

Μεταβολισμός νουκλεοτιδίων



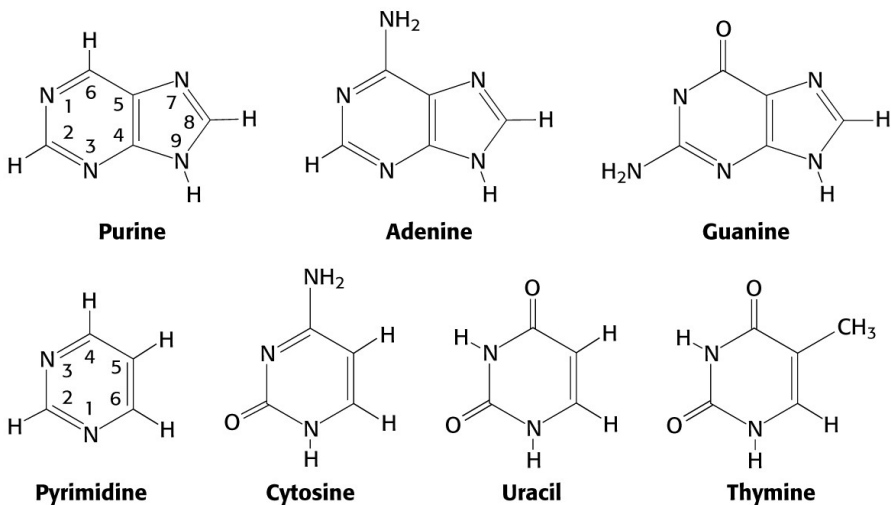
Chapter 32 Opener
Biochemistry: A Short Course, Second Edition
© 2013 W. H. Freeman and Company

Λειτουργίες νουκλεοτιδίων

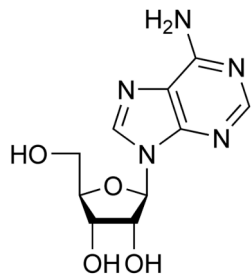
TABLE 20.1 • Functions of Nucleotides

<i>Function</i>	<i>Selected Examples</i>
1. Energy metabolism	ATP (muscle contraction; active transport; ion gradients; phosphate donor)
2. Monomeric units of nucleic acids	NTPs and dNTPs (substrates for RNA and DNA)
3. Physiological mediators	Adenosine (coronary blood flow); ADP (platelet aggregation); cAMP and cGMP (second messengers); signal transduction via GTP-binding proteins
4. Precursor function	GTP (mRNA capping); tetrahydrobiopterin, (hydroxylation of aromatic amino acids)
5. Components of coenzymes	NAD, FAD, FMN, and coenzyme A
6. Activated intermediates	UDP-glucose (glycogen); CDP-choline (phospholipids); SAM (methylation); PAPS (sulfation)
7. Allosteric effectors	ATP (negative effector of PFK-I); AMP (positive effector of phosphorylase b); dATP (negative effector of ribonucleotide reductase)

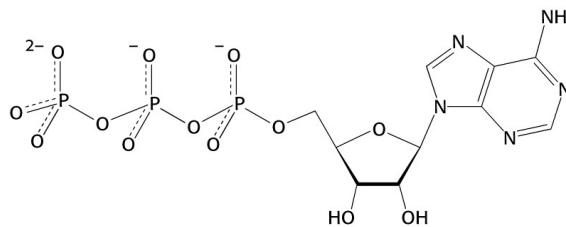
Ονοματολογία



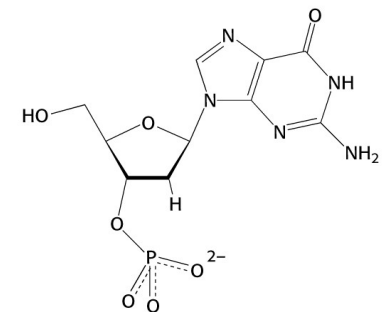
Ριβονουκλεοζίτης	Ριβονουκλεοτίδιο (5'-μονοφωσφορικό)
Αδενοσίνη	Αδεनुλικό (AMP)
Γουανοσίνη	Γουανυλικό (GMP)
Ουριδίνη	Ουριδυλικό (UMP)
Κυτιδίνη	Κυτιδυλικό (CMP)
Δεοξυριβονουκλεοζίτης	Δεοξυριβονουκλεοτίδιο (5'-μονοφωσφορικό)
Δεοξυαδενοσίνη	Δεοξυαδεनुλικό (dAMP)
Δεοξυγουανοσίνη	Δεοξυγουανυλικό (dGMP)
Θυμιδίνη	Θυμιδυλικό (TMP)
Δεοξυκυτιδίνη	Δεοξυκυτιδυλικό (dCMP)



νουκλεοζίτης



5'-ATP νουκλεοτίδιο



3'-dGMP

Πορεία περίσωσης και de novo

Πορεία περίσωσης

οι βάσεις ανακτώνται και συνδέονται σε μια ενεργοποιημένη ριβόζη.

Πορεία de novo

Νουκλεοτίδια μπορούν να συντεθούν de novo από απλα προδρόμα

Τα επίπεδα των νουκλεοτιδίων διατηρούνται χαμηλά, έτσι τα κύτταρα πρέπει να τα συνθέτουν συνεχώς.

Η σύνθεση μπορεί να περιορίσει τα ποσοστά μεταγραφής και αντιγραφής.

Πολλά παράσιτα (π.χ., ελονοσίας) στερούνται οδούς βιοσύνθεσης de novo και βασίζονται αποκλειστικά στη διάσωση.

Οι ενώσεις που αναστέλλουν τις οδούς διάσωσης είναι ελπιδοφόρα αντιπαρασιτικά φάρμακα.

ΠΟΡΕΙΑ ΠΕΡΙΣΩΣΗΣ

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + βάση



Νουκλεοτίδιο

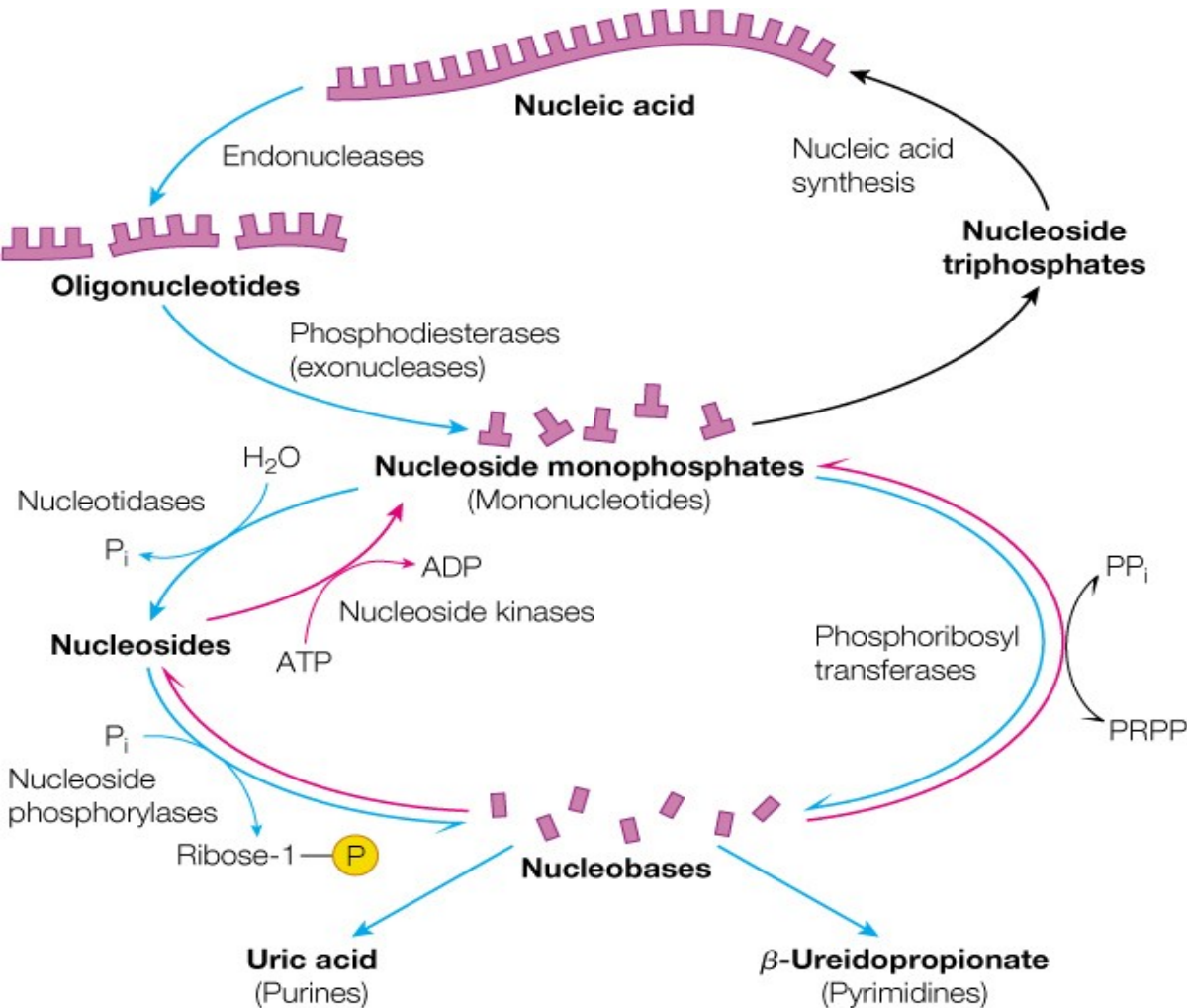
ΠΟΡΕΙΑ DE NOVO

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + αμινοξύ
+ ATP + CO₂ + ...



Νουκλεοτίδιο

Ανακύκλωση των βάσεων πουρίνης και πυριμιδίνης και των νουκλεοσιδίων



Τα νουκλεϊκά οξέα αποικοδομούνται σε ολιγονουκλεοτίδια από τις ενδονουκλεάσες

Αυτά τα ολιγονουκλεοτίδια διασπώνται περαιτέρω από τις εξωνουκλεάσες που ονομάζονται φωσφοδιεστεράσες σε μονοφωσφορικά νουκλεοσιδικά άλατα.

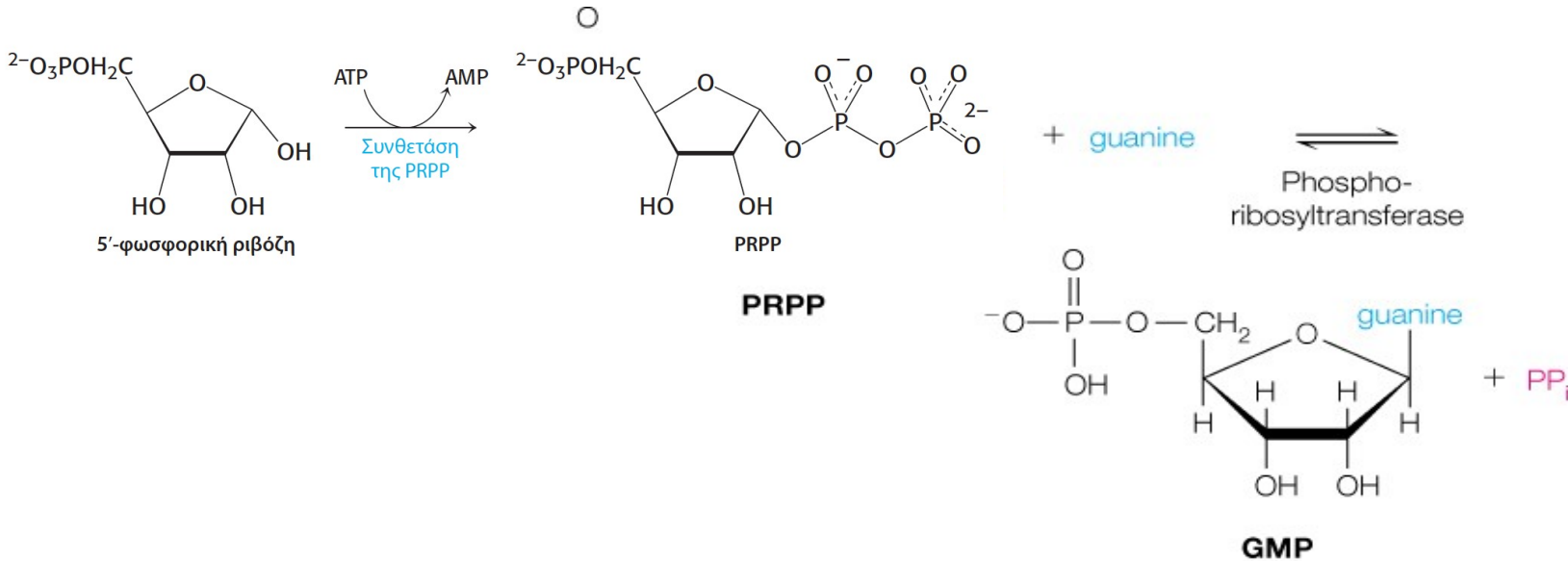
Οι νουκλεοτιδάσες απομακρύνουν τη φωσφορική ομάδα (η νουκλεοσιδική κινάση καταλύει την εξαρτώμενη από το ATP φωσφορυλίωση των νουκλεοσιδίων)

Η νουκλεοσιδική φωσφορυλάση καταλύει την αντιστρεπτή φωσφορόλυση του γλυκοζιτικού δεσμού. Τα τελικά προϊόντα της αντίδρασης είναι η βάση και η 1-φωσφορική ριβόζη η 1-φωσφορική δεοξυριβόζη

Ο δακτύλιος της πυριμιδίνης διασπάται, αποδίδοντας το β-αμινοϊσοβουτυρικό ως το κύριο προϊόν απέκκρισης συν κάποια αμμωνία και CO₂

Ένας κεντρικός μεταβολίτης στις οδούς *de novo* και περίσωσης

Πορεία φωσφορικών πεντοζών

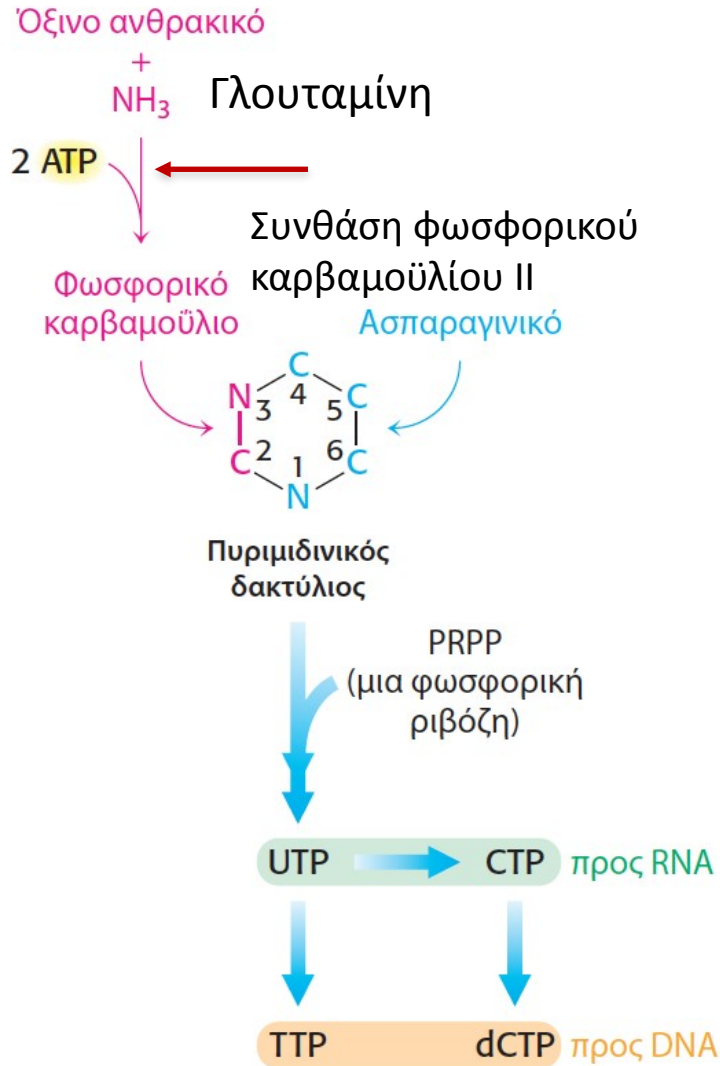


Η χρήση νουκλεοβασών απαιτεί έναν ενεργοποιημένο δότη φωσφορικών σακχάρων, το PRPP

Το PRPP συντίθεται από 5-φωσφορική ριβόζη και ATP από τη συνθετάση PRPP.

Το PRPP μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιηθεί από τις φωσφοριβοζυλοτρανσφεράσες στη σύνθεση μονοφωσφορικών νουκλεοσιδίων

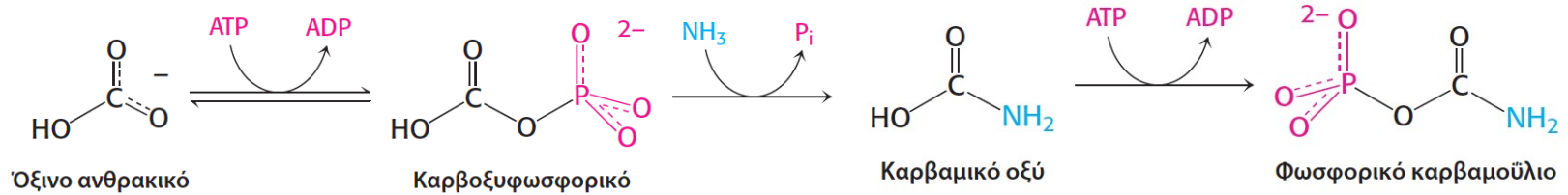
Μεταβολισμός ριβονουκλεοτιδίων πυριμιδίνης



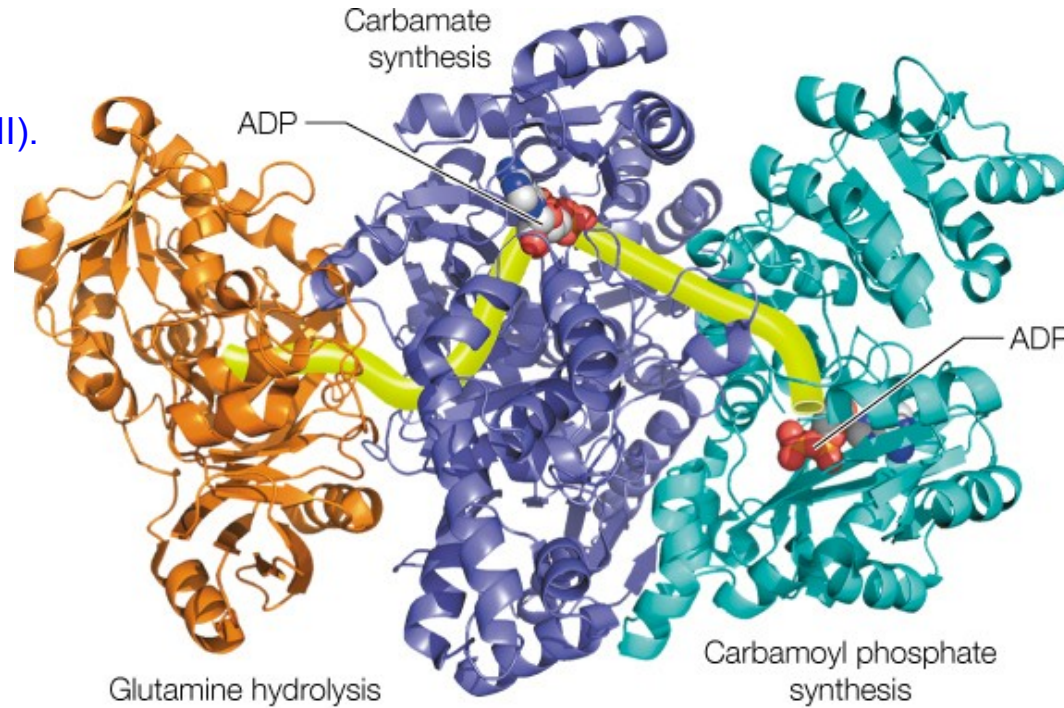
Πραγματοποιείται μέσω μιας μη διακλαδισμένης οδού, σε επίπεδο νουκλεοβάσεων και με την UTP να χρησιμεύει ως τελικό προϊόν και πρόδρομος της CTP

Και τα έξι άτομα του πυριμιδινικού δακτυλίου προέρχονται από δύο μόνο πρόδρομες ουσίες:
Ασπαραγινικό
Φωσφορικό καρβαμοϋλο

Σύνθεση των νουκλεοτιδίων πυριμιδίνης



Συνθάση φωσφορικού καρβαμυλίου II (CPS II).



Το **πρώτο βήμα** στη σύνθεση πυριμιδίνης είναι μια τριών σταδίων αντίδραση για τον σχηματισμό του φωσφορικού καρβαμυλίου

Διοχέτευση υποστρώματος.

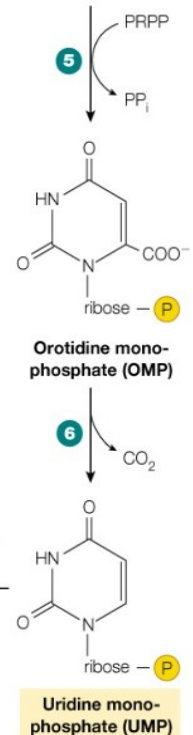
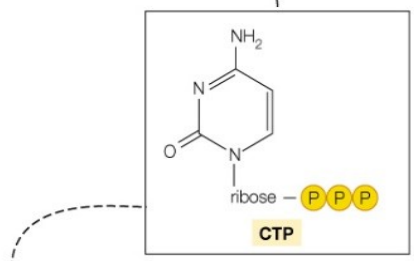
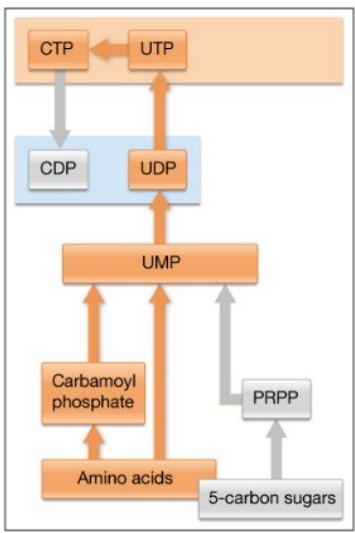
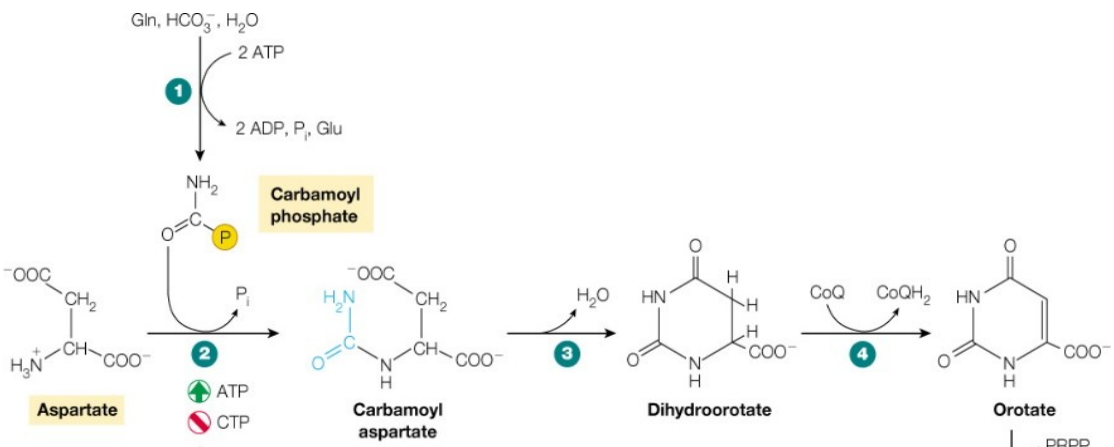
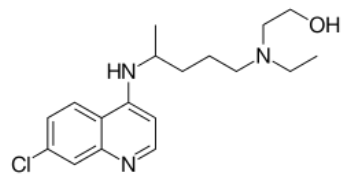
Πλεονεκτήματα

Ενδιαμεσα προϊόντα δεν αφήνουν το ένζυμο και δεν διαχέονται. Προστασία ασταθών ενδιάμεσων

de novo σύνθεση ριβονουκλεοτιδίων πυριμιδίνης

Orotate acquires a ribose ring from PRPP to form a pyrimidine nucleotide and is converted into uridyate

Λεφλουνομίδη



Φωσφορικό καρβαμουλιό αντιδρά με ασπαραγινικό να σχηματίσει καρβομουλοασπαραγινικό (ασπαραγινική τρανσκαρβαμούλαση) Το προϊόν κυκλοποιείται σε οροτικό.

Θηλαστικά: CAD μια πεπτιδική αλυσίδα carbamoyl phosphate synthetase, aspartate transcarbamoylase and dihydroorotase.

Ασπαραγινική τρανσκαρβαμούλαση ρυθμίζει τη σύνθεση των νουκλεοτιδίων πυριμιδίνης.

CTP [-] ATP [+]

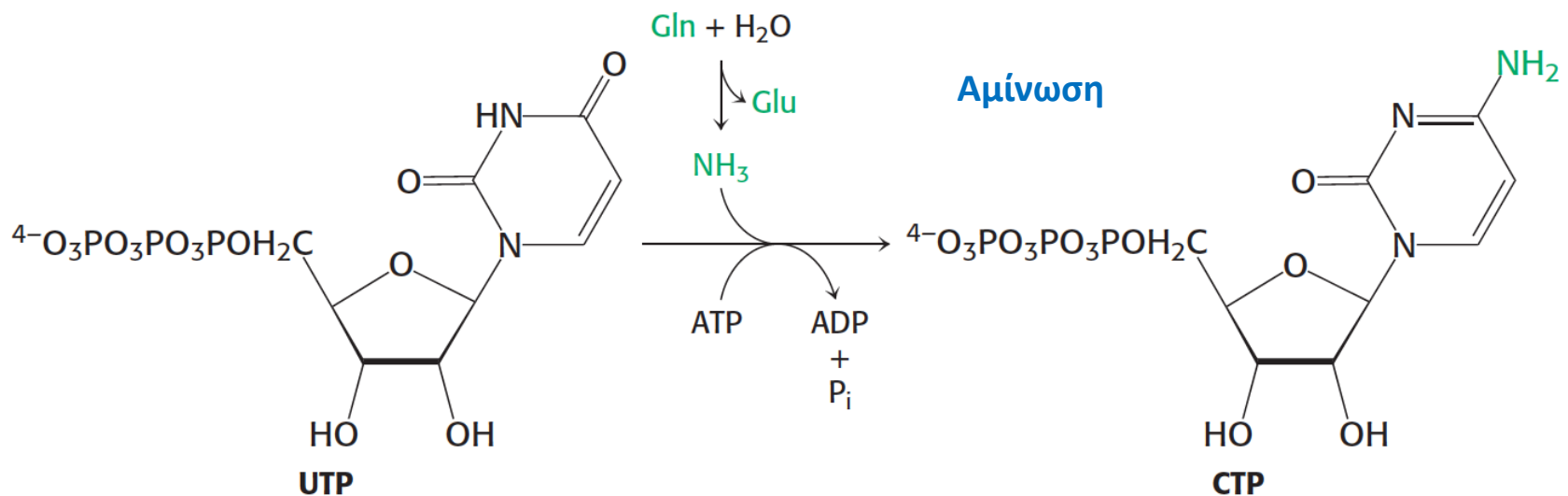
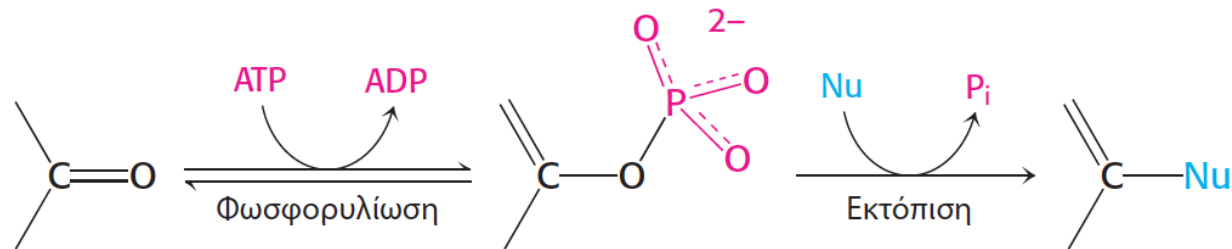
Η συνθετάση του φωσφορικού καρβαμουλιού II ελέγχεται με επανατροφοδοτική αναστολή

ATP & PRPP [+]

UMP [-]

Μηχανισμός της αντίδρασης της γλουταμίνη εξαρτώμενης αμιδοτρανσφεράσης

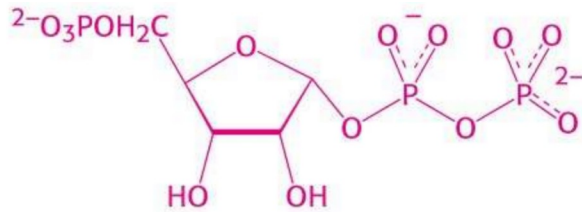
CTP Is Formed by the Amination of UTP



Πορεία περίσωσης

Salvage Pathways Recycle Pyrimidine Bases

Ανάκτηση από την αποικοδόμηση νουκλεϊκών οξέων.



+ Βάση → **Νουκλεοτίδιο**
Φωσφοριβοζυλομεταφοράση

Επανασύνδεση ουρακίλης στην ριβόζη (PRPP) Φωσφοριβοζυλομεταφοράση της πυριμιδίνης

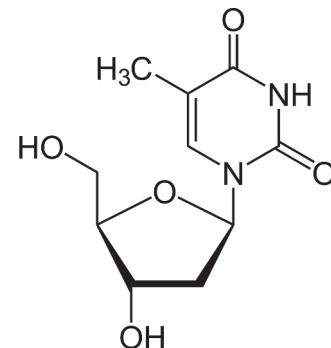
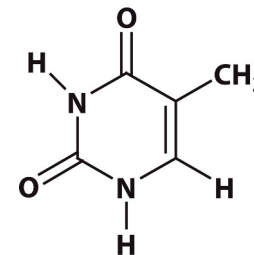
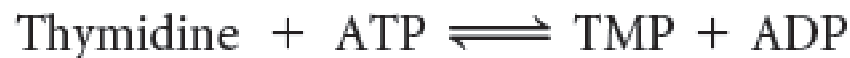
Διάσωση θυμίνης

Θυμίνη, ένα προϊόν της αποικοδόμησης του DNA

Φωσφορυλάση θυμιδίνης



Κινάση θυμιδίνης



Πορεία περίσωσης

Salvage pathways recycle pyrimidine bases

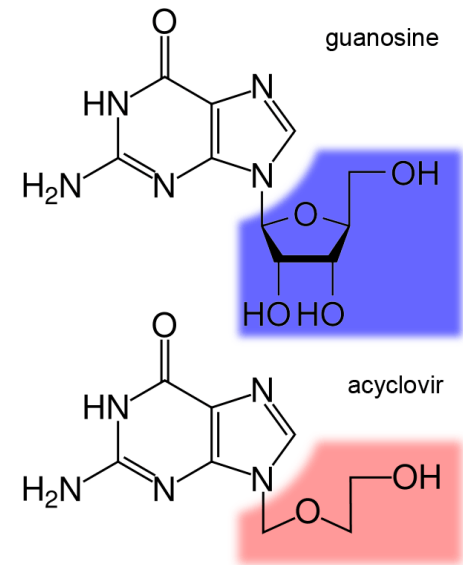
Λοιμώξεις του ερπητοϊού μπορεί να θεραπεύονται με ακυκλοβίρη (**Acyclovir**).

Η ιική κινάση θυμιδίνης μετατρέπει την **ακυκλοβίρη** σε μονοφωσφορικό, και κυτταρικές κινάσεις το μετατρέπουν σε τριφωσφορικό.

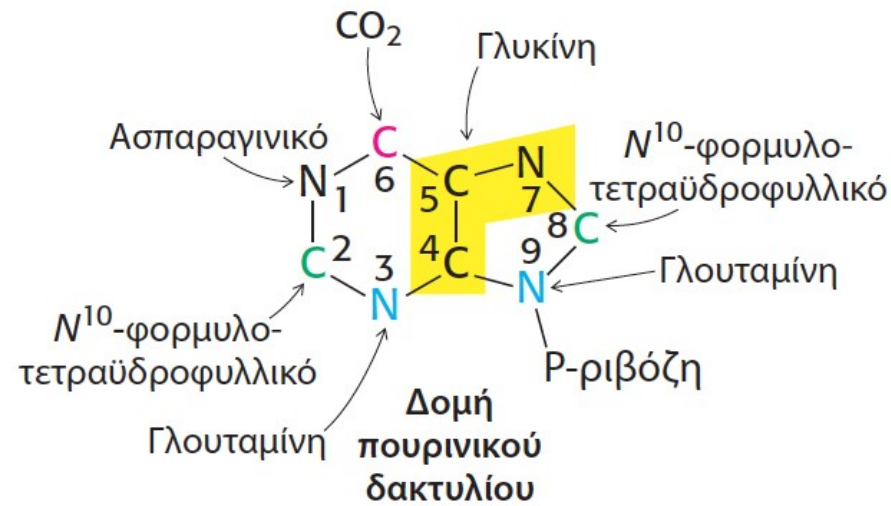
Ανταγωνίζεται με το dGTP στην DNA πολυμεράση

Μόλις ενσωματωθεί στο DNA του ιού, τερματίζει την επιμήκυνση της αλυσίδας

Acyclovir αναστολέας αυτοκτονίας (ερπητοϊού)

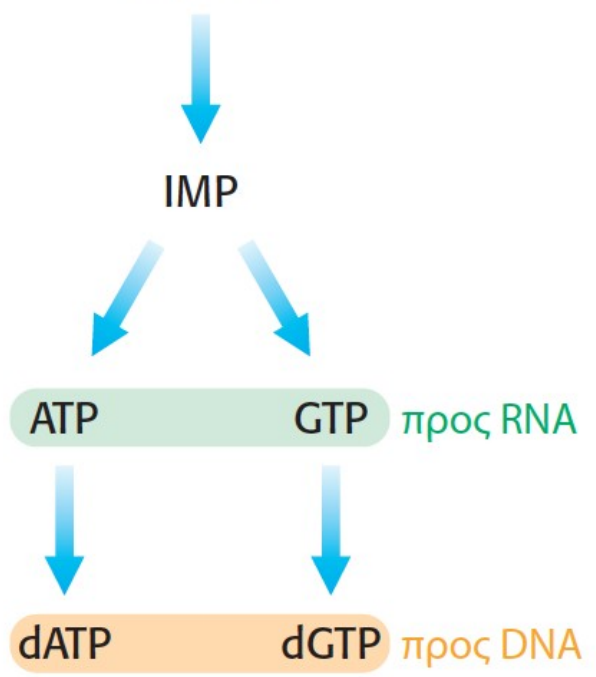


Καταβολισμός των πουρινών και η ιατρική τους σημασία



Οι πρώτες ύλες για τη σύνθεση πουρίνης είναι:

- CO₂
- μη απαραίτητα αμινοξέα (Asp, Glu, Gly)
- παράγωγα φυλλικού οξέος που δρουν ως απλοί δότες άνθρακα



Πουρίνες

Οι πουρίνες συντίθενται επάνω σε ένα μόριο ριβόζης.

Πρώτο βήμα

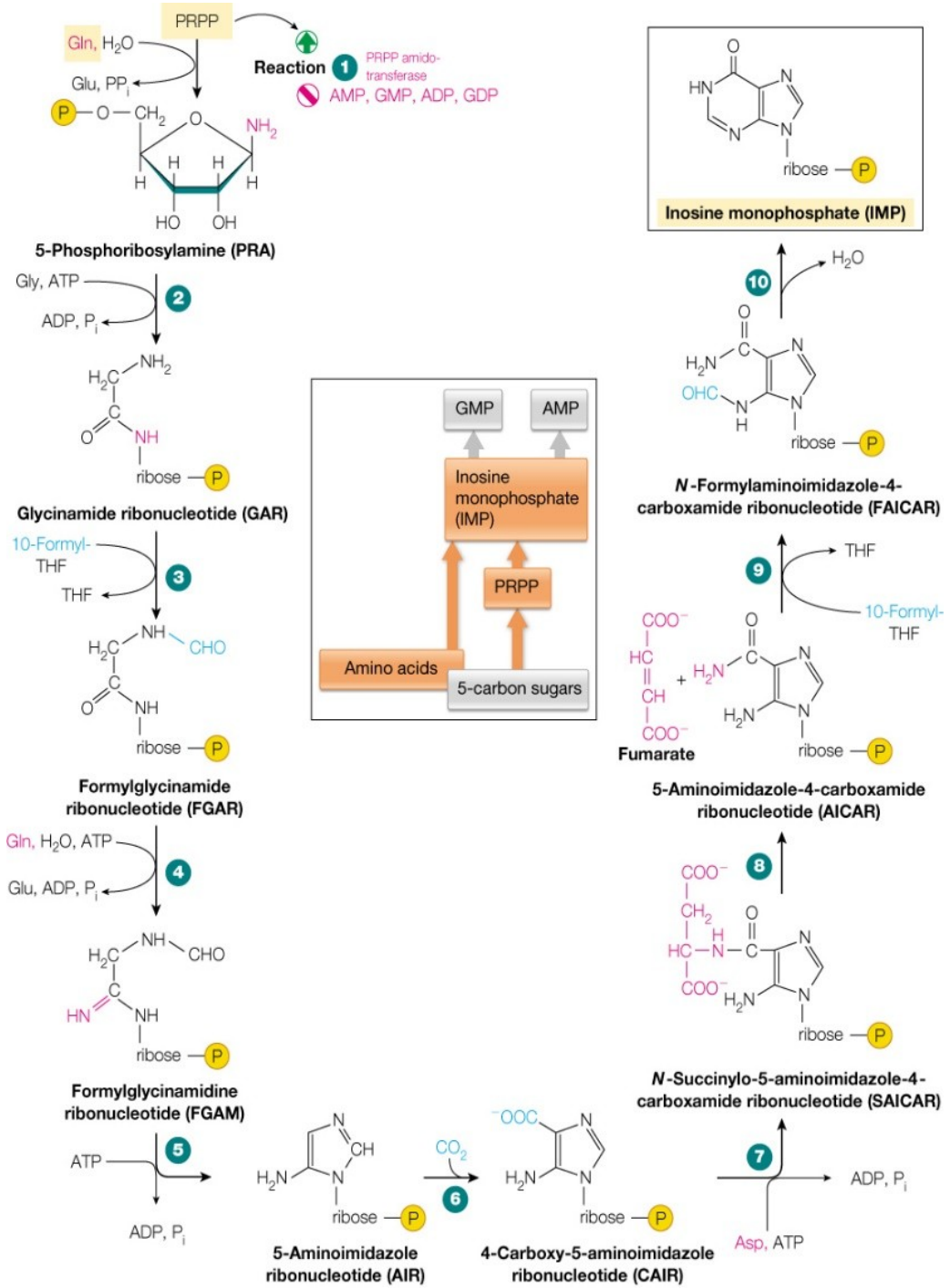
Σύνθεση της 5-φωσφοριβοζυλο-1-αμίνης από PRPP και γλουταμίνη

Η αμίνη είναι σε διαμόρφωση β.

Ενεργοποίηση ενός οξυγόνου με φωσφορυλίωση εκτόπιση του φωσφορικού με αμμωνία ή μία ομάδα αμίνης που ενεργεί ως πυρηνόφιλο (αμίνωση) ATP

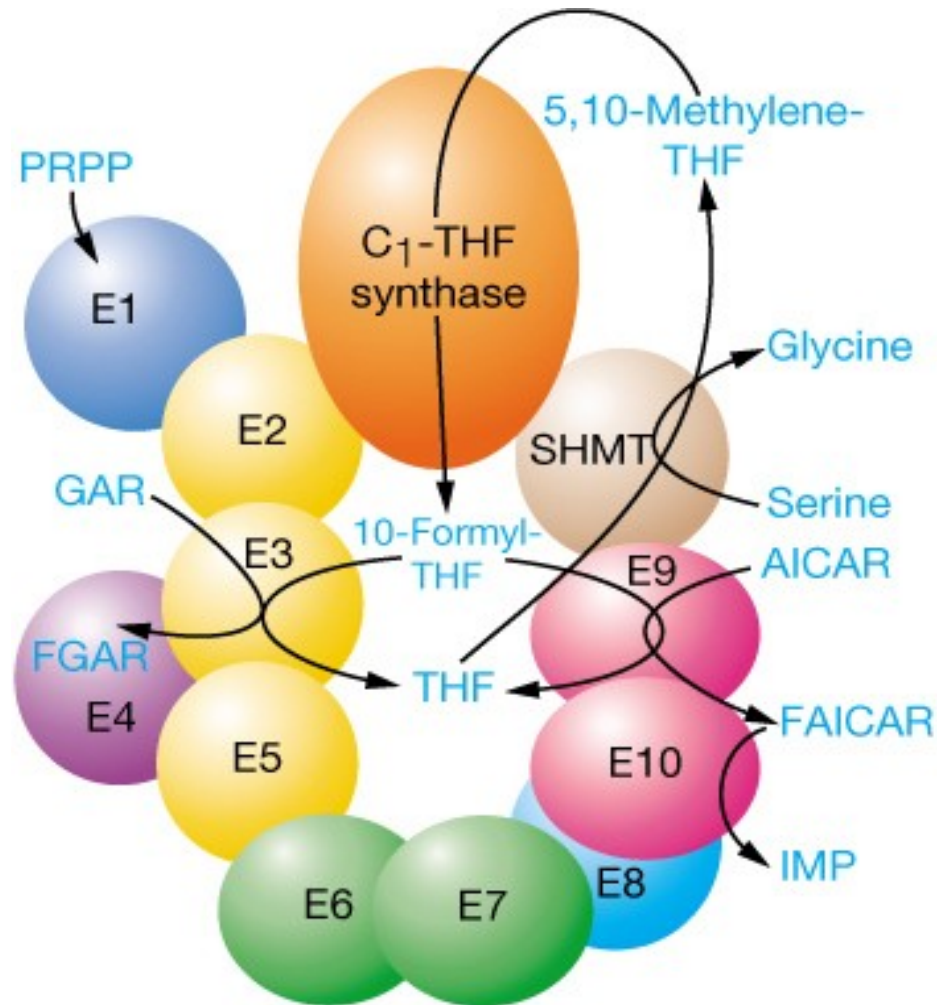
Η μονοφωσφορική ινοσίνη 5' (IMP) είναι το σημείο διακλάδωσης της σύνθεσης των νουκλεοτιδίων πουρίνης.

Το AMP (αδενυλικό) και το GMP (γουανυλικό) συντίθενται από το IMP σε σύντομες, ξεχωριστές οδούς



Πουρινosώματα

Enzymes of the Purine-Synthesis Pathway Are Associated with One Another in Vivo



Η ενζυμική οργάνωση διευκολύνει τη ροή των ενδιάμεσων προϊόντων μέσω των μεταβολικών οδών

Οι δέκα αντιδράσεις της *de novo* βιοσύνθεσης πουρινών καταλύονται από έξι ένζυμα που συνδέονται αντιστρεπτά στο πουρινόσωμα

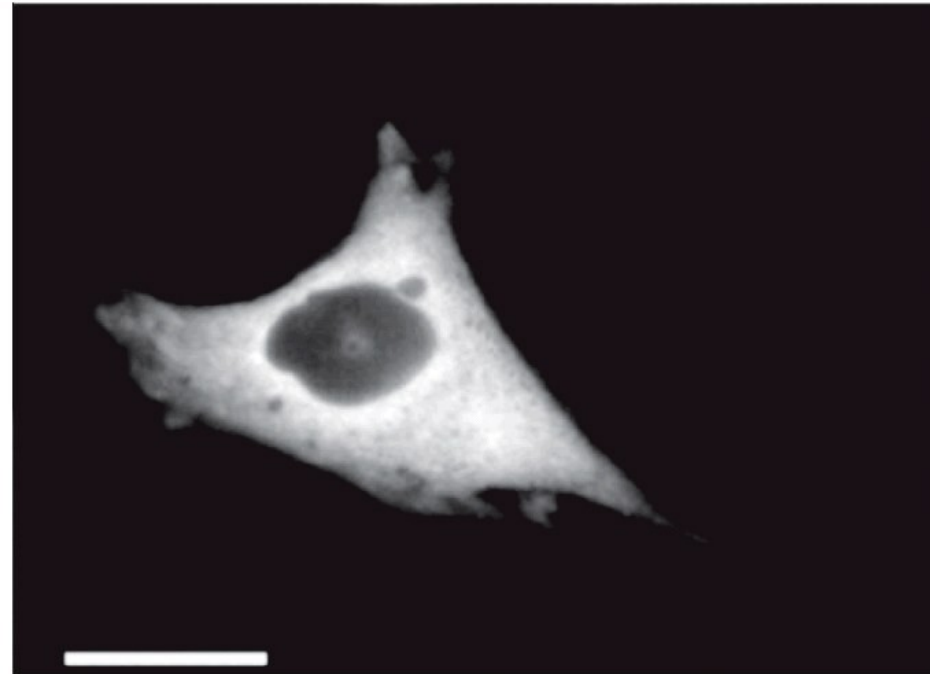
Δύο επιπλέον ένζυμα, η συνθετάση C-1 THF και η υδροξυμεθυλοτρανσφεράση σερίνης (SHMT) συνδέονται επίσης σε αυτό το σύμπλοκο.

Αυτά τα δύο ένζυμα παρέχουν το 10-φορμόλο-THF στις κύριες θέσεις χρησιμοποίησής του (E3 και E9).

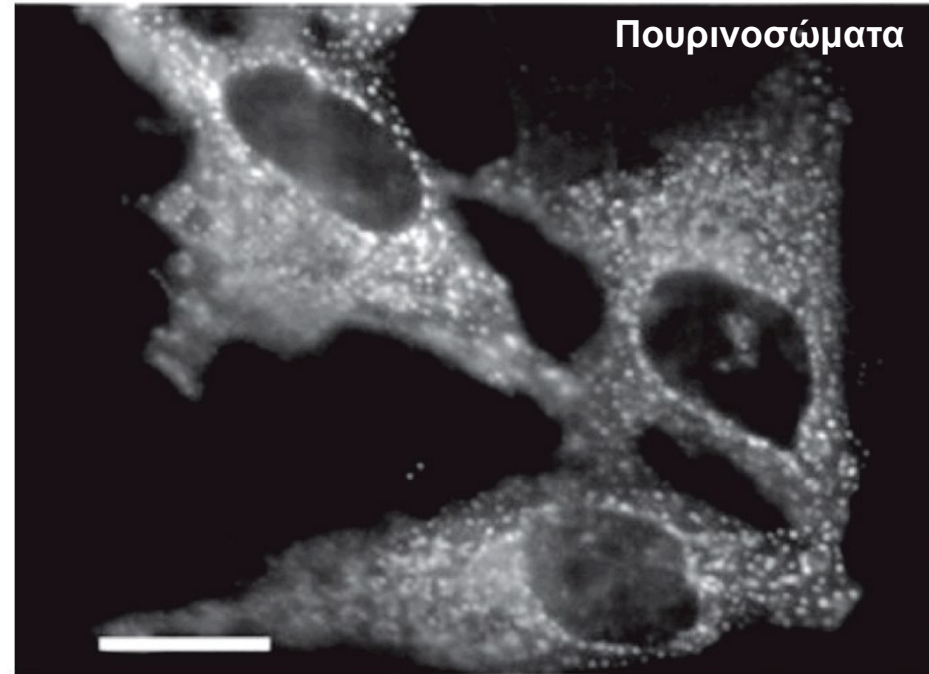
Πουρινοσώματα

Enzymes of the Purine-Synthesis Pathway Are Associated with One Another in Vivo

(A)



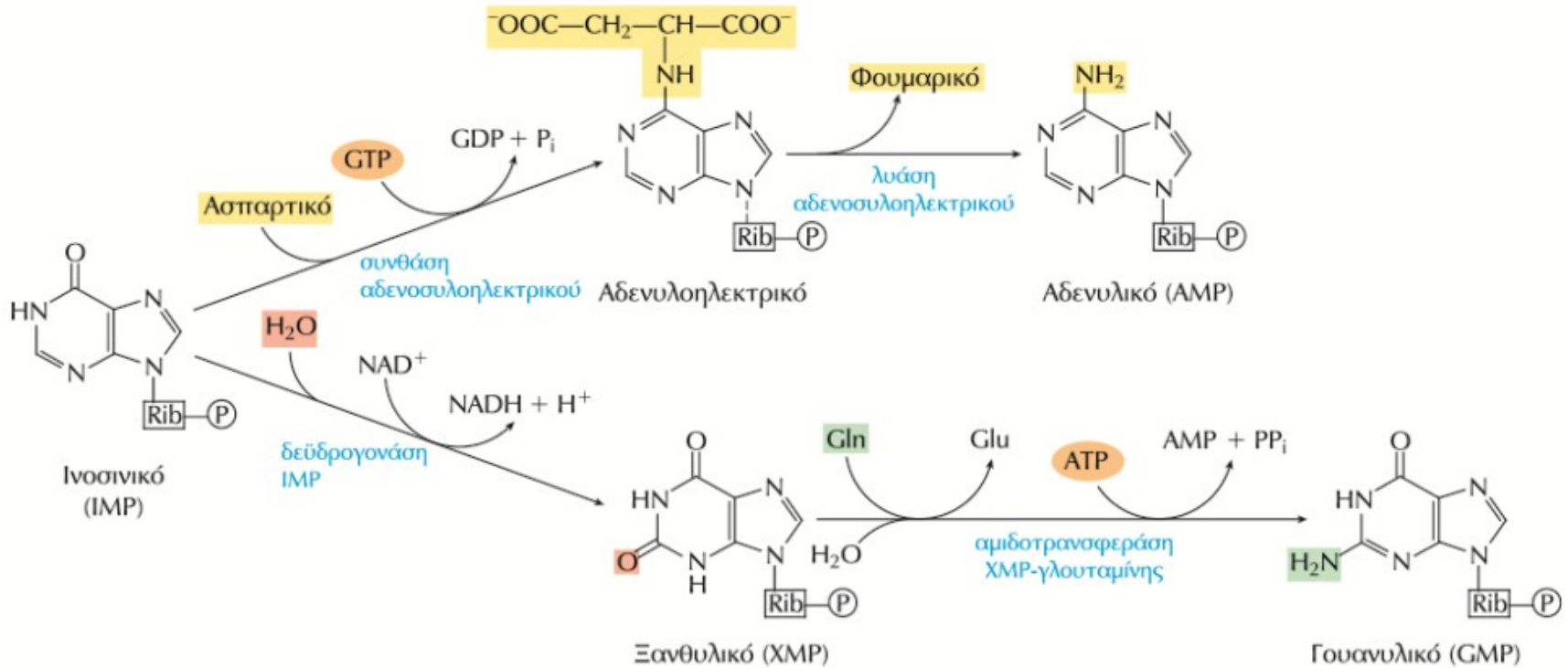
(B)



Όταν τα κύτταρα αναπτύσσονται σε μέσο που περιλαμβάνει πουρίνες, de novo σύνθεση πουρίνης δεν συμβαίνει.

Ελλείψει των πουρινών, τα ένζυμα σύνθεση της πουρίνης συνδυάζονται μεταξύ του για να σχηματίσουν σύμπλοκα που ονομάζονται **πουρινοσώματα** που καταλύουν ενεργά σύνθεση της πουρίνης.

Σύνθεση AMP & GMP



ΕΙΚΟΝΑ 22-36 Βιοσύνθεση AMP και GMP από το IMP.

Ρύθμιση

The Synthesis of Purine Nucleotides Is Controlled by Feedback Inhibition at Several Sites

Four major mechanisms

1. Μεταφορά της αμινομάδας

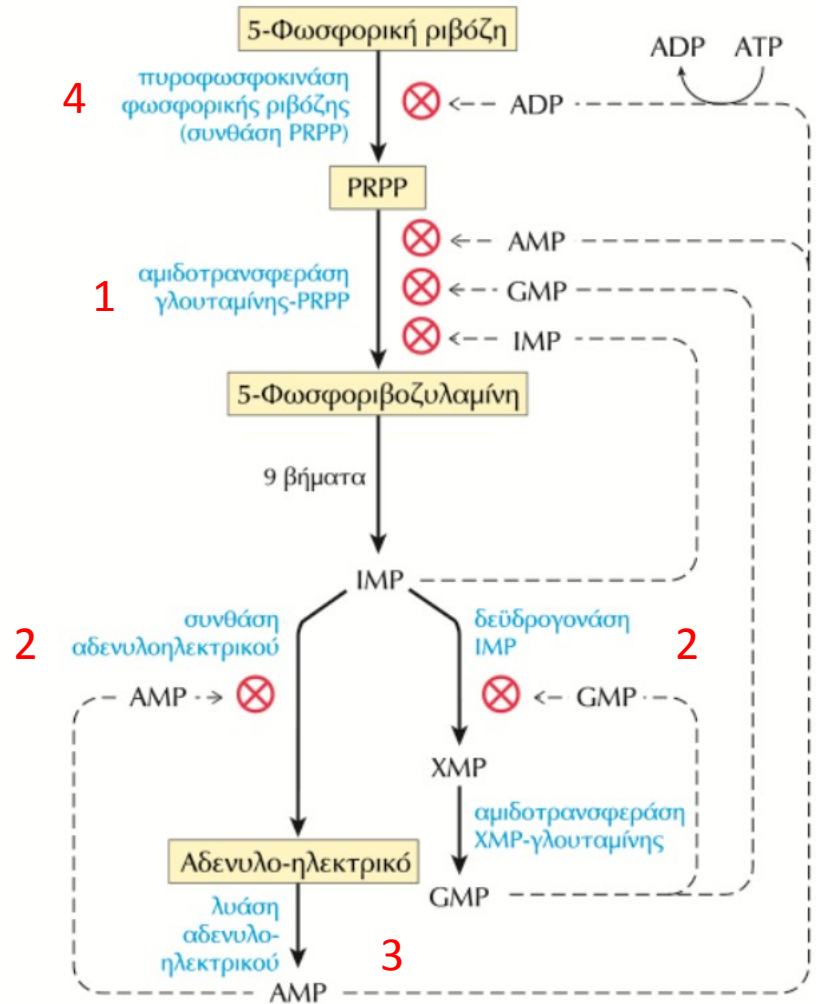
Αναστέλλεται από τα τελικά προϊόντα IMP, AMP και GMP. AMP και GMP δρουν συνεργικά

2. Μεταγενέστερο στάδιο

περίσσεια GMP αναστέλλει το σχηματισμό του XMP, χωρίς να επηρεάζει το σχηματισμό του AMP
συσώρευση του AMP αναστέλλει το σχηματισμό του αδενυλοηλεκτρικού, χωρίς να επηρεάζει τη βιοσύνθεση της GMP

3. GTP απαιτείται στην μετατροπή του IMP σε AMP, ενώ το ATP είναι απαραίτητη για τη μετατροπή του IMP προς GMP αμοιβαία διευθέτηση που εξισορροπείται στην σύνθεση των δύο ριβονουκλεοτίδων. Βημα φωσφορυλίωσης

4. Αναστολή της σύνθεσης PRPP από την αλλοστερική ρύθμιση του ενζύμου από ADP & GDP



ΕΙΚΟΝΑ 22-37 Ρυθμιστικοί μηχανισμοί στη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων αδενίνης και γουανίνης στο *E. coli*. Η ρύθμιση αυτών των οδών διαφέρει σε άλλους οργανισμούς.

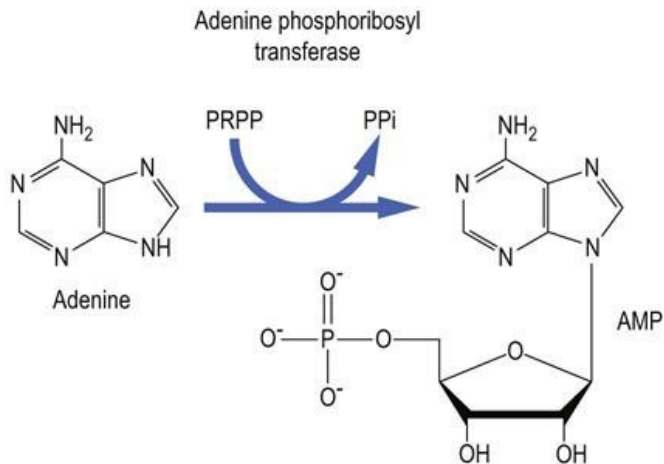
Περίσωση

Bases Can Be Recycled by Salvage Pathways

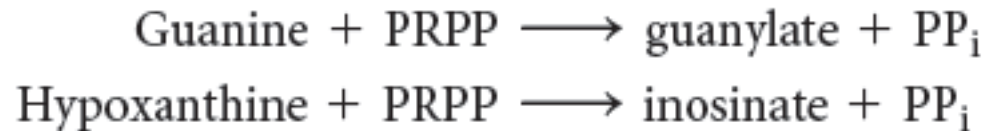
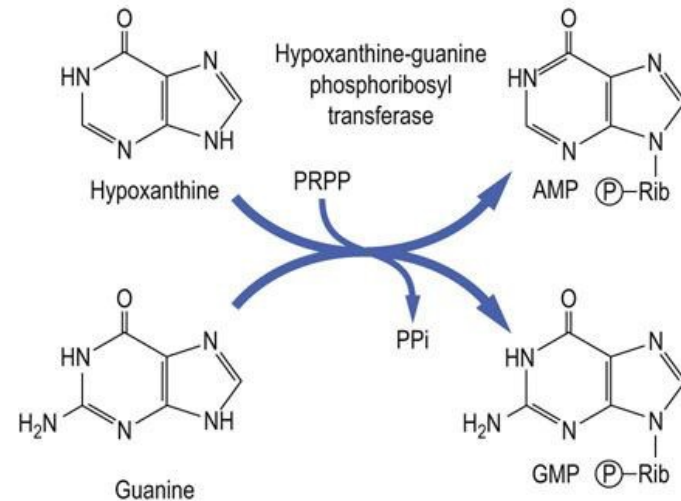
Δύο ένζυμα διάσωσης ανακυκλώνουν τις πουρίνες.

Φωσφοριβοσυλοτρανσφεράση της αδενίνης
Σχηματισμό του αδενυλικού

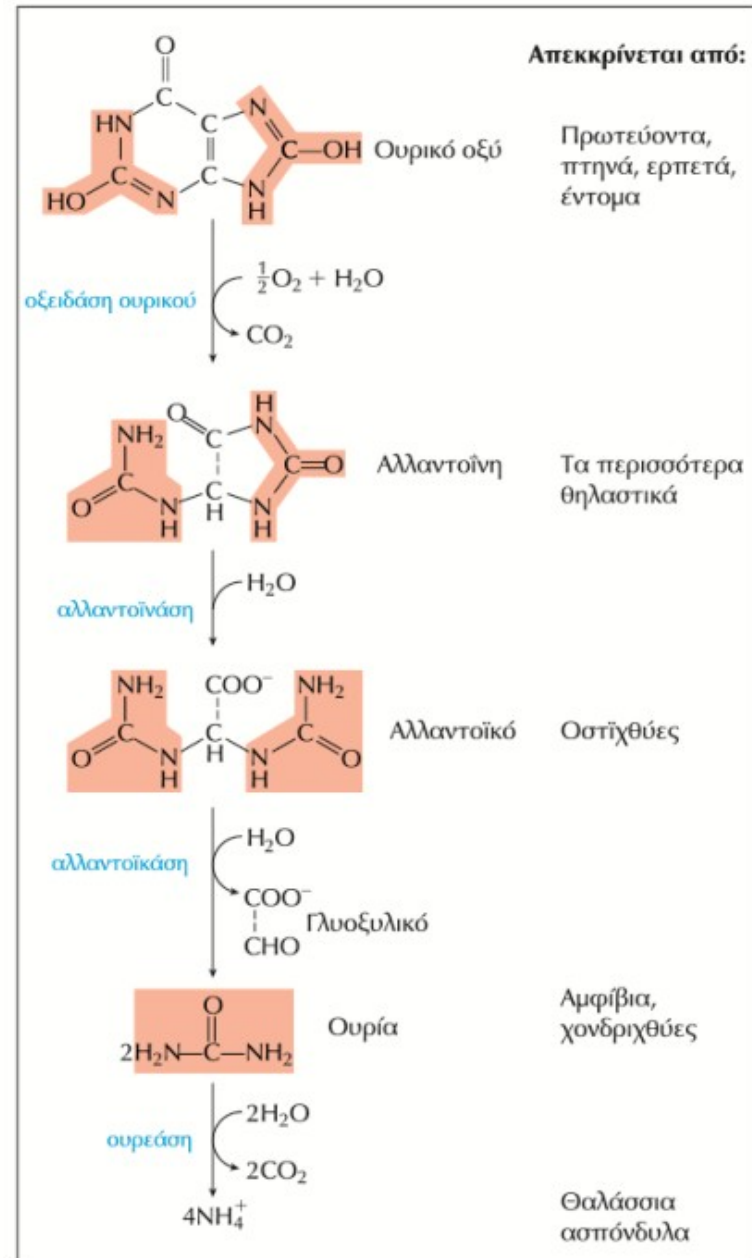
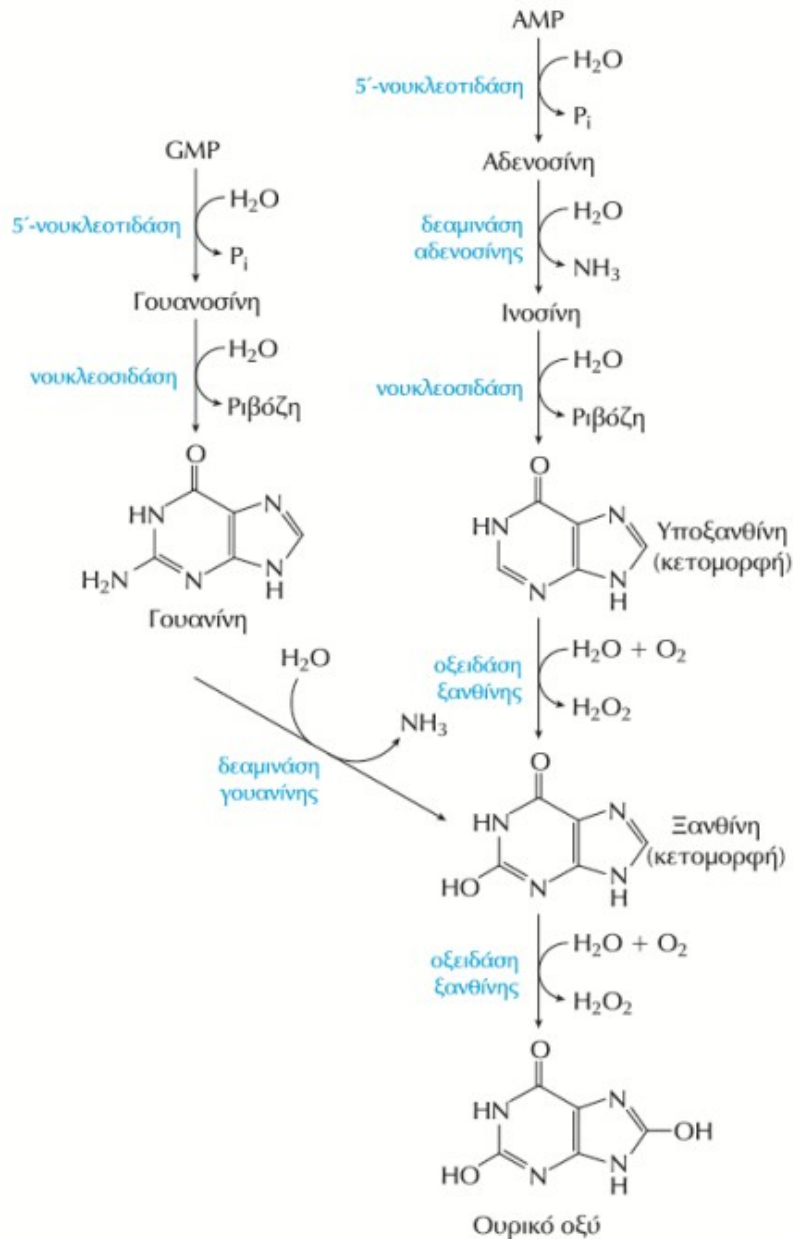
A



Φωσφοριβοσυλοτρανσφεράση υποξανθίνης-γουανίνης
(HGPRT)
Σχηματισμό του ινοσινικού και γουανυλικού.



Καταβολισμός των πουρινών

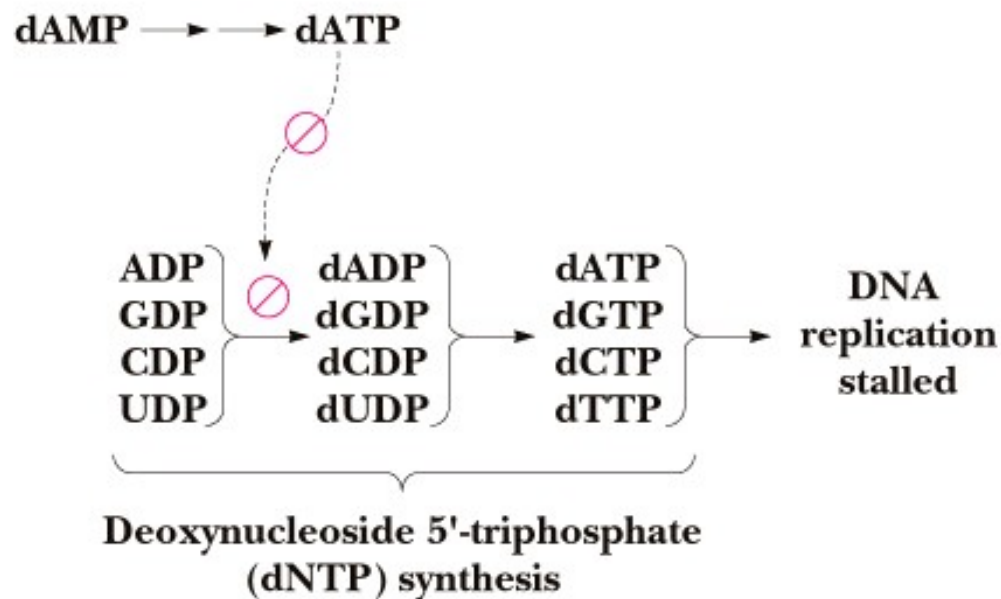


Παθολογικές καταστάσεις

Απαμινάση αδενοσίνης,

ένα ένζυμο σημαντικό στην αποικοδόμηση του AMP, αποαμινώνει αδερίνη σχηματίζει ινοσίνη

Η έλλειψη απαμινάσης προκαλεί βαρία συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (SCID)



Οι ασθενείς που πάσχουν από SCID έχουν εξασθενημένο ανοσοποιητικό σύστημα και είναι πολύ ευαίσθητα σε λοιμώξεις που μπορεί να οδηγήσει σε θάνατο

Παθολογικές καταστάσεις

Οξειδάση της ξανθίνης

μετατροπή της ξανθίνης σε ουρικό οξύ, οδός για την αποικοδόμηση των νουκλεοτιδίων πουρίνης.

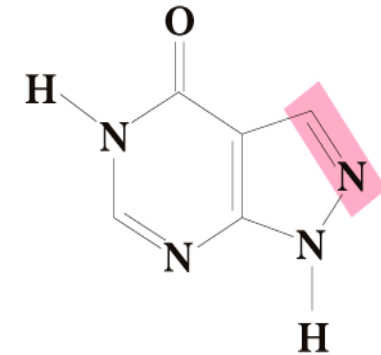
Το ουρικό οξύ ιονίζεται και σχηματίζει ουρικό ιόν.

Υψηλά επίπεδα ουρικού οξέος στο αίμα επάγουν ουρική αρθρίτιδα, μια επώδυνη ασθένεια που προκύπτει από τη συσσώρευση του κρυστάλλων ουρικού οξέος στις αρθρώσεις.

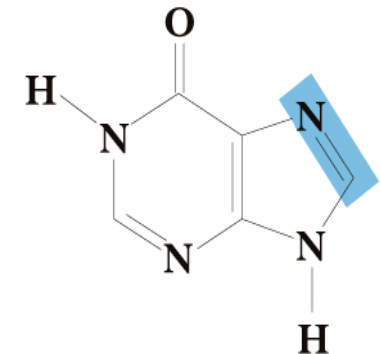
Χορήγηση αλλοπουρινόλης, ένας αναστολέας αυτοκτονίας της οξειδάσης, ανακουφίζει τα συμπτώματα της ουρικής αρθρίτιδας.

Οι πουρίνες στη συνέχεια αποβάλλεται ως ξανθίνη και υποξανθίνης.

Ουρικό οξύ είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό και μπορεί να αποτρέψει την οξειδωτική βλάβη.



Allopurinol



Hypoxanthine

Uric acid
(enol tautomer)

Enzyme: Mo complex
(fully oxidized Mo^{VI} form)

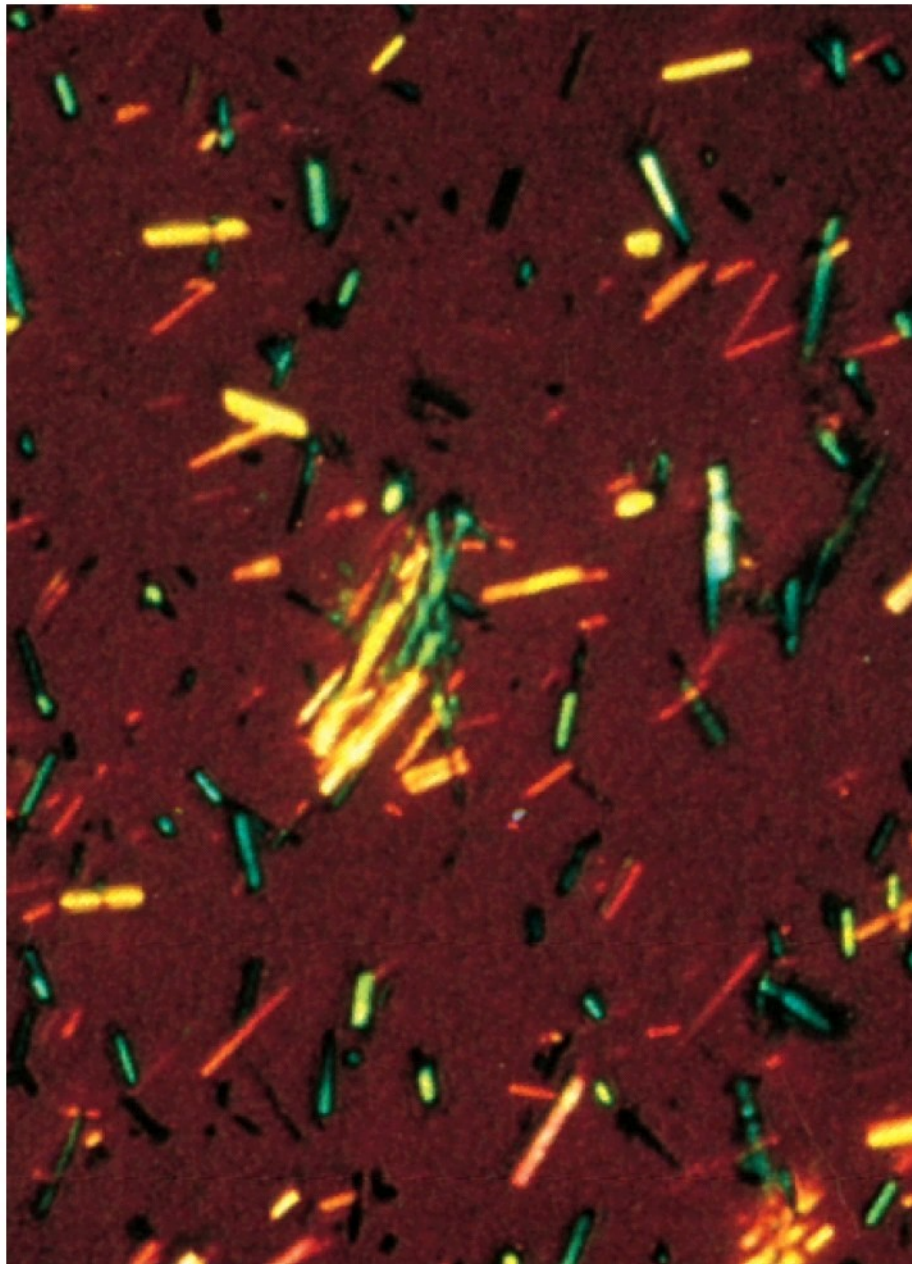


Figure 32.13b

Biochemistry: A Short Course, Second Edition

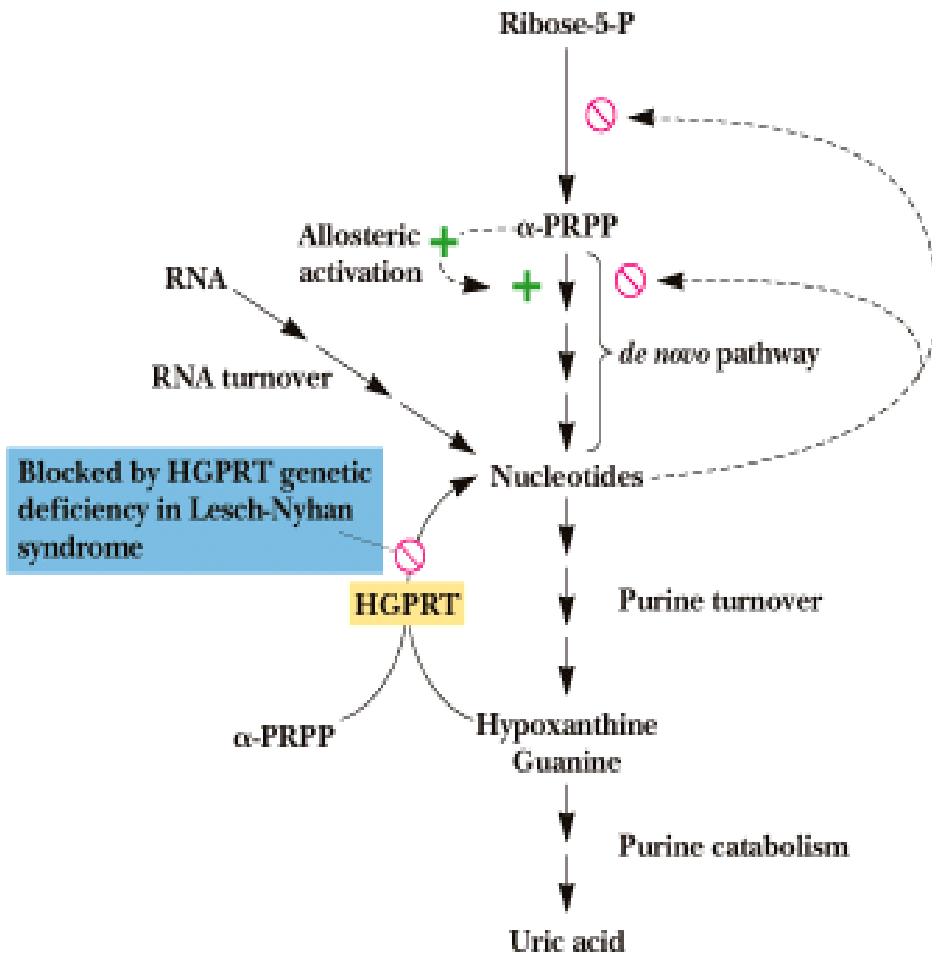
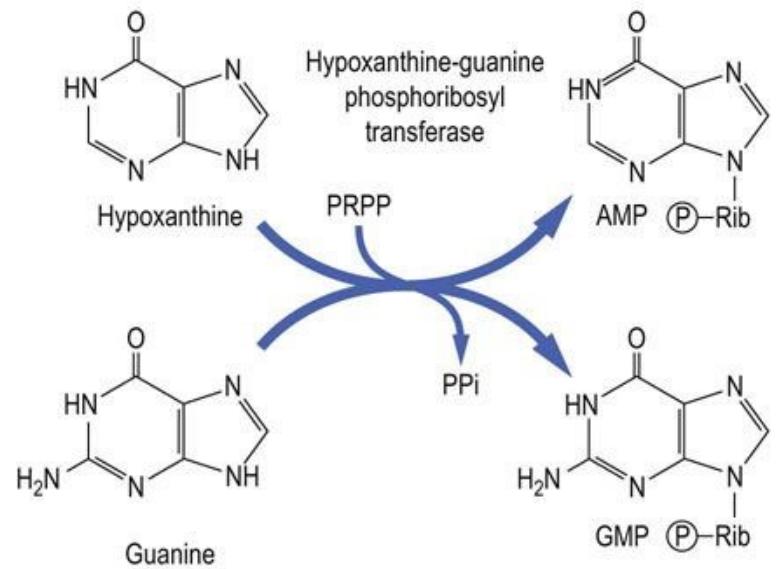
© 2013 W. H. Freeman and Company

Παθολογικές καταστάσεις

Lesch-Nyhan

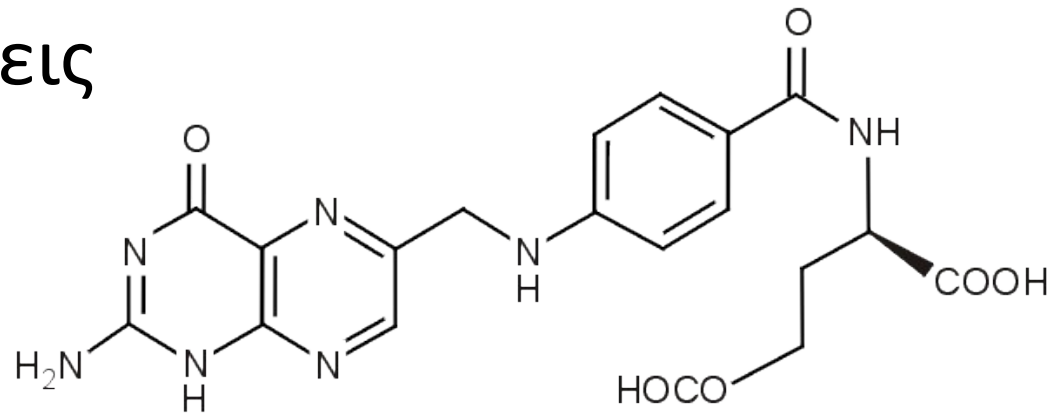
Φωσφοριβοζυλομεταφοράση της υποξανθίνης-γουανίνης (HGPRT)

Ενζυμο στην πορεία διάσωσης της γουανίνης



Ασθενείς Πάσχουν από ψυχαναγκαστική αυτοκαταστροφική συμπεριφορά, νοητική υστέρηση ουρική αρθρίτιδα

Παθολογικές καταστάσεις



Η ανεπάρκεια σε φυλλικό οξύ (βιταμίνη B₉) είναι ευρέως διαδεδομένη, ιδιαίτερα σε “θρεπτικά” φτωχό πληθυσμό.

Μειωμένη σύνθεση θυμιδυλικου προκαλεί την ενσωμάτωση της ουρακίλης στο DNA

Μηχανισμοί επιδιόρθωσης δημιουργούν σπασίματα που επηρεάζουν τη δομή και τη λειτουργία του DNA

Σχετίζεται με καρκίνο, καρδιακές παθήσεις, νευρολογικές δυσλειτουργία

Κρίσιμο ρόλο στην ανάπτυξη του εμβρύου.

Η ανεπαρκής πρόσληψη φυλλικού οξέος κατά τη διάρκεια της εγκυμοσύνης μπορεί να οδηγήσει σε ανωμαλίες του νευρικού σωλήνα

δισχιδής ράχη (ελλιπή σχηματισμό νευρικού σωλήνα).

Δημιουργία δι- και τριφωσφορικών νουκλεοτιδίων

Nucleotide mono-, di-, and triphosphates are interconvertible

Μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια μετατρέπονται σε διφωσφορικά με ειδικές κινήσεις μονοφωσφορικών νουκλεοζιτών.

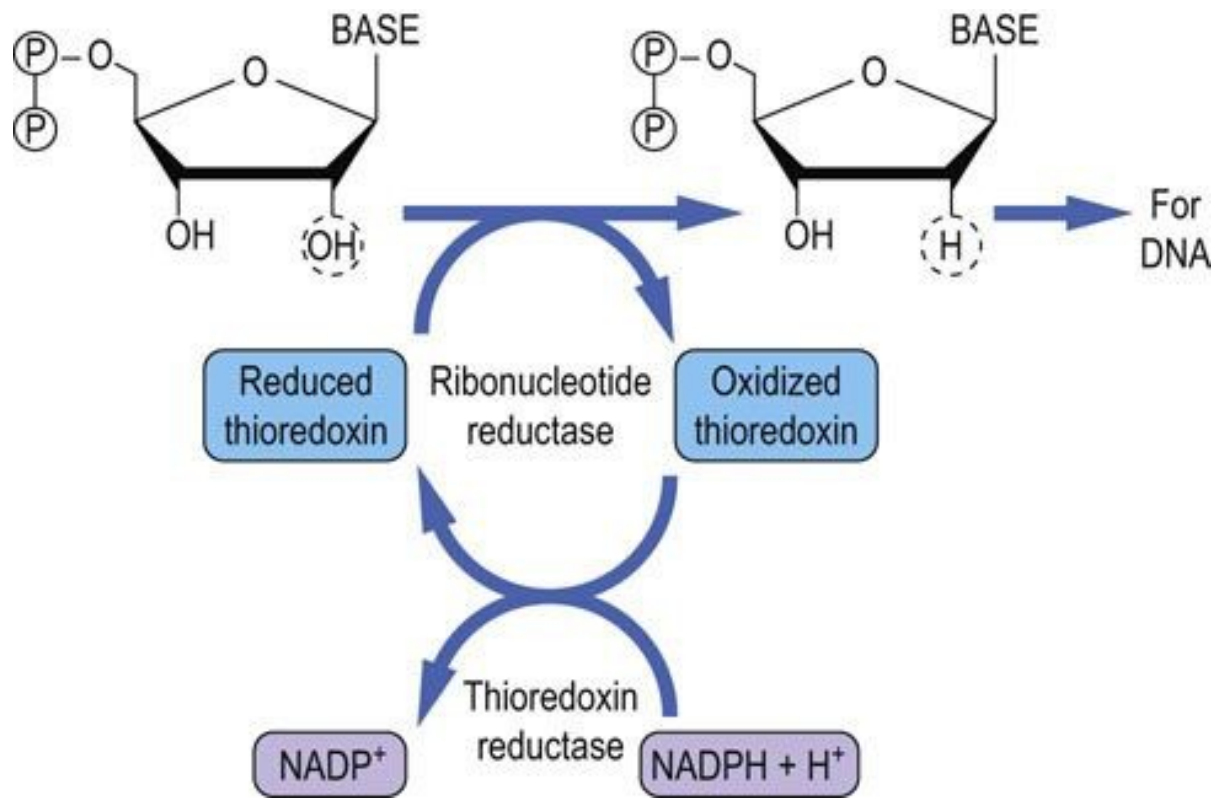


Διφωσφορικά νουκλεοτίδια μετατρέπονται σε τριφωσφορικά από την κίνηση των διφωσφορικών νουκλεοζιτών, που έχουν ευρεία εξειδίκευση

X και Y αντιπροσωπεύουν κάθε νουκλεοτίδιο στην αντίδραση παρακάτω:



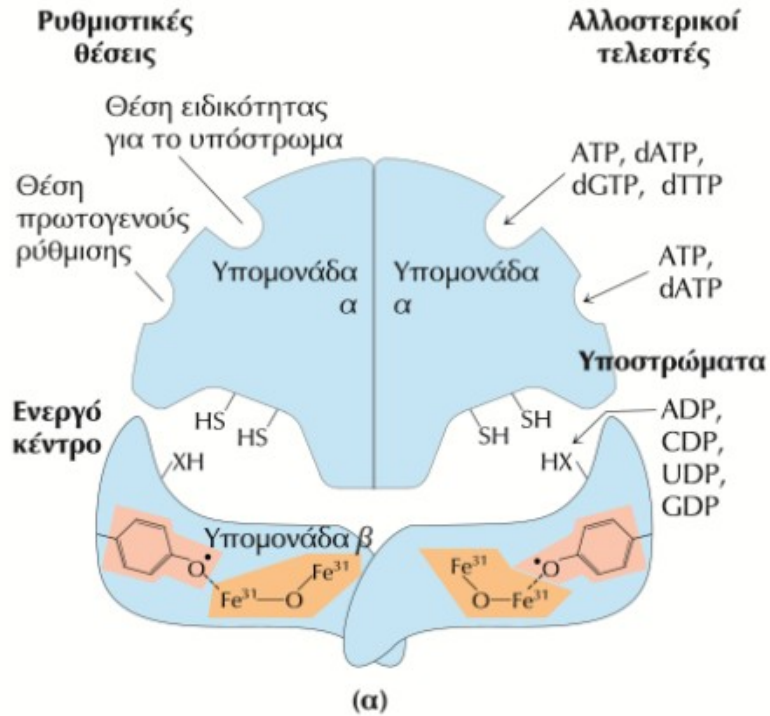
Μεταβολισμός των δεοξυριβονουκλεοτιδίων



Τα περισσότερα κύτταρα περιέχουν 5 έως 10 φορές περισσότερο RNA από ό,τι DNA. Τα ριβονουκλεοτίδια εξυπηρετούν πολλαπλούς μεταβολικούς ρόλους, ενώ τα δεοξυριβονουκλεοτίδια αποτελούν μόνο το DNA

Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια συντίθενται από **διφωσφορικούς ριβονουκλεοζίτες**
Αντικατάσταση της **2'-υδροξυλομάδας** της ριβόζης από **ένα άτομο υδρογόνου**
Αναγωγή ριβονουκλεοτιδίων, δρα και στα **τέσσερα ριβονουκλεοτίδια**.

Αναγωγή των ριβοζονουκλεοτιδίων σε δεοξυριβονουκλεοτίδια



Και τα τέσσερα ριβονουκλεοτίδια ανάγονται από τη ριβονουκλεοτιδική αναγωγή (RNR), η οποία χρησιμοποιεί μηχανισμό ελεύθερων ριζών.

E. coli δύο υπομονάδες:

διμερές R1 που περιέχει το ενεργό κεντρο, δύο κυστεΐνες και γλουταμικό και δύο θέσεις αλλοστερικού ελέγχου

διμερές R2 που περιέχει σε κάθε υπομονάδα μια τυροσυλική ρίζα.

Ρύθμιση της αναγωγής

The Synthesis of Deoxyribonucleotides Is Controlled by the Regulation of Ribonucleotide Reductase

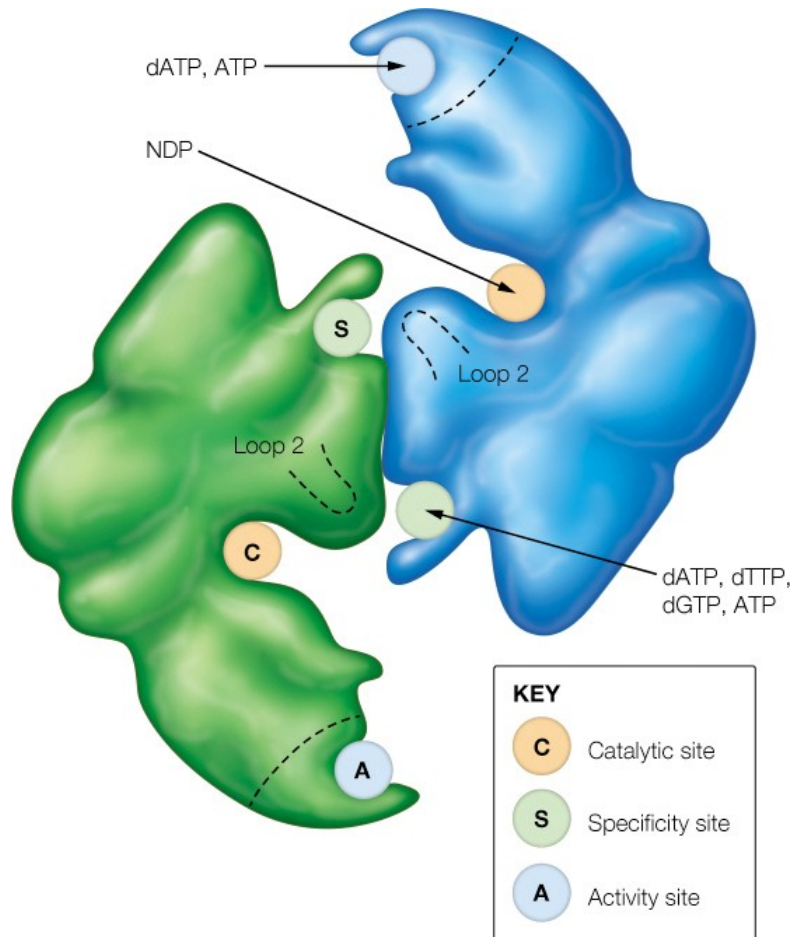
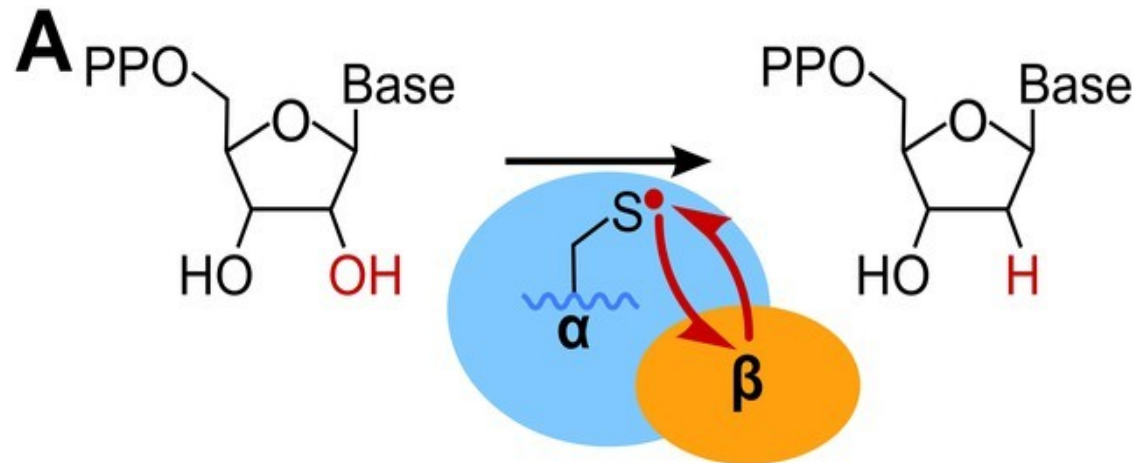
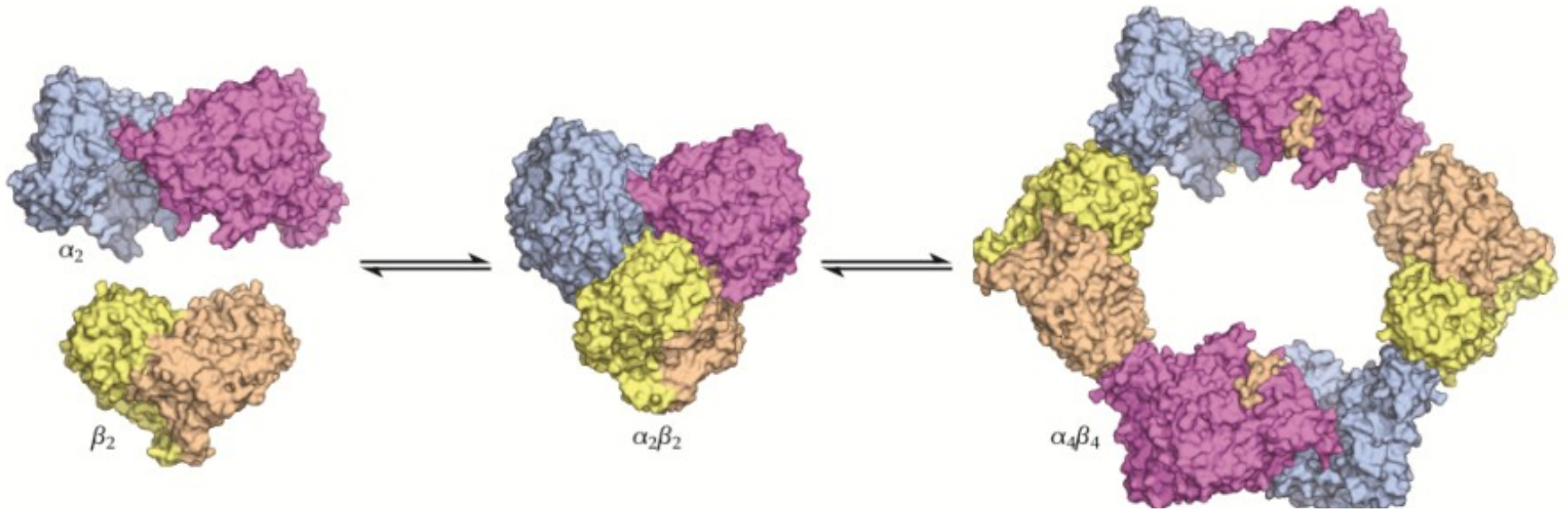


TABLE 19.1 Regulation of the activities of ribonucleotide reductase

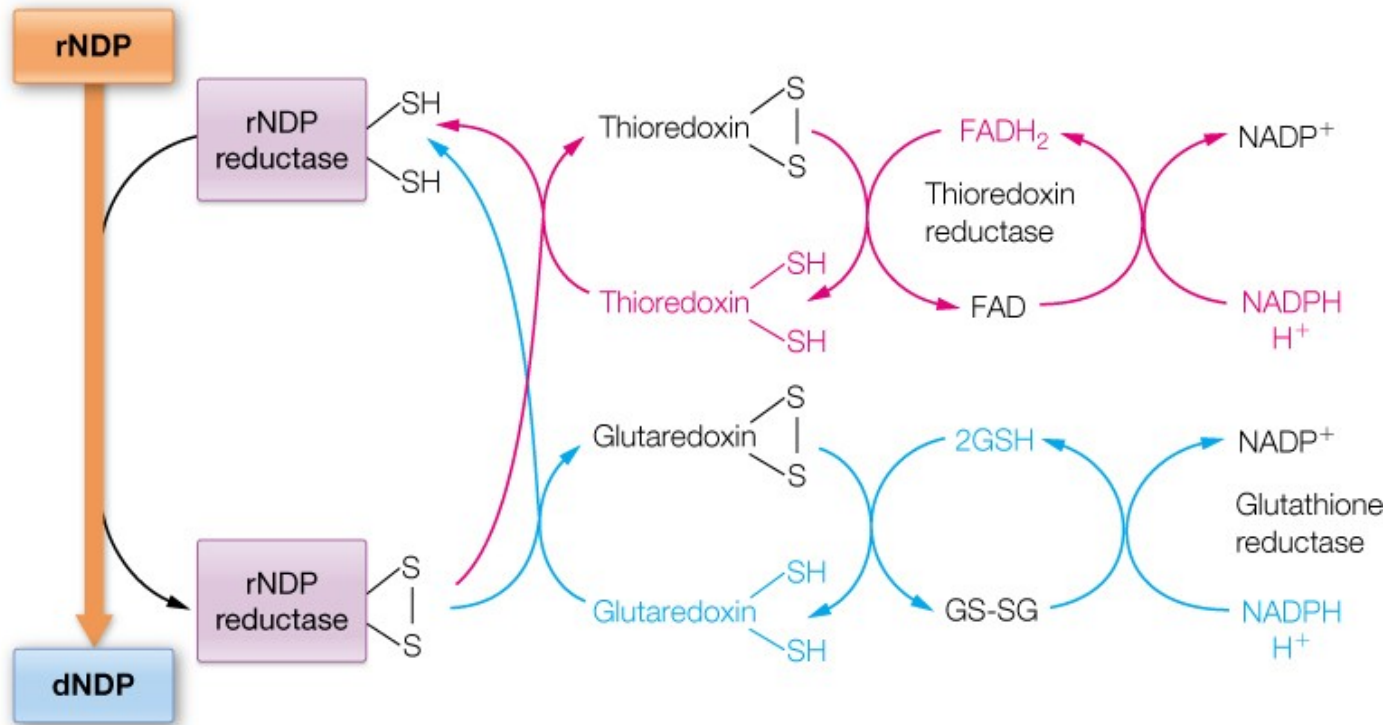
Nucleotide Bound in		Activates Reduction of	Inhibits Reduction of
Activity Site	Specificity Site		
ATP	ATP or dATP	CDP, UDP	
ATP	dTTP	GDP	CDP, UDP
ATP	dGTP	ADP	CDP, UDP ^a
dATP	Any effector		ADP, GDP, CDP, UDP

^adGTP binding inhibits the reduction of pyrimidine nucleotides by the mammalian enzyme but not by the *E. coli* enzyme.

Ρύθμιση της αναγωγής



Αναγωγή των ριβοζονουκλεοτιδίων



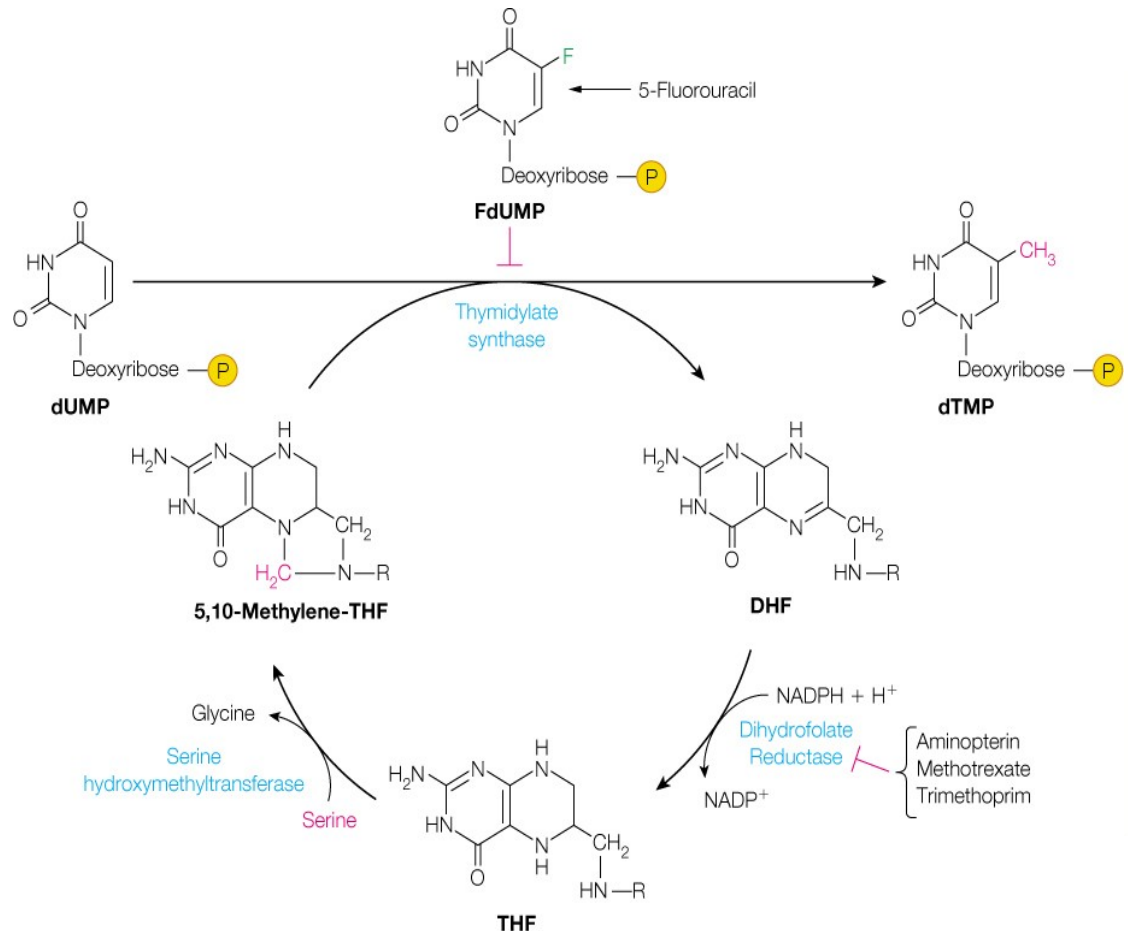
Κατά τη διαδικασία της κατάλυσης το θείο στις κυστεΐνες οξειδώνεται.
Ο δισουλφιδικός δεσμός πρέπει να ανηχθεί

Η άμεση πηγή ηλεκτρονίων για τη αναγωγή της αναγωγάσης είναι θειορεδοξίνη.

Η αναγωγάση της θειορεδοξίνης καταλύει τη ροή ηλεκτρονίων από **NADPH** σε θειορεδοξίνη και τελικά στην αναγωγάση των ριβονουκλεοτιδίων για την δημιουργία του δραστικού ενζύμου.

Αναγωγή των ριβοζονουκλεοτιδίων

Thymidylate is formed by the methylation of deoxyuridylate



Η συνθάση του θυμιδυλικου προσθέτει μία ομάδα μεθυλίου

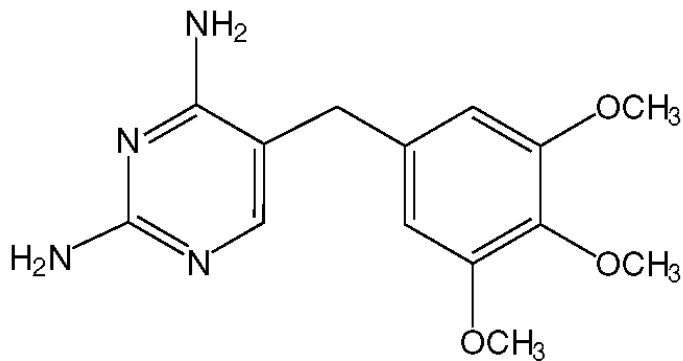
Η αντίδραση που απαιτεί N₅, N₁₀ μεθυλενοτετραϋδρο φυλλικό

Η αναγωγή του διϋδροφυλλικού αναγεννά το τετραϋδροφυλλικό.

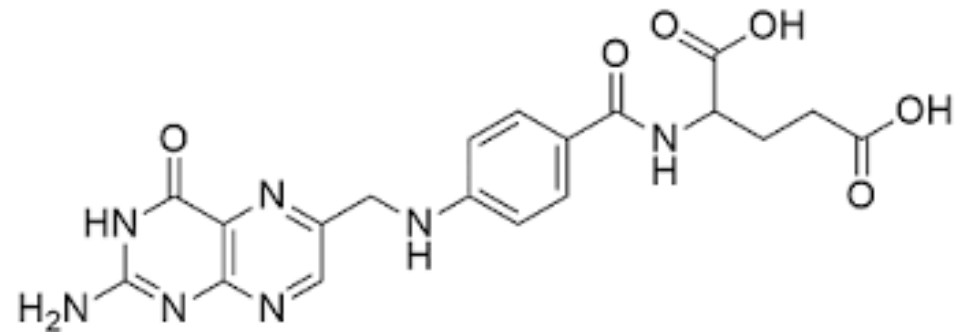
Αναγωγή των ριβοζονουκλεοτιδίων σε δεοξυριβονουκλεοτίδια

Τριμεθοπρίμη ανάλογο το φυλλικού οξέος έχει αντιβακτηριακή και αντιπρωτοζωική δραστηριότητα.

Τριμεθοπρίμη δεν αναστέλλει αναγωγή διυδροφυλλικού των θηλαστικών.



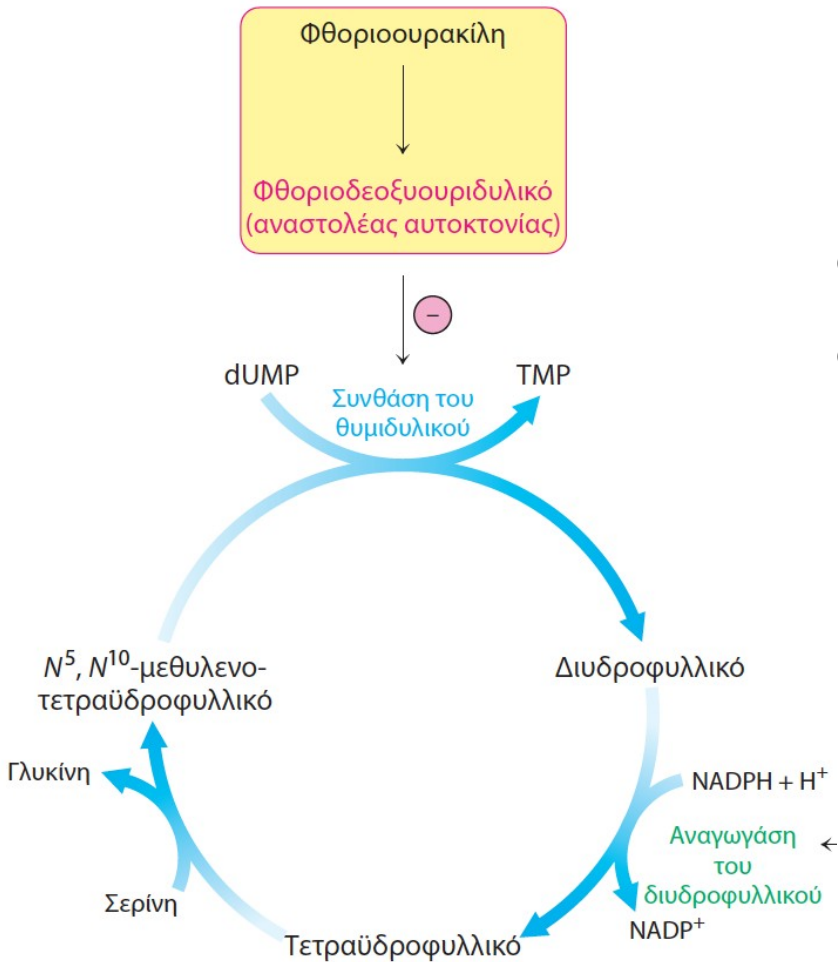
Τριμεθοπρίμη



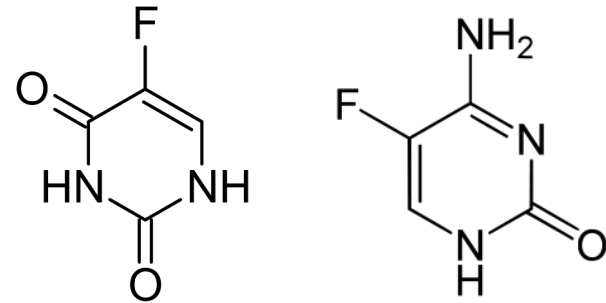
Folic acid

Στόχοι αντικαρκινικών φαρμακων

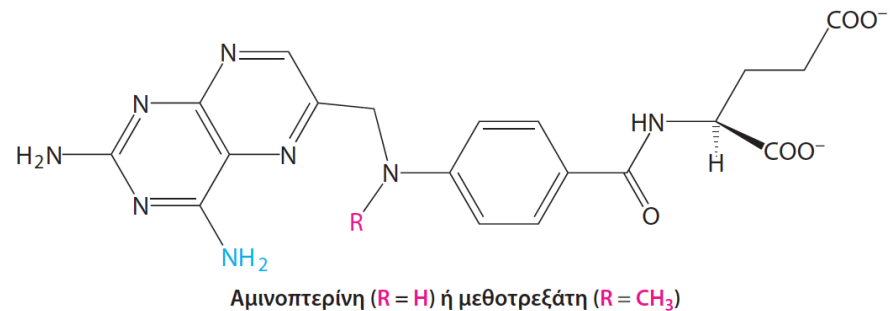
Several valuable anticancer drugs block the synthesis of thymidylate



fluorocytosine



Φθοριοουρακίλη μετατρέπεται σε φθοριοδεοξουριδυλικό από τα καρκινικά κύτταρα. Αναστολέας αυτοκτονίας της θυμιδικής συνθάσης.



Η αμινοπτερίνη και η μεθοτρεξάτη εμποδίζουν τη σύνθεση θυμιδυλικού με αναστολή **διυδροφολικής αναγωγής**, ενζύμο που αναγεννά THF για την θυμιδική συνθάση. Ανταγωνιστικοί αναστολείς της αναγωγής.

Ρύθμιση της αναγωγής

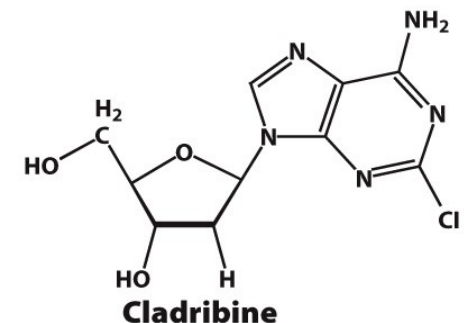
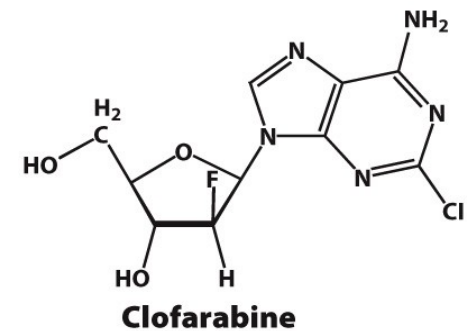
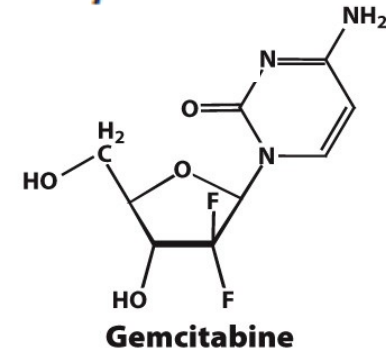
The synthesis of deoxyribonucleotides is controlled by the regulation of ribonucleotide reductase

Η αναγωγή ριβονουκλεοτιδίων είναι ένας στόχος για πολλά αντικαρκινικά φάρμακα.

Η γεμισταβίνη, μετά τη μετατροπή της στη διφωσφορική μορφή, είναι ένας αναστολέας αυτοκτονίας της αναγωγής
καρκίνος του παγκρέατος

Η κλοφαραβίνη και η κλαδριβίνη μετατρέπονται σε τριφωσφορικά που δρουν ως αλλοστερικοί αναστολείς του ενζύμου.

Οξείας μυελογενούς λευχαιμίας
Χρόνιας λεμφικής αναιμίας



Σύνοψη

Ονοματολογία

De novo σύνθεση πουρινών και πυριμιδών. Πορείες περίσωσης

Ο δακτύλιος της πυριμιδίνης συντίθεται πρώτα και μετά επισυνάπτεται στη ριβόζη

Ο δακτύλιος της πουρίνης συναρμολογείται στην ριβόζη

Τα ριβονουκλεοτίδια ανάγνωση σε δεοξυριβονουκλεοτίδια

Ρυθμική της σύνθεσης

Διαταραχές του μεταβολισμού των νουκλεοτιδίων μπορεί να προκαλέσει παθολογικές καταστάσεις