

ΠΕΨΗ
&
ΑΠΟΙΚΟΔΟΜΗΣΗ
ΠΡΩΤΕΪΝΩΝ

Αποικοδόμηση πρωτεϊνών - αμινοξέων και ο κύκλος της ουρίας

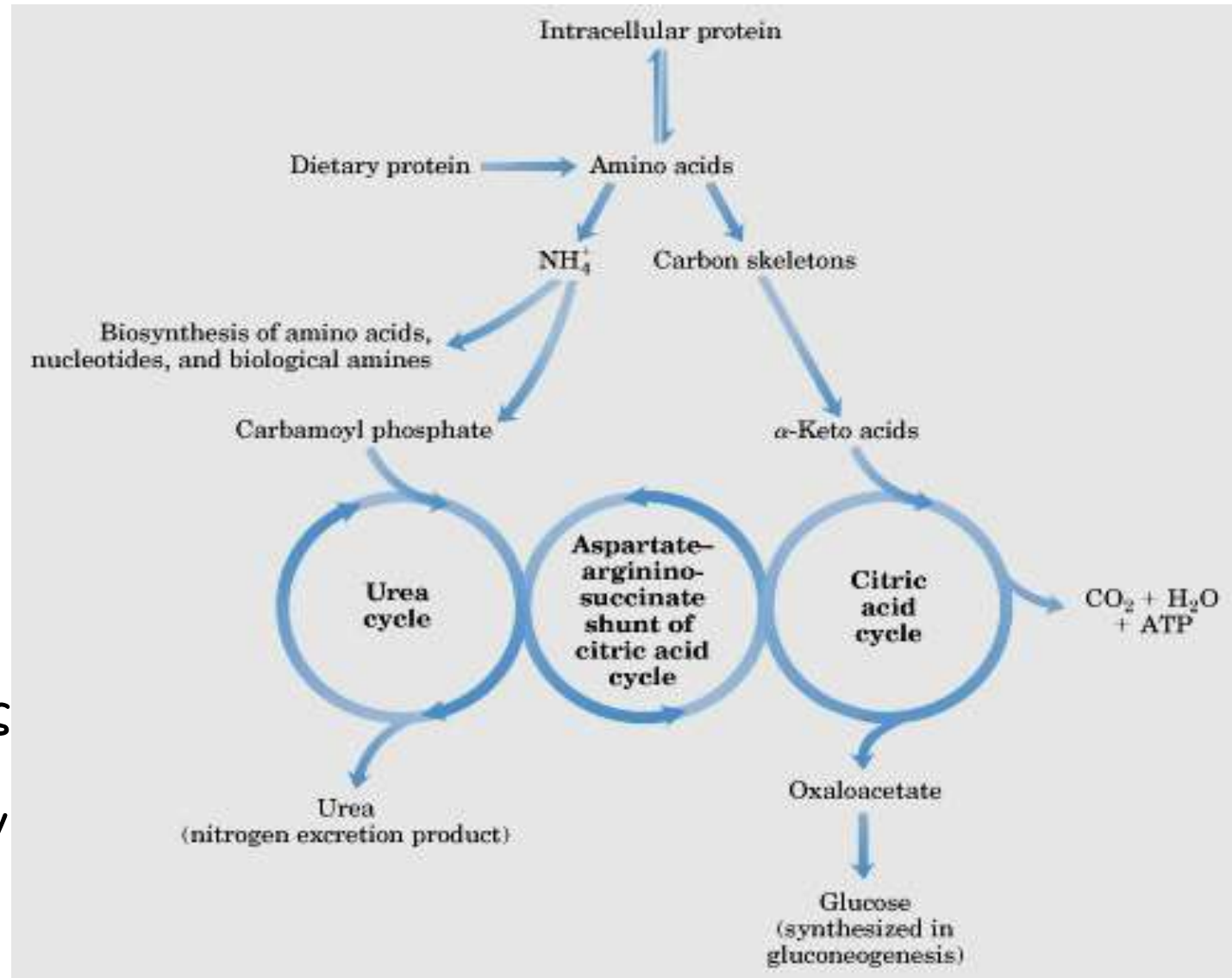
Η αποικοδόμηση των πρωτεϊνών της τροφής (πέψη) ή του σώματος (πρωτεόλυση) παράγει αμινοξέα.

Τα αμινοξέα δεν είναι δυνατόν να αποθηκευτούν ή να απεκκριθούν.

Χρησιμοποιούνται για την βιοσύνθεση των πρωτεϊνών.

Η περίσσεια τους μπορεί να γίνει μεταβολικό καύσιμο εφόσον απομακρυνθεί η αμινομαδα τους.

Σε περιπτώσεις ανάγκης είναι δυνατόν να χρησιμοποιηθούν για την παραγωγή κετονοσωμάτων και γλυκόζης.



Ανασκόπηση μεταβολισμού πρωτεϊνών & αμινοξέων

Ιστοί

ΤΡΟΦΗ

Αλανίνη & Γλουταμίνη

Αμινοξέα

Κυκλοφορία

Αμινοξέα

Ανασκόπηση μεταβολισμού πρωτεϊνών & αμινοξέων

Ιστοί

ΤΡΟΦΗ

Αλανίνη & Γλουταμίνη

Αμινοξέα

Κυκλοφορία

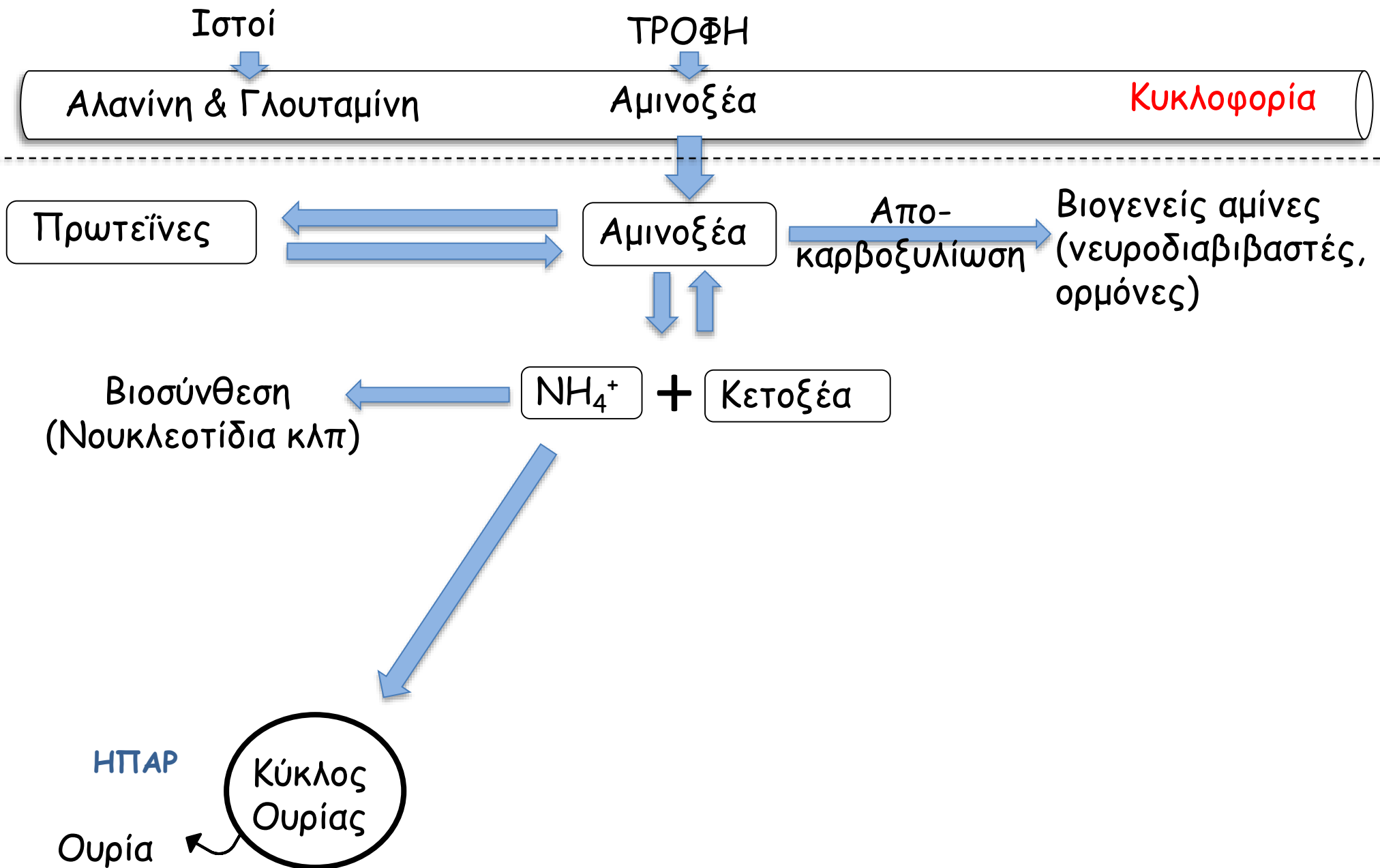
Πρωτεΐνες

Αμινοξέα

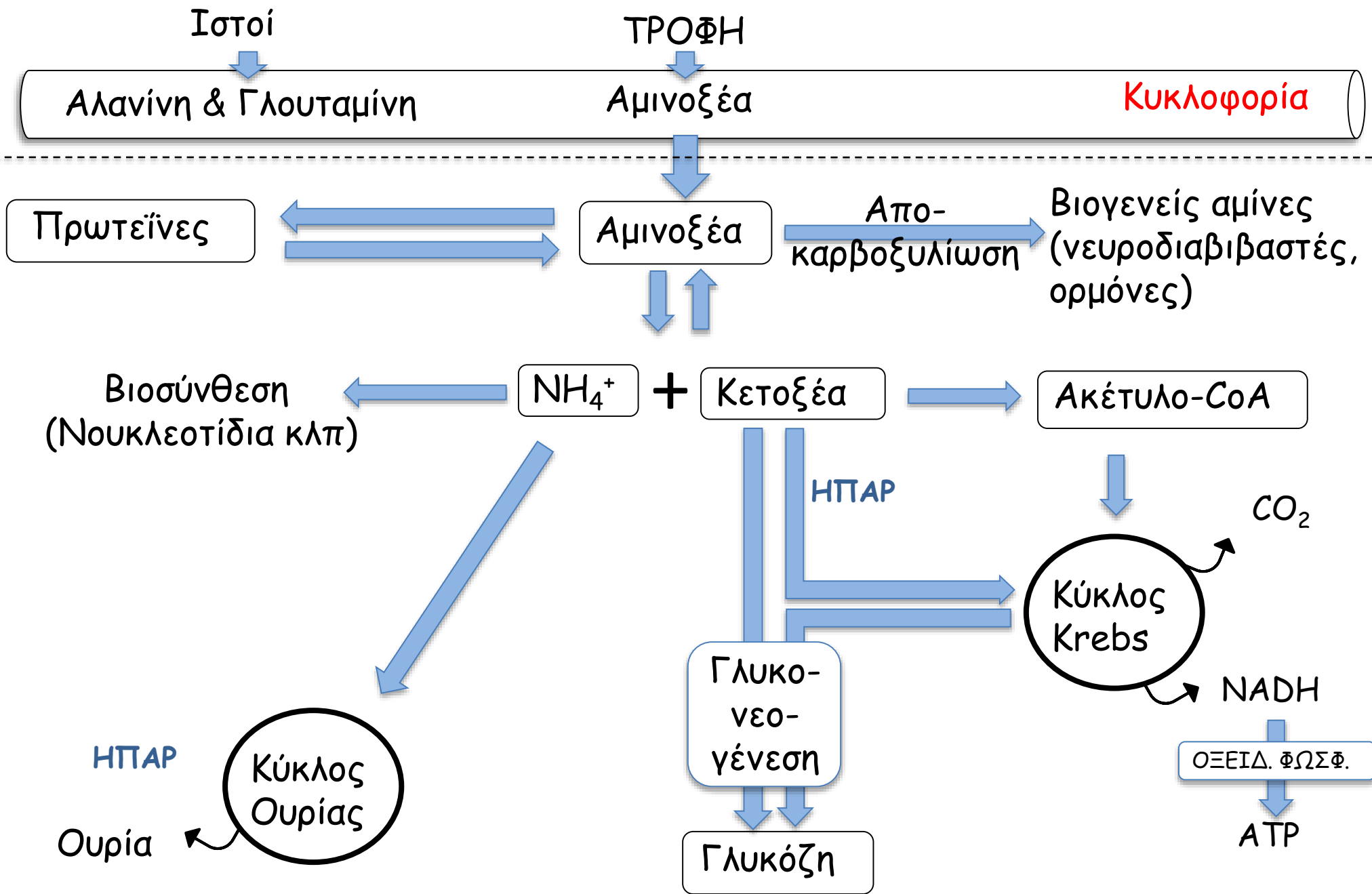
Απο-
καρβοξυλίωση

Βιογενείς αμίνες
(νευροδιαβιβαστές,
ορμόνες)

Ανασκόπηση μεταβολισμού πρωτεϊνών & αμινοξέων

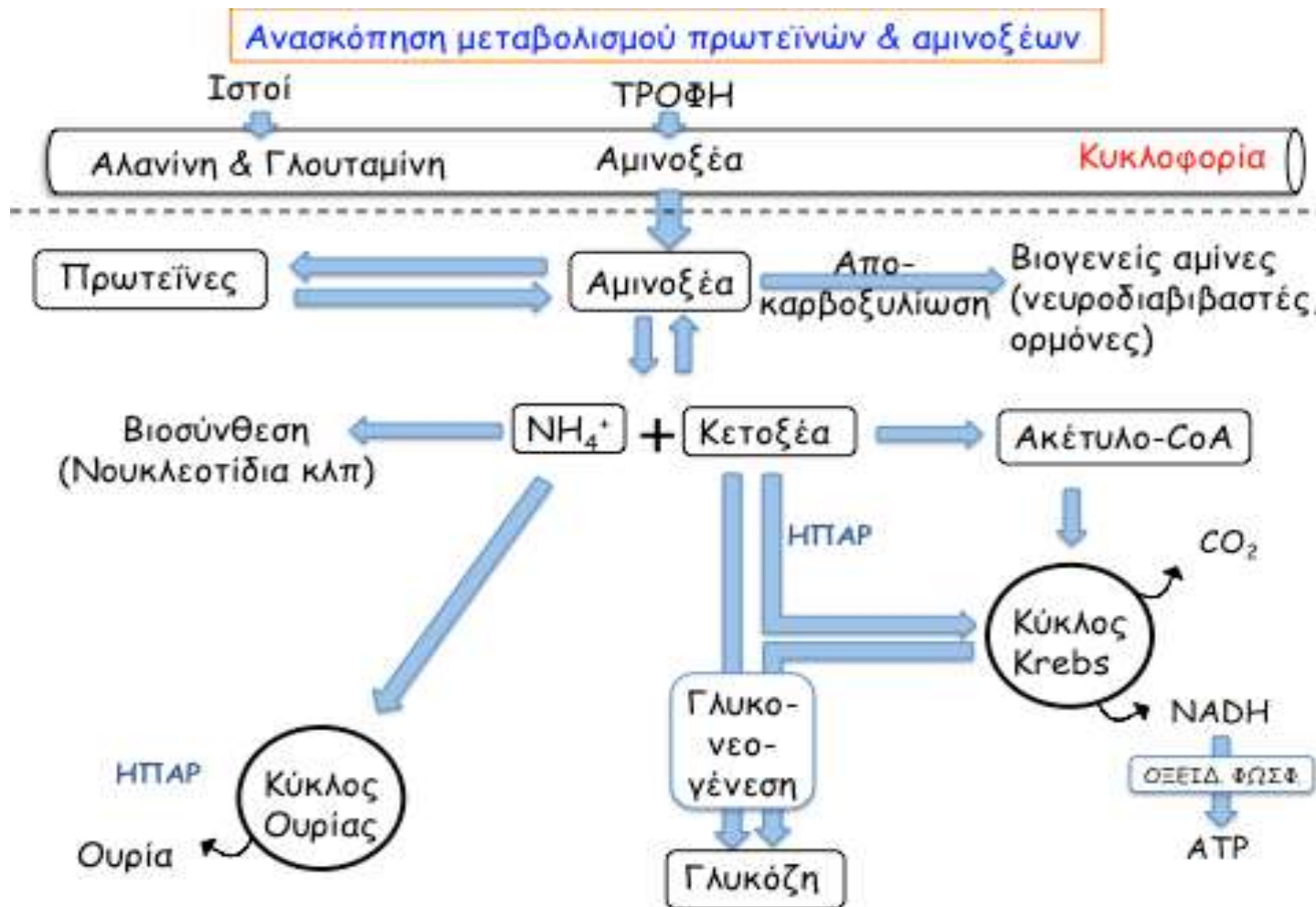


Ανασκόπηση μεταβολισμού πρωτεϊνών & αμινοξέων



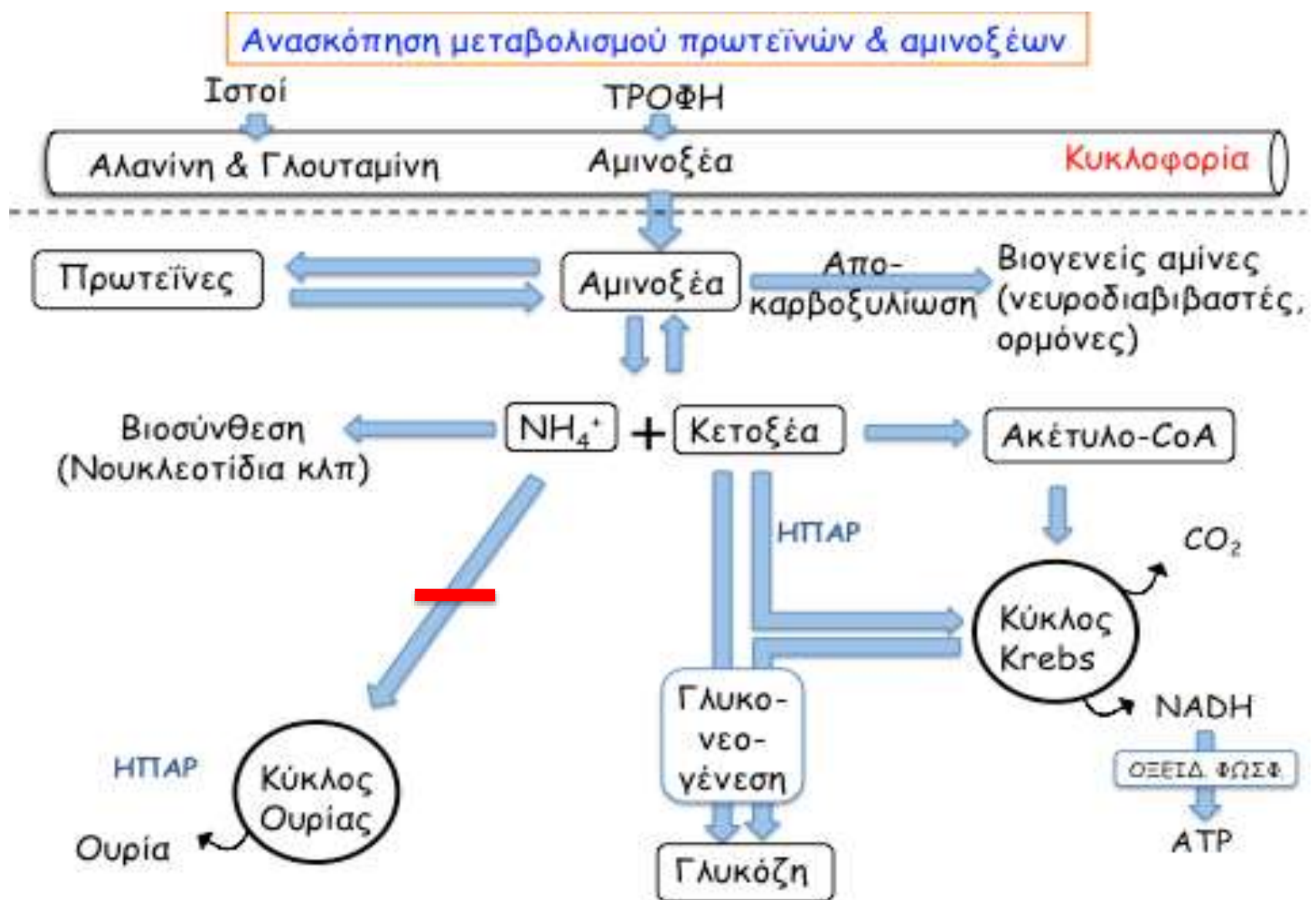
Ο μεταβολισμός των πρωτεϊνών & αμινοξέων

1. εξυπηρετεί την σύνθεση πρωτεϊνών
2. εξυπηρετεί την βιοσύνθεση παραγώγων (αμίνες, νουκλεοτίδια, αίμη, μελανίνη κλπ)
3. εξυπηρετεί την απέκκριση της περίσσειας αζώτου
4. εξυπηρετεί την παραγωγή ενέργειας από τη περίσσεια αμινοξέων
5. εξυπηρετεί την παραγωγή γλυκόζης κατά την ασιτία



Ασθένειες μεταβολισμού των αμινοξέων

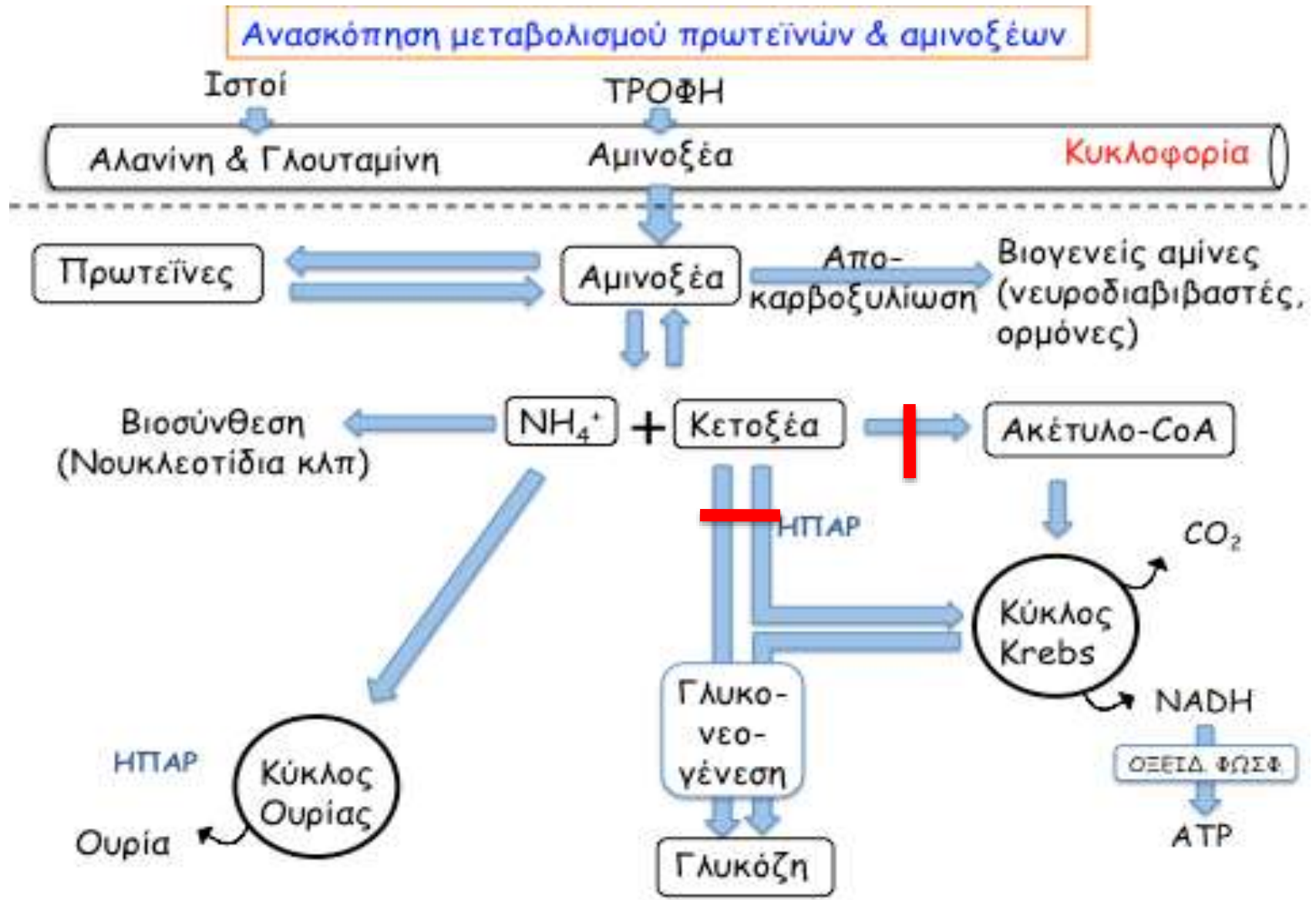
1. Υπεραμμωναιμίες – δυσλειτουργίες του κύκλου της ουρίας
2. Ανωμαλίες μετατροπής-αποικοδόμησης ανθρακικού σκελετού



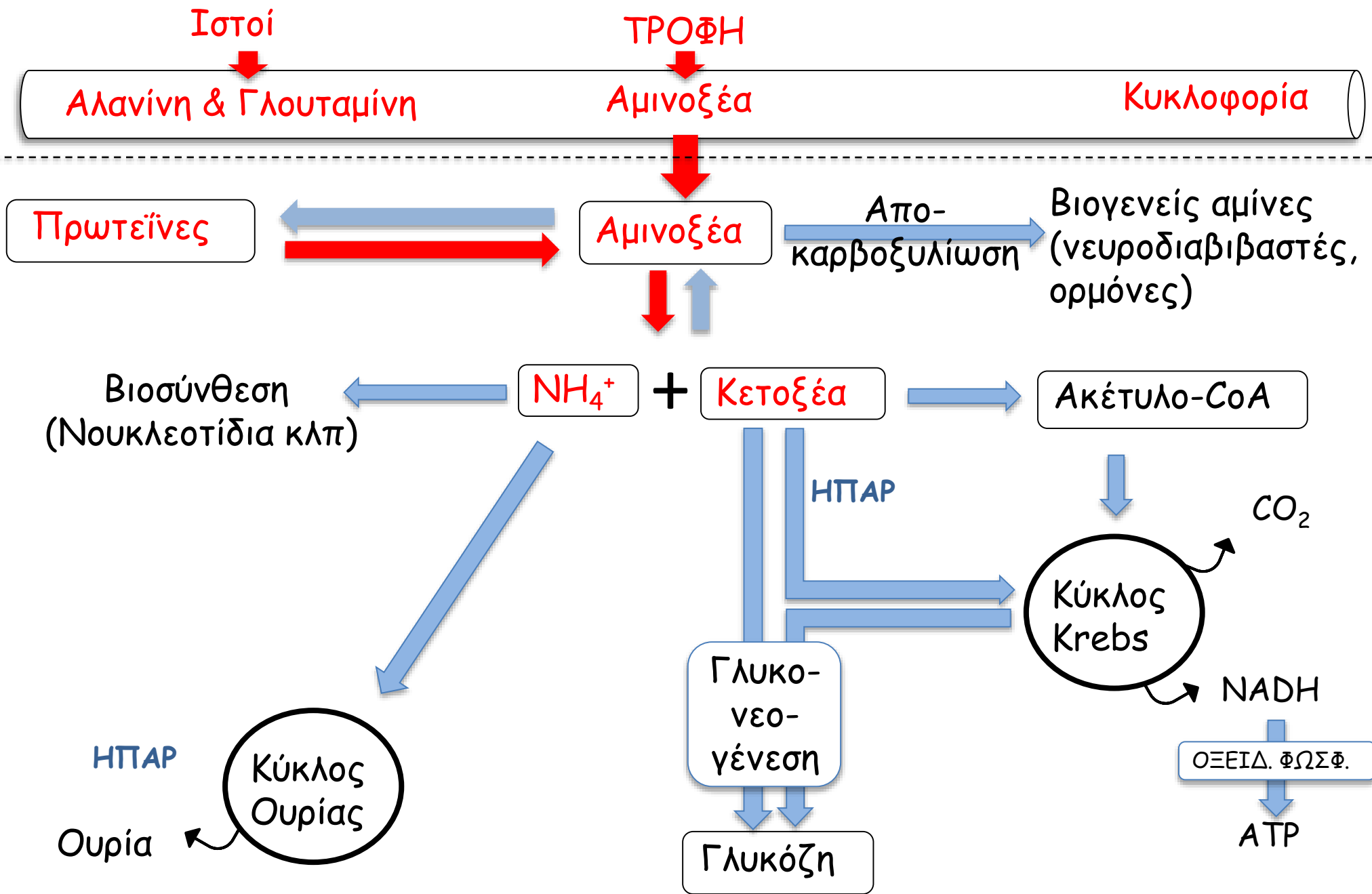
Ασθένειες μεταβολισμού των αμινοξέων

1. Υπεραμμωναιμίες – δυσλειτουργίες του κύκλου της ουρίας

2. Ανωμαλίες μετατροπής-αποικοδόμησης ανθρακικού σκελετού



Ανασκόπηση μεταβολισμού πρωτεϊνών & αμινοξέων



Σύνοψη: Πέψη και Αποικοδόμηση Πρωτεϊνών

Πέψη πρωτεϊνών

Αποικοδόμηση των ενδοκυττάρων πρωτεϊνών:
Ουβικιτίνη και Πρωτεόσωμα

Απομάκρυνση του αζώτου

Τρανσαμίνωση

Αμινομεταφοράσες (τρανσαμινάσες)

Φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)

Κλινική σημασία

Οξειδωτική απαμίνωση

Υδρολυτική απαμίνωση

Υδρόλυση της γλουταμίνης

Κύκλος της γλυκόζης - αλανίνης

Πέψη

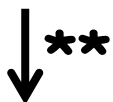
Στομάχι: Γαστρίνη, HCl,
Πεψινογόνο → Πεψίνη

Λεπτό έντερο:
Σεκρετίνη,
Χολοκυστοκίνη
Εντεροπεπτιδάση
(Εντεροκινάση)*
Αμινοπεπτιδάση

Παγκρεατικό υγρό

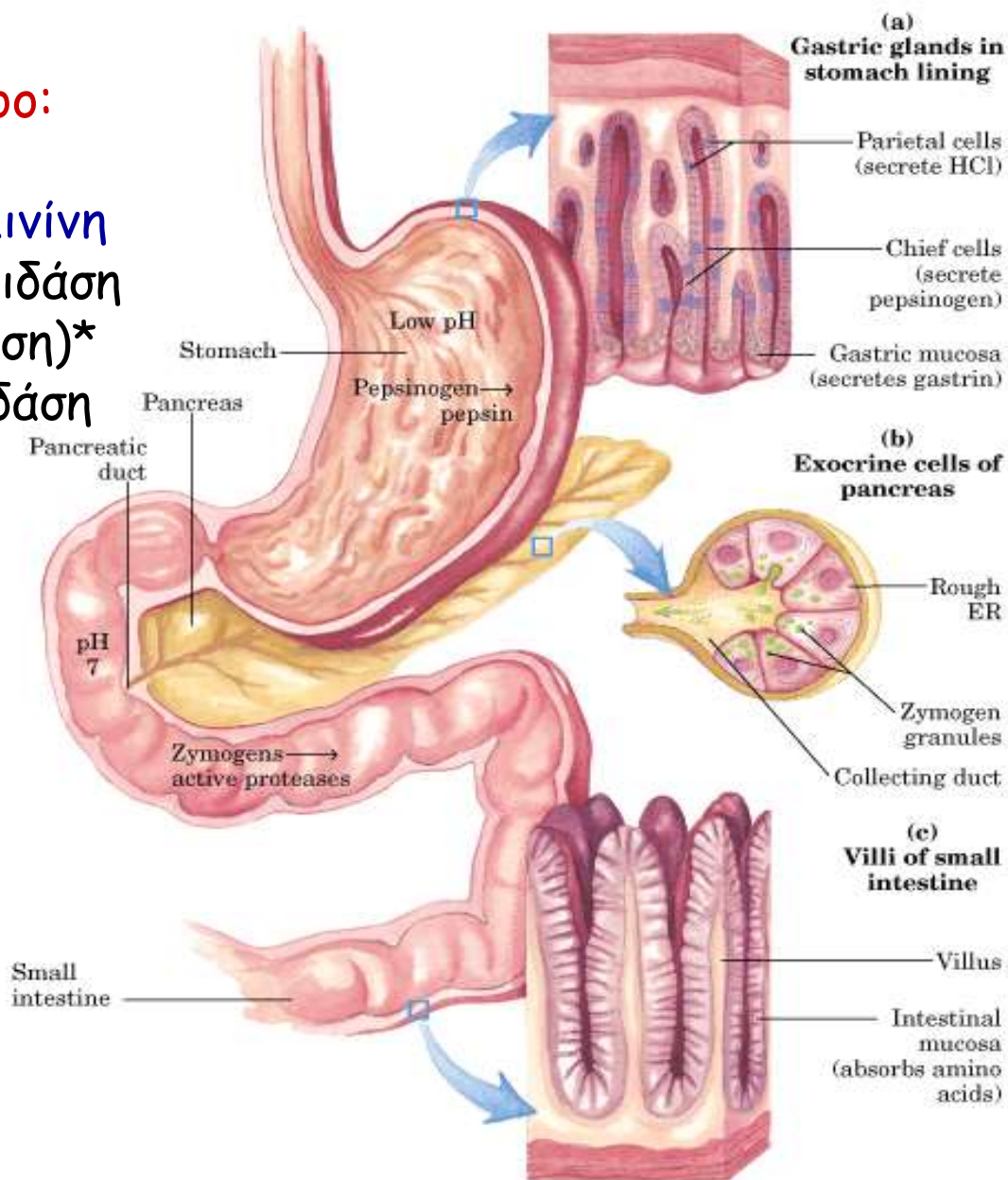
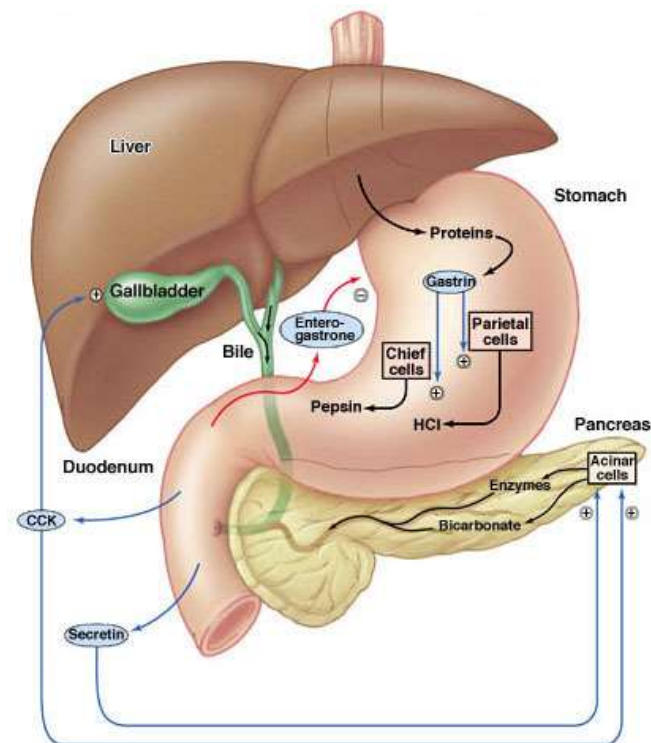
*
Τρυψινογόνο → Τρυψίνη**
**
Χυμοτρυψινογόνο → Χυμοτρυψίνη

Προκαρβοξυπεπτιδάσες A, B

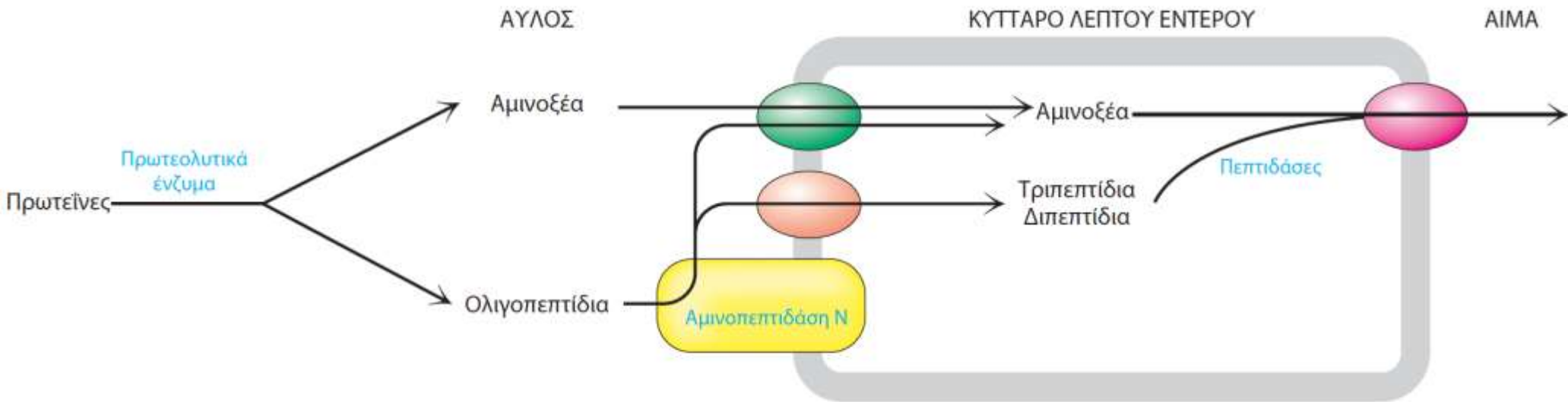


Καρβοξυπεπτιδάσες A, B

**
Προελαστάση → Ελαστάση



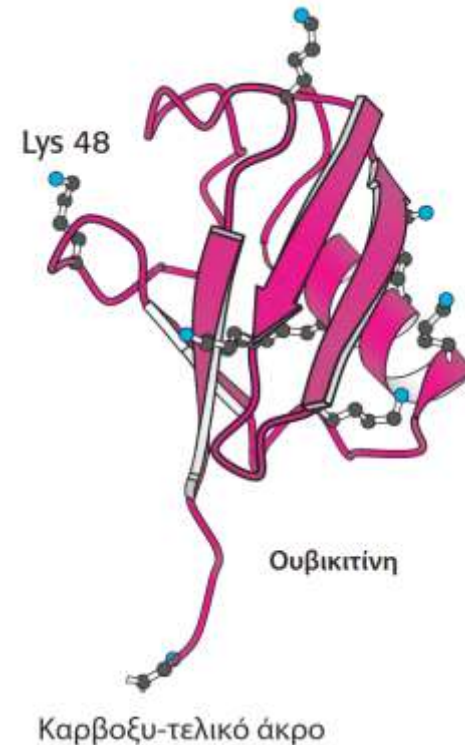
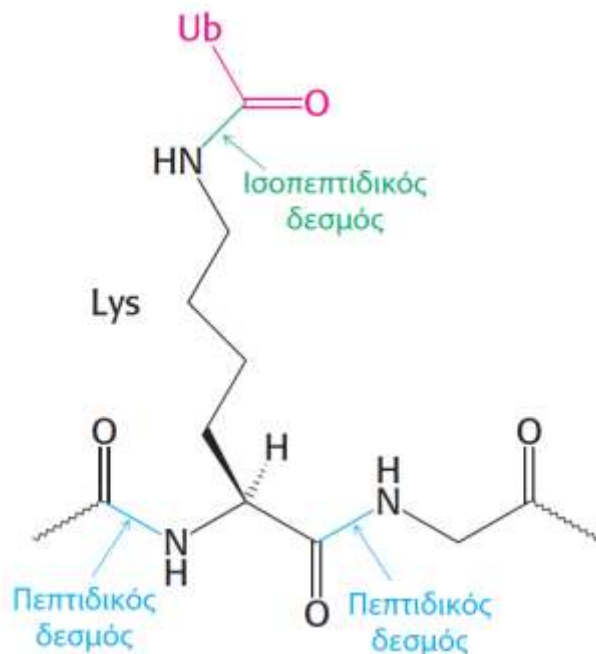
Η αποικοδόμηση των πεπτιδίων ολοκληρώνεται στα κύτταρα του εντερικού τοιχώματος και τα αμινοξέα που προκύπτουν μπαίνουν στην κυκλοφορία.



Η αποικοδόμηση των ενδοκυττάριων πρωτεϊνών: Ο ρόλος της Ουβικιτίνης και του Πρωτεασώματος

Οι περισσότερες κυτταρικές πρωτεΐνες ανακυκλώνονται συνεχώς - συντίθενται και αποικοδομούνται. Ο ρυθμός αποικοδόμησης (ημιζωή) είναι διαφορετικός για διαφορετικές πρωτεΐνες και εξαρτάται από την φύση-λειτουργία της πρωτεΐνης και από τον βαθμό πιθανής βλάβης-οξείδωσης.

Οι πρωτεΐνες που πρόκειται να αποικοδομηθούν «μαρκάρονται» μέσω της ομοιοπολικής σύνδεσης τους με την Ουβικιτίνη (Ubiquitin), μια μικρή πρωτεΐνη 76 αμινοξέων.

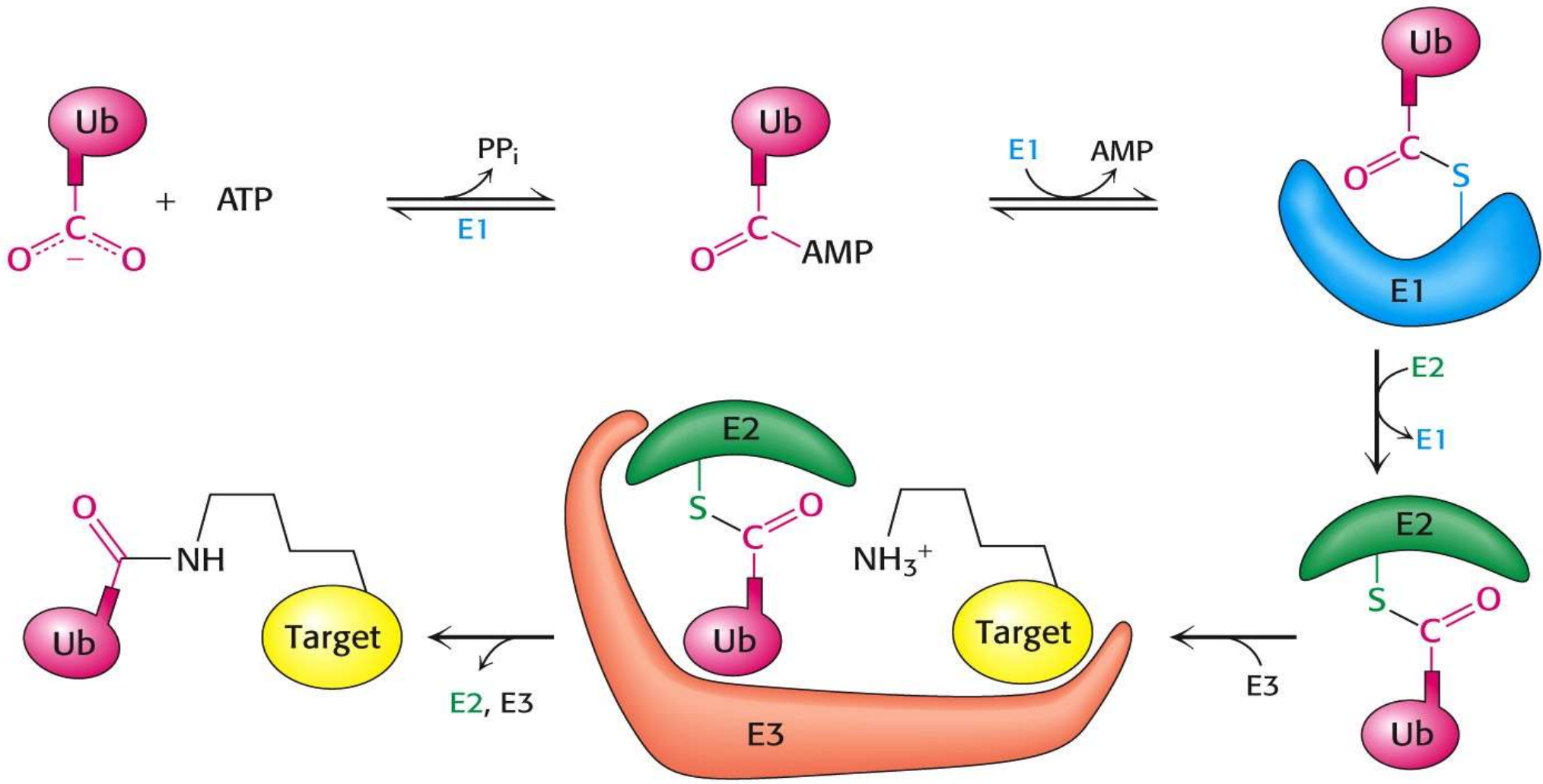


Η ουβικιτίνη (Ub) συνδέεται σε μια πρωτεΐνη μέσω της δράσης τριών ενζύμων

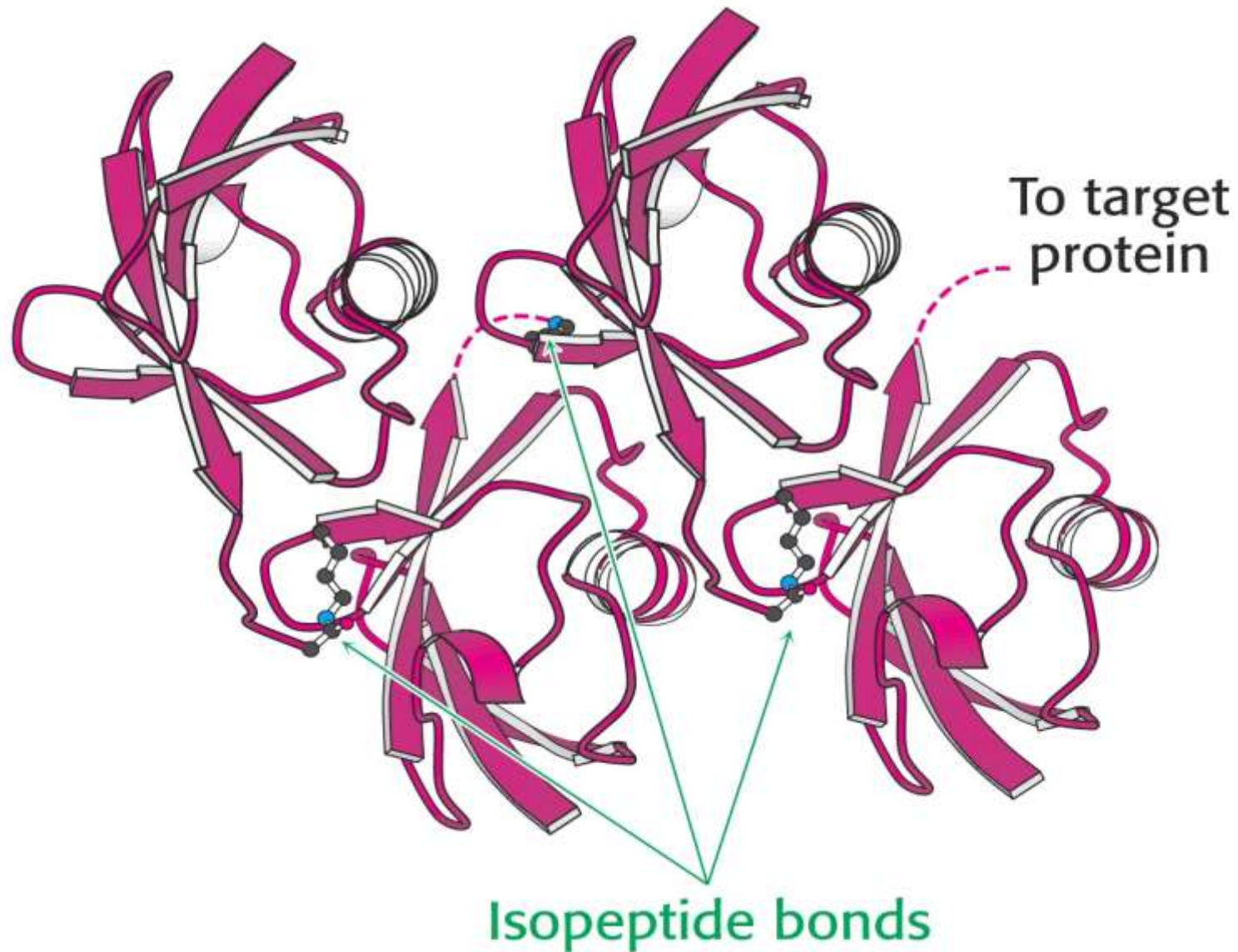
E1: ένζυμο ενεργοποίησης της Ub,

E2: ένζυμο πρόσδεσης της Ub,

E3: λιγάση πρωτεΐνης-Ub



Ο σχηματισμός μιας αλυσίδας ουβικιτινών (με 4 ή περισσότερες Ub), αποτελεί αποτελεσματικό σήμα αποικοδόμησης



Η ταχύτητα της ουβικιτινυλίωσης - αποικοδόμησης (άρα και η ημιζωή) μιας πρωτεΐνης εξαρτάται συχνά από την **φύση του αμινοτελικού της άκρου** ή από την παρουσία ειδικών αλληλουχιών στο εσωτερικό της που αναγνωρίζονται από τα Ε3 ένζυμα (π.χ. **αλληλουχίες PEST**). Πολλές βιολογικές διαδικασίες ρυθμίζονται με πρωτεόλυση.

Πίνακας 23.2 Εξάρτηση του χρόνου ημιζωής των πρωτεϊνών του κυτταροπλάσματος ζύμης από τη φύση των αμινο-τελικών καταλοίπων τους

Κατάλοιπα υψηλής σταθεροποίησης ($t_{1/2} > 20$ ώρες)

Ala	Cys	Gly	Met
Pro	Ser	Thr	Val

Κατάλοιπα εγγενούς αποσταθεροποίησης ($t_{1/2} = 2$ έως 30 λεπτά)

Arg	His	Ile	Leu
Lys	Phe	Trp	Tyr

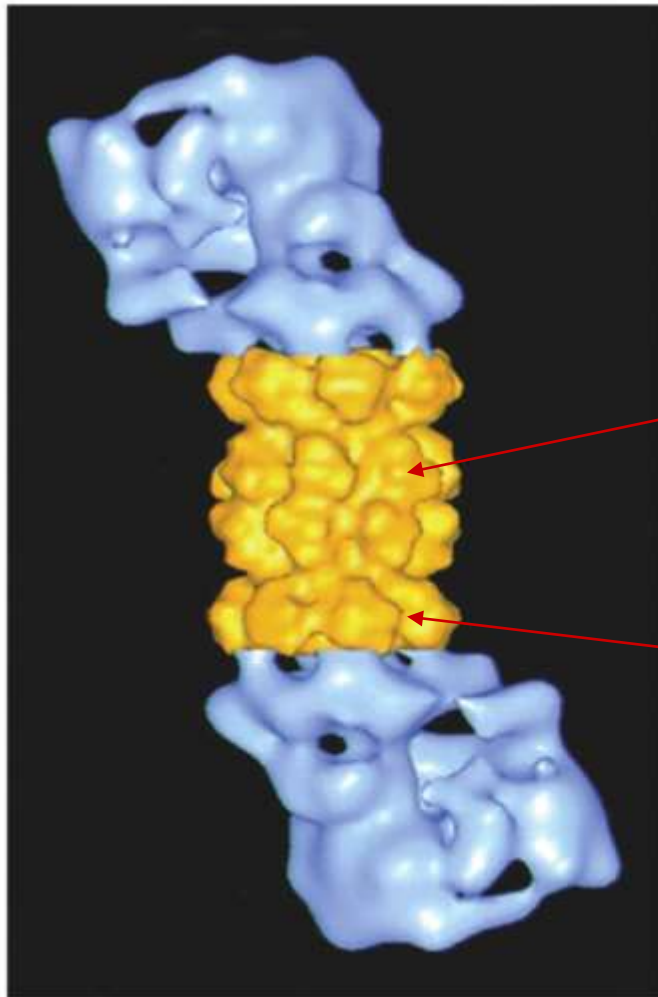
Κατάλοιπα σταθεροποίησης μετά από χημική τροποποίηση ($t_{1/2} = 3$ έως 30 λεπτά)

Asn	Asp	Gln	Glu
-----	-----	-----	-----

Πηγή: J. W. Tobias, T. E. Schrader, G. Rocap, and A. Varshavsky. *Science* 254(1991):1374–1377.

Οι ουβικιτινυλιωμένες πρωτεΐνες αποικοδομούνται στο πρωτεάσωμα (Proteasome)

26S proteasome



Cap

19S, ρυθμιστική υπομονάδα,
700 kD, 20 πρωτεΐνες,
6 ATPασες, αναγνώριση και
αποκοπή ουβικιτίνης

β

Proteasome

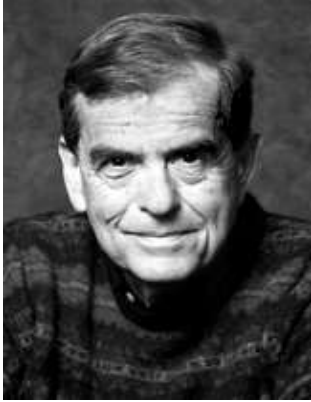
20S, καταλυτική υπομονάδα,
700 kD, 2 X 14 πρωτεΐνες,
4 δακτύλιοι, πρωτεάσες
σερίνης, θρεονίνης.

α

Cap

The Nobel Prize in Chemistry 2004

"for the discovery of ubiquitin-mediated protein degradation".



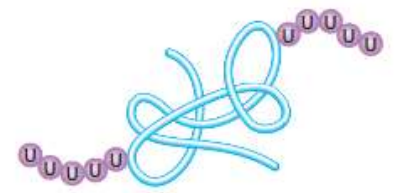
Aaron Ciechanover



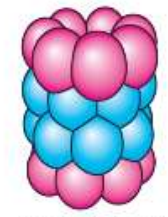
Avram Hershko



Irwin Rose



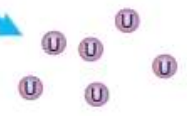
Ουβικιτινυλιωμένη πρωτεΐνη



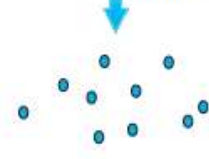
Πρωτεάσωμα



Πεπτιδικά θραύσματα



Απελευθερωμένη ουβικιτίνη



Αμινοξέα

Παραμένουν άθικτα για βιοσυνθέσεις

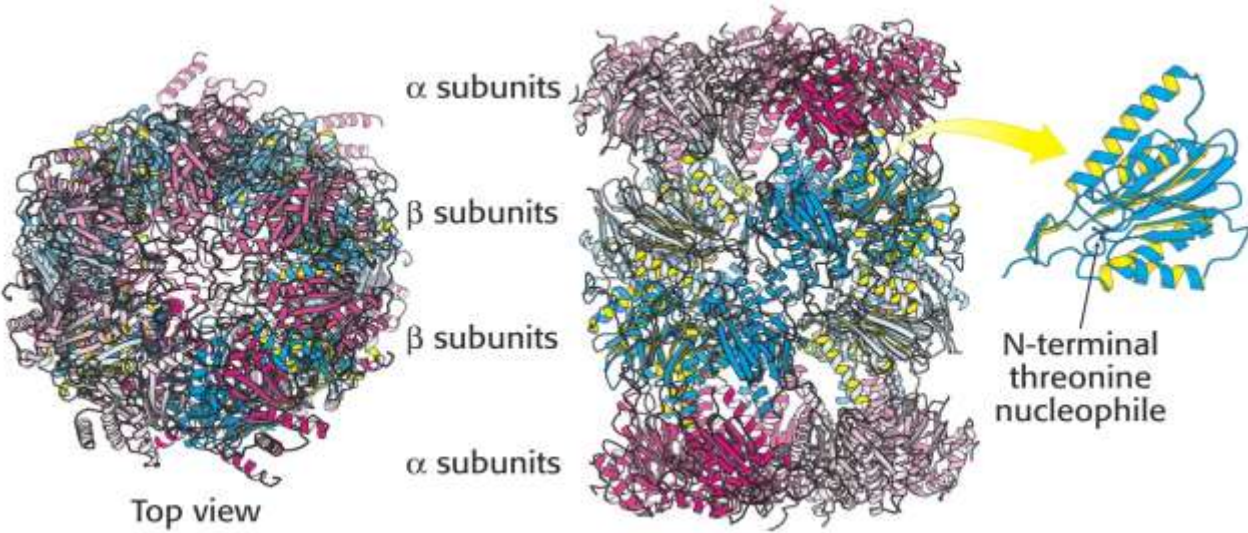
Αμινομάδες → Διάθεση του αζώτου μέσω του κύκλου της ουρίας

Ανθρακικοί σκελετοί

Σύνθεση γλυκόζης ή γλυκόνου

Σύνθεση λιπαρών οξέων

Κυτταρική αναπνοή



Top view

Το πρωτεάσωμα αποτελεί στόχο νέων φαρμάκων

Πίνακας 23.3 Διεργασίες που ρυθμίζονται με αποικοδόμηση πρωτεΐνης

Μεταγραφή γονιδίων

Εξέλιξη κυτταρικού κύκλου

Σχηματισμός οργάνων

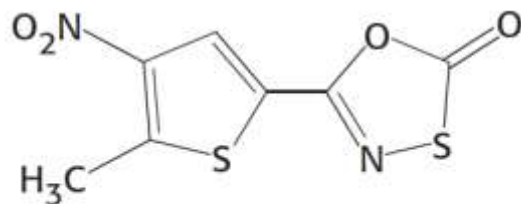
Καρδιακοί ρυθμοί

Φλεγμονώδης απόκριση

Καταστολή όγκου

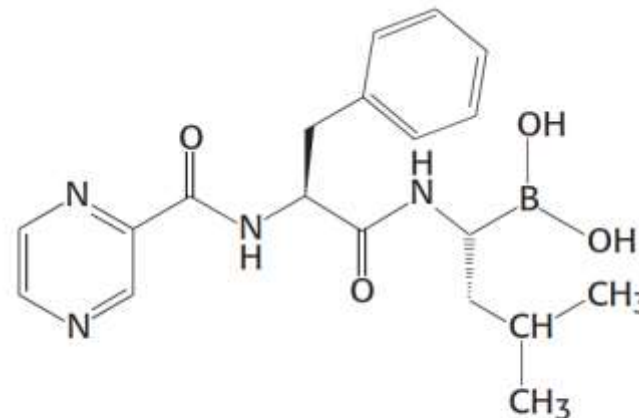
Μεταβολισμός χοληστερόλης

Επεξεργασία αντιγόνου



HT1171

[5-(2-μεθυλο-3-νιτροθειοφαιν-2-υλο)-1,3,4-οξαθειαζολ-2-όνη]



Βορτεζομίμη
(ένα διπεπτιδυλο-βορονικό οξύ)

Βορτεζομίμη: αναστολέας του πρωτεασώματος και φάρμακο κατά του πολλαπλού μυελώματος

J Mol Med (2012) 90:45–54
DOI 10.1007/s00109-011-0805-8

ORIGINAL ARTICLE

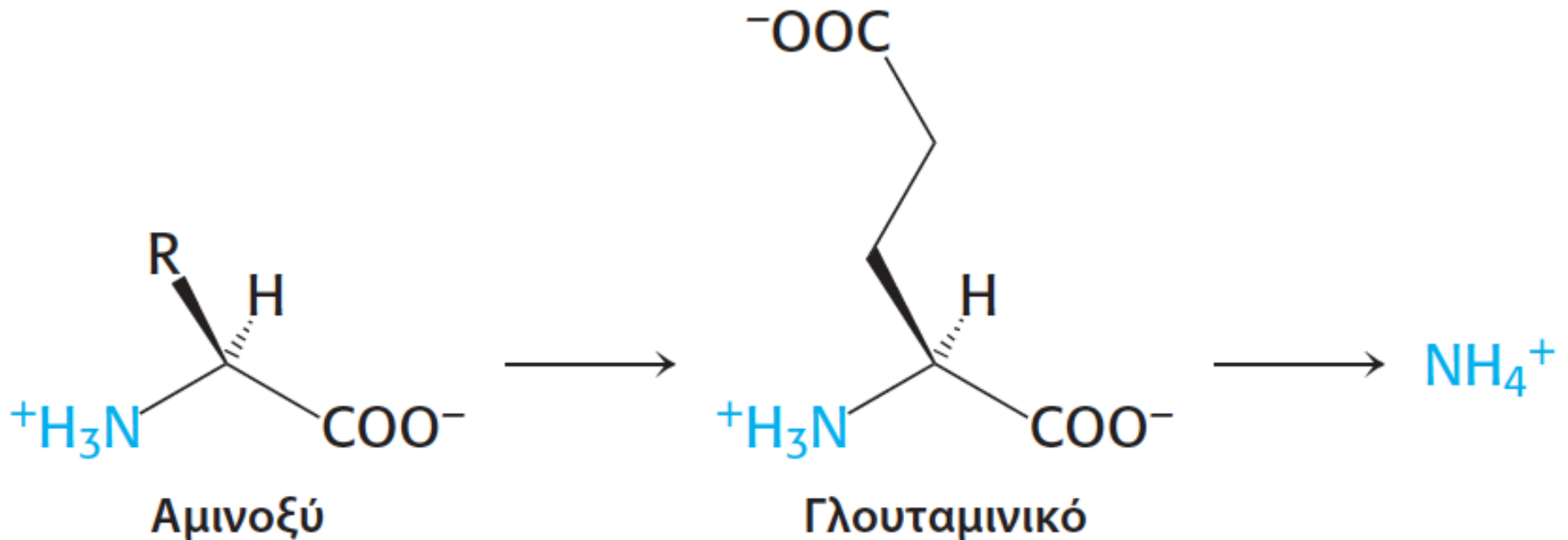
Bortezomib represses HIF-1 α protein expression and nuclear accumulation by inhibiting both PI3K/Akt/TOR and MAPK pathways in prostate cancer cells

Christina D. Befani · Panagiotis J. Vlachostergios · Eleana Hatzidaki · Anna Patrikidou · Sophia Bonanou · George Simos · Christos N. Papandreou · Panagiotis Liakos

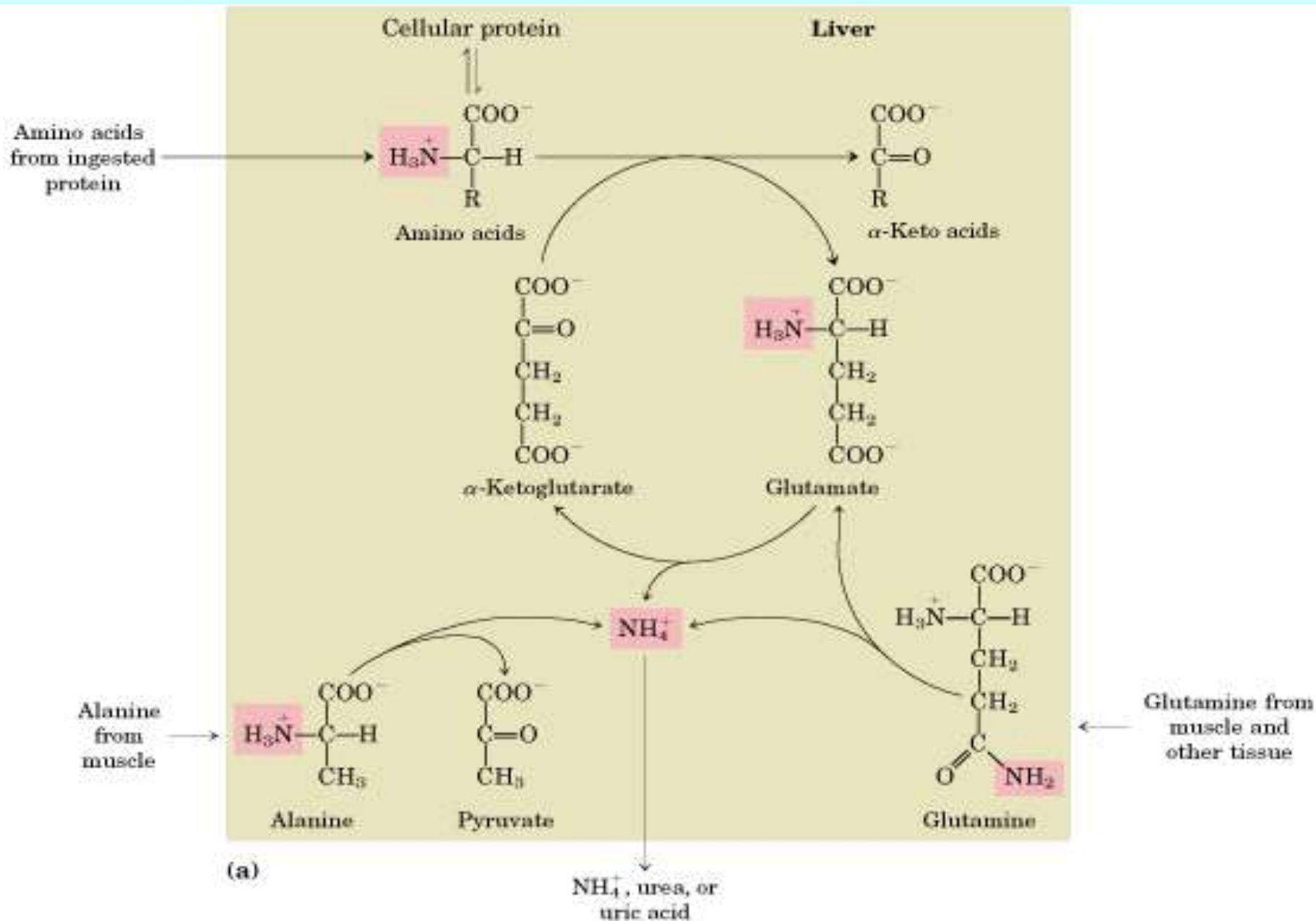
HT1171: αναστολέας του πρωτεασώματος του παθογόνου βακτηρίου *Mycobacterium tuberculosis* και φάρμακο κατά της φυματίωσης

Το πρώτο βήμα στην αποικοδόμηση των αμινοξέων είναι η απομάκρυνση του αζώτου

Η α-αμινομάδα των περισσότερων αμινοξέων μεταφέρεται στο α-κετογλουταρικό για να σχηματισθεί γλουταμινικό, από το οποίο τελικά το άζωτο αποσπάται ως ιόν αμμωνίου

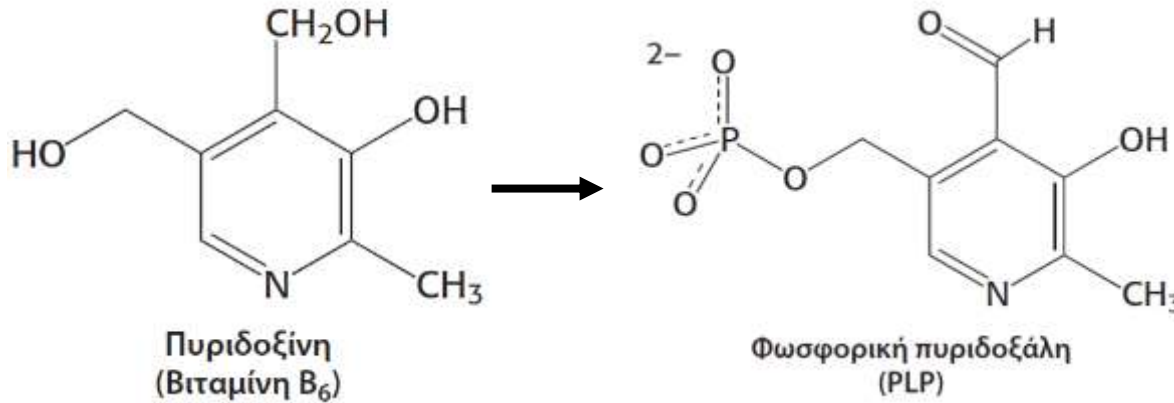


Το κύριο όργανο αποικοδόμησης των αμινοξέων είναι το ήπαρ, όπου είναι δυνατόν το άζωτο να απεκκριθεί με την μορφή ουρίας



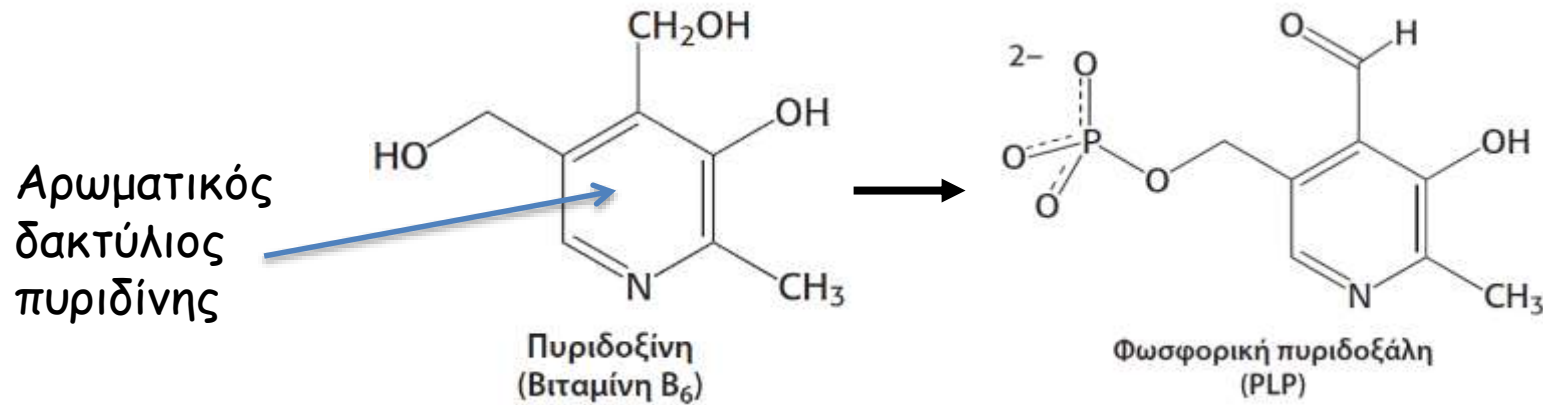
Αντίδραση τρανσαμίνωσης

Η μεταφορά της α-αμινομάδας καταλύεται από τις αμινομεταφοράσες ή τρανσαμινάσες με συνένζυμο φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)



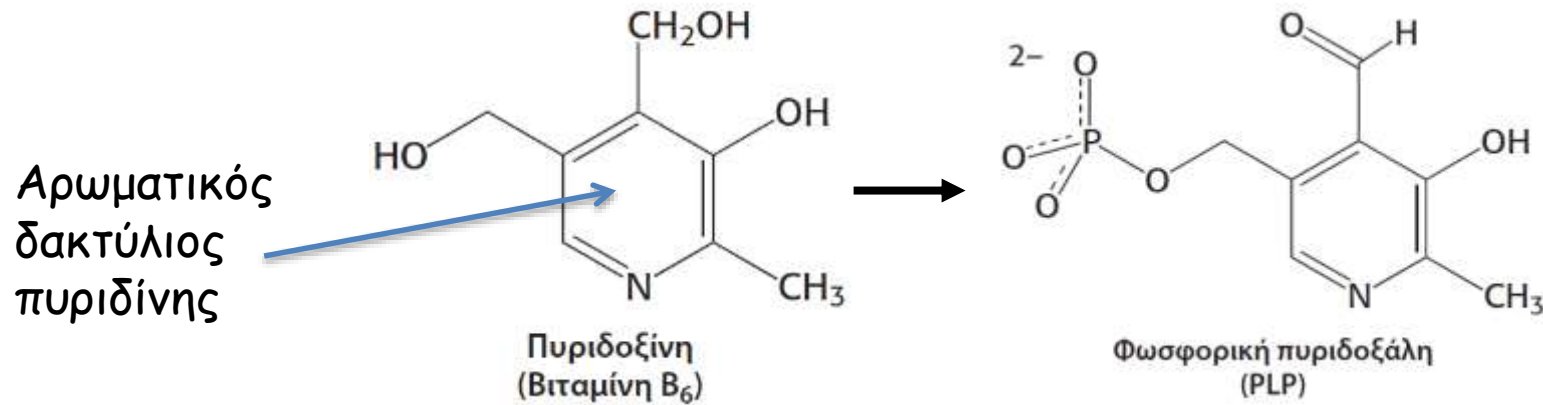
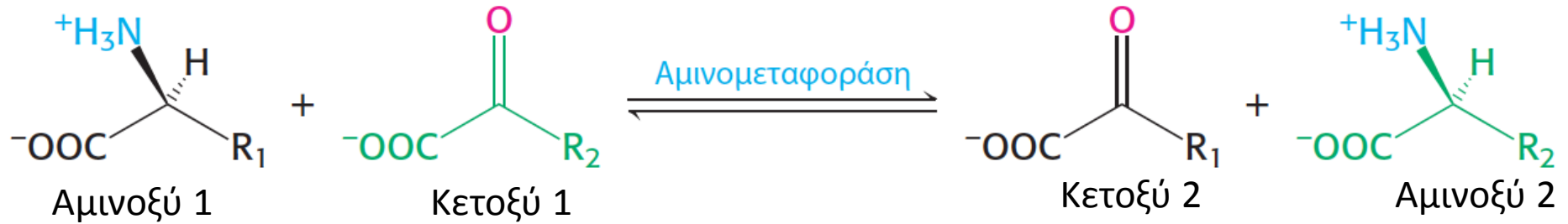
Αντίδραση τρανσαμίνωσης

Η μεταφορά της α-αμινομάδας καταλύεται από τις αμινομεταφοράσες ή τρανσαμινάσες με συνένζυμο φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)

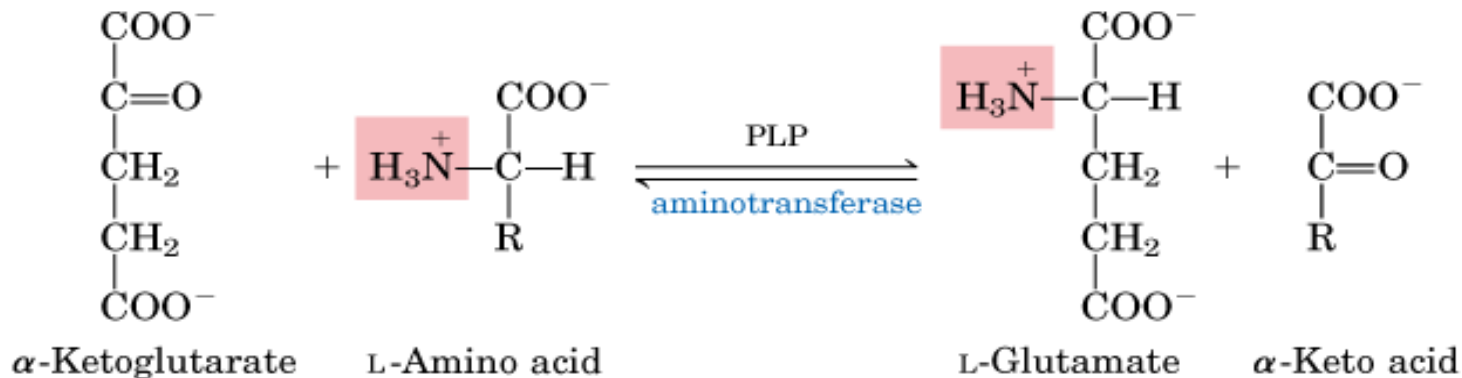


Αντίδραση τρανσαμίνωσης

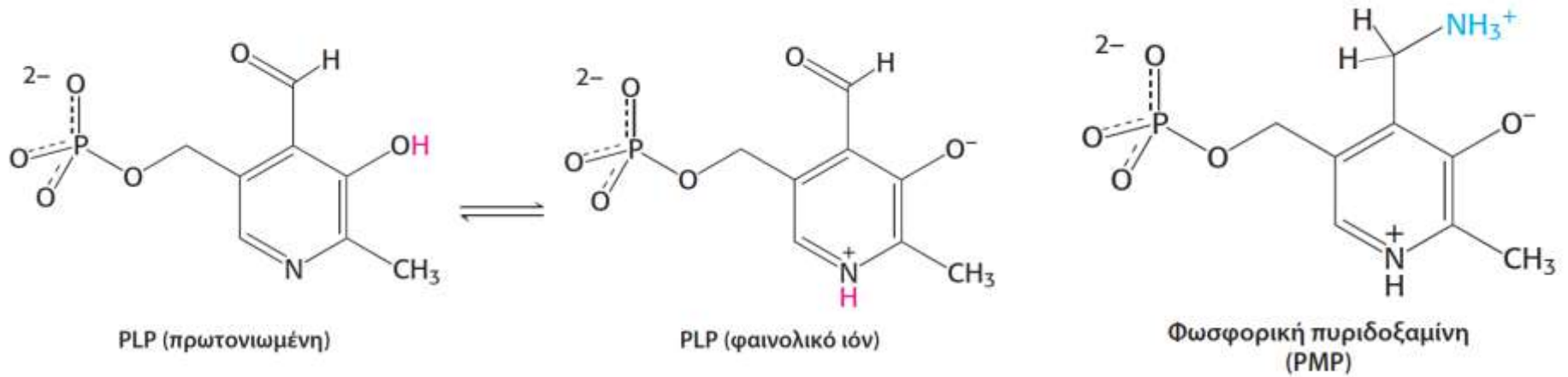
Η μεταφορά της α-αμινομάδας καταλύεται από τις αμινομεταφοράσες ή τρανσαμινάσες με συνένζυμο φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)



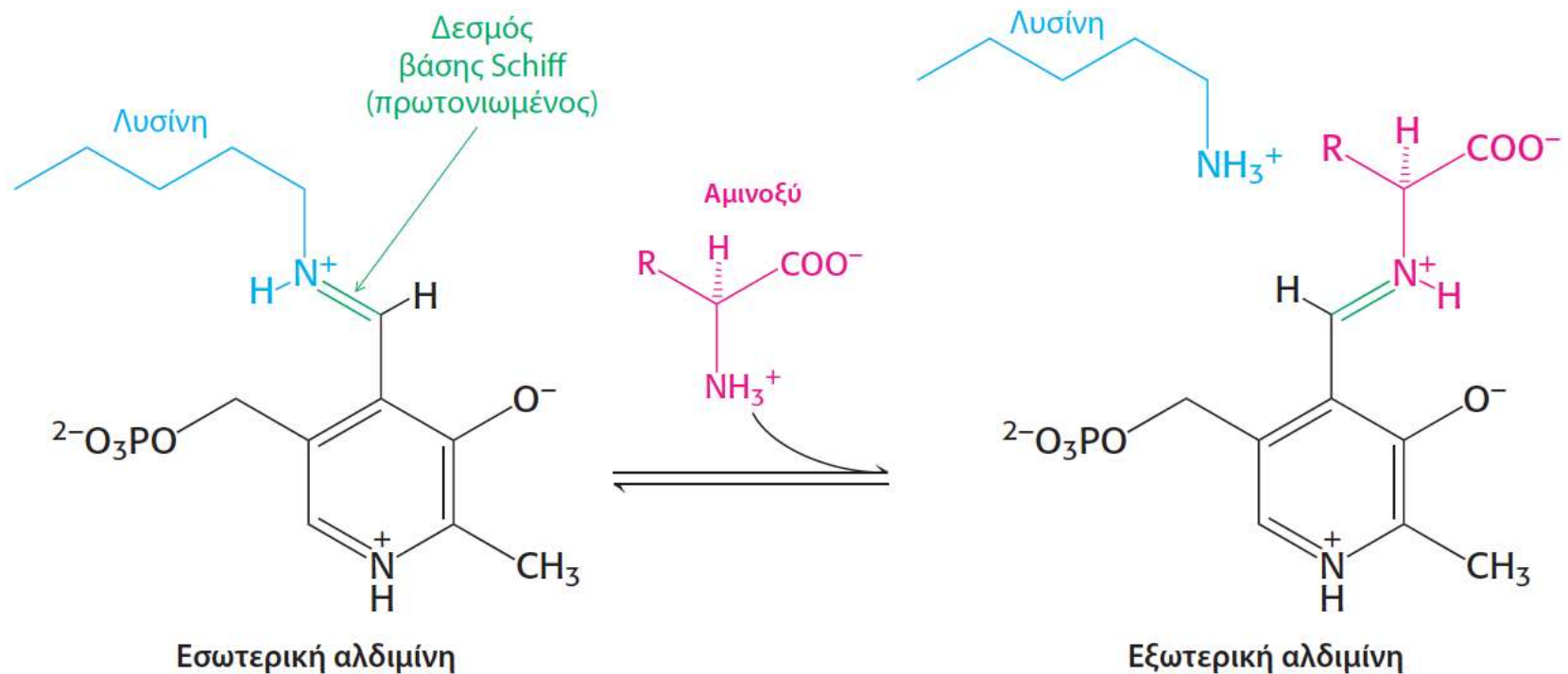
Το κυριότερο υπόστρωμα των τρανσαμινασών είναι το α-κετογλουταρικό



Ο μηχανισμός της αντίδρασης τρανσαμίνωσης



1ο στάδιο: Δημιουργία βάσης Schiff με το εισερχόμενο αμινοξύ



2ο στάδιο: Μετακίνηση του διπλού δεσμού ανάμεσα στο N και το Cα του υποστρώματος και υδρόλυση του προς ένα κετοξύ και φωσφορική πυριδοξαμίνη

Συνολικά:

Αμινοξύ 1 \rightleftharpoons **E-PLP**



α-κετοξύ 1 + E-PMP

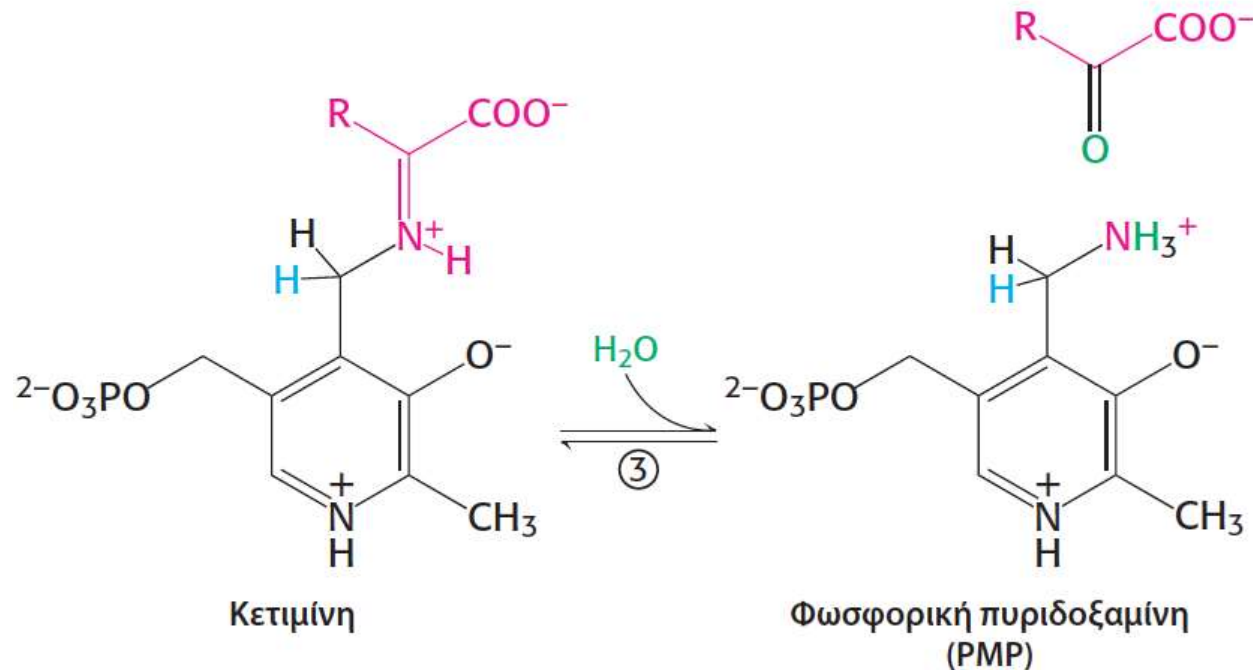
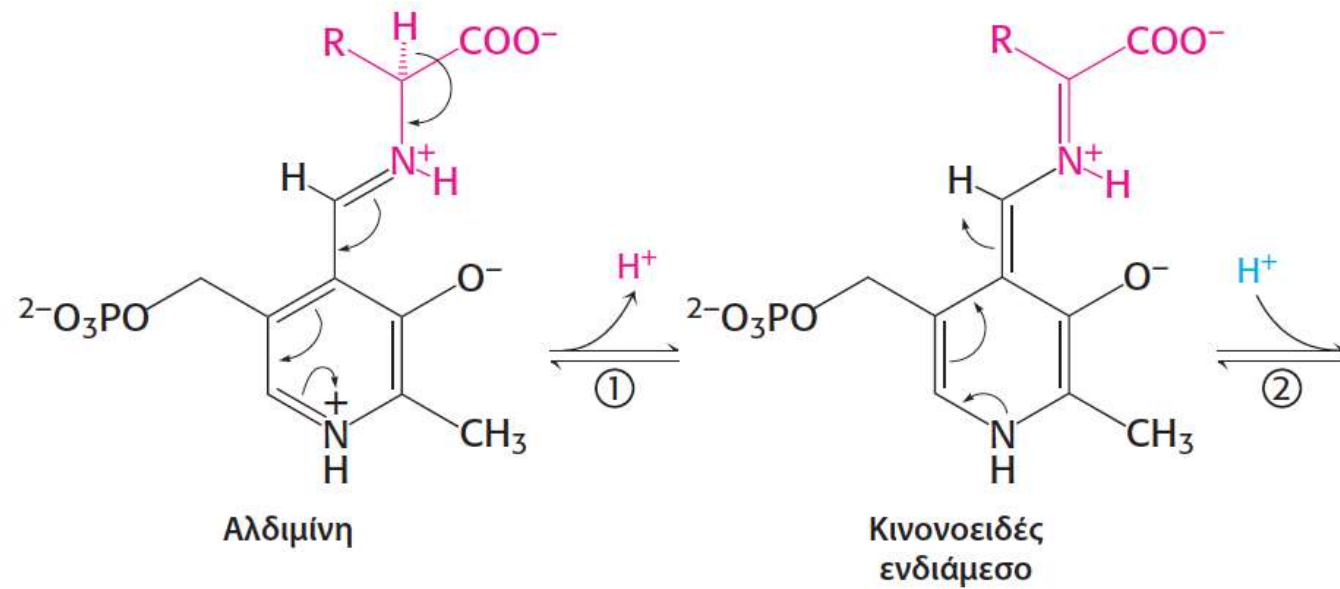
3ο και 4ο στάδιο:
αντιστροφή των προηγούμενων σταδίων

Τελικά:

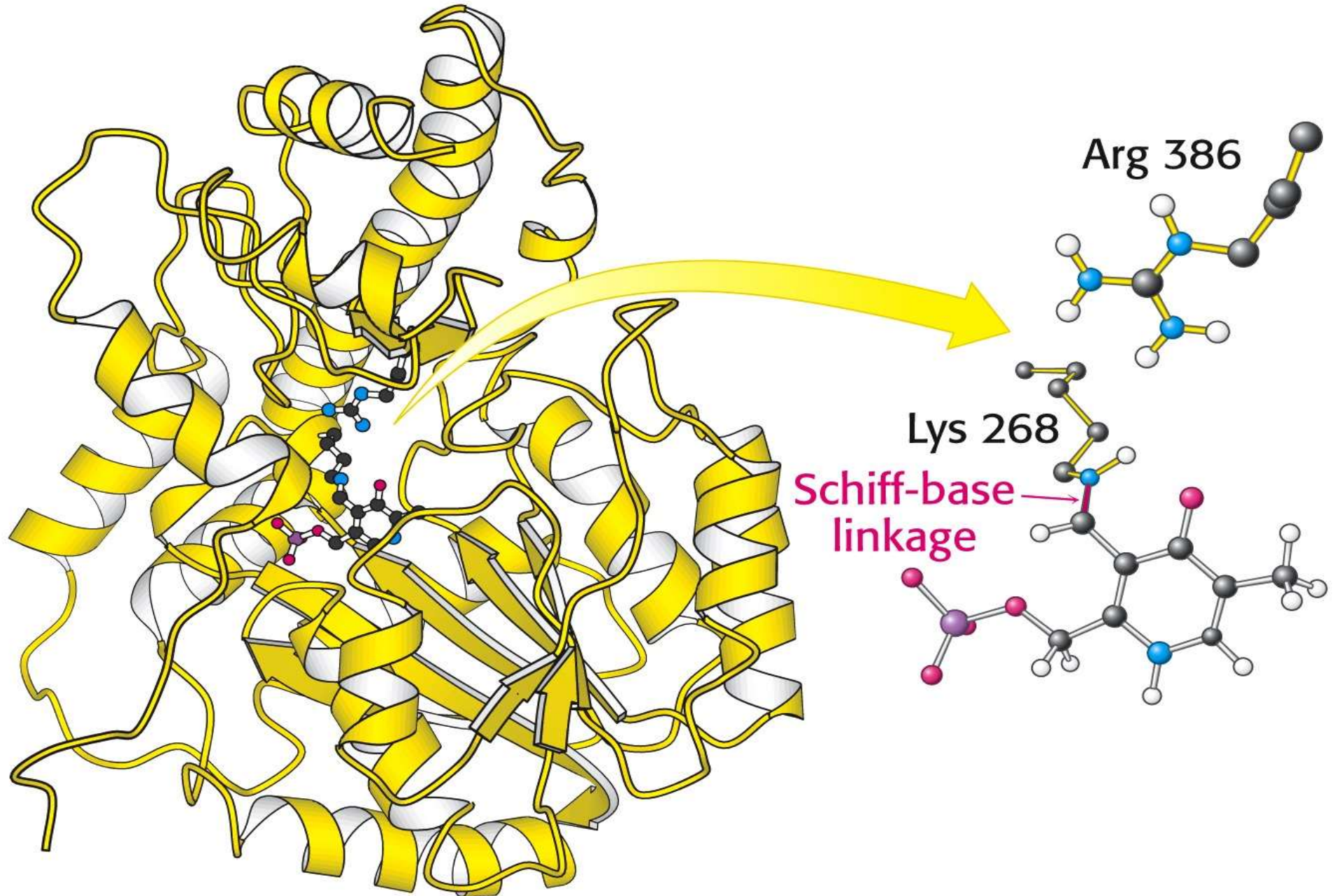
Αμινοξύ 1 \rightleftharpoons **α-κετοξύ 2**



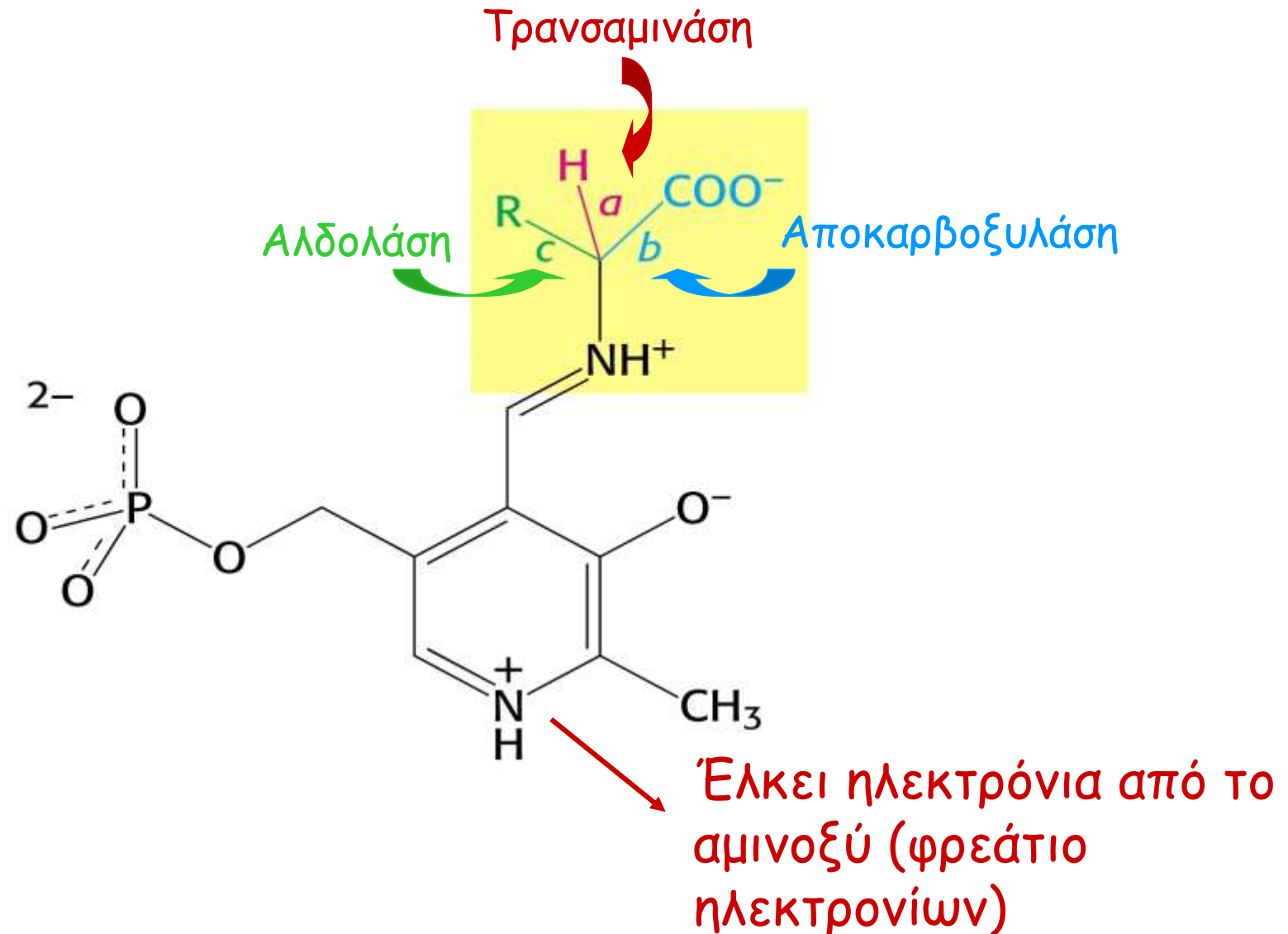
Αμινοξύ 2 + α-κετοξύ 1



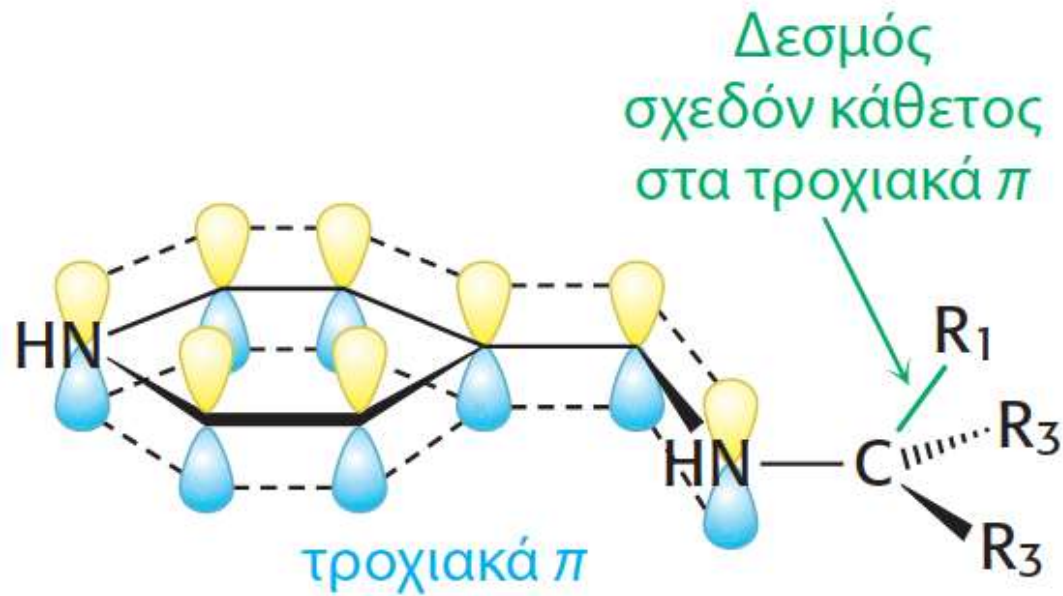
Η μοριακή δομή της αμινομεταφοράς του ασπαραγινικού



Η PLP συμμετέχει και σε απαμινώσεις, αποκαρβοξυλιώσεις, ρακεμοποιήσεις και αλδολικές διασπάσεις των αμινοξέων

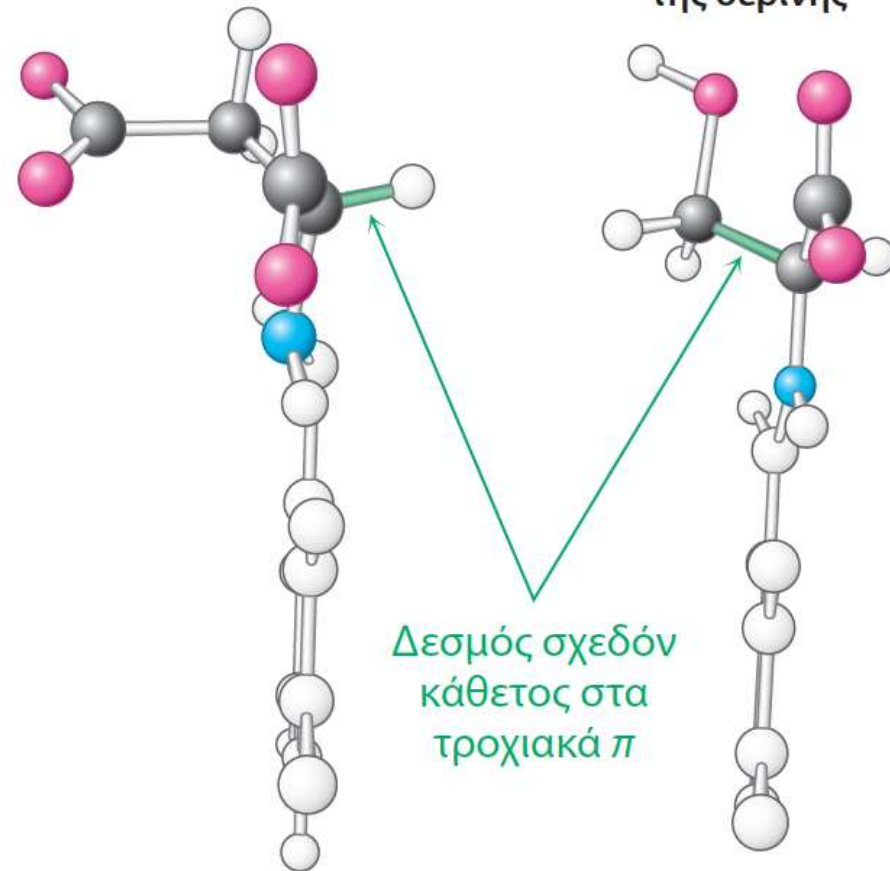


Ο δεσμός που διασπάται είναι κάθετος στα π τροχιακά της PLP
(στεreo-ηλεκτρονικός έλεγχος)

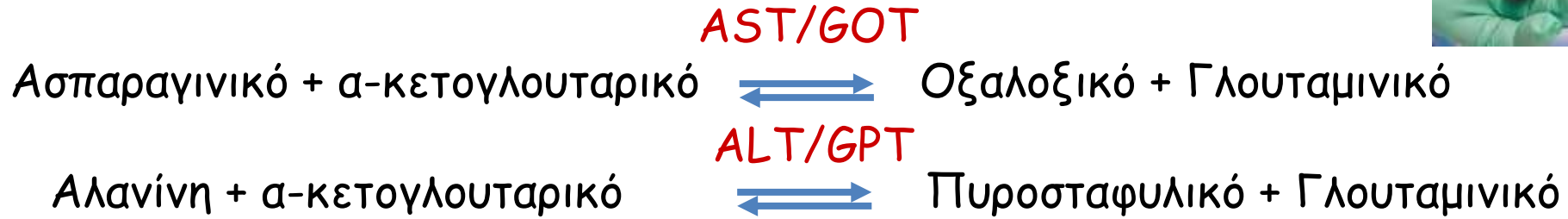


Αμινομεταφοράση του ασπαραγινικού

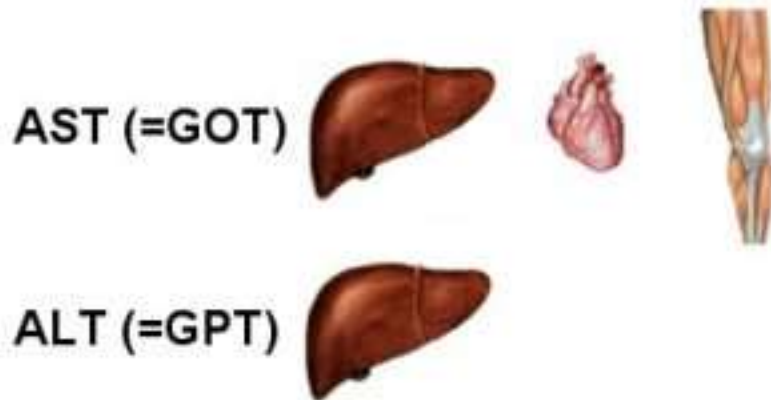
Υδροξυ-μεθυλο-μεταφοράση της σερίνης



Η κλινική σημασία των τρανσαμινασών

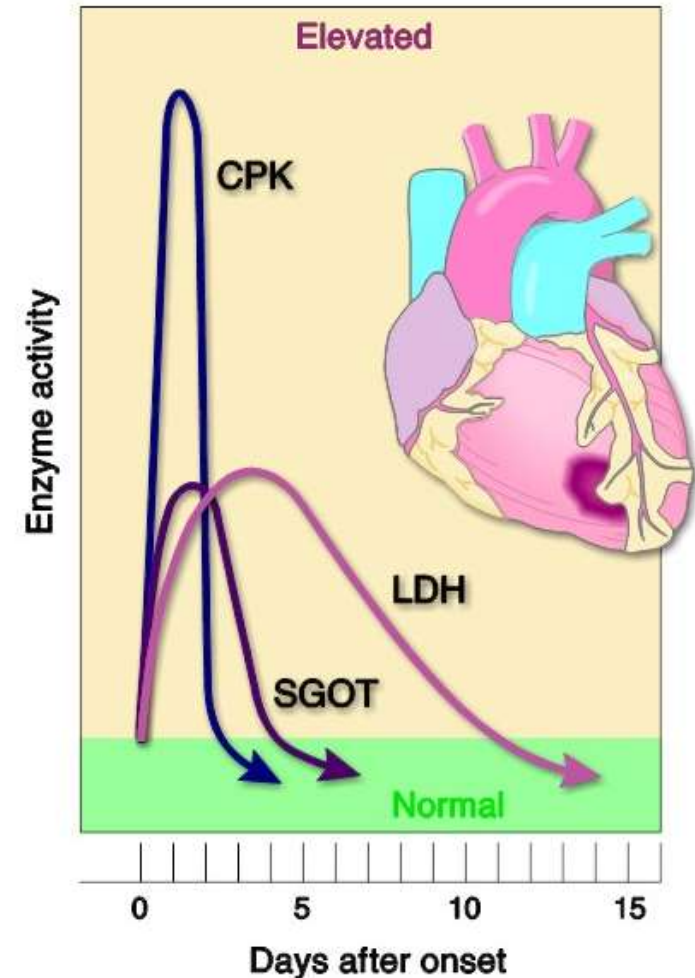


AST/GOT ↑ : ήπαρ, καρδιακοί και σκελετικοί μύς



ALT/GPT ↑ : ήπαρ

Οι τρανσαμινάσες AST και ALT έχουν πολύ σημαντική διαγνωστική σημασία:
Σε περίπτωση βλάβης του ήπατος ή της καρδιάς τα επίπεδα τους στον ορό αυξάνουν σημαντικά

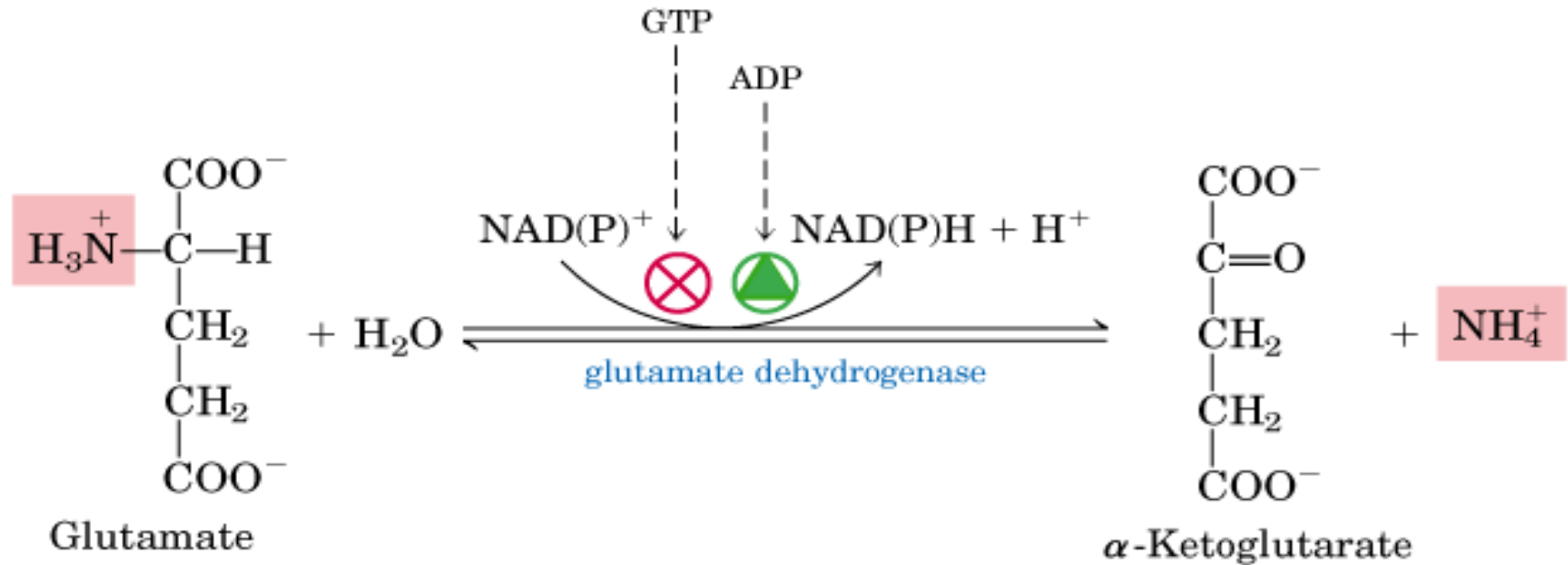


Οξειδωτική απαμίνωση του γλουταμινικού

Ένζυμο: Αφυδρογονάση του γλουταμινικού (αλλοστερικά ρυθμιζόμενο, η μείωση του ενεργειακού φορτίου επιταχύνει την οξείδωση των αμινοξέων)

Συνένζυμο: NAD⁺ ή NADP⁺

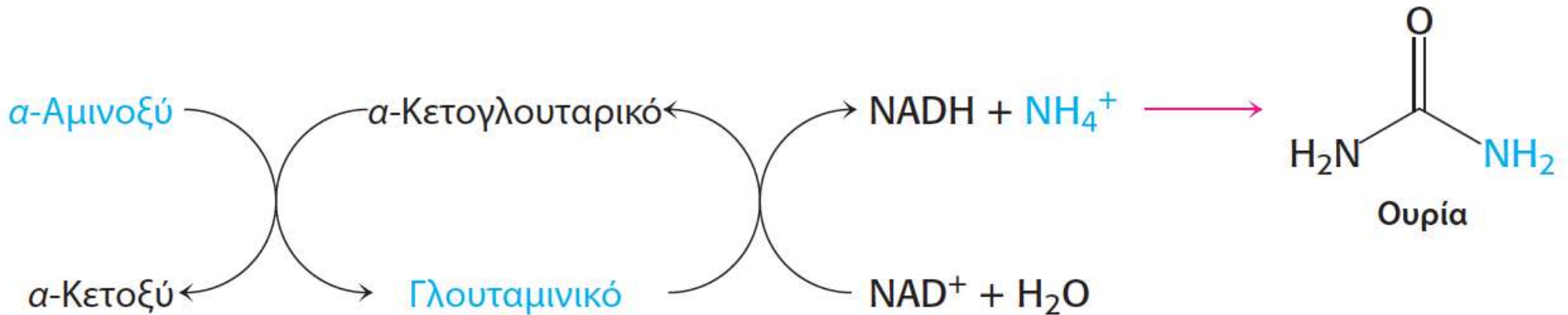
Τόπος: Μιτοχονδριακή μήτρα στο ήπαρ



Παθοβιοχημεία: Σύνδρομο υπερινσουλιניσμού - υπεραμμωνιαϊας. Προκαλείται από μετάλλαξη στο αλλοστερικό κέντρο της αφυδρογονάσης με αποτέλεσμα τη διαρκή ενεργοποίηση του ενζύμου.

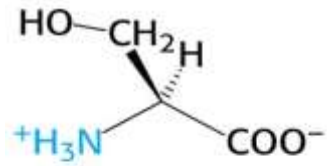


Το άθροισμα των αντιδρασεων τρανσαμίνωσης και οξειδωτικής απαμίνωσης του γλουταμινικού οδηγεί στην απελευθέρωση της α-αμινομάδας ως ιόν αμμωνίου

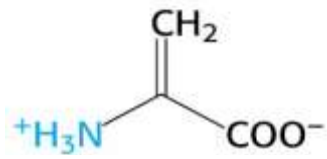
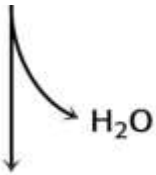


Υδρολυτική απαμίνωση

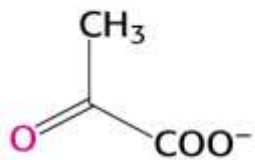
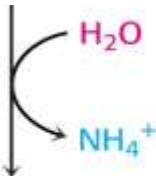
Η σερίνη και η θρεονίνη (περιεχουν -OH) απαμινώνονται μη οξειδωτικά



Σερίνη



Αμινοακρυλικό

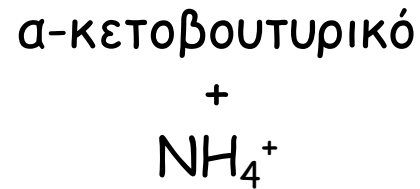


Πυροσταφυλικό

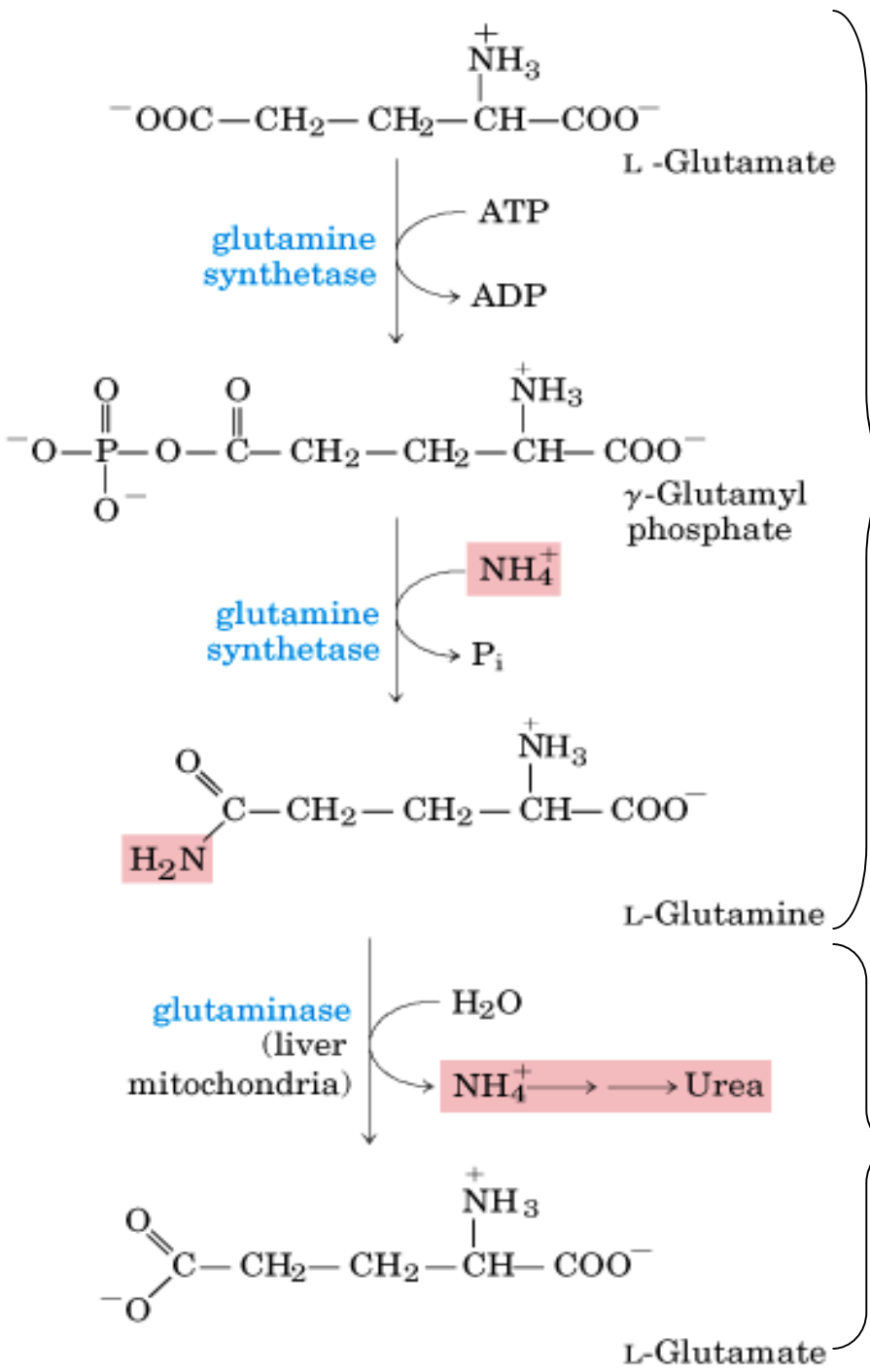
Αφυδατάση
της
σερίνης
(PLP)

Θρεονίνη

Αφυδατάση
της
θρεονίνης
(PLP)



Η υδρόλυση της γλουταμίνης



Στους ιστούς

Η γλουταμίνη λειτουργεί ως μη-τοξικός μεταφορέας αμμωνίας από τους ιστούς στο ήπαρ και ως πηγή αμινομάδων για βιοσύνθεση.

Στο ήπαρ

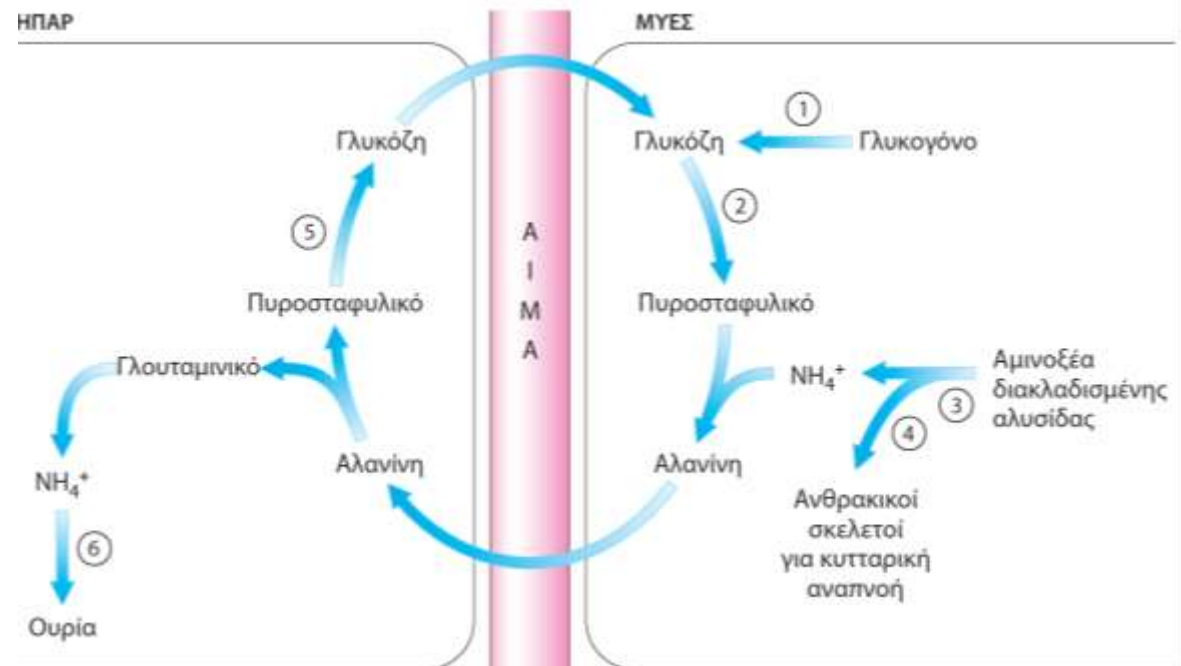
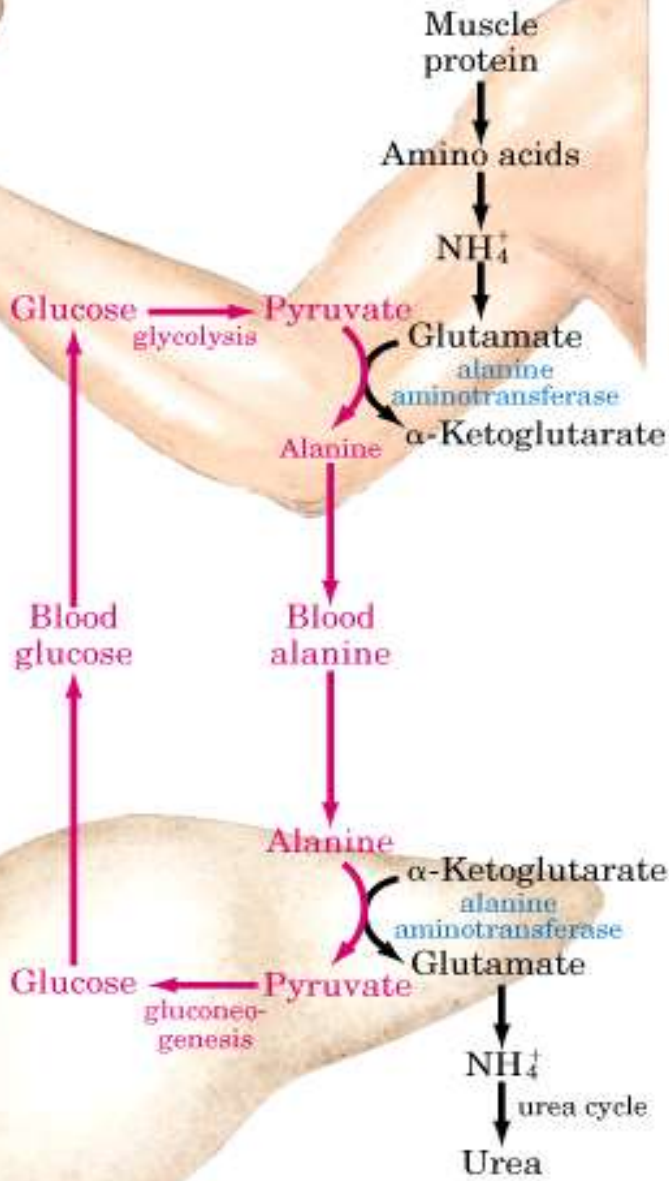
Μεταφορά αμινομάδων στο ήπαρ

Ο ρόλος της γλουταμίνης και της αλανίνης

Ο κύκλος της γλυκόζης - αλανίνης

Πρόβλημα: Στους μυς παράγονται πυροσταφυλικό από τη γλυκόλυση και NH_4^+ από τον καταβολισμό των αμινοξέων. Και τα δυο πρέπει να καταλήξουν στο ήπαρ για παραγωγή γλυκόζης και σχηματισμό ουρίας.

Λύση: Το πυροσταφυλικό και το NH_4^+ μεταφέρονται με την μορφή αλανίνης.



Σύνοψη: Πέψη και Αποικοδόμηση Πρωτεϊνών

Πέψη πρωτεϊνών

Αποικοδόμηση των ενδοκυττάρων πρωτεϊνών:
Ουβικιτίνη και Πρωτεόσωμα

Απομάκρυνση του αζώτου

Τρανσαμίνωση

Αμινομεταφοράσες (τρανσαμινάσες)

Φωσφορική πυριδοξάλη (PLP)

Κλινική σημασία

Οξειδωτική απαμίνωση

Υδρολυτική απαμίνωση

Υδρόλυση της γλουταμίνης

Κύκλος της γλυκόζης - αλανίνης

Οι αμινομεταφορές:

A. Συνήθως απαιτούν α-κετοβουτυρικό ή γλουταμίνη ως ένα από τα αντιδρώντα.

B. Καταλύουν αντιδράσεις που οδηγούν σε καθαρή απώλεια ή παραγωγή αμινοξέων.

Γ. Καταλύουν μη αντιστρεπτές αντιδράσεις.

Δ. Απαιτούν φωσφορική πυριδοξάλη ως απαραίτητο συμπράγοντα για την αντίδραση.

Ε. Δεν έχουν την ικανότητα κατάλυσης αντιδράσεων τρανσαμίνωσης με απαραίτητα αμινοξέα.

Οι αμινομεταφορές:

A. Συνήθως απαιτούν α-κετοβουτυρικό ή γλουταμίνη ως ένα από τα αντιδρώντα.

B. Καταλύουν αντιδράσεις που οδηγούν σε καθαρή απώλεια ή παραγωγή αμινοξέων.

Γ. Καταλύουν μη αντιστρεπτές αντιδράσεις.

Δ. Απαιτούν φωσφορική πυριδοξάλη ως απαραίτητο συμπράγοντα για την αντίδραση.

Ε. Δεν έχουν την ικανότητα κατάλυσης αντιδράσεων τρανσαμίνωσης με απαραίτητα αμινοξέα.