[\text{H}^+] = 7,0$. Ne consegue che $\log[\text{H}^+] = -7,0$ e $[\text{H}^+] = 10^{\log[\text{H}^+]} = 10^{-7} = 1,0 \times 10^{-7} \text{ M}$.

Il pH esprime indirettamente anche la concentrazione in soluzione degli ossidrioni, $[\text{OH}^-]$. Infatti, ricordando che l'acqua si dissocia in H^+ e OH^- secondo la reazione



la costante di equilibrio (K) della reazione di dissociazione sarà data da:

$$K = \frac{[\text{H}^+][\text{OH}^-]}{[\text{H}_2\text{O}]}$$

il cui valore è $K = 1,8 \times 10^{-16}$. Si noti che la costante di equilibrio formalmente non si esprime in alcuna unità. Per calcolare il valore di K , si assume sempre che le concentrazioni siano espresse utilizzando una particolare unità di misura; in questo, come nella grande maggioranza dei casi, la concentrazione viene espressa in molarità (M).

La concentrazione dell'acqua, $[\text{H}_2\text{O}]$, nell'acqua pura è 55,5 M, e rimane costante in quasi tutte le condizioni, sia fisiologiche, sia sperimentali. Possiamo quindi definire una nuova costante, K_W :

$$K_W = K[\text{H}_2\text{O}] = [\text{H}^+][\text{OH}^-]$$

$$K[\text{H}_2\text{O}] = 1,8 \times 10^{-16} \times 55,5 = 1,0 \times 10^{-14}$$

Essendo $K_W = [\text{H}^+][\text{OH}^-] = 1,0 \times 10^{-14}$, sarà

$$[\text{OH}^-] = 10^{-14}/[\text{H}^+] \quad \text{e} \quad [\text{H}^+] = 10^{-14}/[\text{OH}^-]$$

Servendoci di queste relazioni e conoscendo il valore di pH, possiamo calcolare facilmente la concentrazione degli ossidrili in soluzioni acquose. Per esempio, a pH 7,0 sappiamo che $[\text{H}^+] = 10^{-7}$ M, e quindi sarà $[\text{OH}^-] = 10^{-14}/10^{-7} = 10^{-7}$ M. In soluzione acida la concentrazione degli ioni idrogeno è più elevata di 10^{-7} , e quindi il pH sarà inferiore a 7. Per esempio, in HCl 0,1 M, $[\text{H}^+] = 10^{-1}$ M, e quindi il pH sarà uguale a 1, e $[\text{OH}^-] = 10^{-14}/10^{-1} = 10^{-13}$ M.

Le reazioni acido-base possono separare le due eliche del DNA

La reazione che porta all'appaiamento dei due filamenti di DNA, per formare una doppia elica, avviene facilmente a pH 7. Supponiamo ora di trattare una soluzione contenente una doppia elica di DNA con una soluzione concentrata di una base (cioè contenente una elevata concentrazione di OH^-). Man mano che aggiungiamo la base, misuriamo il pH e la frazione di DNA in forma di dop-

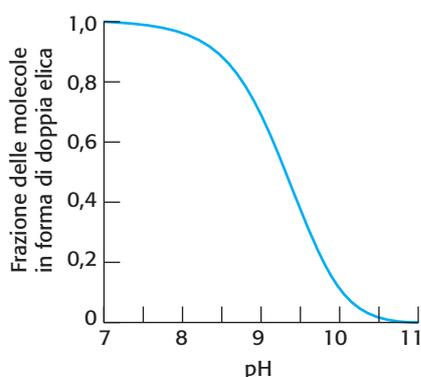
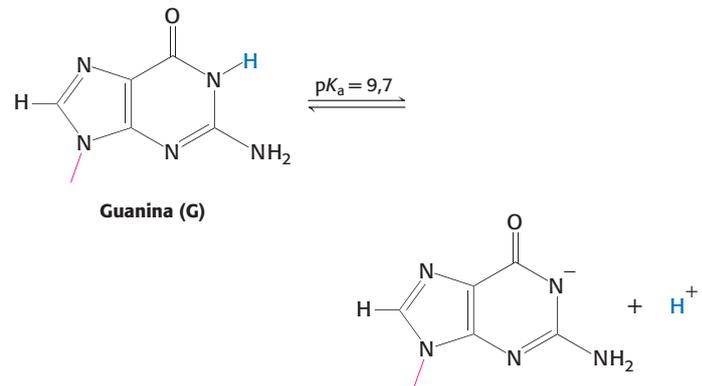


Figura 1.16 Denaturazione del DNA per aggiunta di una base. L'aggiunta di una base a una soluzione di DNA a doppia elica, inizialmente a pH 7, provoca la separazione dei singoli filamenti. Il processo è completo per metà a pH leggermente superiore a 9.

pia elica (figura 1.16). Subito dopo l'aggiunta della base il pH aumenta, ma la concentrazione della doppia elica non cambia significativamente. Però, quando il valore del pH si avvicina a 9, la doppia elica del DNA comincia a dissociarsi rapidamente nelle sue due componenti a filamento singolo. Tra pH 9 e 10 la dissociazione è pressoché completata. Perché i due filamenti si separano? Gli ioni OH^- possono reagire con le basi che formano le coppie all'interno del DNA e rimuovono alcuni protoni. Il protone più suscettibile alla rimozione è quello legato all'azoto N-1 della guanina.



La reazione di dissociazione del protone dal composto HA ha una costante di equilibrio definita dall'espressione

$$K_a = \frac{[\text{H}^+][\text{A}^-]}{[\text{HA}]}$$

La suscettibilità di un protone a essere rimosso da una molecola è definita dal suo *valore di pK_a*:

$$\text{p}K_a = -\log(K_a)$$

Quando il pH è uguale al $\text{p}K_a$ abbiamo

$$\text{pH} = \text{p}K_a$$

e quindi

$$-\log [\text{H}^+] = -\log([\text{H}^+][\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

e

$$[\text{H}^+] = [\text{H}^+][\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

Dividendo per $[\text{H}^+]$ si ottiene

$$1 = [\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

e quindi

$$[\text{A}^-] = [\text{HA}]$$

Quindi, quando il pH è uguale al $\text{p}K_a$, la concentrazione del gruppo deprotonato o della molecola che ha perso il protone è uguale alla concentrazione della forma protonata; il processo di deprotonazione ha coinvolto metà delle molecole totali.

Il $\text{p}K_a$ del protone in N-1 della guanina è intorno a 9,7. Quando il pH si avvicina a questo valore, la guanina si deprotona nella posizione N-1 (vedi figura 1.16). Poiché questo protone partecipa alla formazione di un importante

legame idrogeno, la sua rimozione destabilizza la struttura della doppia elica del DNA. Una simile destabilizzazione si verifica anche a pH *basso*. Al di sotto di pH 5 alcuni dei gruppi *accettori* di idrogeno, che partecipano all'appaiamento delle basi, si protonano. Nella forma protonata queste basi non possono formare legami idrogeno e la doppia elica si svolge. Quindi le reazioni acido-base che rimuovono o donano protoni in posizioni specifiche delle basi del DNA possono separare le due eliche del DNA.

I tamponi regolano il pH negli organismi viventi e nella sperimentazione in laboratorio

Queste osservazioni riguardanti il DNA ci indicano che variazioni significative del pH possono distruggere le strutture molecolari così come anche molte altre macromolecole biologiche; drastiche variazioni del pH possono protonare o deprotonare gruppi funzionali di cruciale importanza alterando le strutture molecolari e dando inizio a reazioni indesiderate. Quindi si sono evoluti sistemi che si oppongono alle variazioni di pH nei sistemi biologici. Le soluzioni che resistono a tali cambiamenti sono dette *tamponi*. Quando si aggiunge un acido a una soluzione non tampone, il pH diminuisce proporzionalmente alla quantità di acido aggiunto. Invece, quando si aggiunge un acido a una soluzione contenente un tampone, il pH diminuisce più gradualmente. I tamponi si oppongono anche all'aumento del pH causato dall'aggiunta di una base e alle variazioni di pH causate da diluizioni.

Confrontiamo i risultati che si ottengono aggiungendo goccia a goccia una soluzione di HCl 1 M, un acido forte, all'acqua con quelli che si ottengono aggiungendo la stessa soluzione di HCl a un tampone sodio acetato 100 mM ($\text{Na}^+\text{CH}_3\text{COO}^-$; **figura 1.17**). Il processo consistente

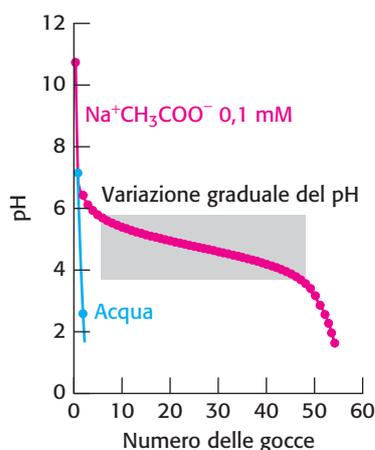


Figura 1.17 Azione dei tamponi

L'aggiunta di un acido forte, HCl 1 M, all'acqua allo stato puro, risulta nell'immediata diminuzione del pH fino a circa 2. Invece l'aggiunta dell'acido a una soluzione di sodio acetato 0,1 M ($\text{Na}^+\text{CH}_3\text{COO}^-$) risulta in una variazione molto più graduale del pH, fino a che il pH non raggiunge un valore inferiore a 3,5.

nell'aggiunta graduale di quantità note di un composto a una soluzione contenente un secondo composto che reagisce con il primo, e nella contemporanea valutazione dei prodotti della reazione, è detto *titolazione*. Per l'acqua allo stato puro, il pH scende da 7 a circa 2, dopo l'aggiunta di appena alcune gocce di acido. Invece, per il tampone acetato il pH dapprima scende rapidamente, a partire dal suo valore iniziale di circa 10, quindi scende molto più gradualmente fino a un valore di circa 3,5; in seguito riprende a scendere rapidamente. Perché il pH varia solo di poco nella parte centrale della titolazione? La risposta sta nel fatto che gli ioni idrogeno aggiunti alla soluzione reagiscono con lo ione acetato e formano acido acetico. La reazione consuma parte degli idrogenioni aggiunti e così il pH non diminuisce. Gli idrogenioni continuano a reagire con l'acetato, finché essenzialmente tutti vengono catturati sotto forma di acido acetico. A questo punto, se si aggiungono altri idrogenioni, essi rimangono liberi in soluzione, e il pH ricomincia a diminuire rapidamente.

È possibile analizzare l'effetto del tampone in termini quantitativi. La costante di equilibrio della reazione di deprotonazione di un acido è

$$K_a = [\text{H}^+][\text{A}^-]/[\text{HA}]$$

Effettuando il logaritmo di ambedue i membri si ottiene

$$\log(K_a) = \log([\text{H}^+]) + \log([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

Ricordando le definizioni di $\text{p}K_a$ e di pH e riordinando, si ha

$$\text{pH} = \text{p}K_a + \log([\text{A}^-]/[\text{HA}])$$

L'espressione va sotto il nome di *equazione di Henderson-Hasselbalch*.

Possiamo applicare l'equazione alla titolazione dell'acetato di sodio. Il valore di $\text{p}K_a$ dell'acido acetico è 4,75. Il rapporto tra la concentrazione dello ione acetato e dell'acido acetico in funzione del pH, ricavato dall'equazione di Henderson-Hasselbalch leggermente modificata, è

$$[\text{Ione acetato}]/[\text{acido acetico}] = [\text{A}^-]/[\text{HA}] = 10^{\text{pH} - \text{p}K_a}$$

A pH 9 il rapporto è $10^{9 - 4,75} = 10^{4,25} = 17\,800$; l'acido acetico che si è formato è pochissimo. A pH 4,75 (quando il pH è uguale al $\text{p}K_a$) il rapporto è $10^{4,75 - 4,75} = 10^0 = 1$. A pH 3 il rapporto è $10^{3 - 4,75} = 10^{-1,25} = 0,02$; quasi tutti gli ioni acetato sono stati convertiti in acido acetico. Possiamo seguire la conversione dell'acetato in acido acetico lungo il corso dell'intera titolazione (**figura 1.18**). Il grafico dimostra che la zona a pH relativamente costante corrisponde alla regione in cui lo ione acetato viene protonato, formando l'acido acetico.

Da quanto è stato discusso in precedenza possiamo concludere che i tamponi agiscono meglio a pH vicini ai valori di $\text{p}K_a$ del componente acido. Il pH fisiologico corrisponde a circa pH 7,4. Un importante tampone dei sistemi biolo-

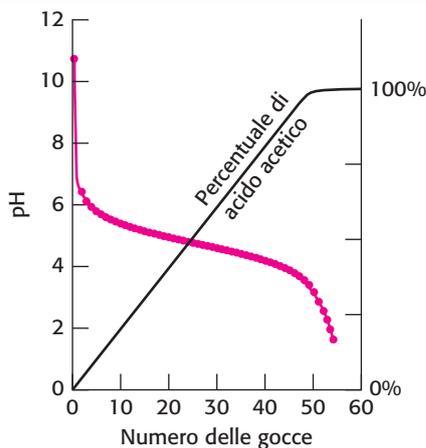
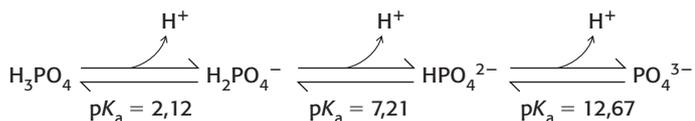


Figura 1.18 Protonazione del tampone

Quando si aggiunge acido al sodio acetato, gli idrogenioni vengono usati per convertire gli ioni acetato in acido acetico. Poiché la concentrazione degli ioni idrogeno non aumenta in modo significativo, il pH rimane relativamente costante, fino a che tutto l'acetato non è stato convertito in acido acetico.

gici è il tampone fosfato, utilizzando l'acido ortofosforico (H_3PO_4). Questo acido poliprotico si può deprotonare in tre reazioni, formando alla fine uno ione fosfato.



A pH circa 7,4 l'acido fosforico è presente sotto forma di una miscela in parti quasi uguali di H_2PO_4^- e HPO_4^{2-} . Quindi le soluzioni di fosfato possono funzionare da tampone a valori di pH intorno a 7,4. La concentrazione di fosfato inorganico nel sangue è normalmente 1 mM e quindi può essere un buon tampone contro quei processi che producono acidi o basi. Mediante l'uso dell'equazione di Handerson-Hasselbalch possiamo esaminare questa utilità in termini quantitativi. Quanto acido è necessario aggiungere a una soluzione tampone fosfato 1 mM per far variare il pH da 7,4 a 7,3? In assenza di una soluzione tampone questa variazione in $[\text{H}^+]$ corrisponde a una variazione di $10^{-7,3} - 10^{-7,4} \text{ M} = (5,0 \times 10^{-8} - 4,0 \times 10^{-8}) \text{ M} = 1,0 \times 10^{-8} \text{ M}$. Consideriamo ora cosa succede a una soluzione tampone. A pH 7,4,

$$[\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = 10^{7,4-7,21} = 10^{0,19} = 1,55$$

La concentrazione totale di fosfato è 1 mM, $[\text{HPO}_4^{2-}] + [\text{H}_2\text{PO}_4^-]$. Quindi,

$$[\text{HPO}_4^{2-}] = (1,55/2,55) \times 1 \text{ mM} = 0,608 \text{ mM}$$

e

$$[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = (1/2,55) \times 1 \text{ mM} = 0,392 \text{ mM}$$

A pH 7,3

$$[\text{HPO}_4^{2-}]/[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = 10^{7,3-7,21} = 10^{0,09} = 1,23$$

e quindi

$$[\text{HPO}_4^{2-}] = (1,23/2,23) = 0,552 \text{ mM}$$

e

$$[\text{H}_2\text{PO}_4^-] = (1/2,23) = 0,448 \text{ mM}$$

Così, HPO_4^{2-} ($0,608 - 0,552$) = $0,056 \text{ mM}$ è convertito in H_2PO_4^- , consumando $[\text{H}^+]$ $0,056 \text{ mM} = 5,6 \times 10^{-5} \text{ M}$. Quindi, la soluzione tampone rispetto all'acqua pura richiede una quantità di acido 5600 ($5,6 \times 10^{-5}/1,0 \times 10^{-8}$) volte superiore per passare da pH 7,4 a pH 7,3.

1.4 La genomica sta trasformando la biochimica e la medicina

La scoperta della struttura del DNA effettuata da Watson e Crick ha suggerito che l'informazione genetica possa essere immagazzinata sotto forma di sequenze di basi nei filamenti di DNA. Questa scoperta ha prodotto una svolta decisiva nel pensiero biologico. Pur essendo chiaro il forte impatto che avrebbe avuto nel pensiero biologico, al tempo in cui si ottennero queste evidenze non era possibile prevedere quali sarebbero state le possibili applicazioni pratiche. Molte domande attendevano ancora una risposta definitiva. L'ipotesi era corretta? In che modo l'informazione viene letta e tradotta? Quali sono le sequenze delle molecole di DNA naturali, e come è possibile determinarle? Il progresso della biochimica e di altre discipline correlate ha permesso di dare una risposta esauriente a tutte queste domande. Nell'ultimo decennio è stata determinata la sequenza dei genomi di centinaia di organismi differenti, dagli organismi unicellulari, alle piante, agli animali dotati di vari gradi di complessità, fino all'uomo. Il confronto delle sequenze dei genomi, reso possibile dall'uso dei metodi descritti nel capitolo 6, ha ampliato notevolmente le nostre conoscenze su vari aspetti della biochimica. Le recenti conquiste hanno trasformato la biochimica. Oltre ai suoi consolidati aspetti sperimentali e clinici, la biochimica ha acquisito anche le caratteristiche di una *scienza informatica*.

Il sequenziamento del genoma umano è una pietra miliare nella storia dell'umanità

Sequenziare il genoma umano è apparsa subito un'impresa molto difficile, in quanto esso contiene circa 3 miliardi (3×10^9) coppie di basi. Per esempio, la sequenza

```
ACATTTGCTTCTGACACAACACTGTGTTCACTAG
CAACCTCAAACAGACACCATGGTGCATCTGAC
TCCTGAGGAGAAGTCTGCCGTTACTGCCCTGT
GGGGCAAGGTGAACGTGGA...
```

è parte di un gene che codifica l'emoglobina, la proteina

che trasporta l'ossigeno nel sangue. Il gene si trova all'estremità del cromosoma 9, uno dei nostri 24 cromosomi. Se dovessimo stampare la sequenza dell'intero genoma dell'uomo, occorrerebbero più di 500 000 pagine. Il sequenziamento del genoma è senza dubbio una pietra miliare nella storia dell'umanità. L'intera sequenza contiene una grande quantità di informazioni, alcune delle quali sono già state interpretate; la maggior parte, però, attende di essere identificata e studiata. Per esempio, alcune malattie sono state ricondotte a specifiche variazioni della sequenza genica. L'anemia falciforme, discussa in dettaglio nel capitolo 7, è causata dalla variazione di una singola base: la A (indicata in grassetto nella sequenza riportata sopra) viene sostituita da una T. Incontreremo molti altri esempi di malattie legate a specifiche variazioni nella sequenza del DNA.

Oltre che per le implicazioni in campo medico, la sequenza del genoma umano è un'insostituibile fonte di informazioni per la biologia umana, e la cultura in generale. Per esempio, dal confronto delle sequenze di differenti individui e popolazioni, si è potuto dedurre che la specie umana è con grande probabilità di origine africana; si sono potute stabilire anche le epoche dei flussi migratori. Infine, il confronto tra il genoma umano e quello di altri organismi ha confermato l'uniformità biochimica di tutti gli esseri viventi, e nel contempo sta rivelando quali sono state le tappe principali che, nel corso dell'evoluzione, hanno portato da organismi unicellulari relativamente semplici a organismi multicellulari, come gli esseri umani. Per esempio, molti geni essenziali per il funzionamento del cervello e del sistema nervoso dell'uomo trovano riscontro in geni evolutivamente e funzionalmente correlati presenti nei genomi dei batteri. Poiché molti studi sperimentali che sarebbe possibile condurre in organismi modello sono molto complessi e sollevano problemi etici, queste scoperte possono avere molte ricadute pratiche. La *genomica comparata* è diventata una disciplina importante, che mette in relazione la biochimica con l'evoluzione.

Le sequenze genomiche codificano proteine e meccanismi molecolari di espressione

La struttura del DNA ha rivelato come l'informazione sia depositata e conservata nella sequenza delle basi lungo un filamento di DNA. Ma di quali informazioni si tratta, e come vengono espresse? Il ruolo più importante del DNA è quello di codificare le sequenze amminoacidiche delle proteine. Come il DNA, le proteine sono polimeri lineari. Però differiscono dal DNA per due motivi principali. Le proteine sono formate da 20 unità costitutive, chiamate *amminoacidi*, invece che da quattro, come il DNA. La complessità chimica conferita alle proteine dalla varietà di unità costitutive permette loro di svolgere una gran varietà di funzioni. Inoltre, le proteine si ripiegano spontaneamente in strutture tridimensionali complesse, determinate solo dalla loro sequenza amminoacidica (**figura 1.19**). Abbiamo visto come sequenze appropriate di DNA a singola elica in soluzione si uniscono formando molecole di DNA a doppia elica. Un simile processo di ripiegamento spontaneo conferisce alle proteine la loro struttura tridimensionale. La formazione di legami idrogeno, interazioni van der Waals e interazioni idrofobiche controbilancia l'entropia che si perde, passando da un insieme disordinato di proteine non ripiegate a un insieme di molecole con strutture correttamente ripiegate. Le proteine e il ripiegamento proteico saranno trattati diffusamente nel capitolo 2.

Man mano che aumentano le nostre conoscenze sulla complessità dei genomi e del processo di espressione genica, diventa sempre più difficile definire l'unità fondamentale dell'informazione ereditaria, il *gene*. I geni più semplici da definire sono quelli che codificano le sequenze delle proteine. In queste strutture è la sequenza specifica delle basi nel DNA che codifica una corrispondente sequenza amminoacidica di una proteina. La sequenza di tre basi in uno dei due filamenti, chiamata *codone*, determina l'identità dell'amminoacido che verrà inserito nella proteina. La

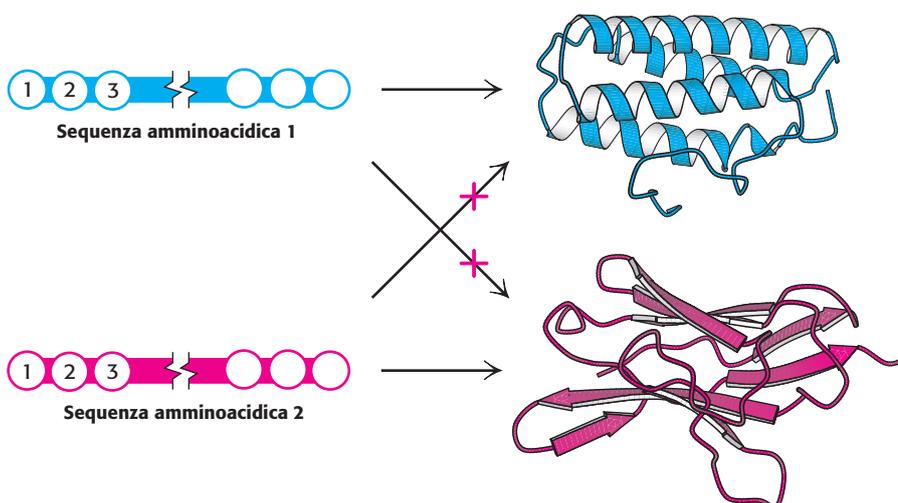


Figura 1.19 Ripiegamento proteico

Le proteine sono polimeri lineari di amminoacidi e si ripiegano formando elaborate strutture tridimensionali. La sequenza degli amminoacidi specifica questa organizzazione strutturale. Quindi la sequenza 1 si ripiegherà per formare la proteina colorata in blu, non la proteina colorata in rosso.

relazione tra la sequenza delle basi del DNA e la sequenza degli amminoacidi nelle proteine è detta *codice genetico*. Una volta sequenziato il genoma umano, una delle osservazioni più sorprendenti è stato il numero relativamente piccolo di geni che codificano le proteine. Prima che iniziasse il progetto di sequenziamento, si pensava che il genoma potesse contenere approssimativamente 100 000 geni capaci di codificare le proteine. Oggi si pensa che il numero sia compreso tra 20 000 e 25 000. In questo testo riterremo valida la stima di circa 23 000 geni. Tuttavia esistono alcuni meccanismi che permettono a un gene di codificare più proteine. Per esempio, in alcuni geni l'informazione viene tradotta in modi diversi; si possono così produrre più proteine, che differiscono l'una dall'altra in spezzoni delle loro sequenze amminoacidiche. Le proteine possono essere modificate dopo essere state sintetizzate, per aggiunta di gruppi chimici accessori. È evidente che il genoma è più complesso di quanto ci si aspetterebbe, anche considerando solo i geni che codificano le proteine.

Sulla base delle nostre conoscenze attuali, le regioni che codificano le proteine sono contenute solo nel 3% del genoma umano. Qual è la funzione del resto del DNA? Una parte contiene l'informazione che regola l'espressione di geni specifici (cioè la produzione di specifiche proteine) in particolari tipi di cellule e in particolari condizioni fisiologiche. Essenzialmente, ogni cellula contiene lo stesso DNA genomico, eppure i diversi tipi di cellule differiscono notevolmente per i tipi di proteine che producono. Per esempio, l'emoglobina viene espressa solo nei precursori dei globuli rossi, anche se i geni dell'emoglobina sono presenti in tutti i tipi di cellule. Specifici gruppi di geni vengono espressi in risposta a un ormone, ma nella stessa cellula non vengono espressi in assenza dell'ormone. Le regioni del genoma che regolano l'espressione genica rappresentano solo una piccola percentuale del genoma umano. La verità è che non conosciamo ancora tutte le funzioni del DNA. Una parte potrebbe essere costituita da tratti «inutili», inseriti in qualche stadio dell'evoluzione, e giunti fino a noi. Alcuni tratti potrebbero svolgere funzioni importanti. Altri potrebbero non svolgere alcuna funzione, ma potrebbero essere rimasti, in quanto non particolarmente dannosi.

L'individualità dipende dalla relazione tra i geni e l'ambiente

Con l'eccezione dei gemelli monozigoti, ogni singola persona possiede una sequenza specifica di coppie di basi nel proprio DNA. Come differiamo l'uno dall'altro a livello genomico? L'esame delle variazioni che si riscontrano nei genomi dei singoli individui rivela che, in media, i genomi di due diversi individui presentano differenze di 1 base ogni 200, cioè, una differenza totale approssimativamente dello 0,5%. Questa variazione della sequenza di basi del DNA tra due persone è maggiore di quella che si riscontra

tra le diverse popolazioni. Infatti la differenza media che si riscontra tra due individui dello stesso gruppo etnico è maggiore della differenza che si riscontra tra le medie di due differenti gruppi etnici.

Il significato di gran parte di queste variazioni genetiche non è chiaro. Come si è detto prima, la variazione di una singola base del genoma può condurre a una malattia, come l'anemia falciforme. Finora sono state identificate centinaia di malattie, la cui causa va ricondotta ad alterazioni a livello di un singolo gene. In altre malattie sappiamo che sono interessati molti geni, spesso in modi alquanto complessi. Molte delle malattie più comuni, come le malattie cardiache, sono legate ad alterazioni di più geni. Inoltre, nella maggioranza dei casi la presenza di una particolare alterazione, o di un insieme di alterazioni, non necessariamente porta alla comparsa di una malattia, ma può indurre una *predisposizione* a contrarre la malattia.

Oltre a queste differenze genetiche, sono importanti i *fattori epigenetici*. Si tratta di fattori associati al genoma, ma non necessariamente riconducibili solo a una sequenza di DNA. Per esempio, le conseguenze di alcune di queste alterazioni genetiche dipendono, talora in modo drammatico, da quale genitore, il padre o la madre, è stato il donatore del gene alterato. Questo fenomeno, chiamato *imprinting genetico*, dipende dalle modificazioni covalenti del DNA, particolarmente dall'aggiunta di gruppi metilici a specifiche basi. L'epigenetica è una disciplina di grande attualità, dalla quale possiamo aspettarci nuove importanti scoperte.

Anche se le nostre caratteristiche genetiche ed epigenetiche sono fattori che contribuiscono alla predisposizione alle malattie, altri fattori altrettanto importanti dipendono invece dall'ambiente in cui viviamo. Forse i più ovvi sono da ricercarsi nei prodotti chimici che ingeriamo con il cibo o a cui siamo in qualche modo esposti. L'adagio «sei quello che mangi» è quanto mai calzante e si applica sia alle sostanze che ingeriamo in quantità significative, sia a quelle che assumiamo in tracce. Proseguendo nello studio della biochimica ci occuperemo delle *vitamine*, degli *oligoelementi* e dei loro derivati che svolgono ruoli fondamentali in molti processi biochimici. In molti casi i ruoli di queste sostanze chimiche sono stati identificati attraverso lo studio delle *malattie da carenza*, che si osservano in quei soggetti che non assumono quantità sufficienti di una vitamina o di un oligoelemento. Anche se le vitamine e gli oligoelementi più importanti sono noti da tempo, ancora oggi vengono scoperti nuovi ruoli per questi composti.

Una dieta corretta deve essere ben equilibrata (**figura 1.20**). Oltre a fornire le vitamine e gli oligoelementi, il cibo fornisce calorie sotto forma di sostanze che vengono scisse in modo da rilasciare l'energia necessaria per i processi biochimici. Le proteine, i grassi e i carboidrati forniscono i precursori per la costruzione delle molecole della vita. Oggi vi è ampia disponibilità di cibi buoni e nutrienti, ma l'evoluzione dell'uomo è avvenuta in tempi in cui l'alimen-

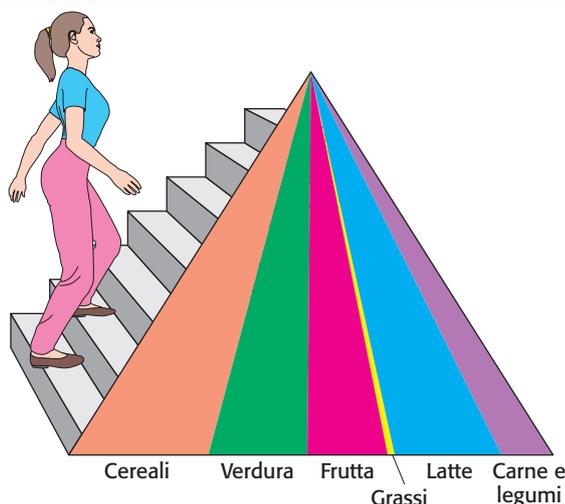


Figura 1.20 Piramide alimentare

Una dieta equilibrata comporta un apporto bilanciato dei diversi nutrienti, per fornire le calorie necessarie e una miscela appropriata di precursori. [Fonte: Per gentile concessione dell'U.S. Department of Agriculture.]

tazione in genere era scarsa, in particolare per la carenza di cibo a elevato valore nutritivo come la carne. Con lo sviluppo dell'agricoltura e delle moderne tecnologie, oggi il cibo abbonda in molte parti del globo. Nel mondo cosiddetto sviluppato alcune delle malattie più comuni, come le cardiopatie e il diabete, sono dovute alle grandi quantità di grassi e di carboidrati presenti nella dieta dell'uomo moderno. Stiamo cominciando a comprendere le conseguenze di un'alimentazione sbagliata, ma anche le relazioni che intercorrono tra dieta e fattori genetici.

I composti chimici sono solo una parte dei fattori ambientali. Anche le nostre abitudini di vita hanno conseguenze sul piano biochimico. Attraverso l'attività fisica utilizziamo le calorie ingerite, assicurando un buon equilibrio tra l'assunzione di cibo e il consumo energetico. Le attività che vanno dall'esercizio fisico alle risposte emozionali, come la paura e l'amore, possono attivare specifici processi biochimici, che conducono, tra l'altro, a variazioni dei livelli dell'espressione genica e al rilascio di ormoni. Per esempio, ricerche recenti hanno dimostrato che condizioni fortemente stressanti si associano all'accorciamento dei telomeri, strutture che si trovano alle estremità dei cromosomi. Inoltre, la relazione tra la biochimica e il comportamento è bidirezionale. Così come la biochimica può essere condizionata dal nostro comportamento, il nostro comportamento può essere condizionato, anche se non completamente, dal nostro corredo genetico e da altri aspetti della nostra specificità biochimica. Alcuni fattori genetici associati a una serie di caratteristiche comportamentali sono già stati identificati almeno in parte.

Mentre le carenze vitaminiche e le malattie genetiche hanno messo in luce alcuni principi fondamentali della biochimica e della biologia, gli studi sulle alterazioni comportamentali in relazione a fattori genetici e biochimici sono una sorgente di preziose informazioni sul funzionamento del cervello. Per esempio, gli studi sulla dipendenza dalla droga hanno rivelato circuiti neurali e processi biochimici che influenzano fortemente molti aspetti comportamentali. Il problema del rapporto tra la biologia e il comportamento è una delle più grandi sfide della scienza moderna. La biochimica può fornire i mezzi culturali e tecnici per risolverlo.

APPENDICE

Come si rappresentano le strutture molecolari. I: Le piccole molecole

In un testo di biochimica bisogna sempre affrontare il problema della rappresentazione bidimensionale delle strutture molecolari tridimensionali su una pagina. Il rapporto tra le strutture tridimensionali delle biomolecole e le loro rispettive funzioni sarà uno dei punti centrali di questo libro. Per questo verranno spesso utilizzate rappresentazioni che, anche se bidimensionali, cercano di mettere in evidenza la struttura tridimensionale delle molecole.

Le rappresentazioni stereochimiche

La maggior parte delle formule chimiche riportate nel testo sono disegnate il più accuratamente possibile, in modo da rendere chiara la disposizione spaziale degli atomi, essenziale per comprendere la formazione dei legami e la reattività delle molecole. Per esempio, l'atomo di carbonio del metano è tetraedrico,

con gli angoli di legame H—C—H di 109,5°, mentre l'atomo di carbonio della formaldeide forma angoli di legame di 120°.



Metano



Formaldeide

Per illustrare la corretta *stereochimica* degli atomi di carbonio tetraedrici, verranno usati tratti cuneiformi per indicare la direzione dei legami davanti o dietro il piano della pagina, rispetto all'osservatore. Una cuneo allungato e pieno, con la base lontana dall'atomo di carbonio, indica un legame che si dirige verso l'osservatore, al di qua del piano del foglio. Un cuneo allungato a trattini, con la base verso l'atomo di carbonio, indica un legame

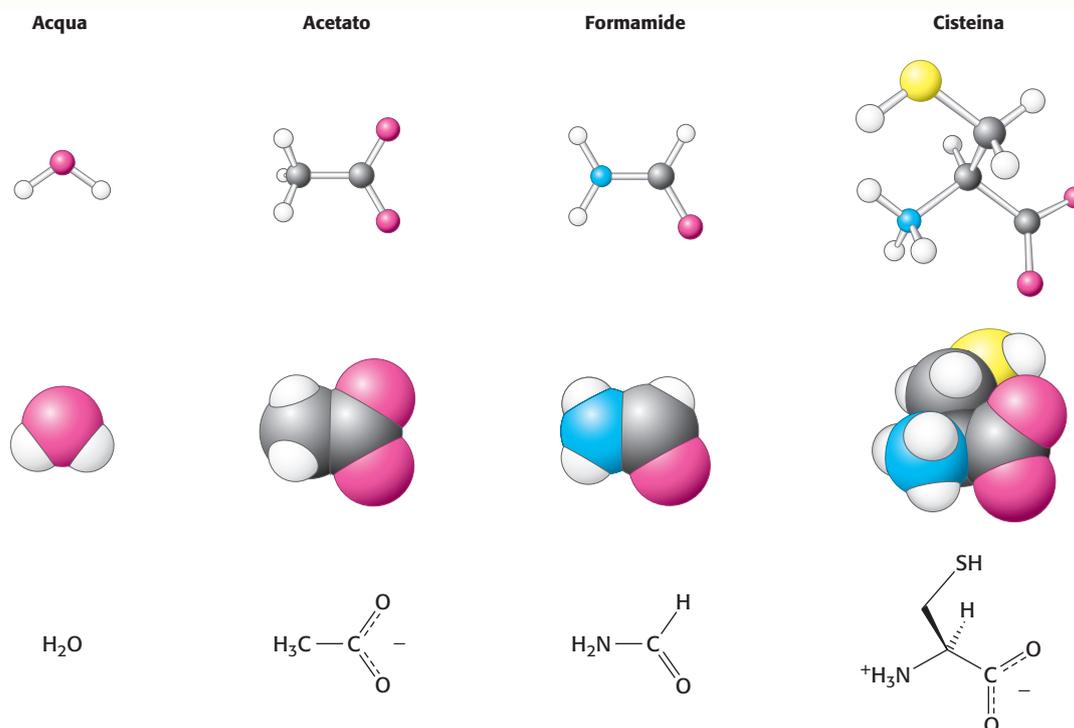


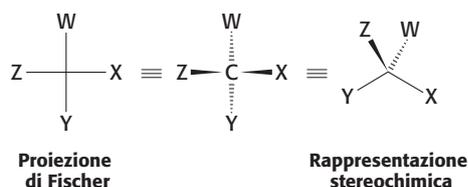
Figura 1.21 Modelli molecolari

Rappresentazione di formule di struttura (in basso), modelli a sfere e bastoncini (al centro) e modelli spaziali (in alto) di molecole scelte come esempio. Nero = carbonio, rosso = ossigeno, bianco = idrogeno, giallo = zolfo, blu = azoto.

che si allontana dall'osservatore, al di là del piano del foglio. Gli altri due legami sono disegnati come linee rette.

Le proiezioni di Fischer

Anche se le strutture stereochimiche descrivono in dettaglio la disposizione spaziale degli atomi nelle molecole, spesso è difficile disegnarle velocemente. Un modo alternativo di rappresentare strutture molecolari che possiedono atomi di carbonio tetraedrici è basato sull'uso delle *proiezioni di Fischer*.



Nella rappresentazione di Fischer i legami dell'atomo di carbonio centrale vengono rappresentati da linee orizzontali e verticali, che uniscono i sostituenti con l'atomo di carbonio, immaginato al centro della croce. Per convenzione, le linee orizzontali sporgono verso l'osservatore, fuori del piano della pagina.

I modelli molecolari delle piccole molecole

Per illustrare l'architettura molecolare delle piccole molecole in maggior dettaglio verranno usati spesso due tipi di modelli: i modelli spaziali e i modelli a sfere e bastoncini. Ambedue mostrano le strutture a livello atomico.

1. *I modelli spaziali*. Essi sono i più realistici. In questi modelli le dimensioni e le posizioni degli atomi rispettano le loro proprietà di legame e i loro raggi di van der Waals (o distanze di contatto). La distanza di contatto di van der Waals tra due atomi indica la distanza minima tra i due atomi, senza che tra di essi si formi un legame covalente. I colori dei modelli sono determinati per convenzione.

Carbonio, nero	Idrogeno, bianco	Azoto, blu
Ossigeno, rosso	Zolfo, giallo	Fosforo, viola

Nella **figura 1.21** vengono mostrati i modelli spaziali di molecole semplici.

2. *I modelli a sfere e bastoncini*. I modelli a sfere e bastoncini non sono altrettanto realistici di quelli spaziali; gli atomi vengono rappresentati come sfere di raggio non proporzionale ai raggi di van der Waals degli atomi corrispondenti. Questi modelli mostrano meglio la disposizione dei legami rappresentati appunto da un bastoncino. L'assottigliamento di un bastoncino indica quale dei due atomi che fanno parte del legame covalente è più vicino al lettore. Rispetto ai modelli spaziali, quelli a sfere e bastoncini permettono di osservare con maggior precisione i dettagli di strutture complesse. Nella figura 1.21 vengono mostrati i modelli a sfere e bastoncini di molecole semplici.

I modelli molecolari delle macromolecole verranno presentati in appendice al capitolo 2.

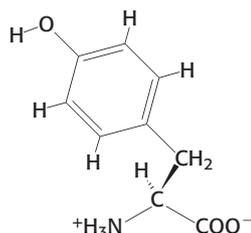
TERMINI CHIAVE

acido deossiribonucleico (DNA) (p. 2)
 amminoacido (p. 15)
 Archaea (p. 3)
 Batteri (p. 3)
 codice genetico (p. 16)
 doppia elica (p. 4)
 effetto idrofobico (p. 8)
 energia libera (energia libera di Gibbs) (p. 10)
 entalpia (p. 10)
 entropia (p. 10)
 Eucaria (p. 3)
 eucariota (p. 3)
 interazione di van der Waals (p. 7)

interazione elettrostatica (p. 6)
 interazione idrofobica (p. 8)
 legame covalente (p. 6)
 legame idrogeno (p. 6)
 macromolecola biologica (p. 2)
 metabolita (p. 2)
 pH (p. 11)
 predisposizione (p. 16)
 procariota (p. 3)
 proteina (p. 2)
 struttura di risonanza (p. 6)
 tampone (p. 13)
 valore di pK_a (p. 12)

PROBLEMI

- Donatori e accettori.** Identificate i donatori e gli accettori di legami idrogeno in ciascuna delle quattro basi di pagina 3-4.
- Strutture di risonanza.** Viene qui mostrata la struttura dell'amminoacido tirosina. Scrivete una struttura di risonanza alternativa.



- Legami non covalenti.** Quali tipi di legami non covalenti stabilizzano la struttura dei seguenti solidi? (a) Sale da cucina (NaCl), che contiene gli ioni Na^+ e Cl^- . (b) La grafite (C), che contiene fogli di atomi di carbonio legati covalentemente.
- Non infrangere la legge.** Dati i seguenti valori di variazioni di entalpia (ΔH) e di entropia (ΔS), quali dei seguenti processi possono avvenire a 298 K senza violare la seconda legge della termodinamica? (a) $\Delta H = -84 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($-20 \text{ kcal mol}^{-1}$), $\Delta S = +125 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($+30 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); (b) $\Delta H = -84 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($-20 \text{ kcal mol}^{-1}$), $\Delta S = -125 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($-30 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); (c) $\Delta H = +84 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($+20 \text{ kcal mol}^{-1}$), $\Delta S = -125 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($+30 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$); (d) $\Delta H = +84 \text{ kJ mol}^{-1}$ ($+20 \text{ kcal mol}^{-1}$), $\Delta S = -125 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$ ($-30 \text{ cal mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$).
- Entropia associata alla formazione della doppia elica.** Il ΔG della formazione della doppia elica è di -54 kJ mol^{-1} ($-13 \text{ kcal mol}^{-1}$) a pH 7,0 in NaCl 1 M a 25 °C (298 K). Il calore rilasciato indica una variazione di entalpia di -251 kJ mol^{-1} ($-60 \text{ kcal mol}^{-1}$). Calcolate la variazione di entropia del sistema e la variazione entropica dell'ambiente collegate a questo processo.
- Trovare il pH.** Quali sono i pH delle seguenti soluzioni? (a)

HCl 0,1 M; (b) NaOH 0,1 M; (c) HCl 0,05 M; (d) NaOH 0,05 M.

- Un acido debole.** Qual è il pH di una soluzione 0,1 M di acido acetico ($pK_a = 4,75$)?

(Suggerimento: Supponiamo che x sia la concentrazione degli ioni H^+ rilasciati dall'acido acetico, quando si dissocia.) Le soluzioni di una equazione di secondo grado nella forma $ax^2 + bx + c = 0$ sono

$$x = \frac{-b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{2a}$$

- Effetto delle sostituzioni.** Qual è il pH di una soluzione 0,1 M di acido cloroacetico (ClCH_2COOH , $pK_a = 2,86$)?
- Fatto di base.** Qual è il pH di una soluzione 0,1 M di etilammina se il valore di pK_a dello ione etilammonio ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{NH}_3^+$) è 10,70?
- Confronto.** Una soluzione viene preparata aggiungendo acido acetico 0,01 M ed etilammina 0,01 M all'acqua e aggiustando il pH a un valore di 7,4. Qual è il rapporto tra acetato e acido acetico? Qual è il rapporto tra etilammina e ione etilammonio?
- Concentrazione.** Viene aggiunto acido acetico all'acqua fino a raggiungere un valore di pH pari a 4,0. Qual è la concentrazione totale di acido acetico aggiunto?
- Diluizione.** 100 mL di una soluzione di acido cloridrico a pH 5,0 vengono diluiti in 1 L. Qual è il pH della soluzione così diluita?
- Diluizione di una soluzione tampone.** 100 mL di una soluzione tampone 0,1 mM formata da acido acetico e sodio acetato con un valore di pH pari a 5,0 vengono diluiti in 1 L. Qual è il pH della soluzione così diluita?
- Calcolare la pK_a .** Per un acido HA, le concentrazioni di HA e di A^- sono rispettivamente 0,075 M e 0,025 M, a pH 6,0. Qual è il valore di pK_a dell'acido?
- Un indicatore di pH.** I coloranti con gruppi funzionali, che assumono colori diversi nella loro forma protonata e deprotonata, possono essere utilizzati come indicatori. Supponiamo di avere una soluzione 0,001 M di un colorante, il cui pK_a è

- 7,2. Dal colore della soluzione, la concentrazione della forma protonata risulta essere 0,0002 M. Ammettendo che la quota restante del colorante sia nella forma deprotonata, qual è il pH della soluzione?
16. *Qual è il rapporto?* Un acido con un pK_a di 8,0 è presente in una soluzione a pH 6,0. Qual è il rapporto tra la forma protonata e la forma deprotonata dell'acido?
17. *Tampone fosfato.* Qual è il rapporto tra le concentrazioni di $H_2PO_4^-$ e HPO_4^{2-} a (a) pH 7,0; (b) pH 7,5; (c) pH 8,0?
18. *Capacità di un tampone.* Vengono preparate due soluzioni di sodio acetato, una alla concentrazione 0,1 M, e una alla concentrazione 0,01 M. Calcolate i valori di pH, quando vengono aggiunte le seguenti concentrazioni di HCl a ciascuna soluzione: 0,0025 M, 0,005 M, 0,01 M e 0,05 M.
19. *Preparazione di un tampone.* Se si intende preparare una soluzione tampone formata da acido acetico e sodio acetato dove la concentrazione totale di acido acetico più acetato sia 250 mM e il valore di pH sia 5,0, quale concentrazione di acido acetico e sodio acetato bisogna usare? Quante moli di acido acetico e sodio acetato sono necessarie per fare 2 L di questo tampone? Quanti grammi di ogni specie si devono pesare (pesi molecolari: acido acetico $60,05 \text{ g mol}^{-1}$, sodio acetato $82,03 \text{ g mol}^{-1}$)?
20. *Un approccio diverso.* Mentre si prepara la soluzione tampone descritta nel problema 19 ci si accorge che nel laboratorio non vi è sodio acetato, ma è invece disponibile idrossido di sodio. Quanti moli e grammi di acido acetico e idrossido di sodio sono necessari per fare la soluzione tampone?
21. *Un altro modo.* Un amico di un altro laboratorio è privo di acido acetico e cerca di preparare il tampone del problema 19 sciogliendo 41,02 g di sodio acetato in acqua, aggiungendo accuratamente 180,0 mL di HCl 1 M e acqua per portare il volume a 2 litri. Qual è la concentrazione totale di acetato più acido acetico nella soluzione? Questa soluzione avrà un pH pari a 5,0? Sarà una soluzione identica alla soluzione tampone desiderata? Se no, in cosa differirà?
22. *Un sostituto del sangue.* Come abbiamo visto in questo capitolo, il sangue contiene una concentrazione totale di fosfato di circa 1 mM e presenta un pH di circa 7,4. Se si vuole preparare 100 litri di tampone fosfato con pH 7,4 usando NaH_2PO_4 (peso molecolare, $119,98 \text{ g mol}^{-1}$) e Na_2HPO_4 (peso molecolare, $141,96 \text{ g mol}^{-1}$). Quanti grammi si devono utilizzare per ognuna di queste molecole?
23. *Un potenziale problema.* Per ottenere una soluzione tampone a pH 7,0, vengono mescolati 0,060 grammi di acido acetico e 14,59 grammi di acetato di sodio a cui viene aggiunta acqua per ottenere un volume totale di 1 litro. Qual è il pH? Sarà questa soluzione il tampone a pH 7,0 che si sta cercando?
24. *Carica!* Supponete che due gruppi fosfato nella catena del DNA (ciascuno con carica -1) siano separati da una distanza di 12 Å. Qual è l'energia dell'interazione elettrostatica tra questi due gruppi fosforici, assumendo che la costante dielettrica sia 80? Ripetete il calcolo assumendo una costante dielettrica di 2.
25. *Viva la differenza!* In media, quante differenze di basi vi sono tra due esseri umani?