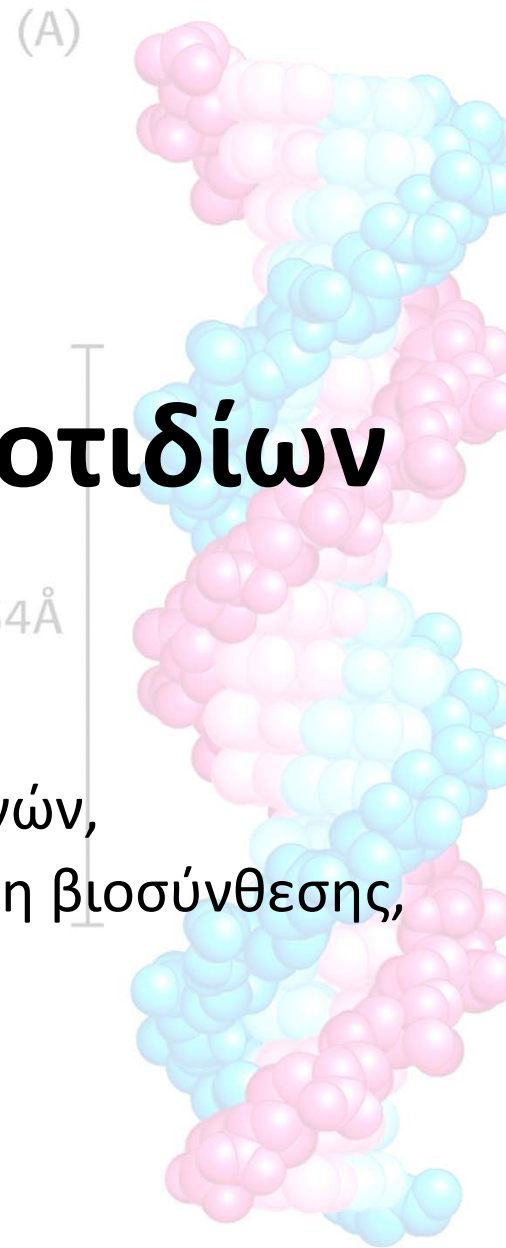


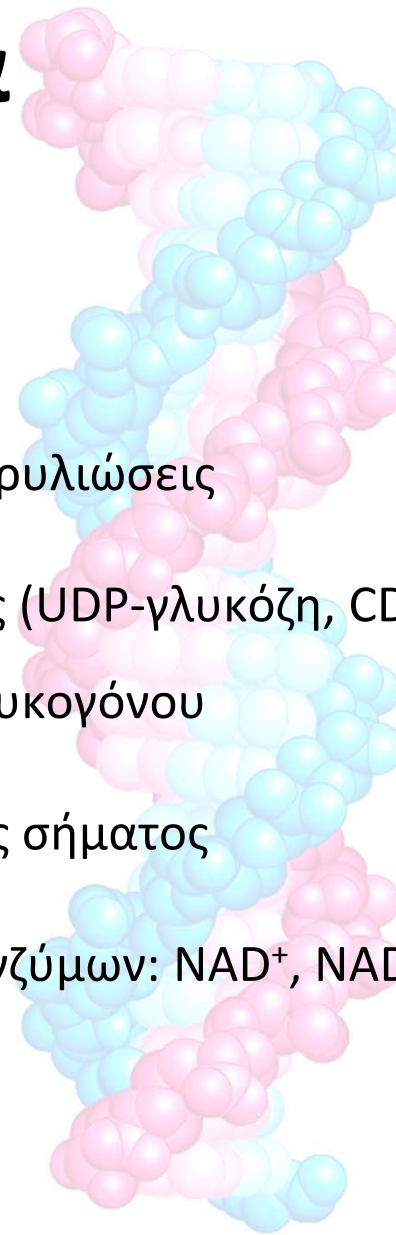
# Βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων

Βιοσύνθεση πουρινών - πυριμιδινών,  
δεοξυριβονουκλεοτιδίων, ρύθμιση βιοσύνθεσης,  
αποικοδόμηση

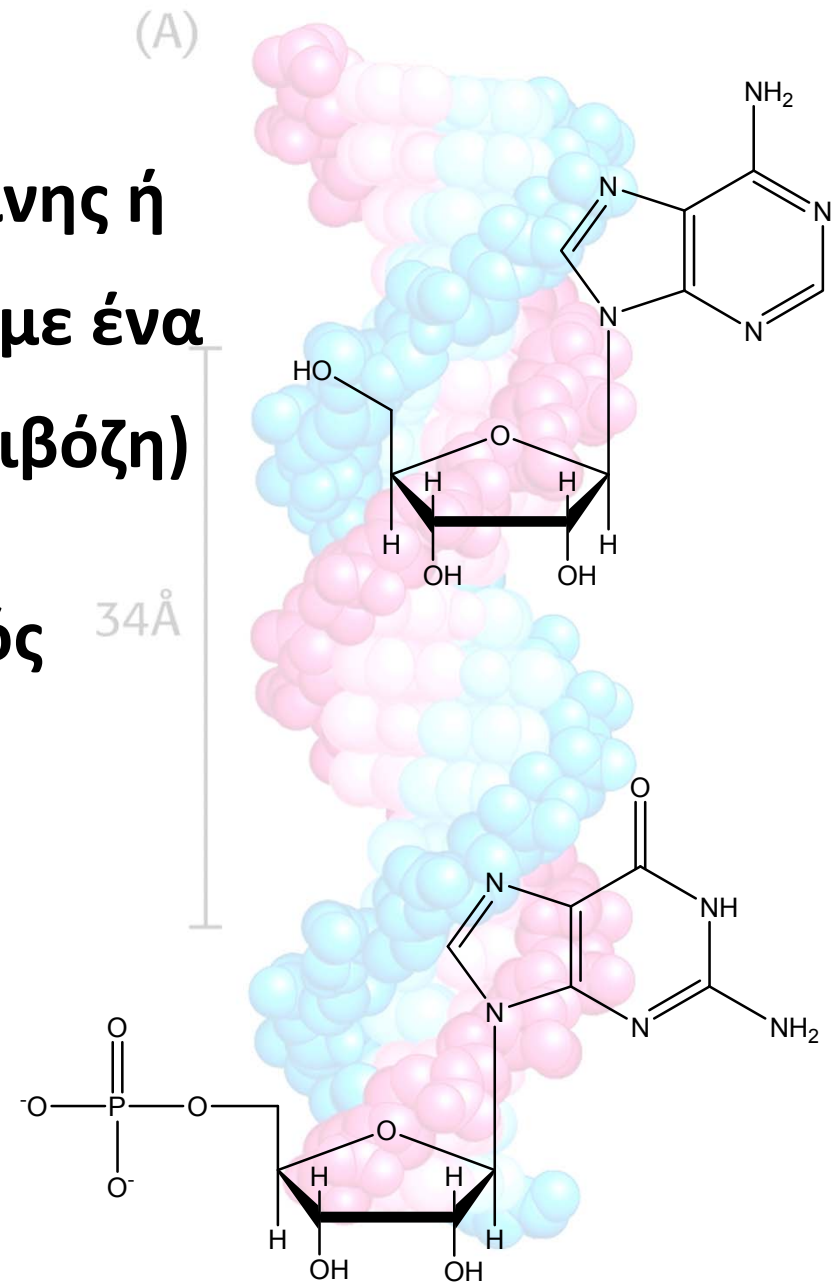


# Νουκλεοτίδια<sup>(A)</sup>

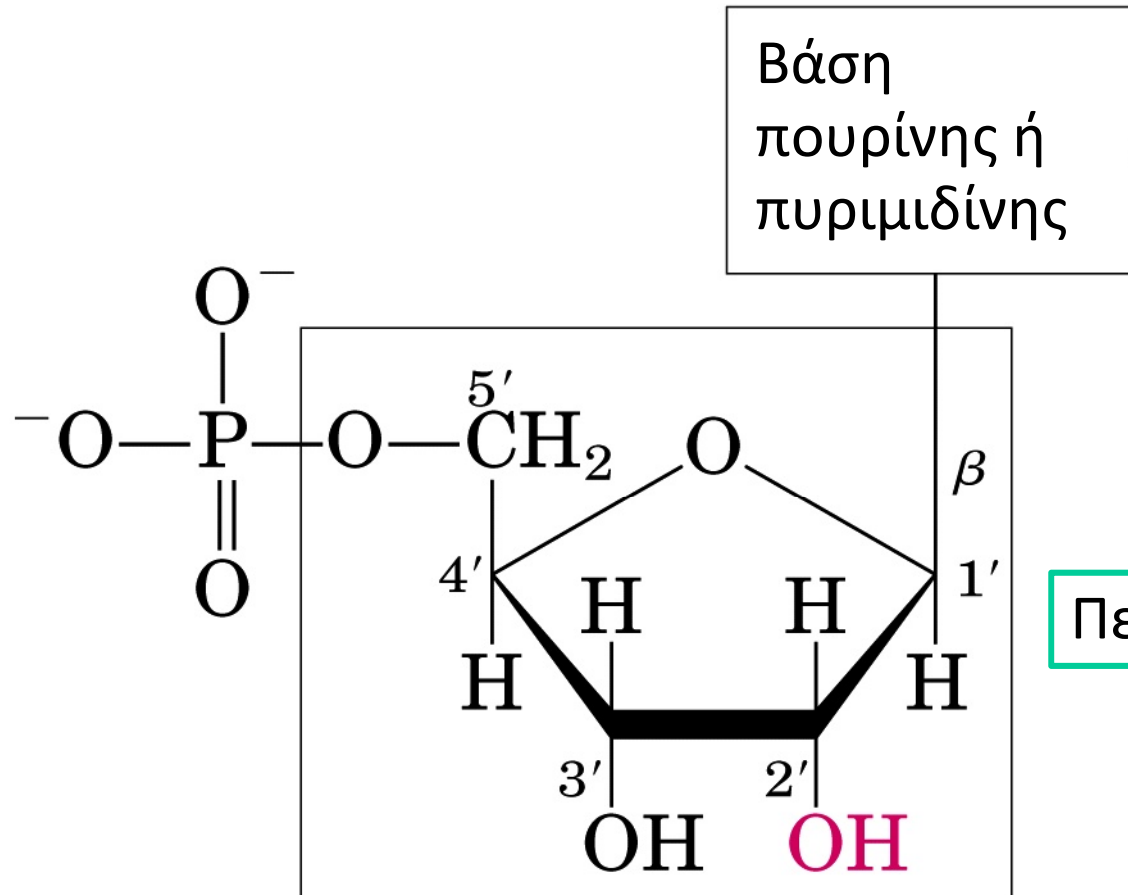
- Ενεργοποιημένα πρόδρομα DNA, RNA
- ATP, GTP παγκόσμιο ενεργειακό νόμισμα
- ATP δότης φωσφορικών ομάδων σε φωσφορυλιώσεις
- Ενεργοποιημένα ενδιάμεσα σε βιοσυνθέσεις (UDP-γλυκόζη, CDP-διάκυλογλυκερόλη, SAM,...) π.χ. σύνθεση γλυκογόνου
- Ουσιώδη συστατικά των πορειών μεταγωγής σήματος
- Αδενινονουκλεοτίδια συστατικά τριών συνενζύμων:  $\text{NAD}^+$ ,  $\text{NADP}^+$ , FAD, CoA
- Ρύθμιση μεταβολισμού (cAMP, cGMP,...)



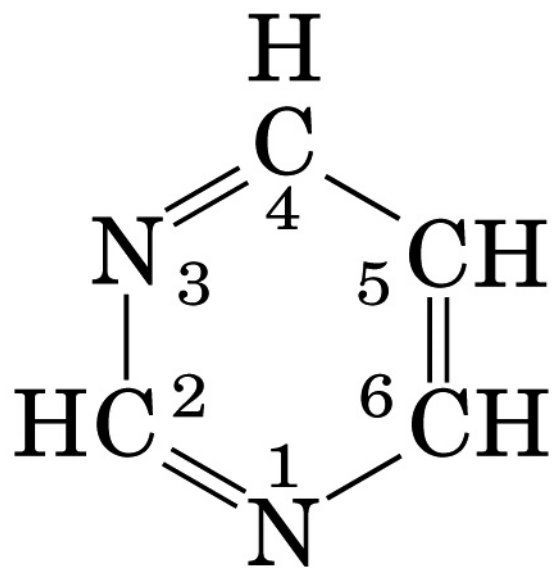
- **Νουκλεοζίτης:** βάση πουρίνης ή πυριμιδίνης συνδεδεμένη με ένα σάκχαρο (ριβόζη ή δεοξυριβόζη)
- **Νουκλεοτίδιο:** φωσφορικός εστέρας του νουκλεοζίτη



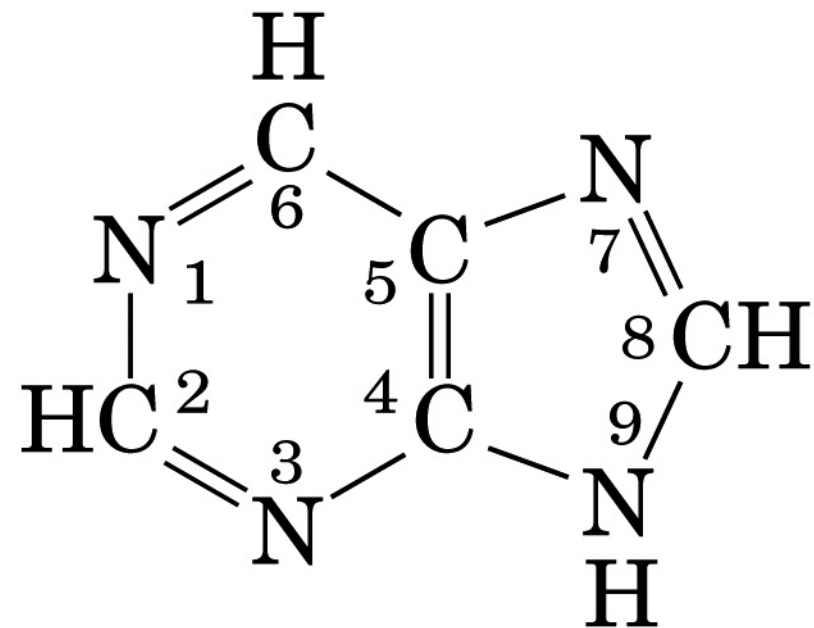
Φωσφορική  
ομάδα



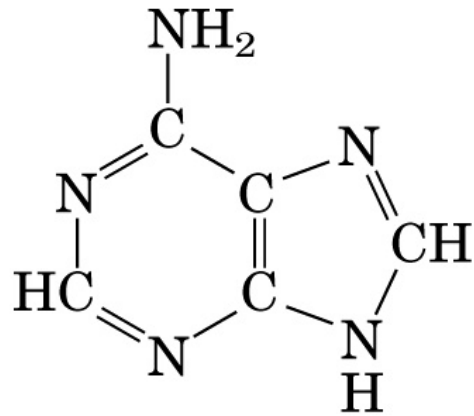
Πεντόζη



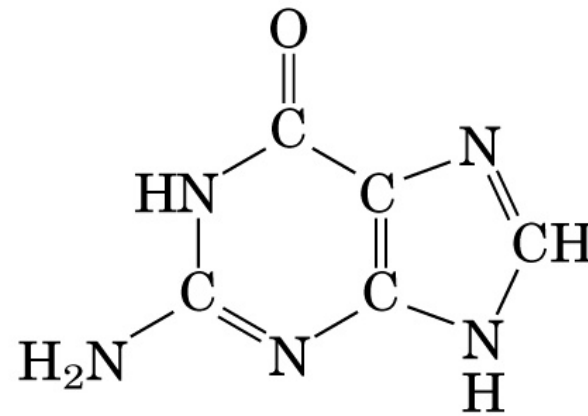
Πυριμιδίνη



Πουρίνη

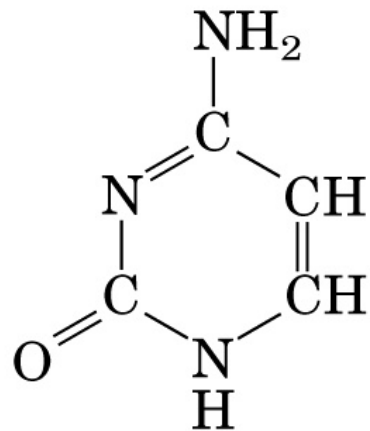


**Αδενίνη**

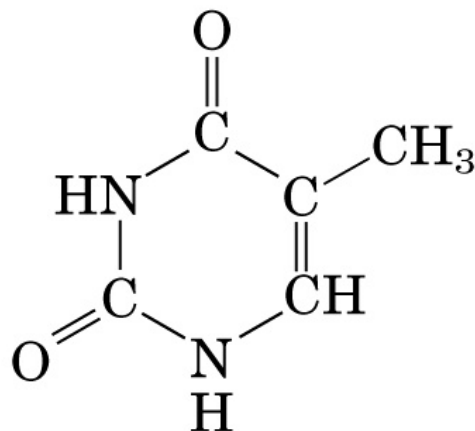


**Γουανίνη**

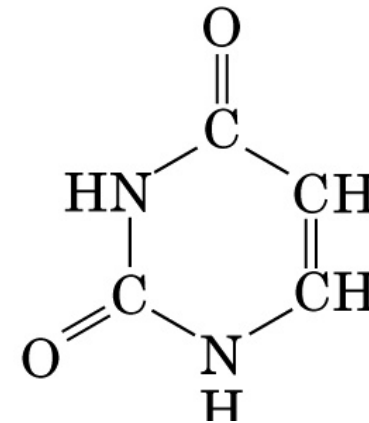
**Πουρίνες**



**Κυτοσίνη**



**Θυμίνη  
(DNA)**



**Ουρακίλη  
(RNA)**

**Πυριμιδίνες**

**Πίνακας 25.1** Ονοματολογία των βάσεων, των νουκλεοζιτών και των νουκλεοτιδίων

<b>RNA</b>		
<b>Βάση</b>	<b>Ριβονουκλεοζίτης</b>	<b>Ριβονουκλεοτίδιο (5' μονοφωσφορικό)</b>
Αδενίνη (A) Γουανίνη (G) Ουρακίλη (U) Κυτοσίνη (C)	Αδενοσίνη Γουανοσίνη Ουριδίνη Κυτιδίνη	Αδενυλικό (AMP) Γουανυλικό (GMP) Ουριδυλικό (UMP) Κυτιδυλικό (CMP)
<b>DNA</b>		
<b>Βάση</b>	<b>Δεοξυριβονουκλεοζίτης</b>	<b>Δεοξυριβονουκλεοτίδιο (5' μονοφωσφορικό)</b>
Αδενίνη (A) Γουανίνη (G) Θυμίνη (T) Κυτοσίνη (C)	Δεοξυαδενοσίνη Δεοξυγουανοσίνη Δεοξυθυμιδίνη Δεοξυκυτιδίνη	Δεοξυαδενυλικό (dAMP) Δεοξυγουανυλικό (dGMP) Θυμιδυλικό (dTMP) Δεοξυκυτιδυλικό (dCMP)

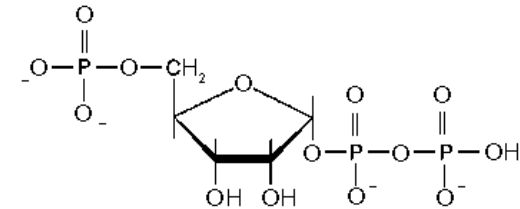
# Βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ ΠΕΡΙΣΩΣΗΣ

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + βάση



Νουκλεοτίδιο



PRPP

## ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ *de novo* ΣΥΝΘΕΣΗΣ

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + αμινοξέα  
+ATP +CO<sub>2</sub>+.....



Νουκλεοτίδιο  
Δ.Δ. Λεωνίδα



Οι αντιδράσεις **περίσωσης** των πυριμιδινών είναι **λιγότερο αποτελεσματικές** γιατί με εξαίρεση τη χρησιμοποίηση της **ουρακίλης** από διάφορα βακτήρια και σε κάποιο βαθμό από κύτταρα θηλαστικών, **οι βάσεις πυριμιδίνης δε μετατρέπονται σε νουκλεοτίδια με άμεσο τρόπο αλλά μόνο μέσω νουκλεοζιτών**

# Βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων

□ Και τα δύο βιοσυνθετικά μονοπάτια οδηγούν στη βιοσύνθεση ριβονουκλεοτιδίων. Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια προκύπτουν με αναγωγή των αντίστοιχων ριβονουκλεοτιδίων. Επιπρόσθετα, η θυμίνη προκύπτει από την ουρακίλη με μεθυλίωση. **Εξελικτική πορεία RNA - DNA (RNA world)!!!**

□ Κατά την *de novo* βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων τα αμινοξέα **γλυκίνη** και **σερίνη** είναι τα καλούπια για τη βιοσύνθεση των δακτυλίων των νουκλεοτιδίων ενώ το **ασπαρτικό** και η **γλουταμίνη** χρησιμοποιούνται σαν δότες αμινομάδων.

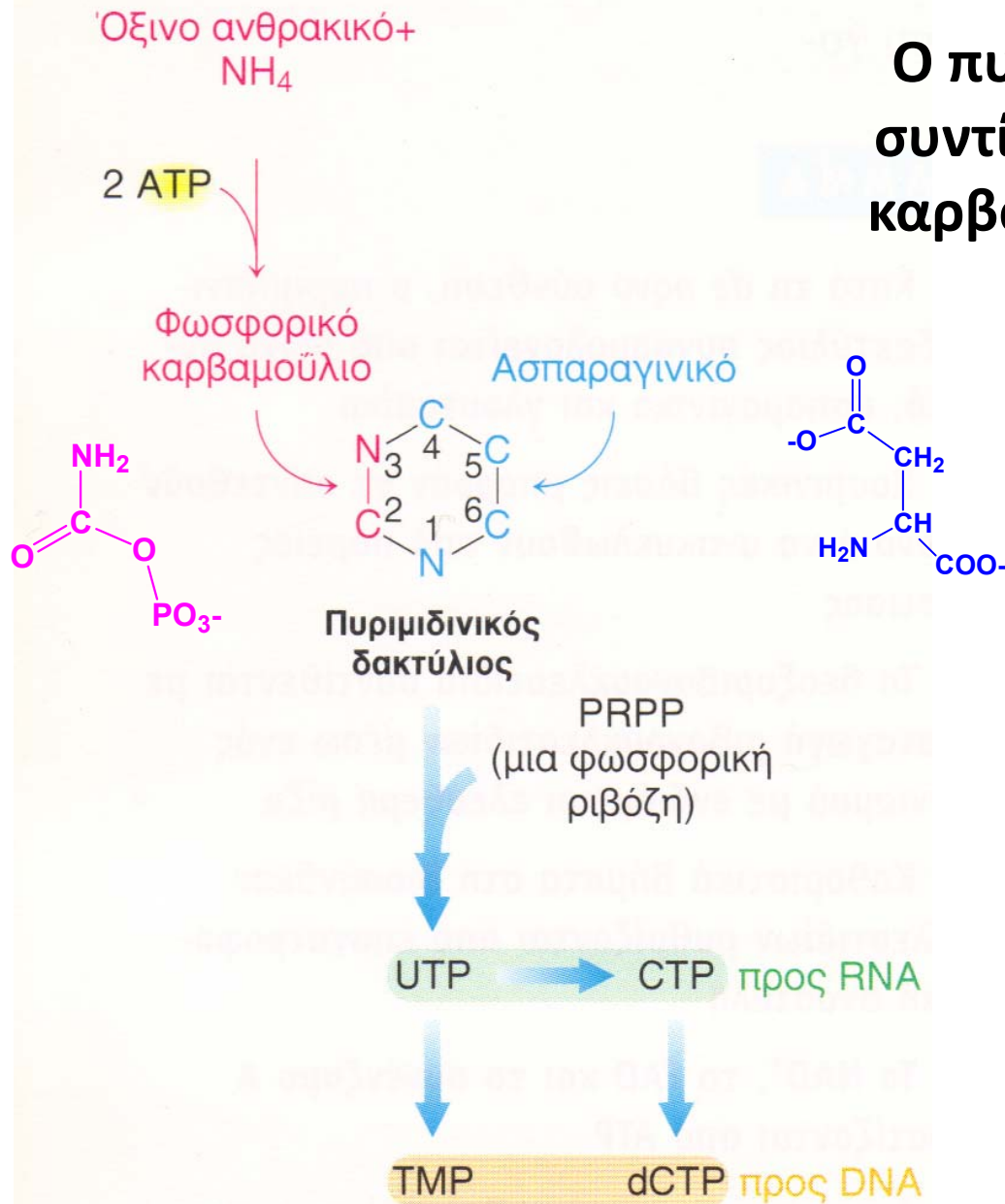
❖ Τα βιοσυνθετικά μονοπάτια των νουκλεοτιδίων είναι πολύ σημαντικές βιοσυνθετικές πορείες σαν **σημείο στόχευσης** για θεραπευτικούς σκοπούς.

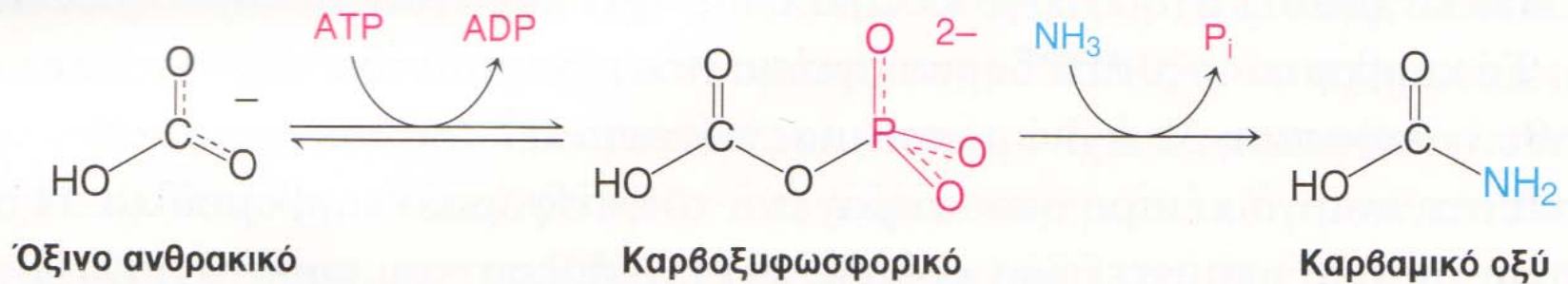
❖ Πολλά από τα πιο κοινά **αντικαρκινικά φάρμακα** αναστέλλουν βήματα στη βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων.

❖ Οι **αναστολείς της βιοσύνθεσης** των νουκλεοτιδίων επιδρούν πολύ **τοξικά** στα κύτταρα.

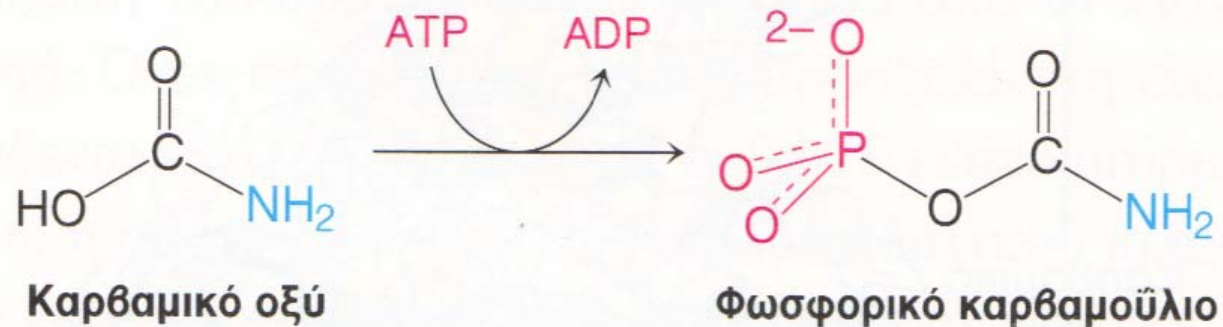
❖ Η τοξικότητά τους αξιοποιείται για την αντιμετώπιση του καρκίνου και ορισμένων νοσημάτων που οφείλονται σε λοιμώξεις από ιούς, βακτήρια ή πρωτόζωα

# Ο πυριμιδινικός δακτύλιος συντίθεται από φωσφορικό καρβαμυΐλιο και ασπαραγινικό

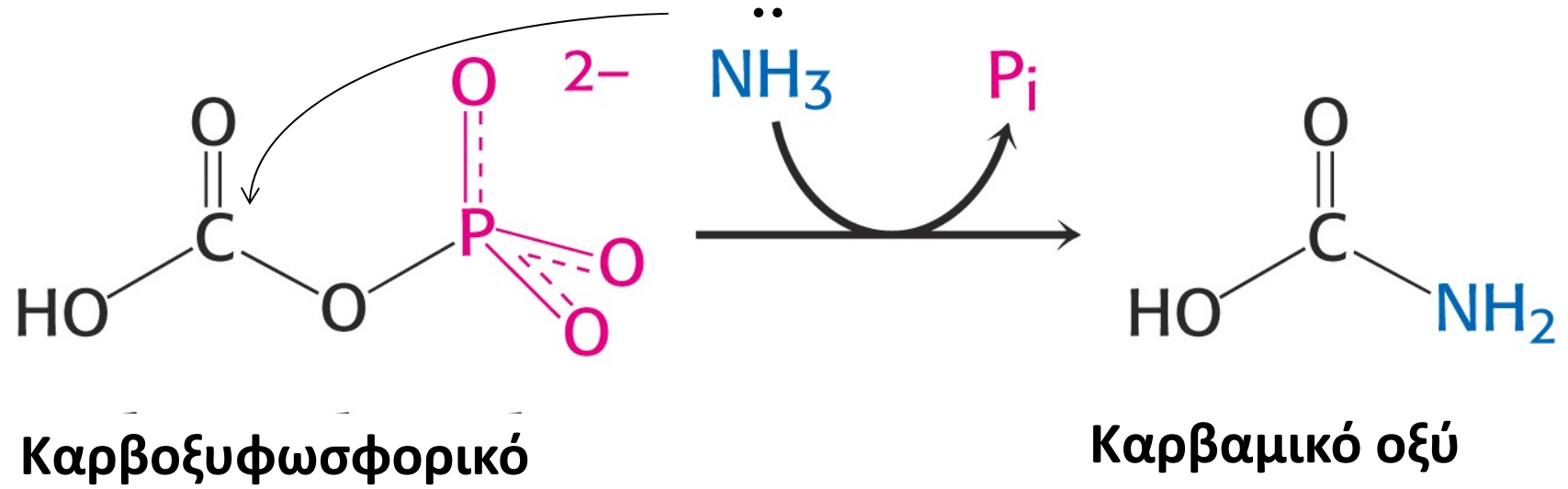




### Συνθετάση φωσφορικού καρβαμοϋλίου



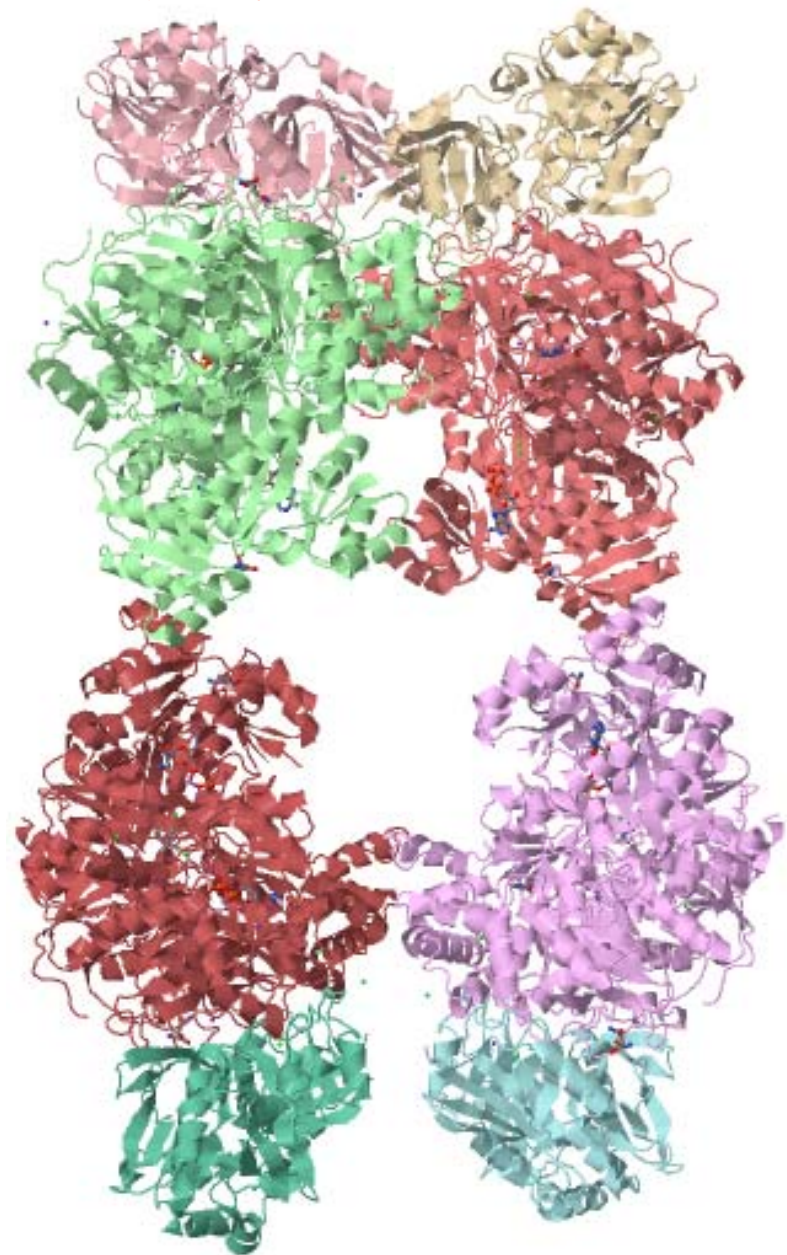
Σε αντίθεση με το σχηματισμό του φωσφορικού καρβαμοϋλίου στα μιτοχόνδρια κατά τον κύκλο της ουρίας, η βιοσύνθεση του φωσφορικού καρβαμοϋλίου κατά τη βιοσύνθεση των πυριμιδινών λαμβάνει χώρα στο **κυτταροδιάλυμα** και δότης αμμωνίας είναι η **γλουταμίνη**. Επιπρόσθετα το N-ακετυλογλουταμινικό δε ρυθμίζει τη βιοσύνθεση αυτή.

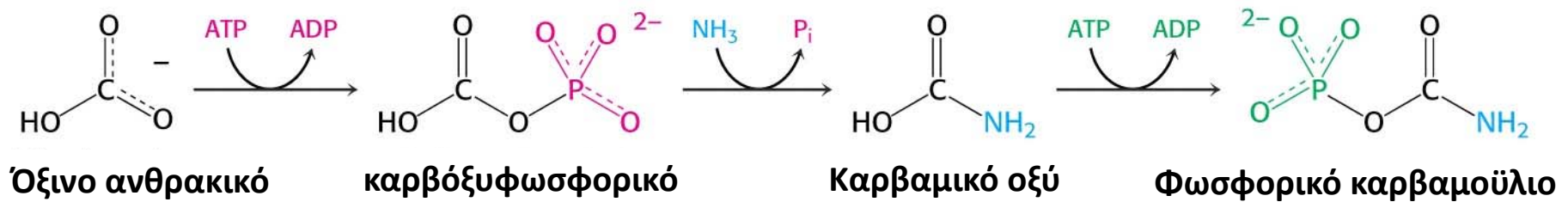


## Συνθετάση φωσφορικού καρβαμοϋλίου

□ Στα θηλαστικά υπάρχουν δύο μορφές ισοενζύμων το μιτοχονδριακό το οποίο χρησιμοποιεί  $\text{NH}_4^+$  ως πηγή αζώτου στον κύκλο της ουρίας και ένα άλλο ισοένζυμο που χρησιμοποιείται για τη βιοσύνθεση των πυριμιδινών, χρησιμοποιώντας **γλουταμίνη** ως πηγή αζώτου και είναι τμήμα ενός μεγάλου πολυπεπτιδίου που ονομάζεται CAD.

□ Το CAD απαρτίζεται από τη συνθετάση του φωσφορικού καρβαμοϋλίου, την ασπαραγινική τρανσκαρβομοϋλάση και τη διυδροορατάση τα οποία καταλύουν βήματα στη βιοσύνθεση των πυριμιδινών





□ Η συνθετάση του φωσφορικού καρβαμοΐλιου των μιτοχονδρίων απαιτεί N-ακετυλογλουταμινικό (NAG) για δραστικότητα.

□ Η θέση στην οποία συμβαίνει η υδρόλυση της γλουταμίνης κατά τη βιοσύνθεση πυριμιδινών είναι συντηρημένη στο μιτοχονδριακό ένζυμο αλλά καταλυτικά ανενεργή και συνδέει N-ακετυλογλουταμινικό.

□ Το N-ακετυλογλουταμινικό (NAG) δρα σαν **αλλοστερικός τροποποιητής** του ενζύμου.

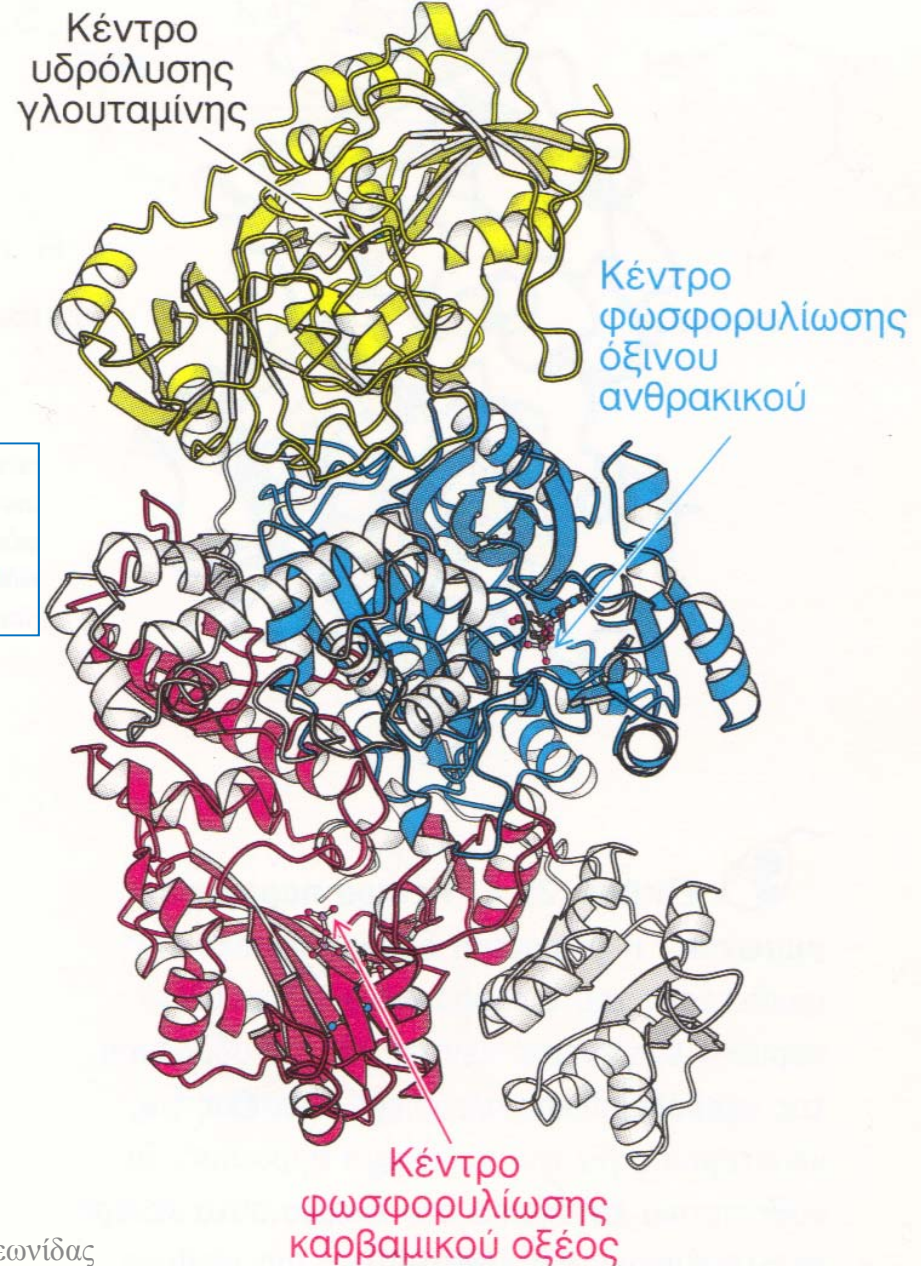
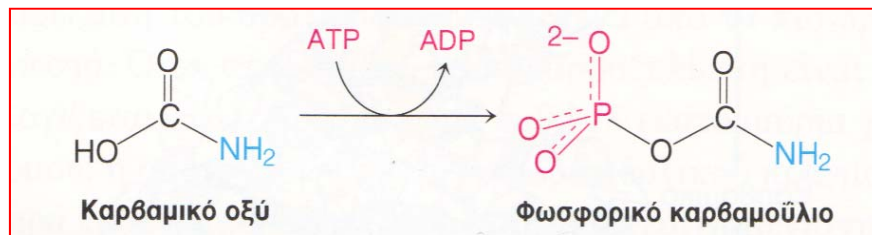
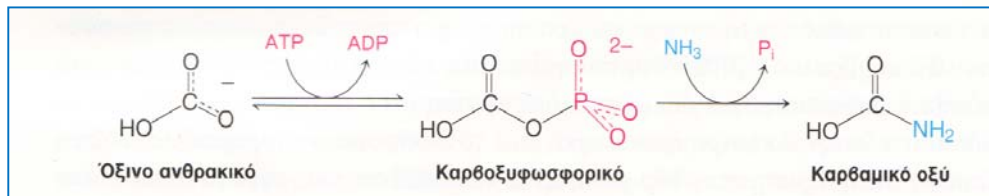
Μεγάλες συγκεντρώσεις του μεταβολίτη αυτού σημαίνει αφθονία αμινοξέων που δίνει και το έναυσμα για την ενεργοποίηση του κύκλου της ουρίας.

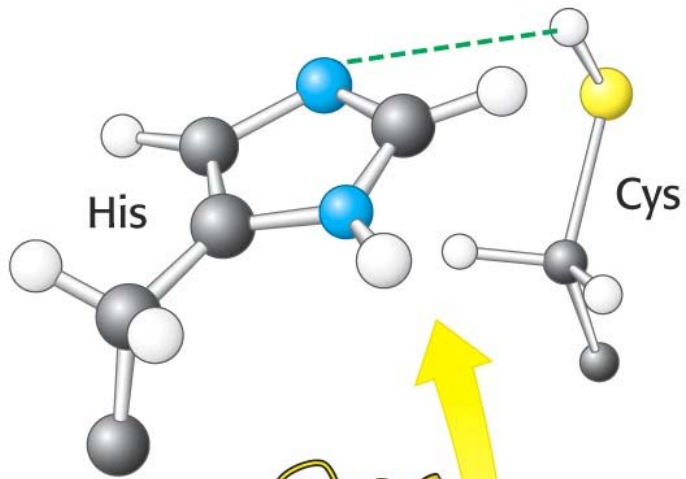
□ Το NAG βιοσυντίθεται μόνο όταν υπάρχουν ελεύθερα αμινοξέα, μία ένδειξη ότι η αμμωνία που δημιουργείται πρέπει να καταστραφεί.

□ Μια καταλυτική θέση ενός ενζύμου χρησιμοποιείται σαν αλλοστερική θέση για ένα άλλο ένζυμο

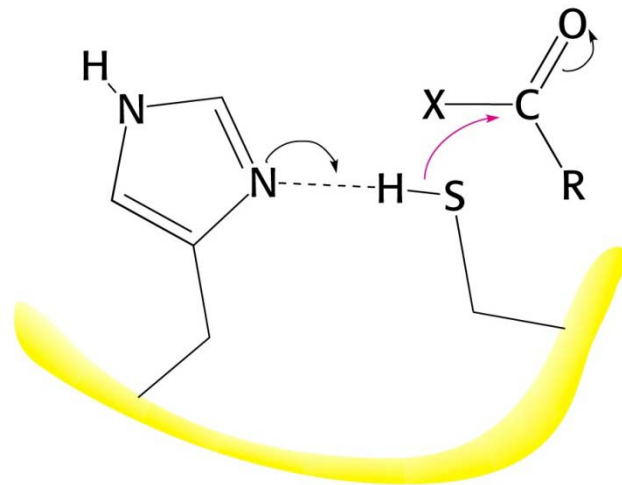
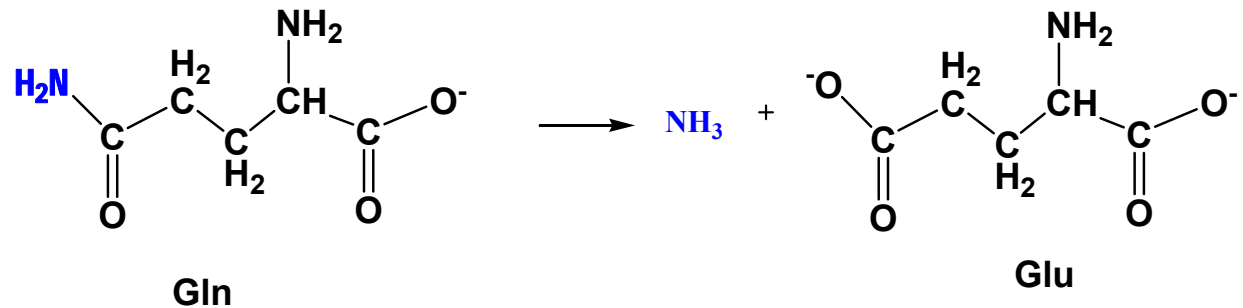
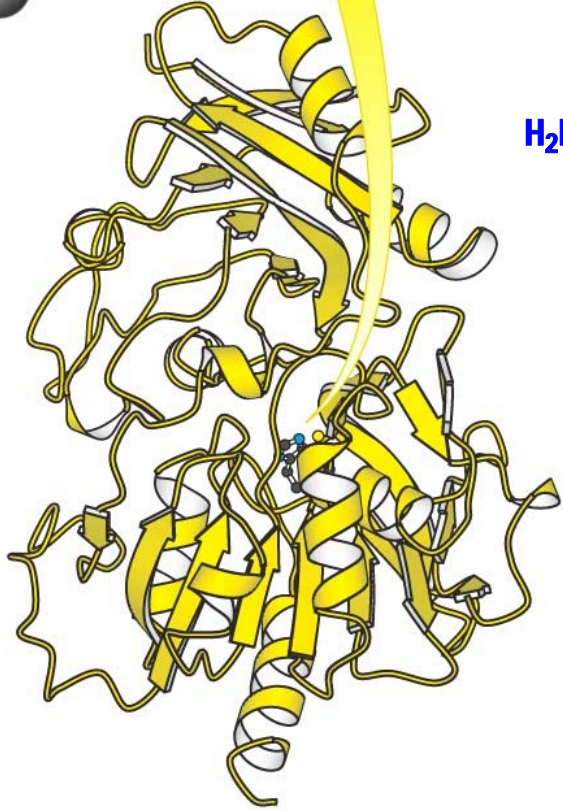


Η **συνθετάση του φωσφορικού καρβαμυλίου** αποτελείται από δυο υπομονάδες. Περιέχει τρία διαφορετικά ενεργά κέντρα και δύο περιοχές σύλληψης ATP





Το ενεργό κέντρο της συνιστώσας που υδρολύει γλουταμίνη για την παραγωγή αμμωνίας και γλουταμινικού περιέχει μία καταλυτική δυάδα αποτελούμενη από μία ιστοιδίνη και μία κυστεΐνη.



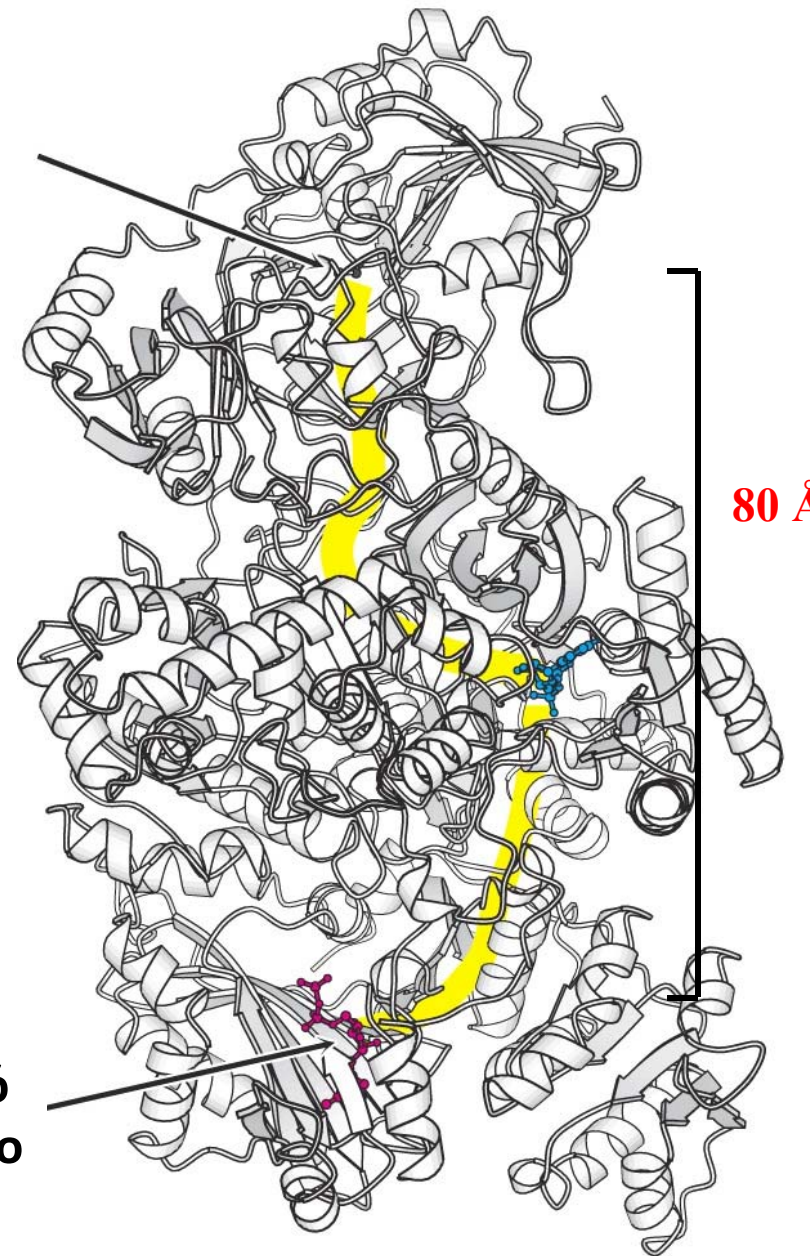
Περιέχει τρία διαφορετικά ενεργά κέντρα και τα ενδιάμεσα μεταφέρονται από το ένα ενεργό κέντρο στο άλλο χωρίς να αποχωριστούν από το ένζυμο – διοχέτευση υποστρώματος παρόμοια με αυτό της συνθάσης της τρυπτοφάνης.

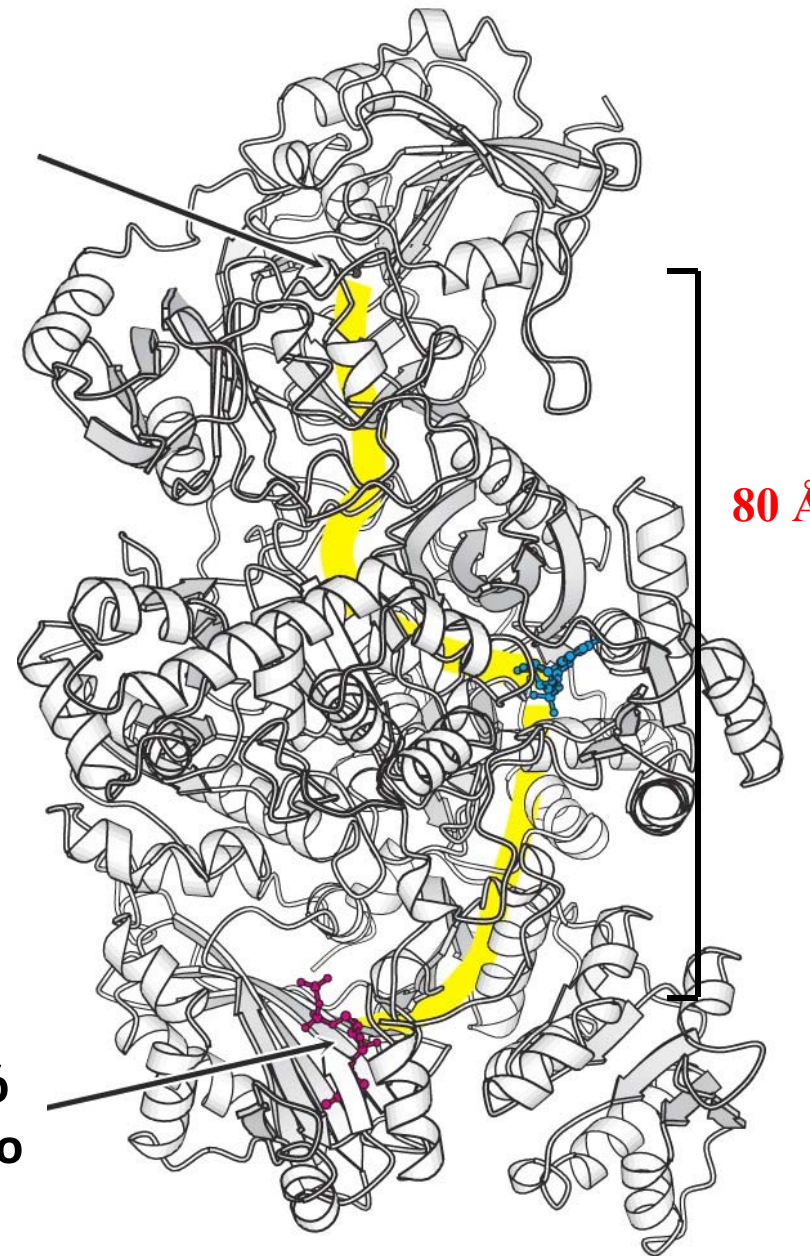
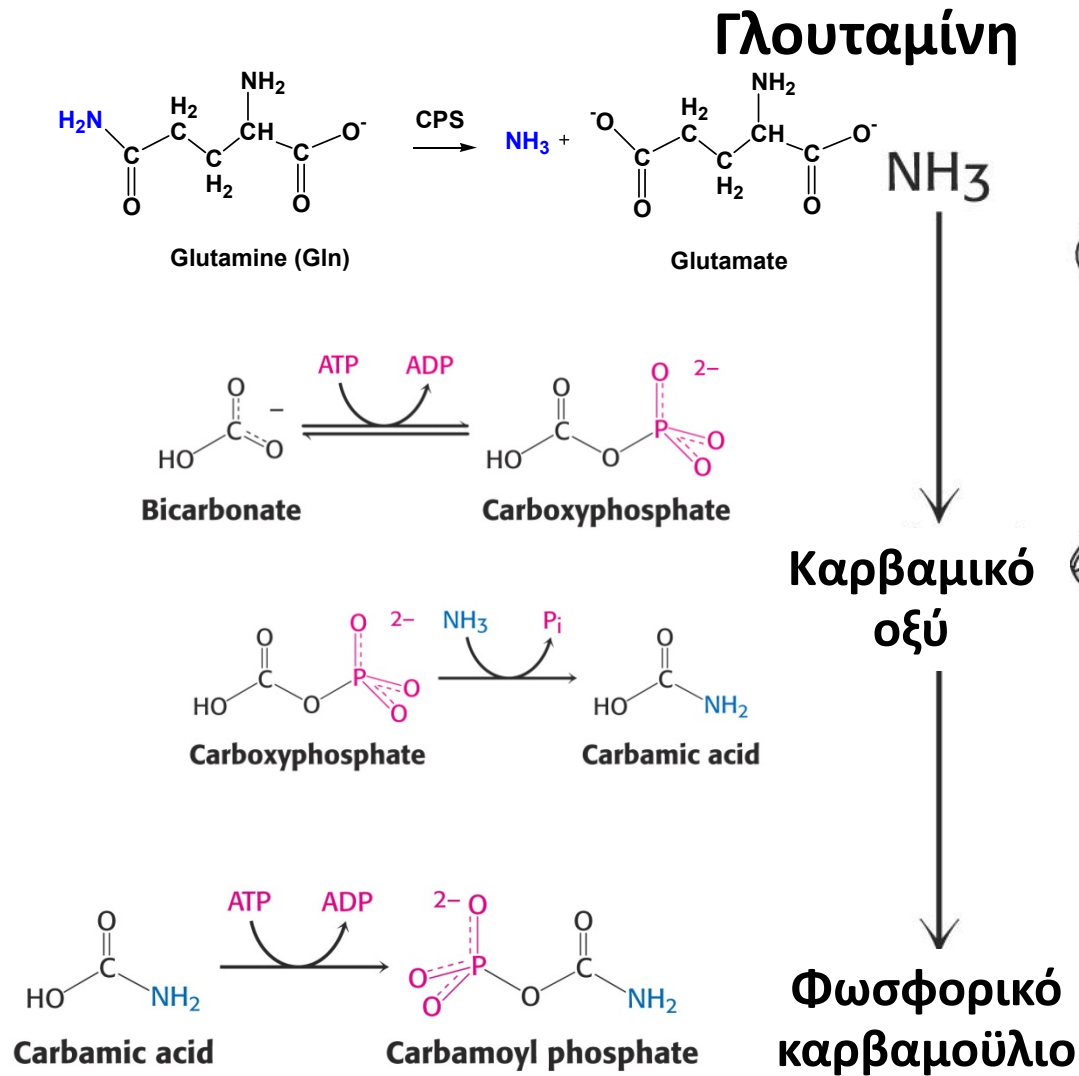
**Γλουταμίνη**

$\text{NH}_3$

**Καρβαμικό οξύ**

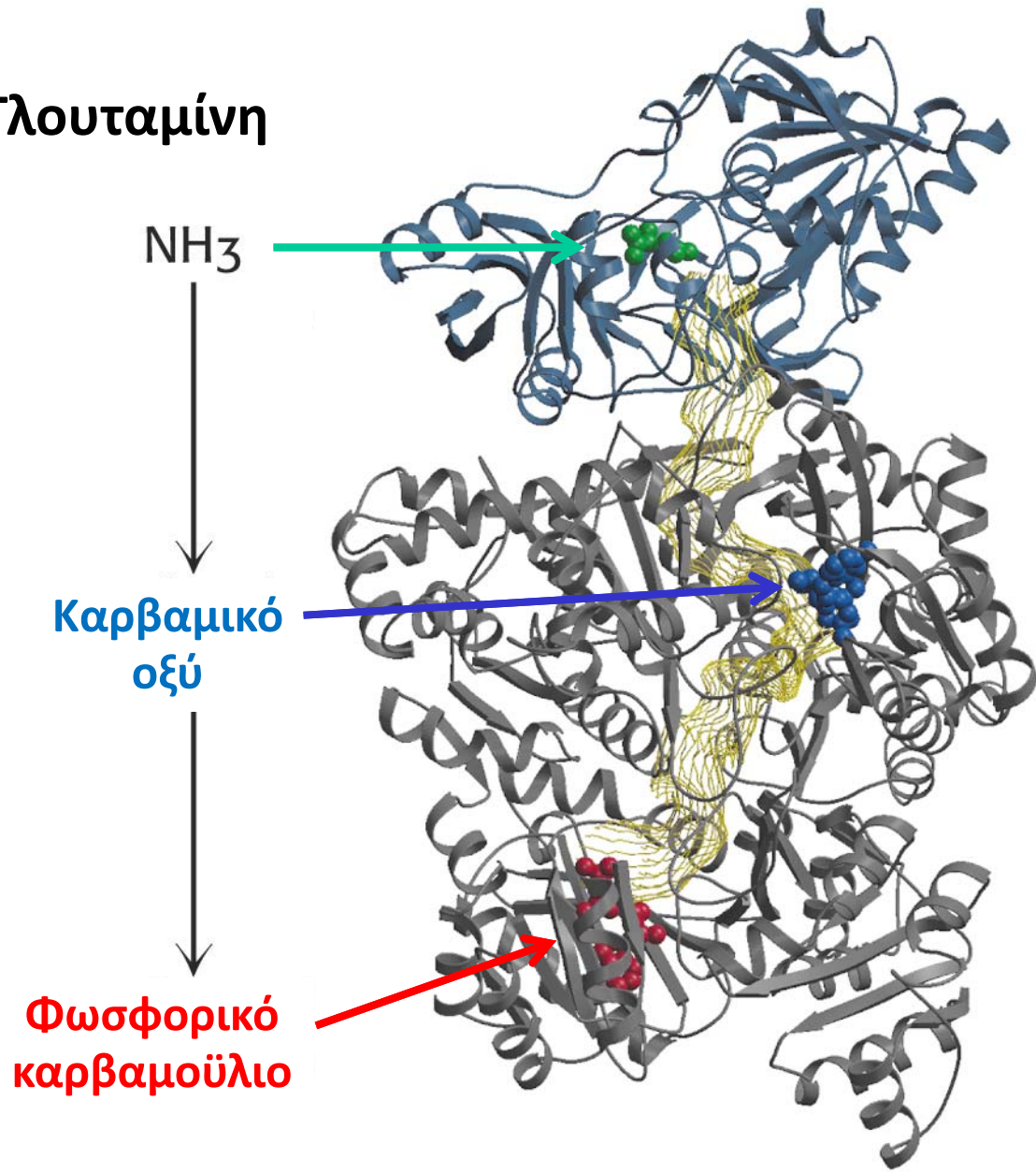
**Φωσφορικό καρβαμυλί**



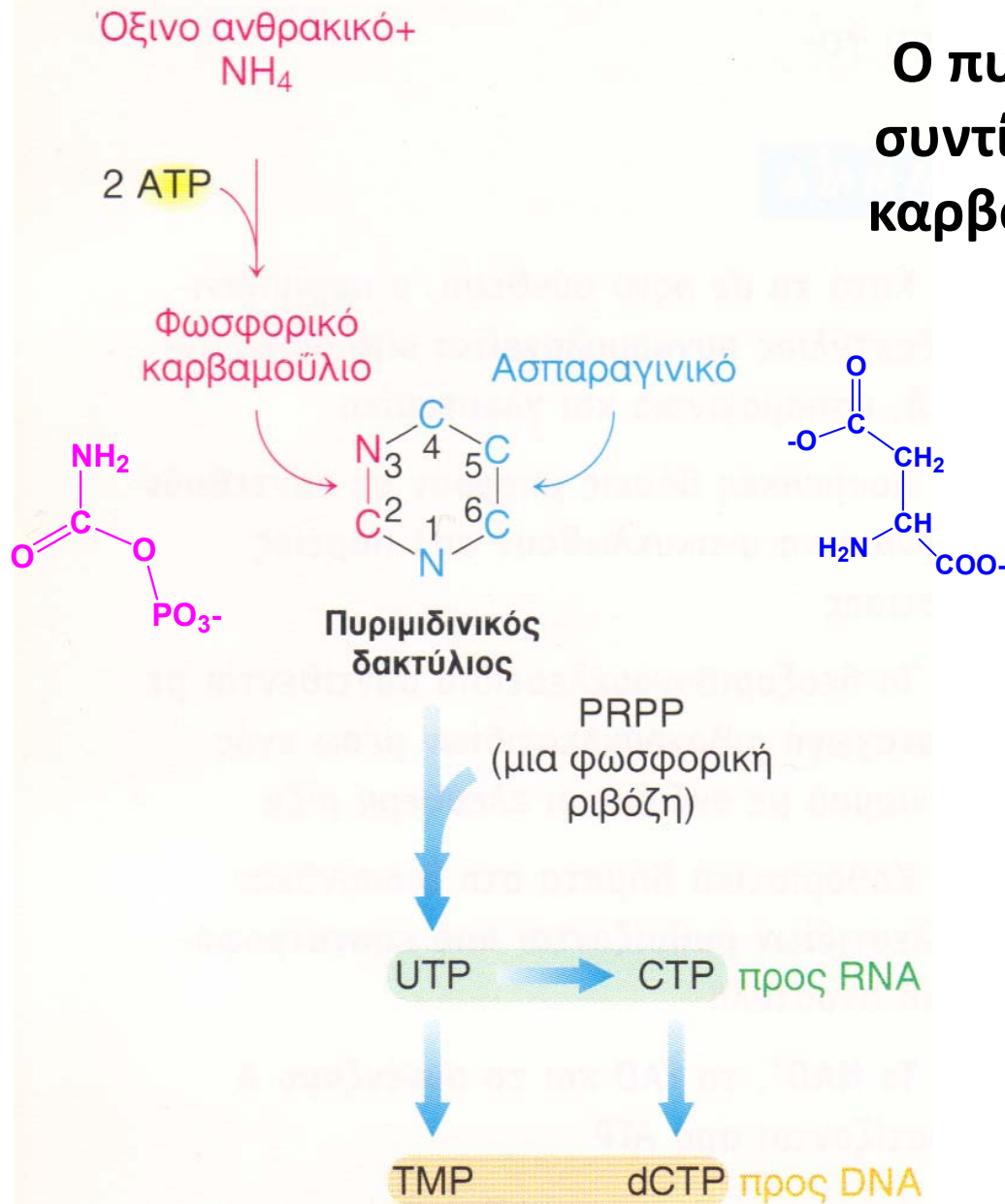


## Γλουταμίνη

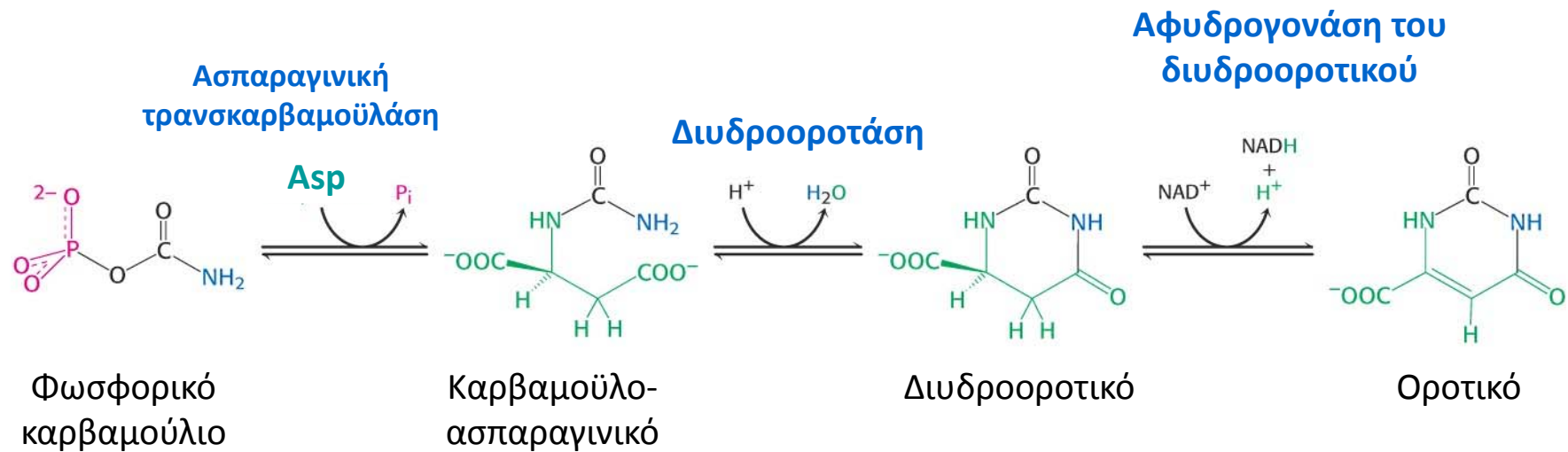
Η διοχέτευση εξυπηρετεί: (α) ενδιάμεσα που παράγονται σε ένα ενεργό κέντρο συλλαμβάνονται χωρίς απώλειες διάχυσης, (β) ασταθή ενδιάμεσα όπως το καρβοξυφωσφορικό και το καρβαμικό οξύ που αποικοδομούνται σε λιγότερο από 1 sec σε pH 7 προστατεύονται από την υδρόλυση



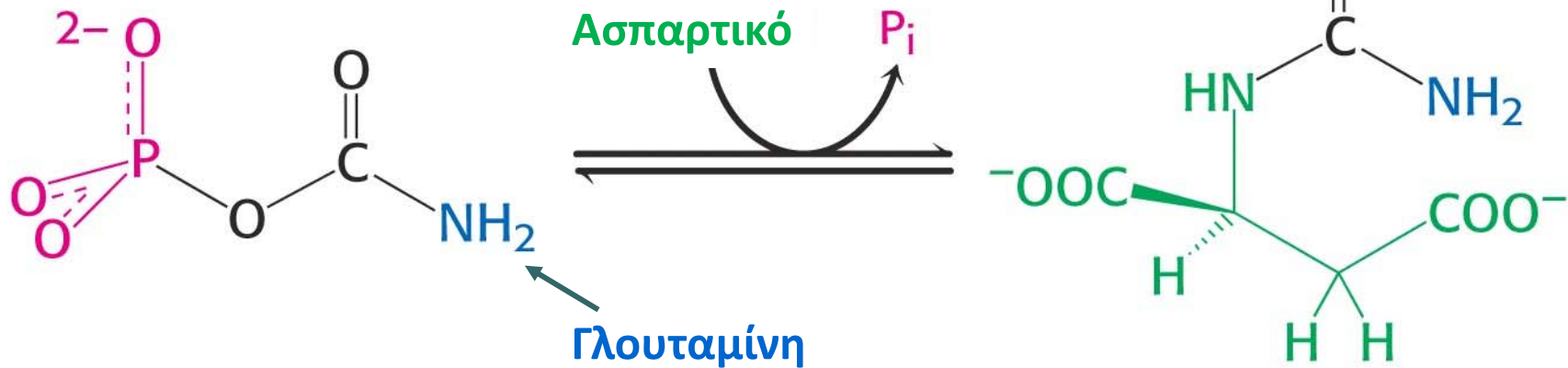
# Ο πυριμιδινικός δακτύλιος συντίθεται από φωσφορικό καρβαμοΐλιο και ασπαραγινικό



# Ο πυριμιδινικός δακτύλιος συντίθεται από φωσφορικό καρβαμούλιο και ασπαραγινικό



## Ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση

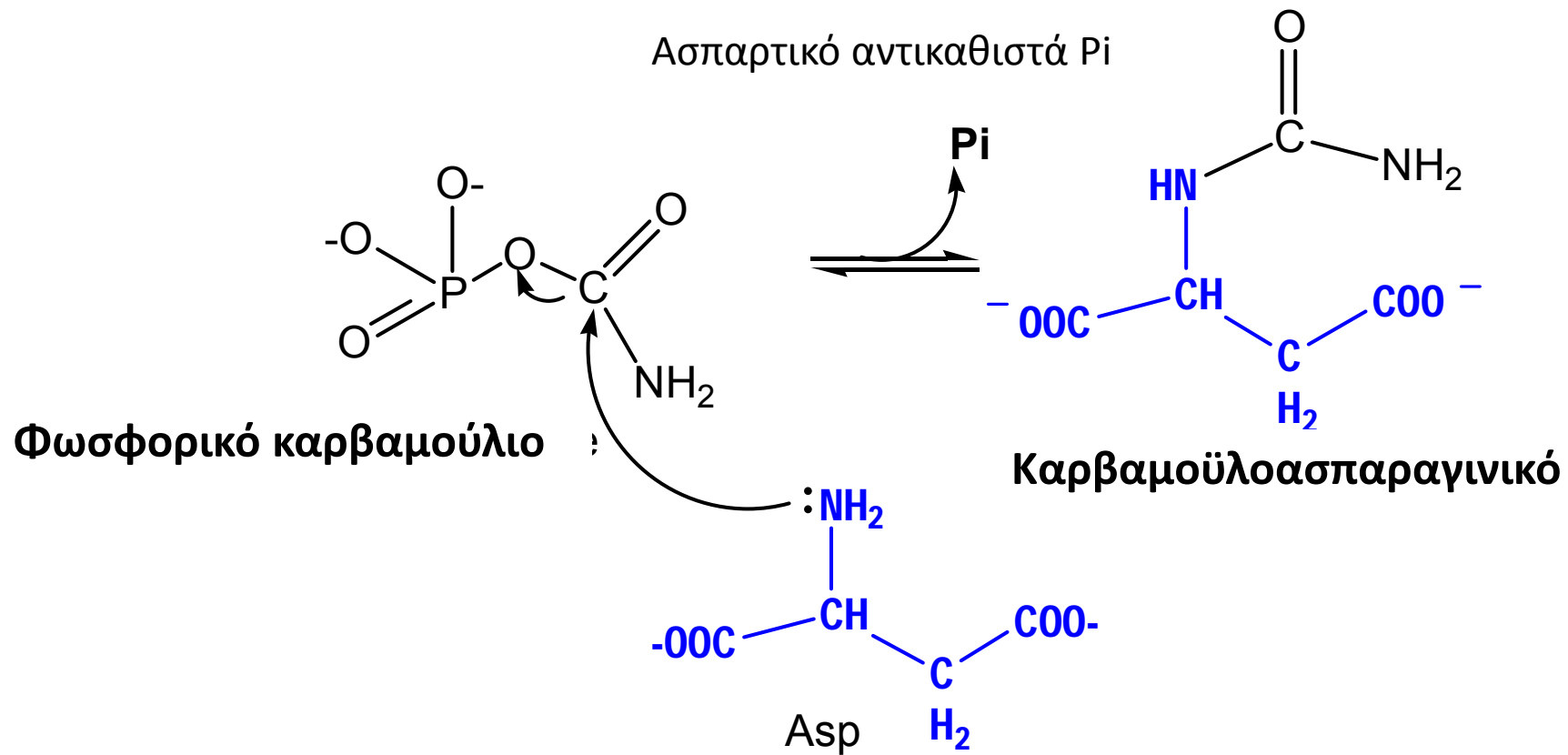


Φωσφορικό καρβαμώλιο

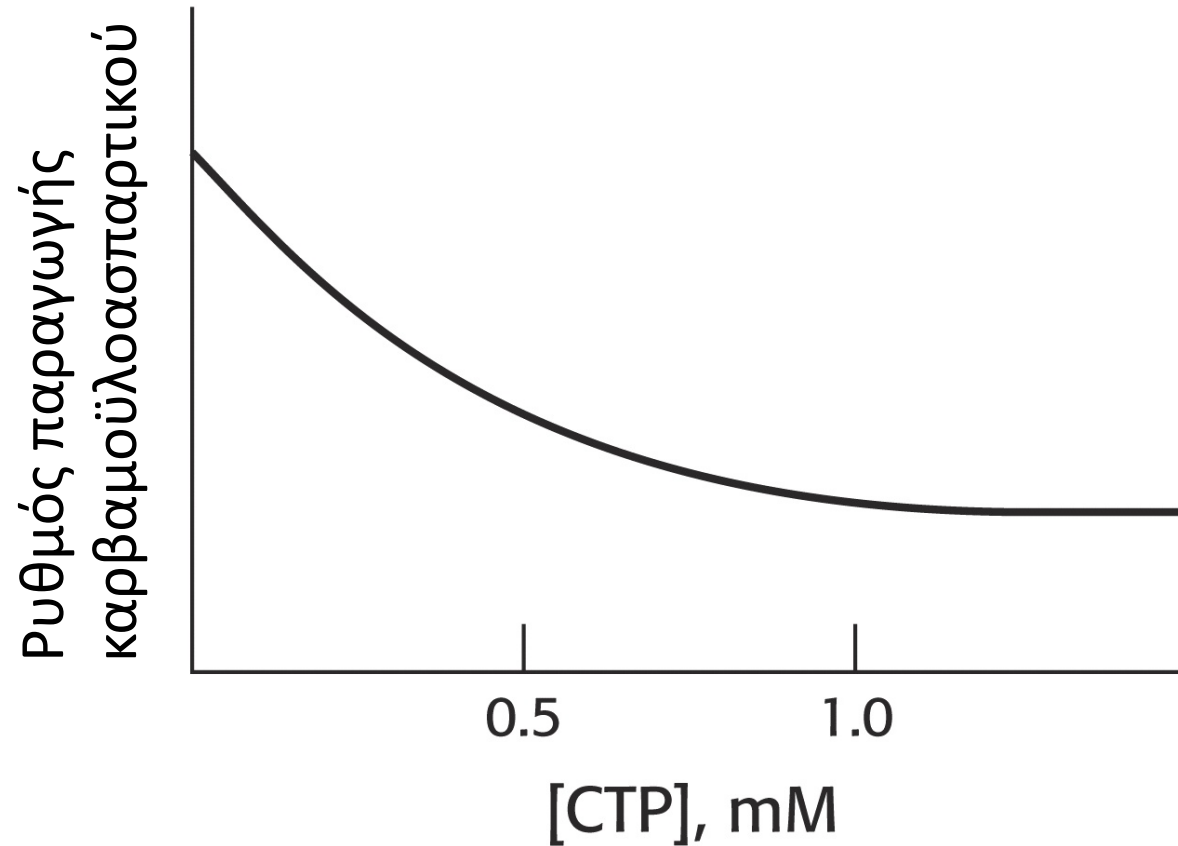
Καρβαμώλιοασπαραγινικό

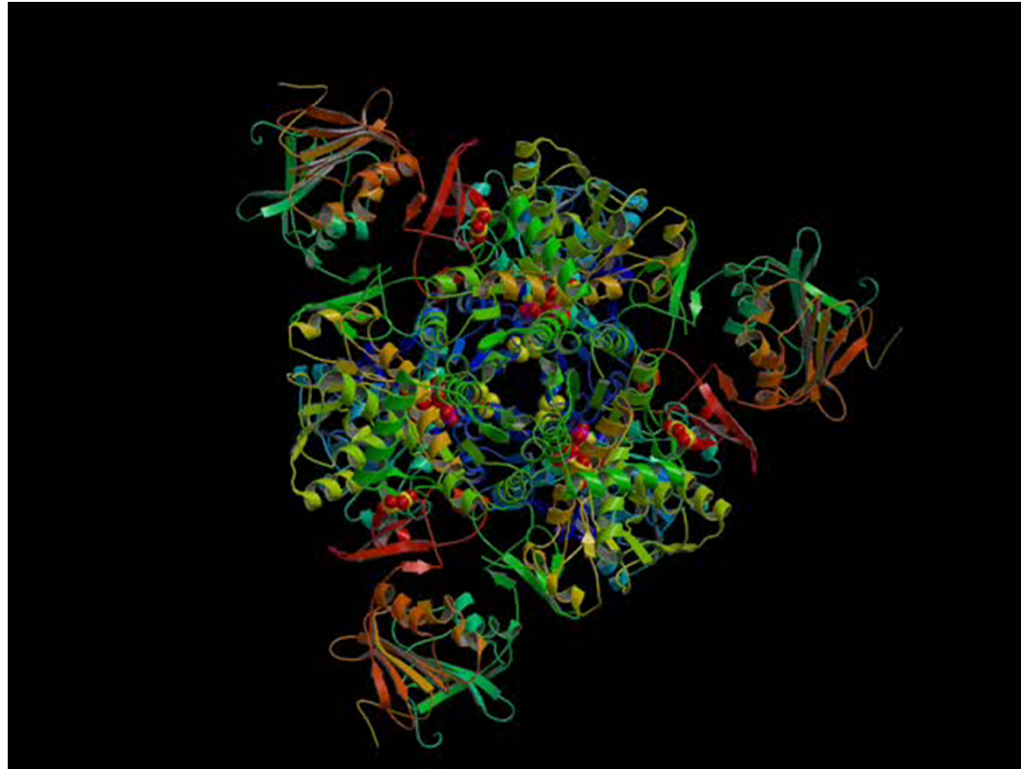
Η αντίδραση αυτή αποτελεί το ρυθμιστικό στάδιο της βιοσύνθεσης



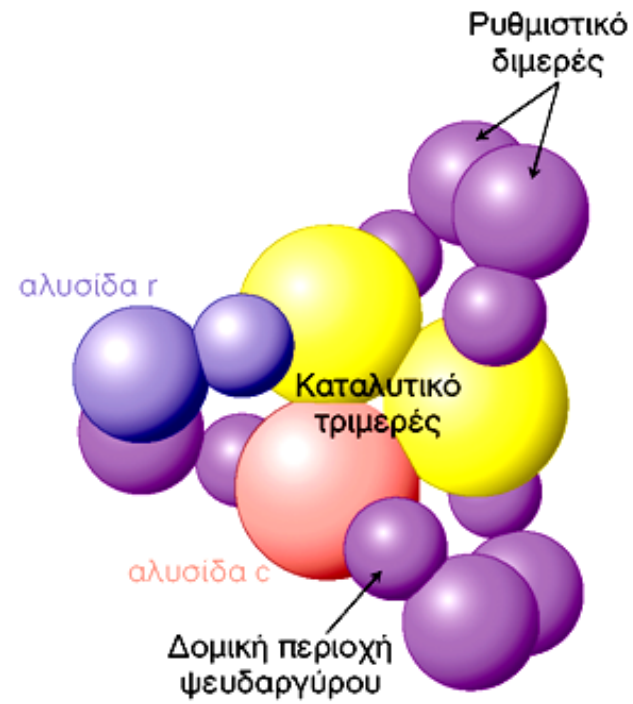
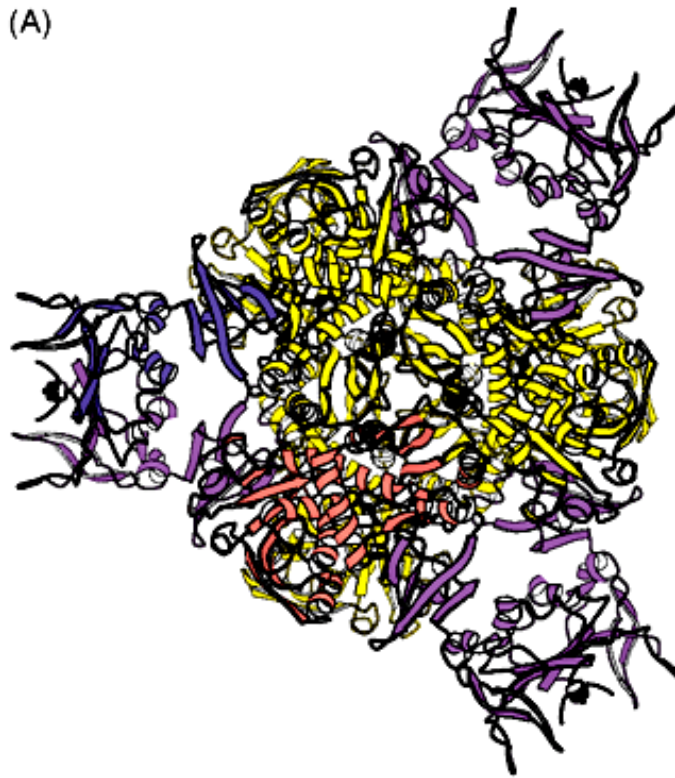


# Η Ασπαραγινική τρανσκαρβαμοϋλάση αναστέλλεται αλλοστερικά από CTP

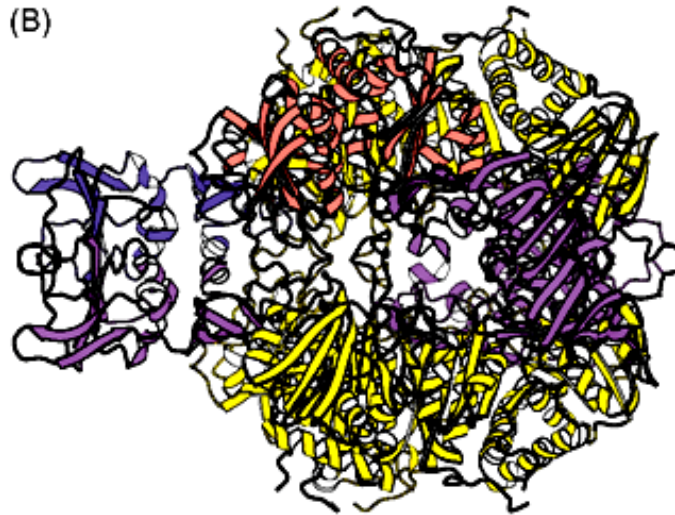


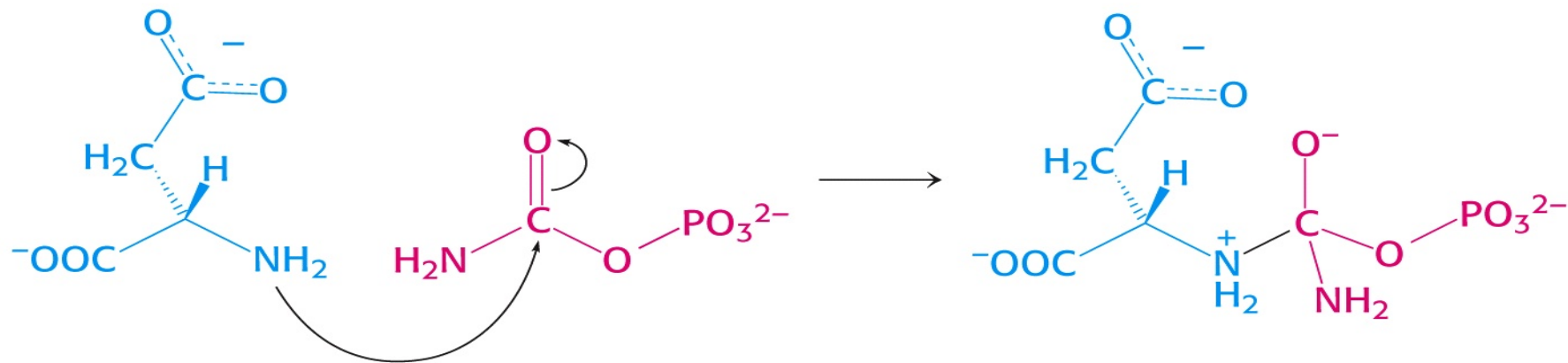


(A)



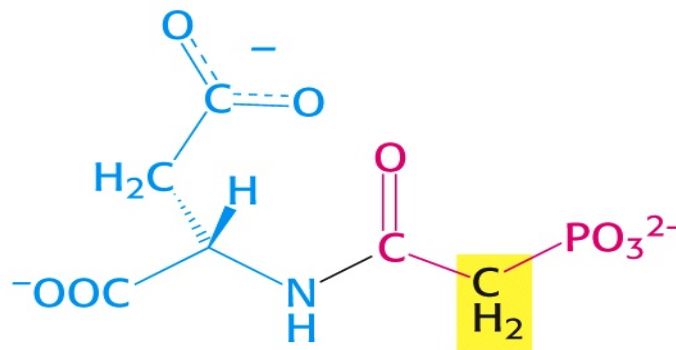
(B)



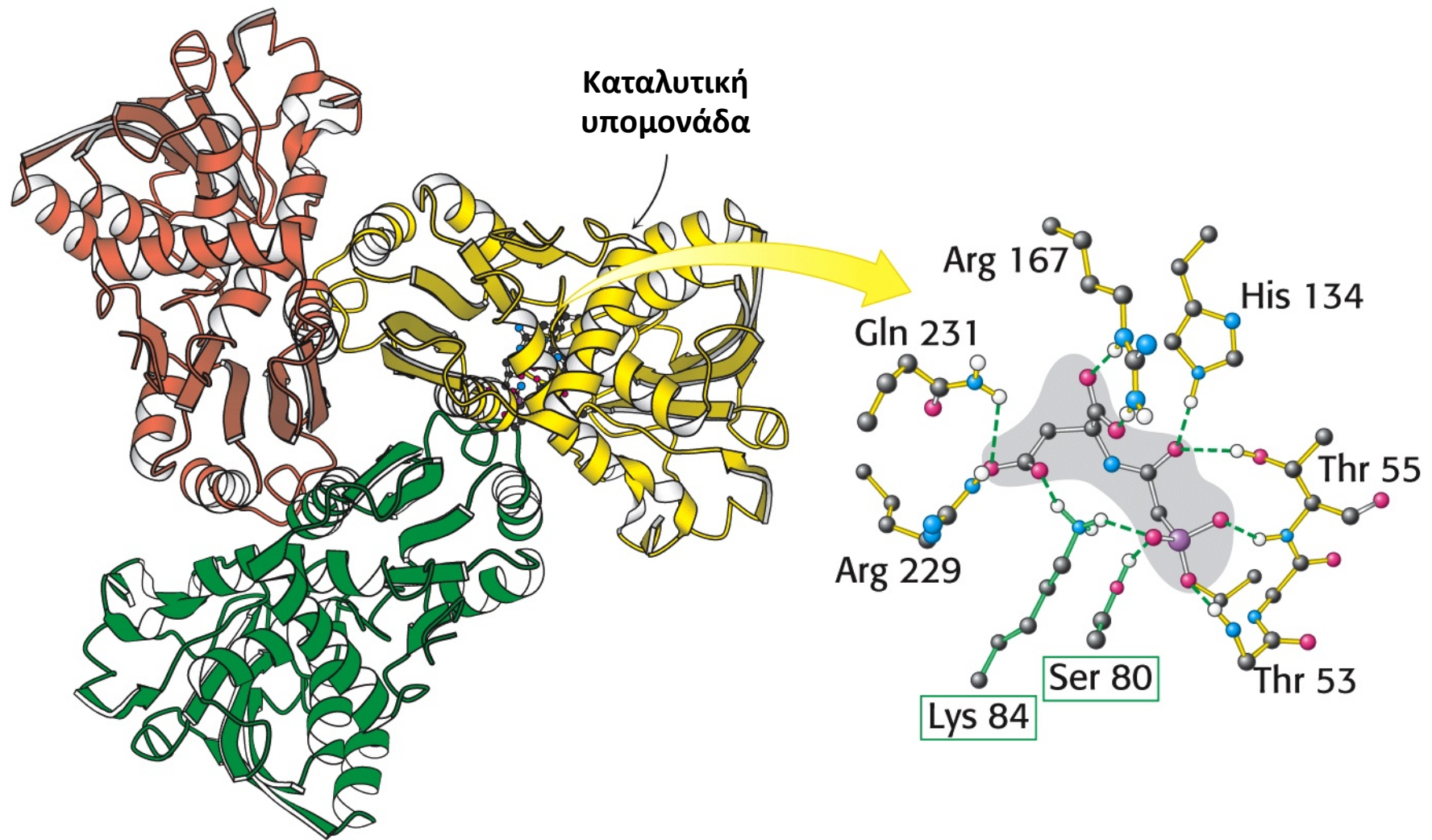


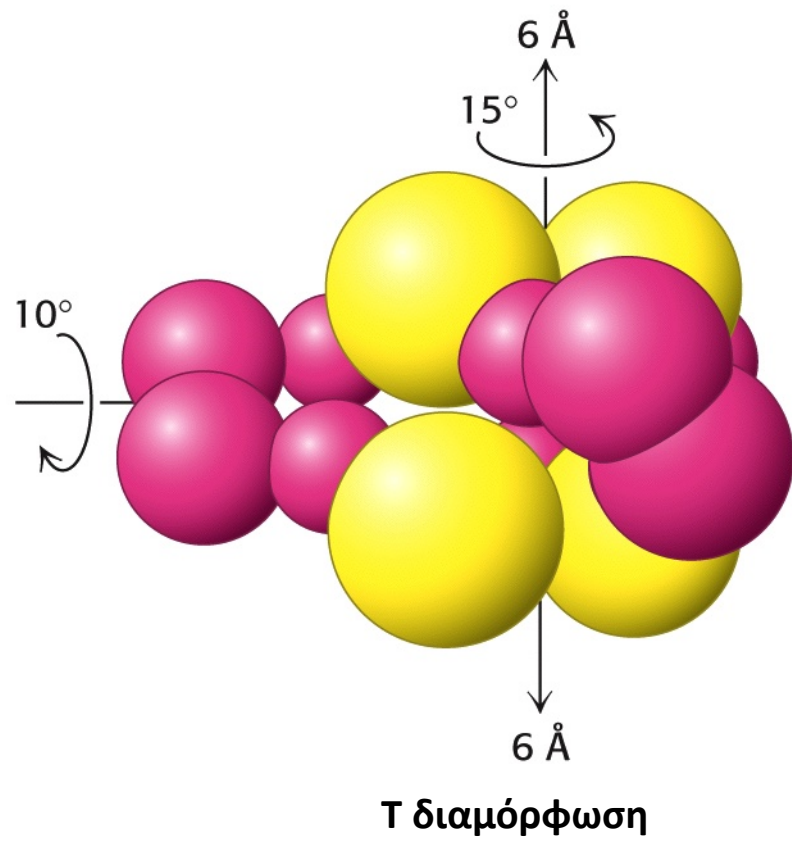
Προσδεμένα υποστρώματα

Ενδιάμεσο αντίδρασης

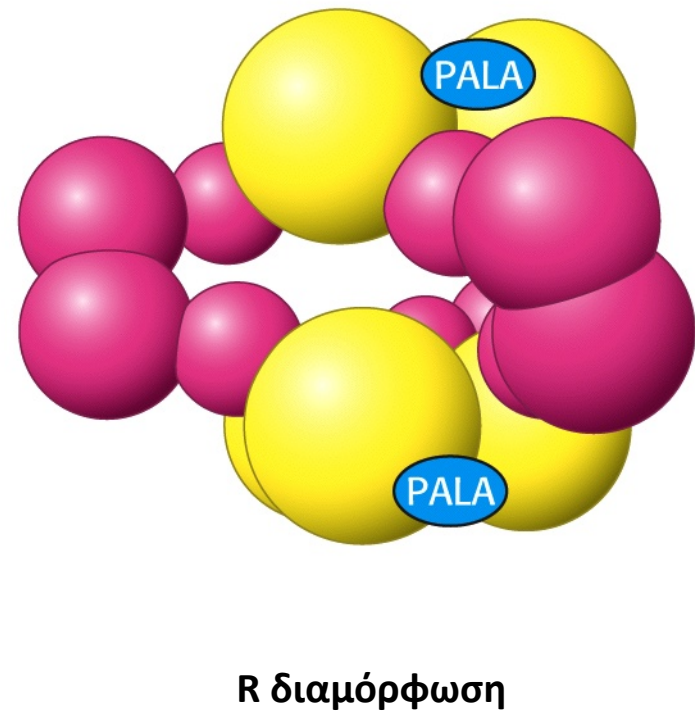


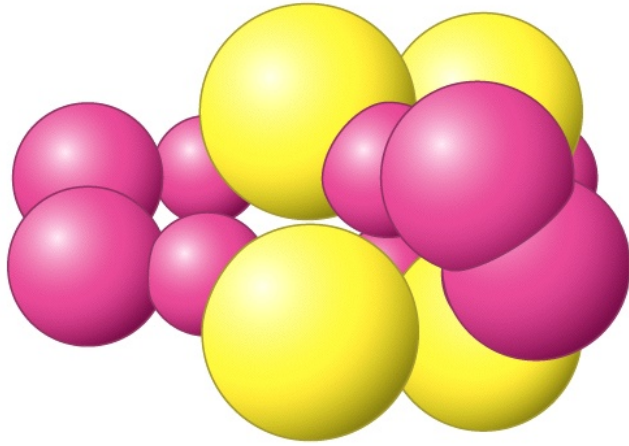
N-(φωσφοακετυλο)-L-ασπαρτικό  
(PALA)



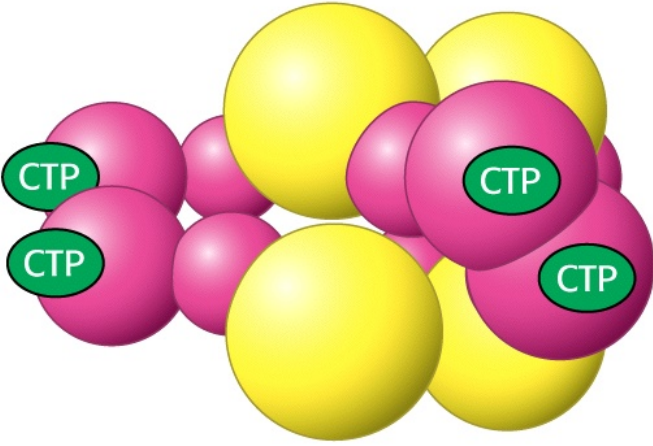
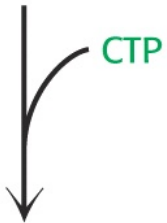


PALA





**T διαμόρφωση**

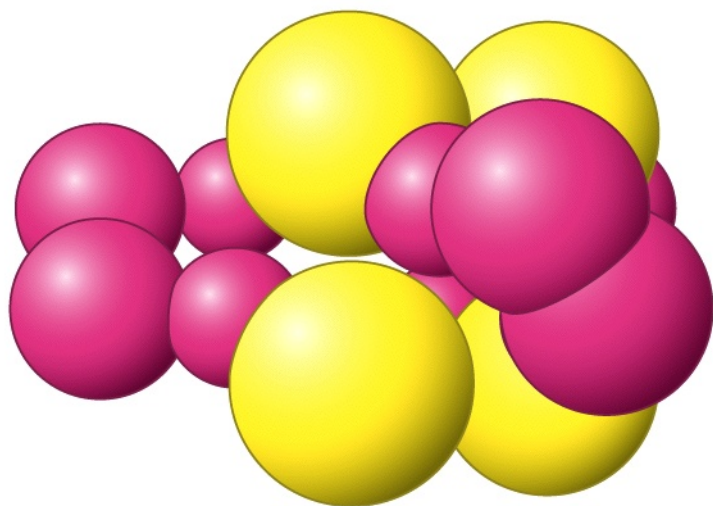


**T διαμόρφωση**



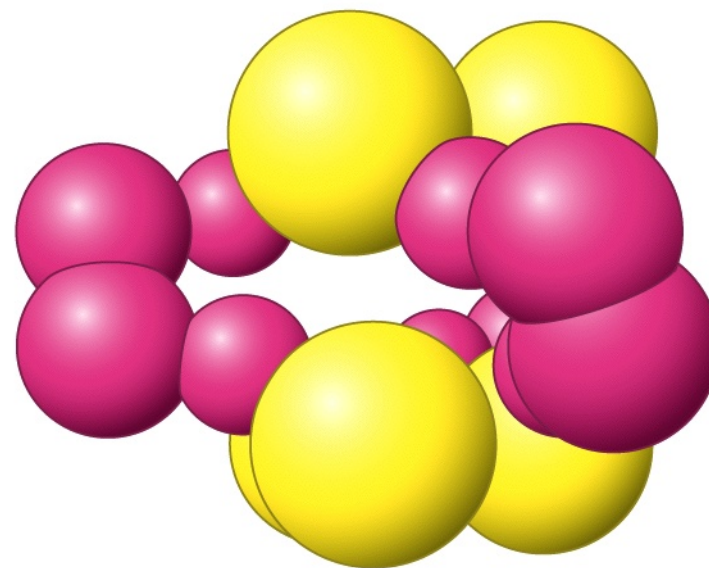
## Εναρμονισμένος μηχανισμός (concerted mechanism)

**T διαμόρφωση  
(λιγότερο ενεργή)**



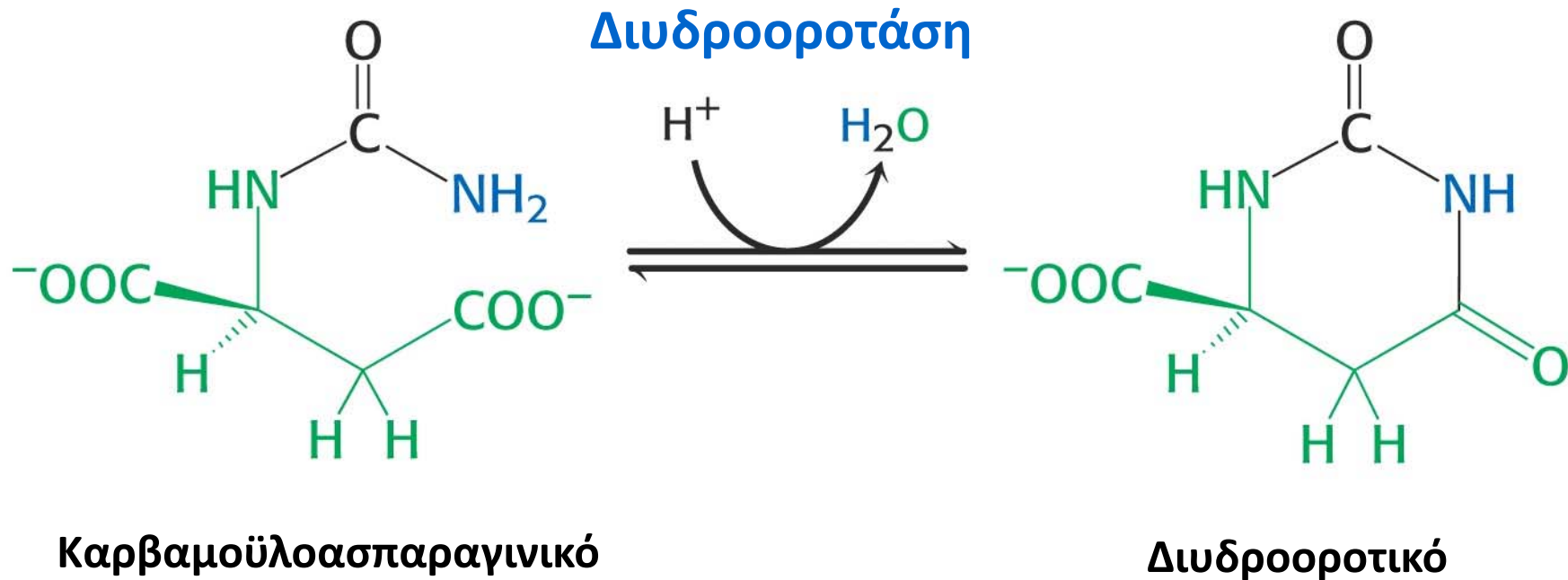
**Ευνοείται από την πρόσδεση CTP**

**R διαμόρφωση  
(περισσότερο ενεργή)**

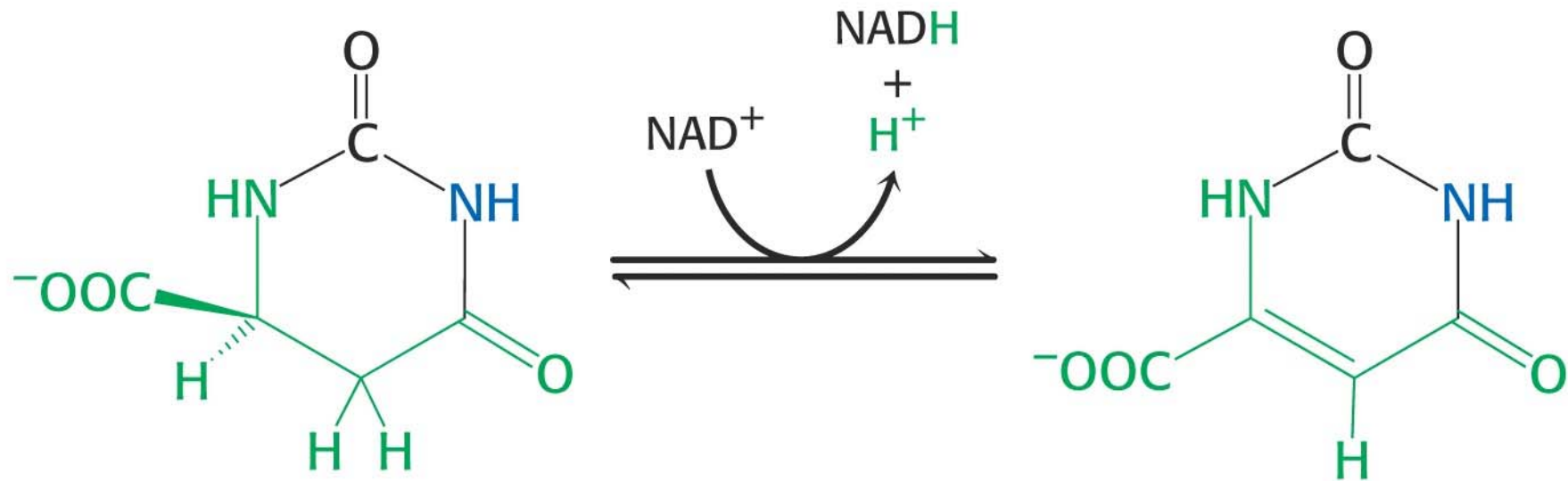


**Ευνοείται από την πρόσδεση  
υποστρώματος**

# Κυκλοποίηση



## Αφυδρογονάση του διυδροοροτικού

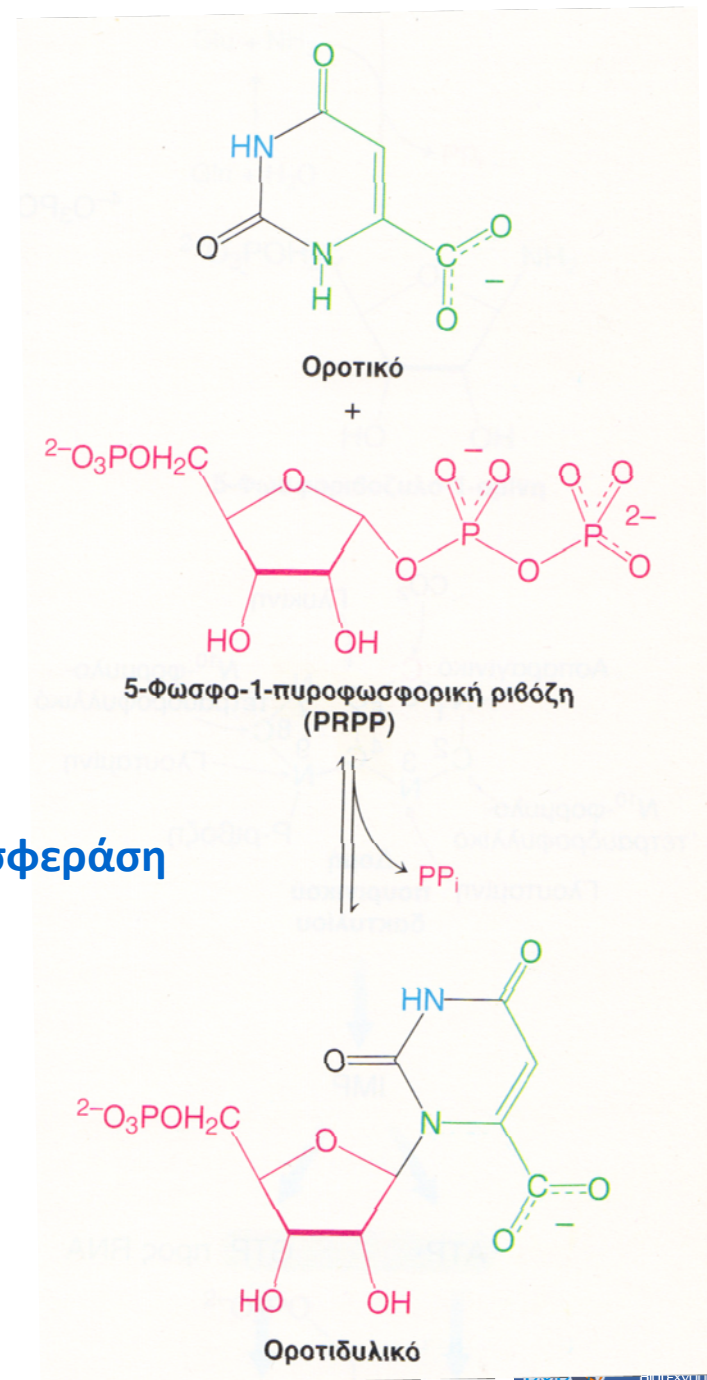


Διυδροοροτικό

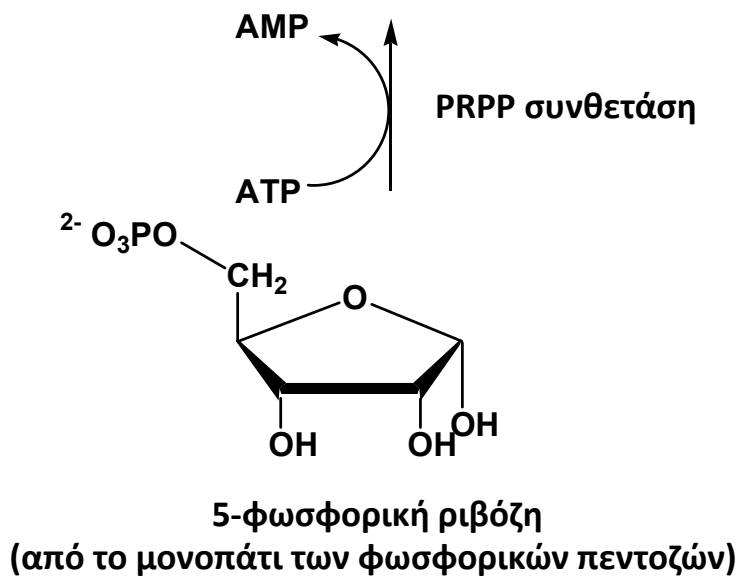
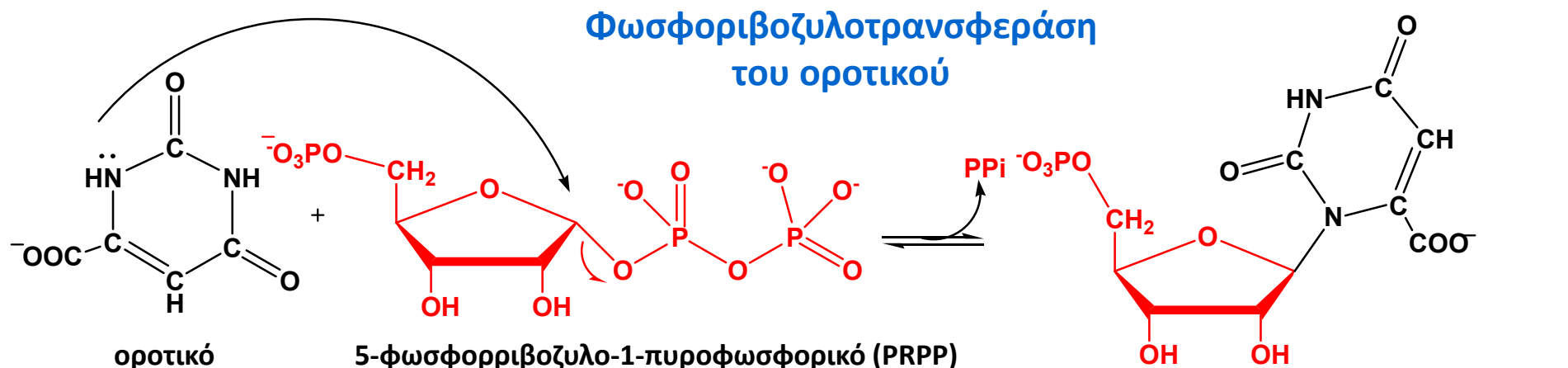
Οροτικό

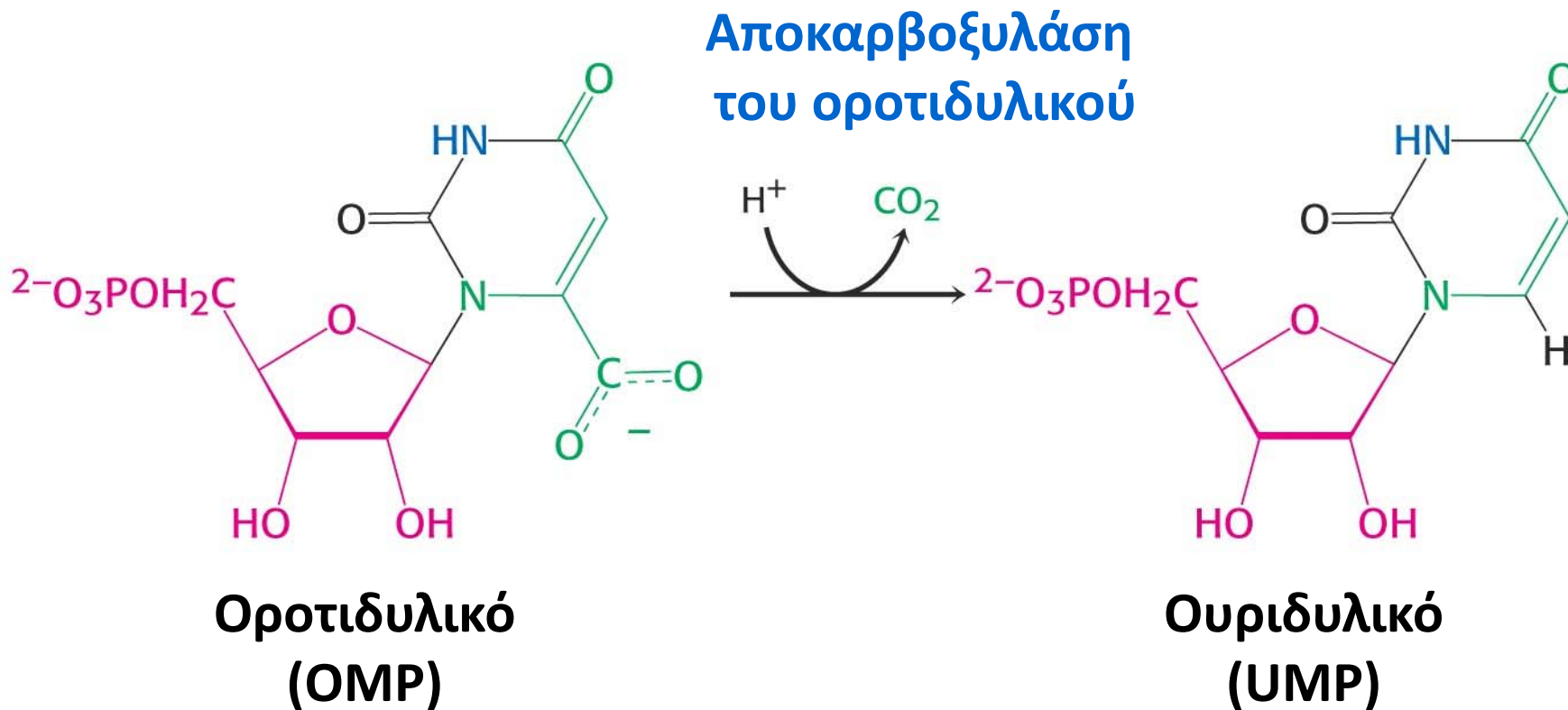
# Το οροτικό αποκτά ένα τμήμα φωσφορικής ριβόζης από το PRPP

## Φωσφοριβοζυλοτρανσφεράση του οροτικού



# Το οροτικό αποκτά ένα τμήμα φωσφορικής ριβόζης από το PRPP





Η αποκαρβοξυλάση του οροτιδυλικού είναι ένα από τα πλέον δραστικά ένζυμα. Απουσία του ενζύμου η αντίδραση λαμβάνει χώρα κάθε 78 εκ. έτη. Παρουσία του ενζύμου πραγματοποιείται μία φορά κάθε δευτερόλεπτο (ενίσχυση  $10^{17}$  φορές).

# Αλληλομετατροπή μονο-, δι-, τριφωσφορικών νουκλεοτιδίων

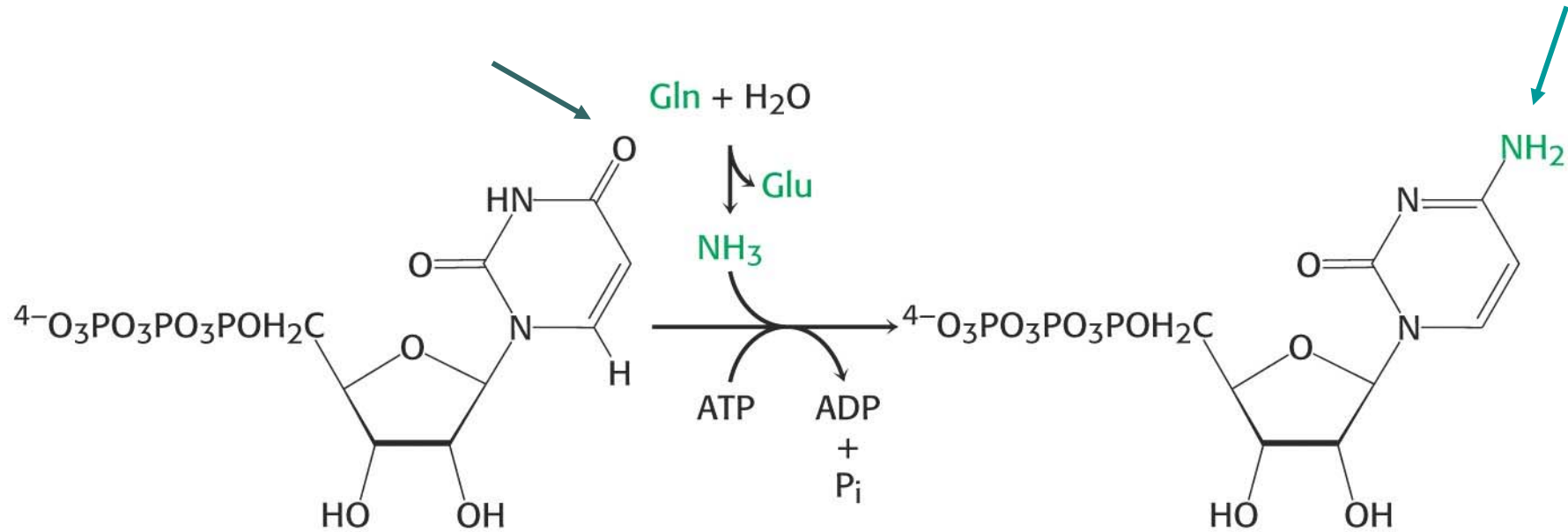
- ❑ Τα διφωσφορικά και τριφωσφορικά νουκλεοτίδια είναι οι ενεργές μορφές των νουκλεοτιδίων
- ❑ Τα μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια μετατρέπονται σε τριφωσφορικά σε στάδια:
  - ❑ **Κινάσες μονοφωσφορικών νουκλεοτιδίων** (μεγάλη εξειδίκευση)



- ❑ **Κινάσες διφωσφορικών νουκλεοτιδίων** (μικρή εξειδίκευση)



## Το CTP παράγεται με αμίνωση του UTP



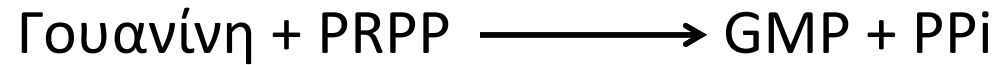
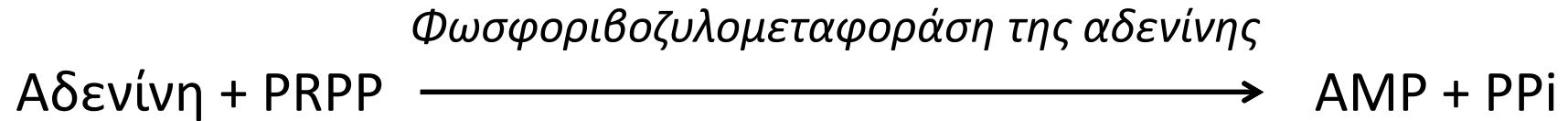
Τριφωσφορική ουριδίνη  
(UTP)

Τριφωσφορική κυτοσίνη  
(CTP)



Τα πουργινικά νουκλεοτίδια μπορούν να συντεθούν με δύο διακριτές πορείες: (i) *de novo*, αρχίζοντας από απλά συστατικά όπως αμινοξέα και ανθρακικό και (ii) με πορείες περίσωσης χρησιμοποιώντας βάσεις πουργίνης που απελευθερώνονται από την υδρολυτική αποικοδόμηση νουκλεϊνικών οξέων και νουκλεοτιδίων.

*Σε αντίθεση με τη βιοσύνθεση πυριμιδινών οι πουργινικές βάσεις συναρμολογούνται ενώ είναι είδη προσαρτημένες στο δακτύλιο της ριβόζης.*

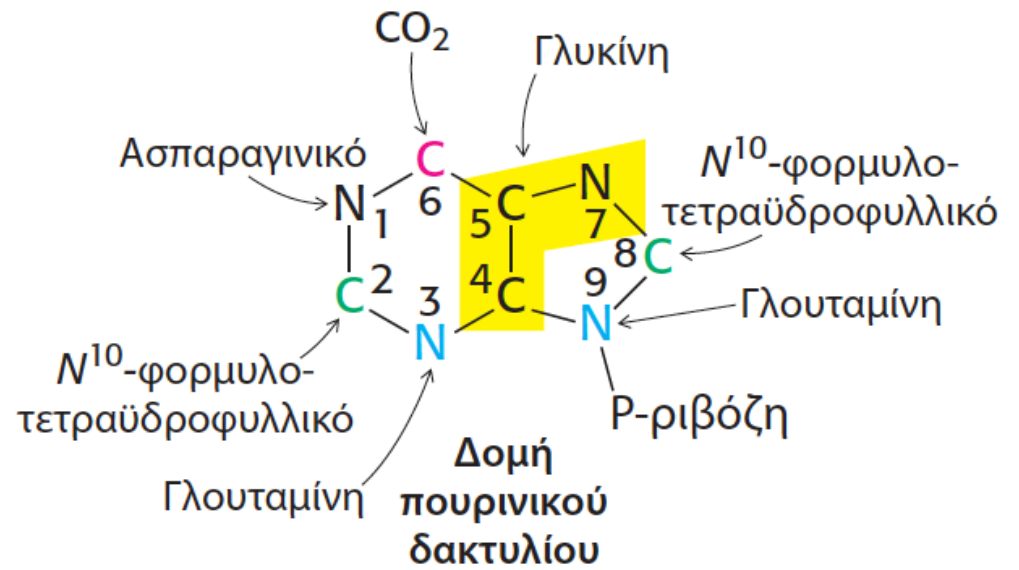


### *Φωσφοριβοζυλομεταφοράση της υποξανθίνης-γουανίνης*

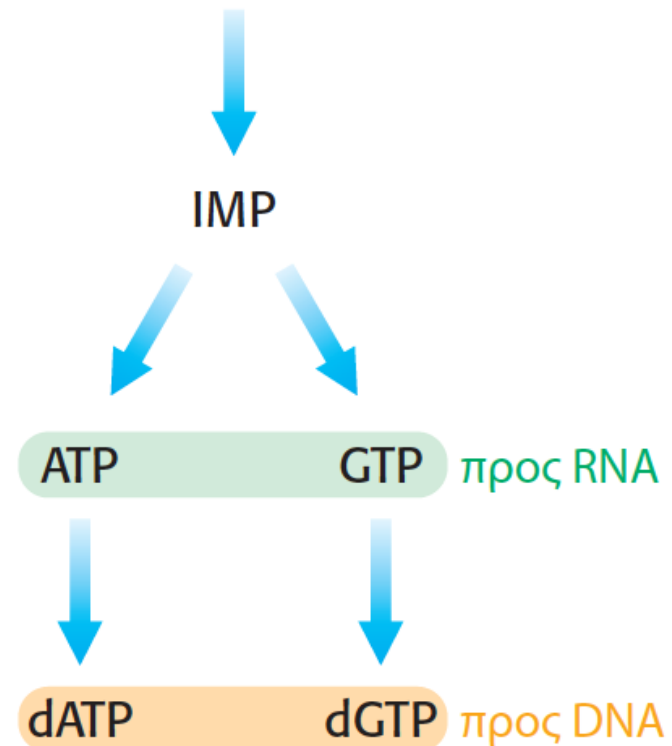
Οι ελεύθερες πουρινικές βάσεις που προέρχονται από τον κύκλο των νουκλεοτιδίων ή από τις τροφές μπορούν να προσαρτηθούν σε PRPP για να σχηματίσουν μονοφωσφορικούς νουκλεοζίτες σε μία αντίδραση ανάλογη του σχηματισμού του οροτιδιλικού

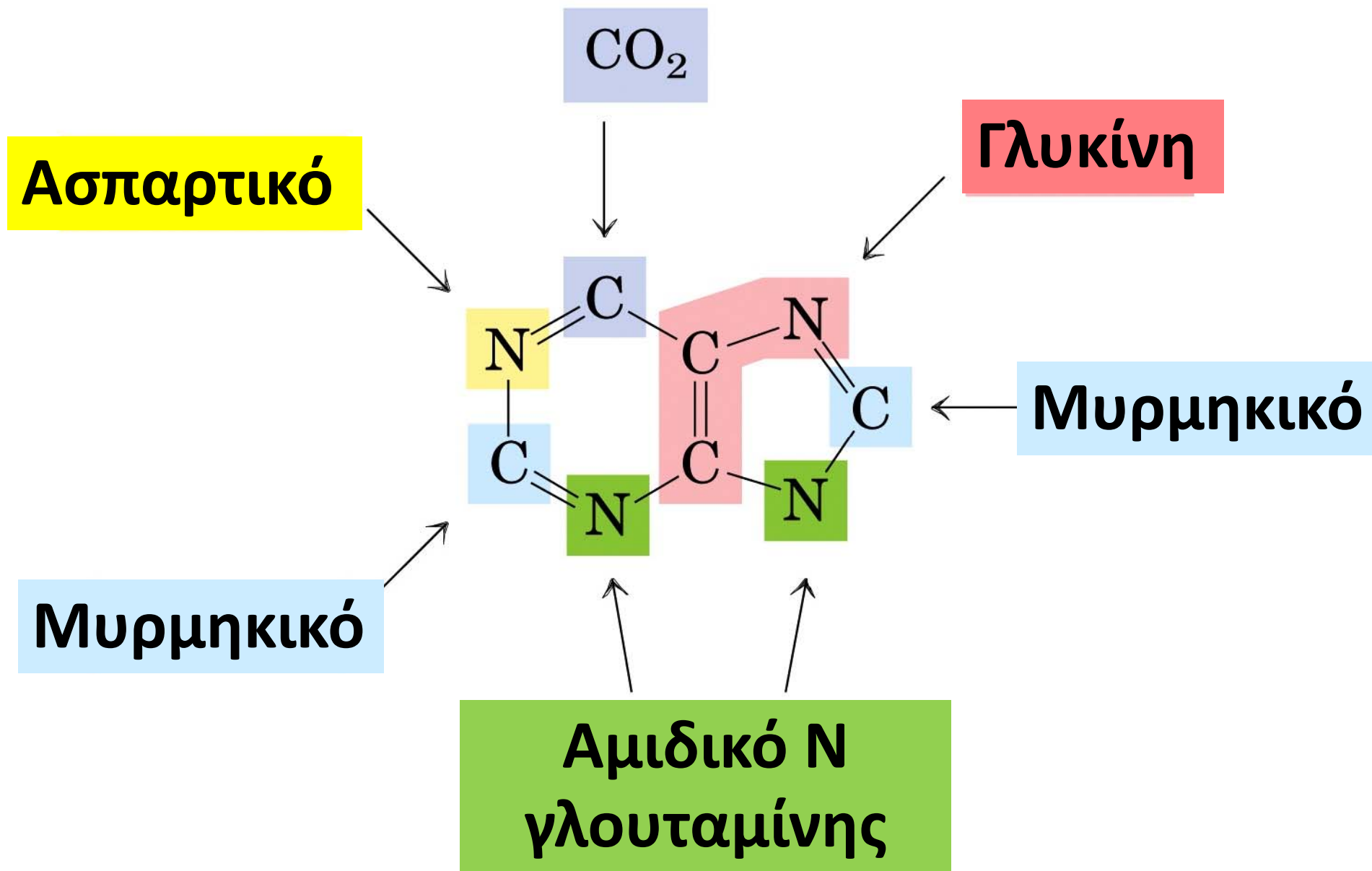
Το μονοπάτι **περίσωσης των πουρινών** έχει ως αποτέλεσμα εξοικονόμηση ενέργειας γιατί η **de novo βιοσύνθεση** των πουρινών απαιτεί μεγάλα ποσά ενέργειας.

Ωστόσο οι συνέπειες της ελλιπούς λειτουργίας της οδού αυτής είναι δραματικές και δεν ερμηνεύονται απλώς με “ενεργειακούς” όρους.



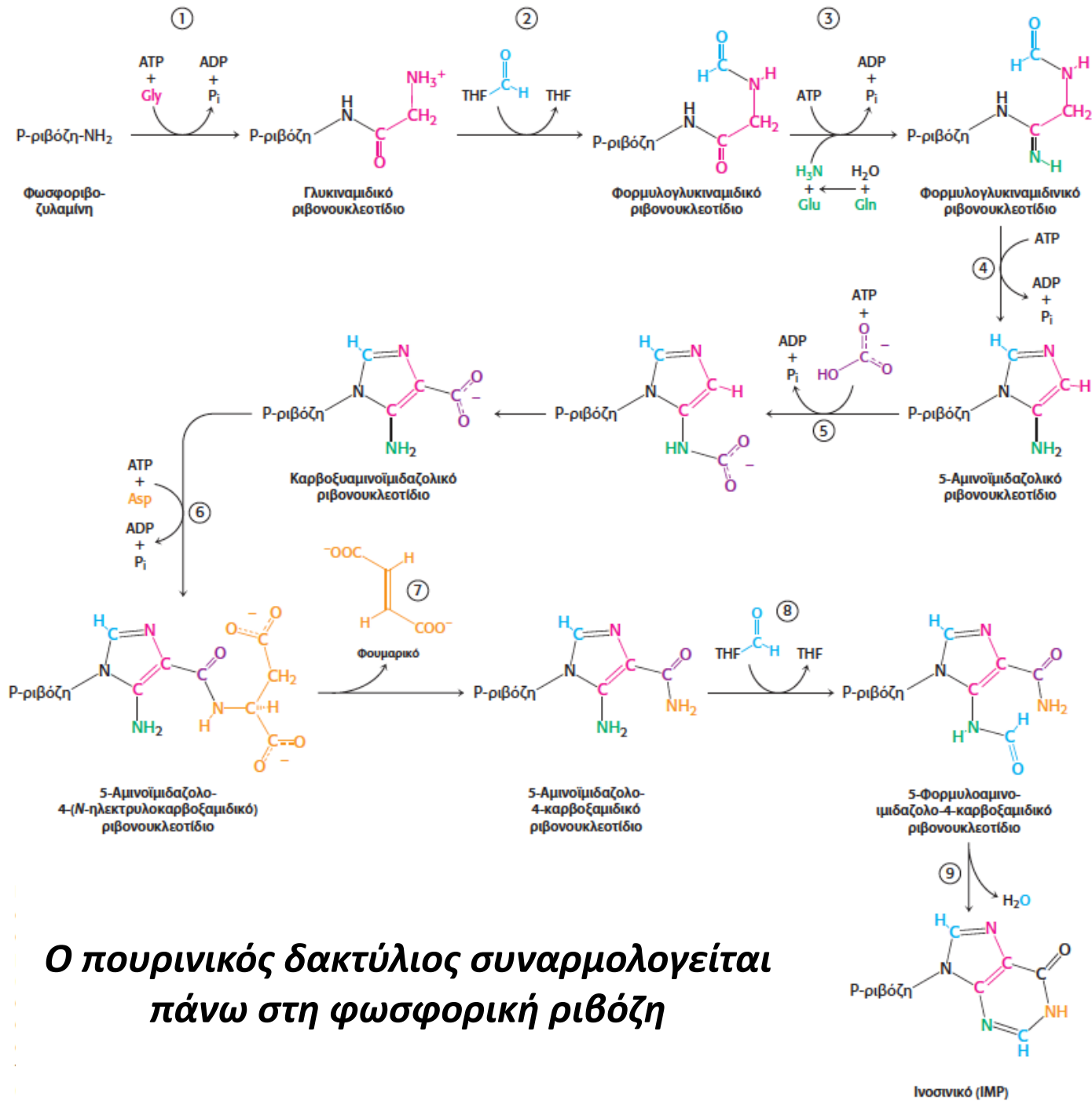
Ο πουρινικός δακτύλιος συντίθεται από αμινοξέα, παράγωγα του τετραυδροφολικού και CO<sub>2</sub>





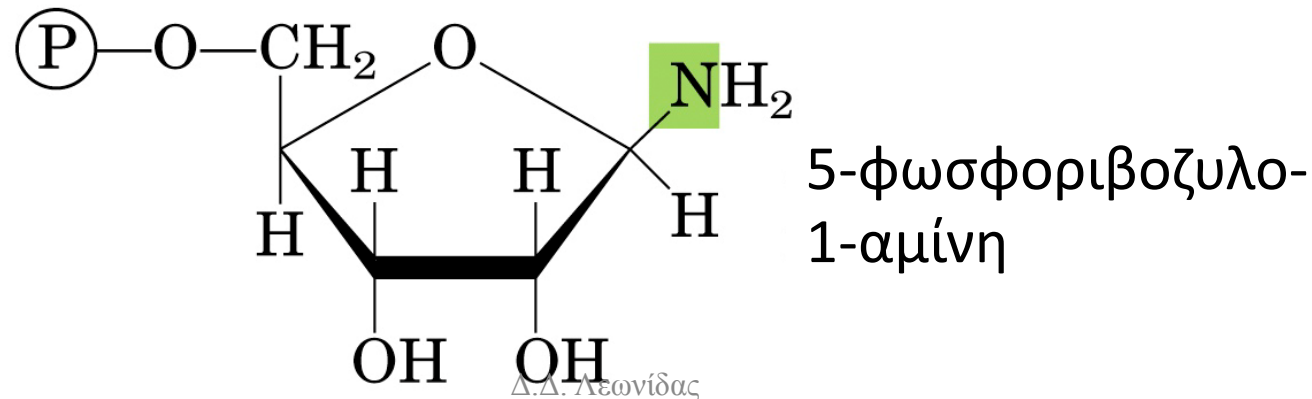
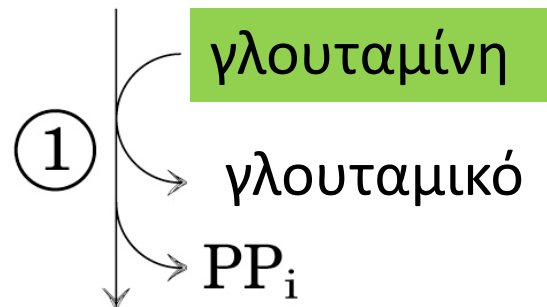
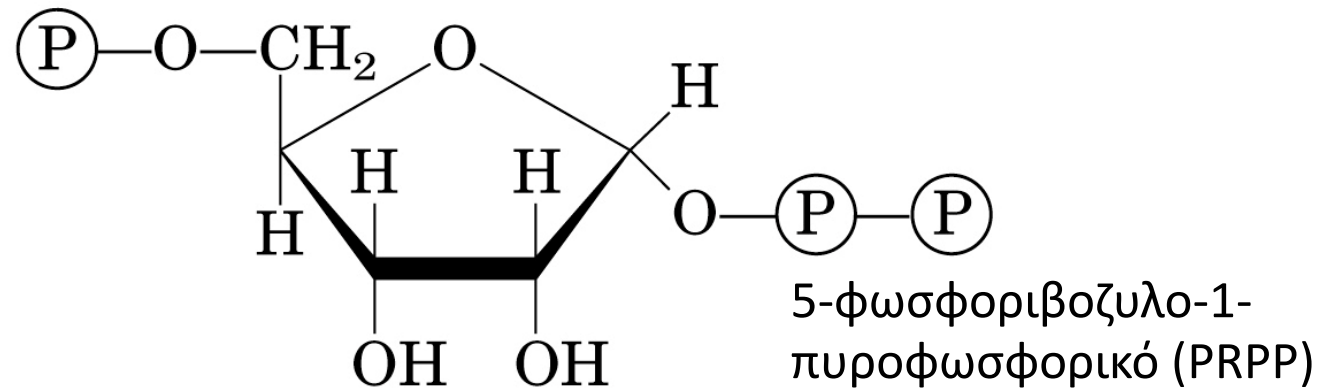
# 10 βήματα μέχρι την παραγωγή ινοσινικού

1. Αντικατάσταση RP από  $\text{NH}_2$  – σύνθεση φωσφοριβοζυλαμίνης
2. Προσθήκη γλυκίνης
3. Μεταφορά φορμυλομάδας
4. Μεταφορά αμινομάδας
5. κυκλοποίηση-σχηματισμός ιμιδαζολικού δακτυλίου
6. Προσθήκη  $\text{COO-}$
7. Προσθήκη Asp
8. Απομάκρυνση φουμαρικού
9. Προσθήκη φορμυλομάδας
- 10.Κυκλοποίηση εξαμελούς δακτυλίου – παραγωγή ινοσινικού



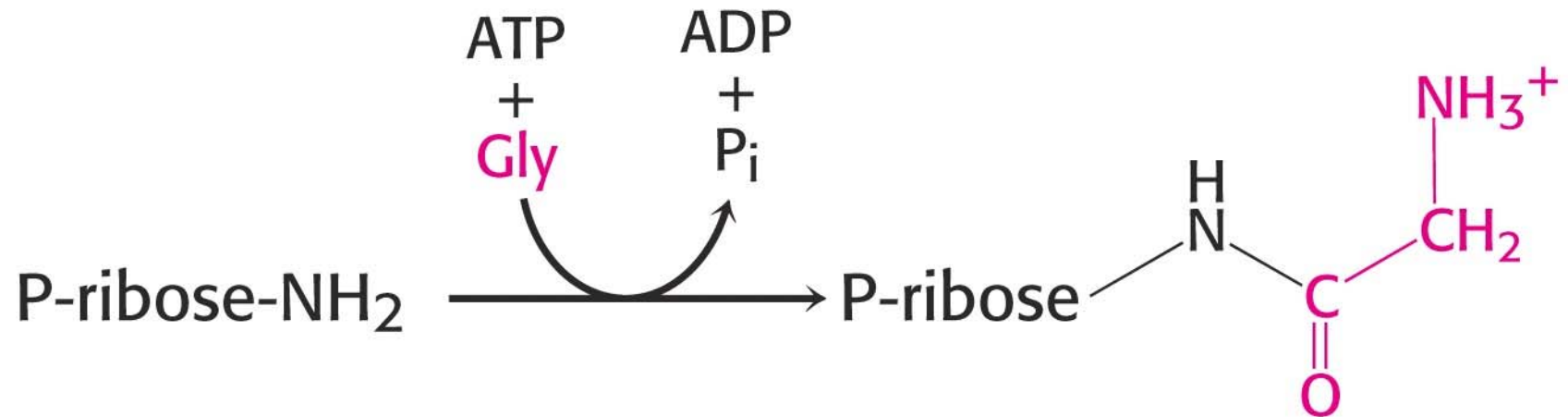
**Ο πουρινικός δακτύλιος συναρμολογείται πάνω στη φωσφορική ριβόζη**

# 1. Αντικατάσταση PP από NH<sub>2</sub> – σύνθεση φωσφοριβοζυλαμίνης





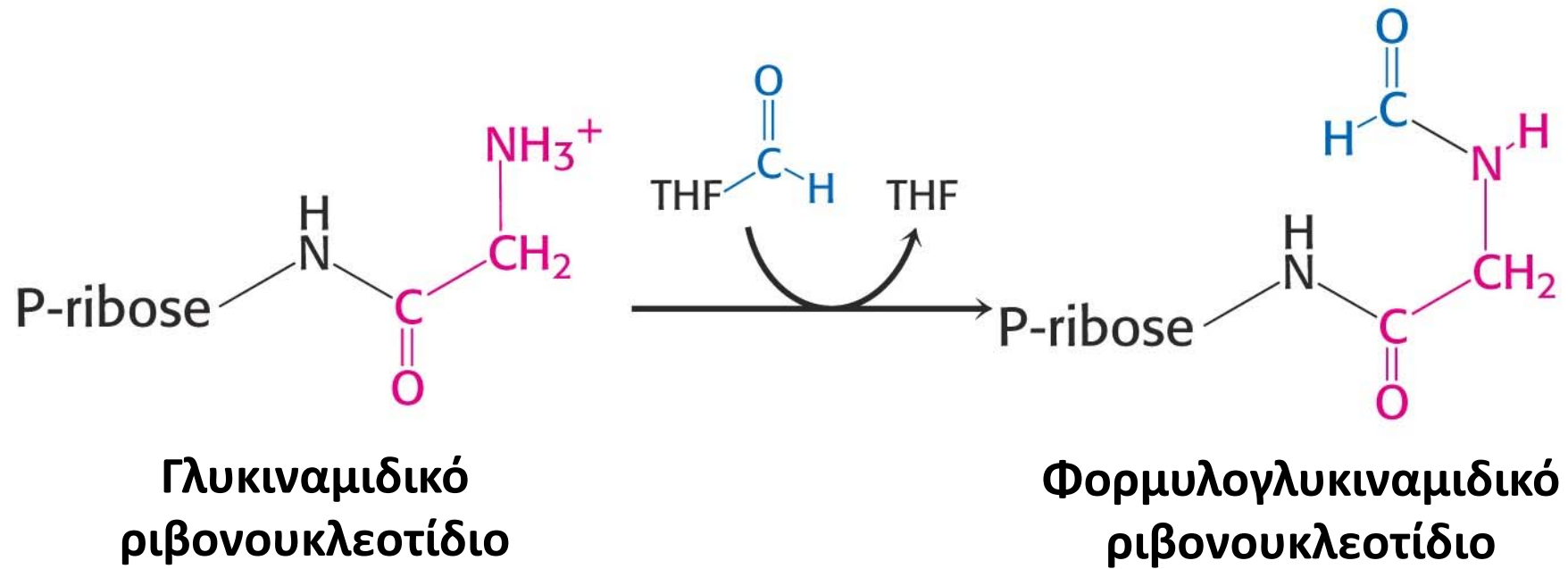
## 2. Προσθήκη γλυκίνης



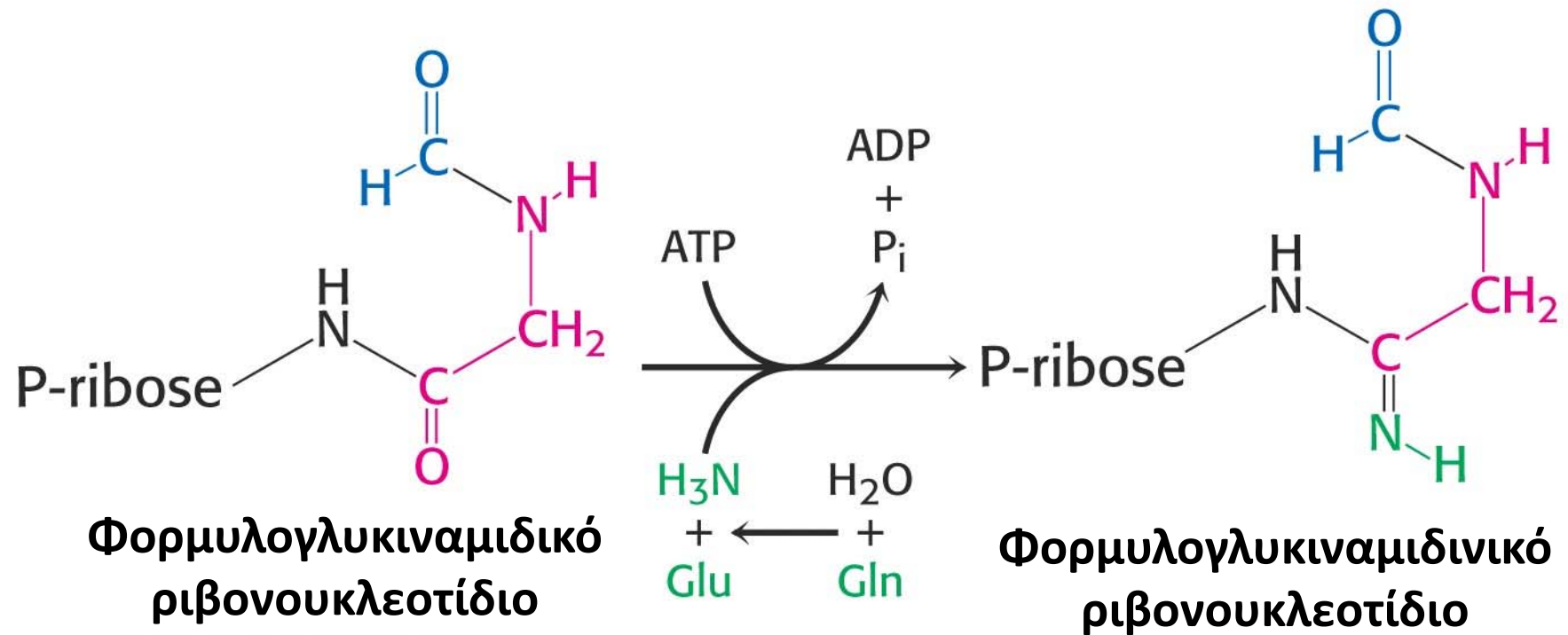
5-Φωσφορο-  
ριβοζυλαμίνη

Γλυκιναμιδικό  
ριβονουκλεοτίδιο

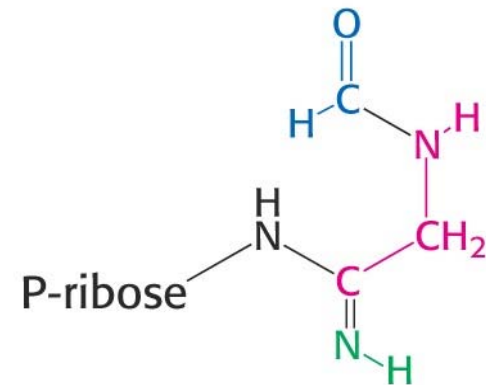
### 3. Μεταφορά φορμυλομάδας



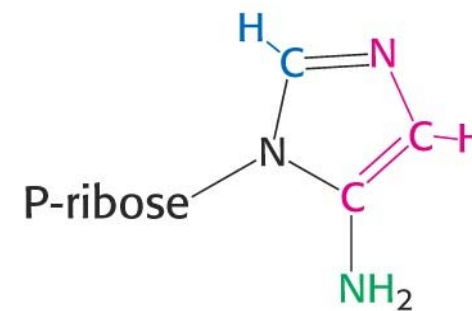
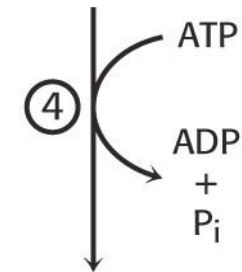
## 4. Μεταφορά αμινομάδας



## 5. Κυκλοποίηση - σχηματισμός ιμιδαζολικού δακτυλίου



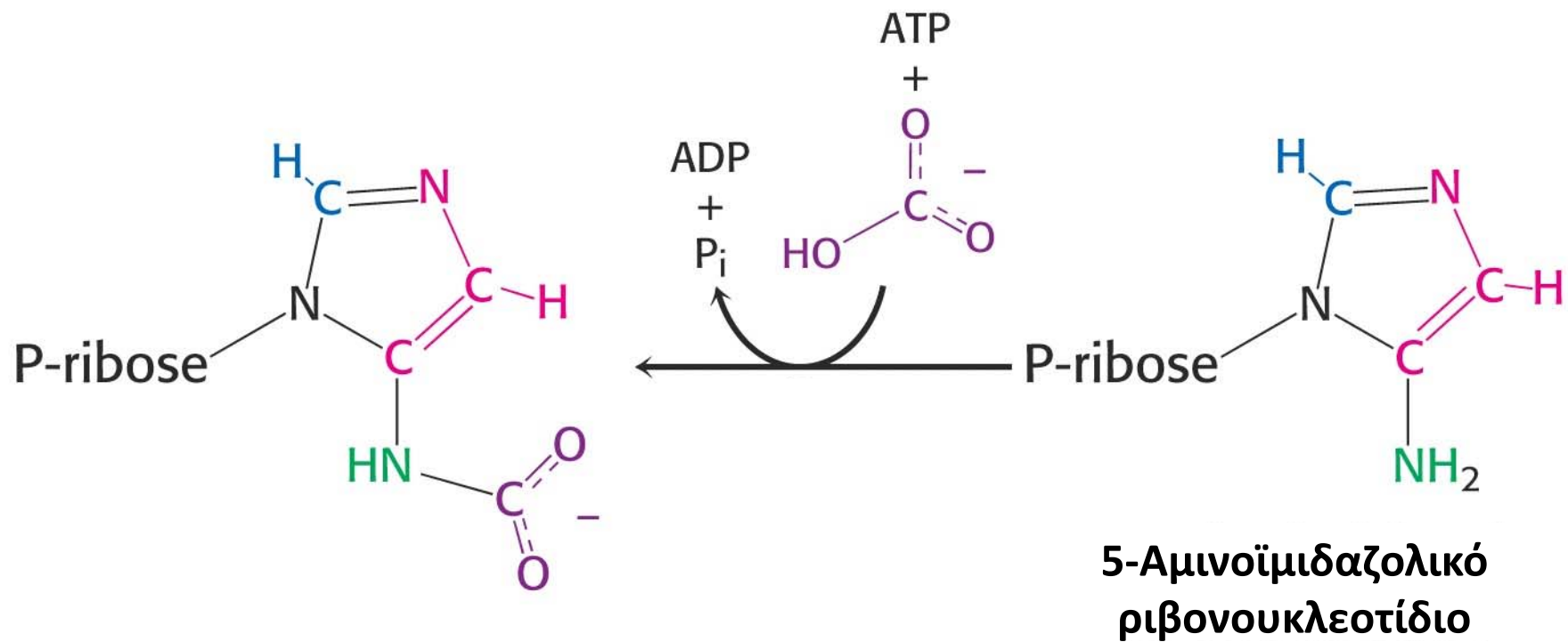
Φορμυλογλυκιναμιδινικό  
ριβονουκλεοτίδιο



5-Αμινοϊμιδαζολικό  
ριβονουκλεοτίδιο

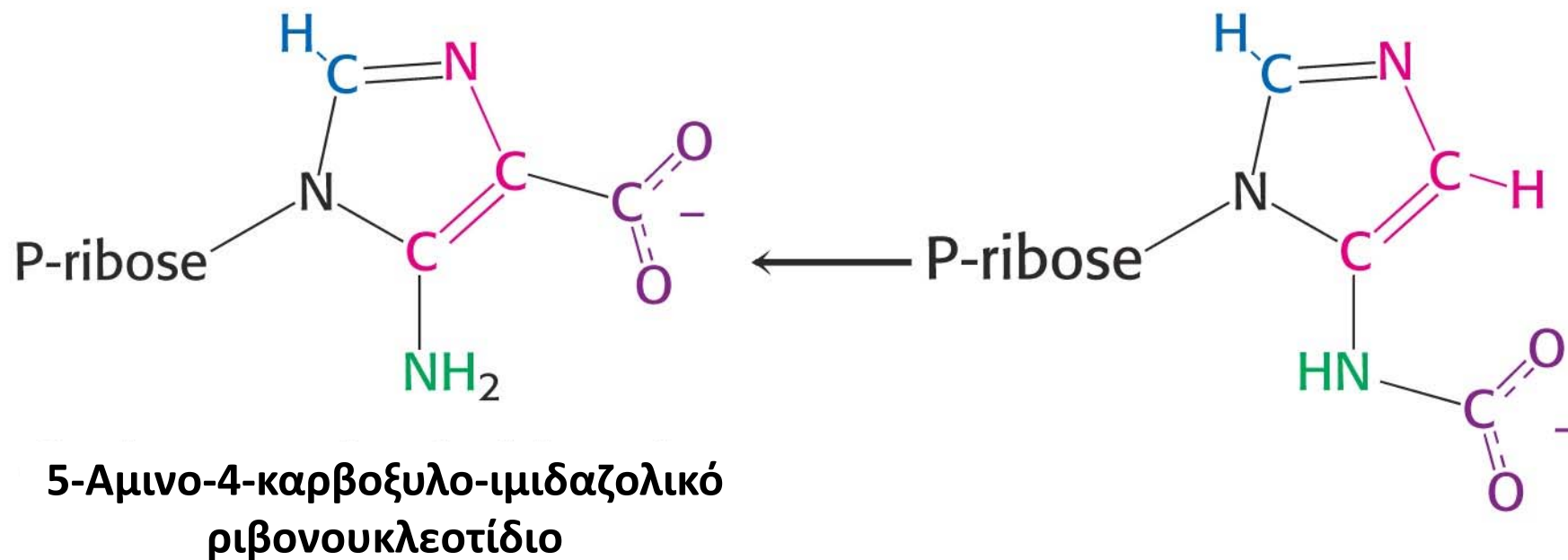
*Η κυκλοποίηση πραγματοποιείται αυθόρμητα αλλά η κατανάλωση ενός μορίου ATP εξασφαλίζει ότι η αντίδραση αυτή είναι μη αντιστρεπτή*

## 6a. Προσθήκη COO<sup>-</sup>



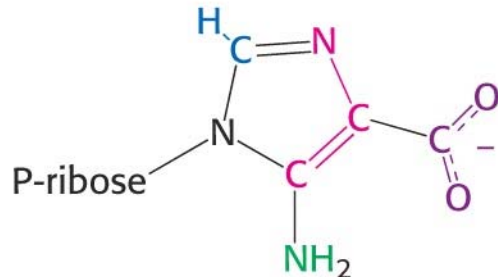
*Η καρβοξυλίωση αυτή είναι ασυνήθης γιατί δεν χρησιμοποιείται βιοτίνη*

## 6β. Μεταφορά COO<sup>-</sup>

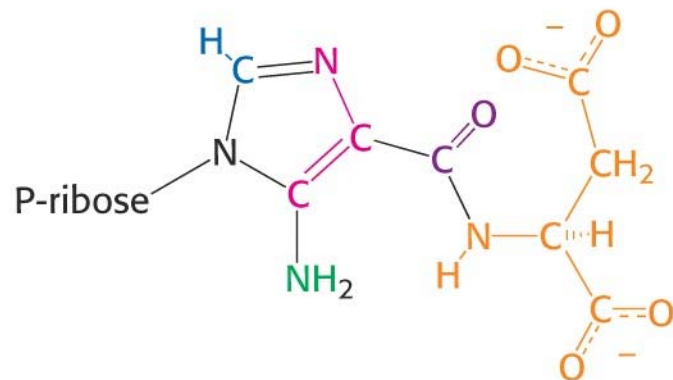
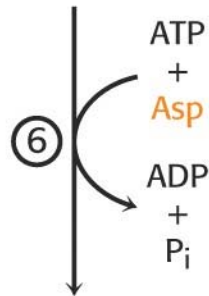


*Είναι ενδιαφέρον ότι τα θηλαστικά δεν καταναλώνουν ATP για την αντίδραση αυτή*

## 7. Προσθήκη Asp



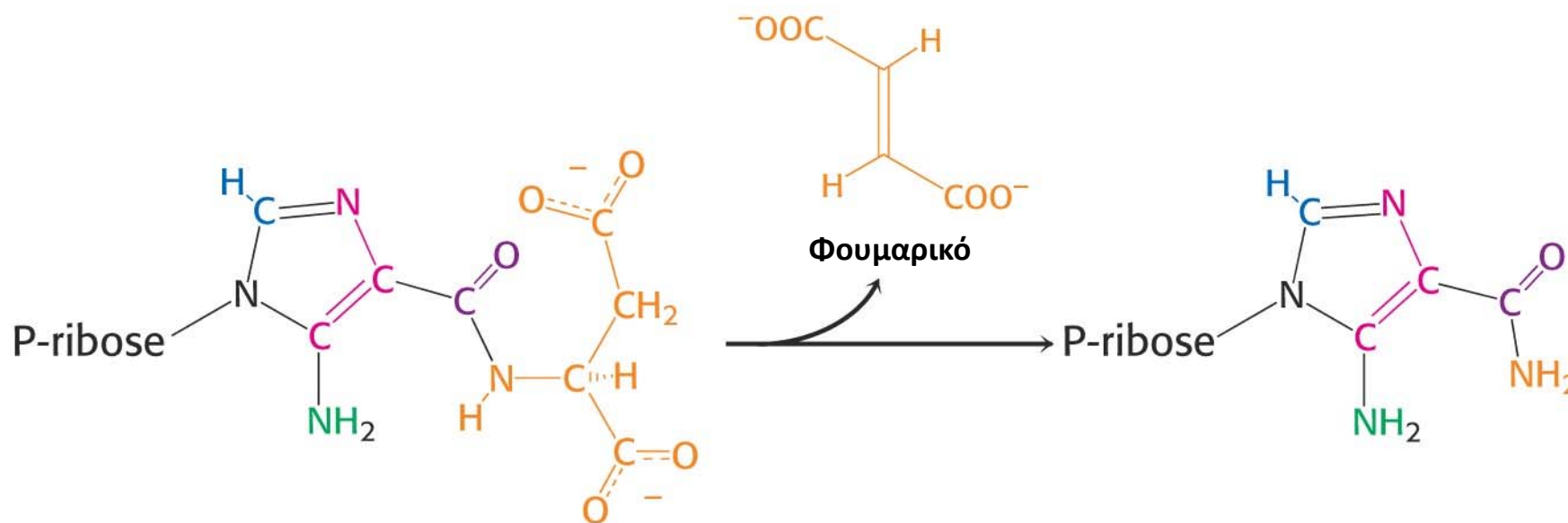
5-Αμινο-4-καρβοξυλο-ιμιδαζολικό  
ριβονουκλεοτίδιο



5-Αμινο-4-(N-ηλεκτρουλοκαρβοξαμιδικό)  
ιμιδαζολο-ριβονουκλεοτίδιο

*Το ασπαρτικό δρα ως δότης αμινομάδας. Η χρήση αυτή του ασπαρτικού ως δότη αμινομάδας και η απελευθέρωση φουμαρικού (κατάλοιπο του κύκλου της ουρίας) θυμίζουν τη μετατροπή της κιτρουλίνης σε αργινίνη στο κύκλο της ουρίας*

## 8. Απομάκρυνση φουμαρικού



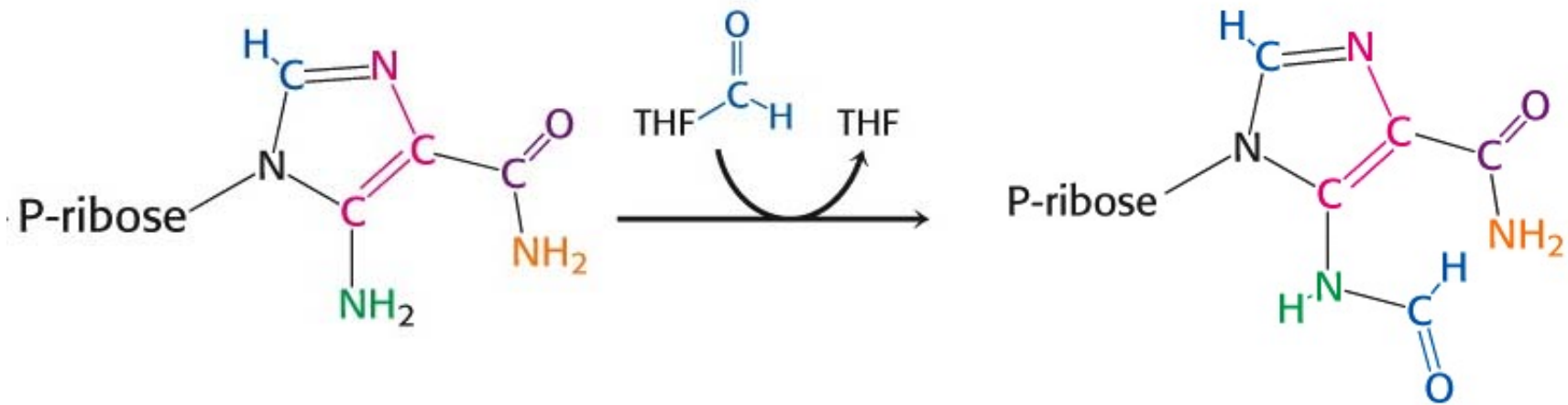
5-Αμινο-4-(N-ηλεκτρολυλοκαρβοξαμιδικό)ιμιδαζολο-ριβονουκλεοτίδιο

5-Αμινοιμιδαζολο-4-καρβοξαμιδικό ριβονουκλεοτίδιο

*Το ασπαραγινικό συνεισφέρει μόνο το άτομο αζώτου στον πουρινικό δακτύλιο*



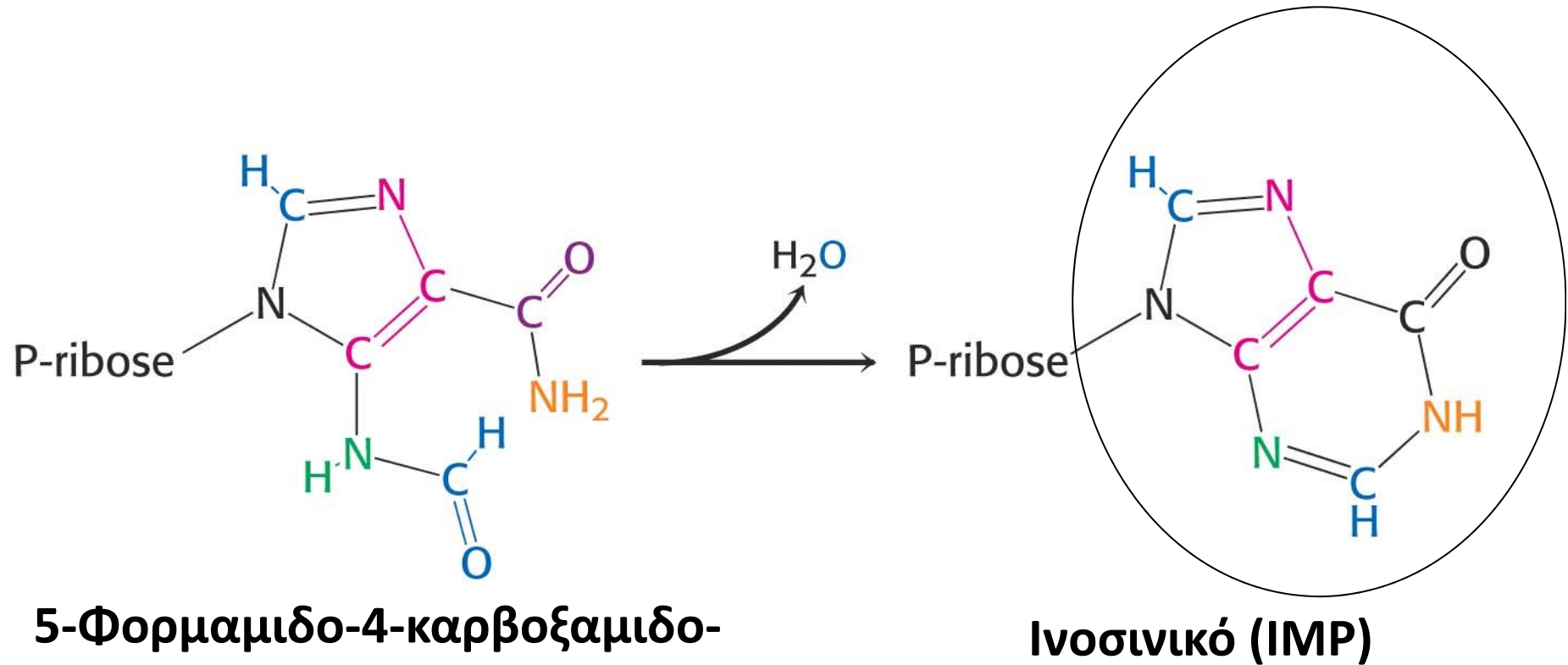
## 9. Προσθήκη φορμυλομάδας



5-Αμινοιμιδαζολο-4-καρβοξαμιδικό  
ριβονουκλεοτίδιο

5-Φορμαμινοιμιδαζολο-4-  
καρβοξαμιδικό ριβονουκλεοτίδιο

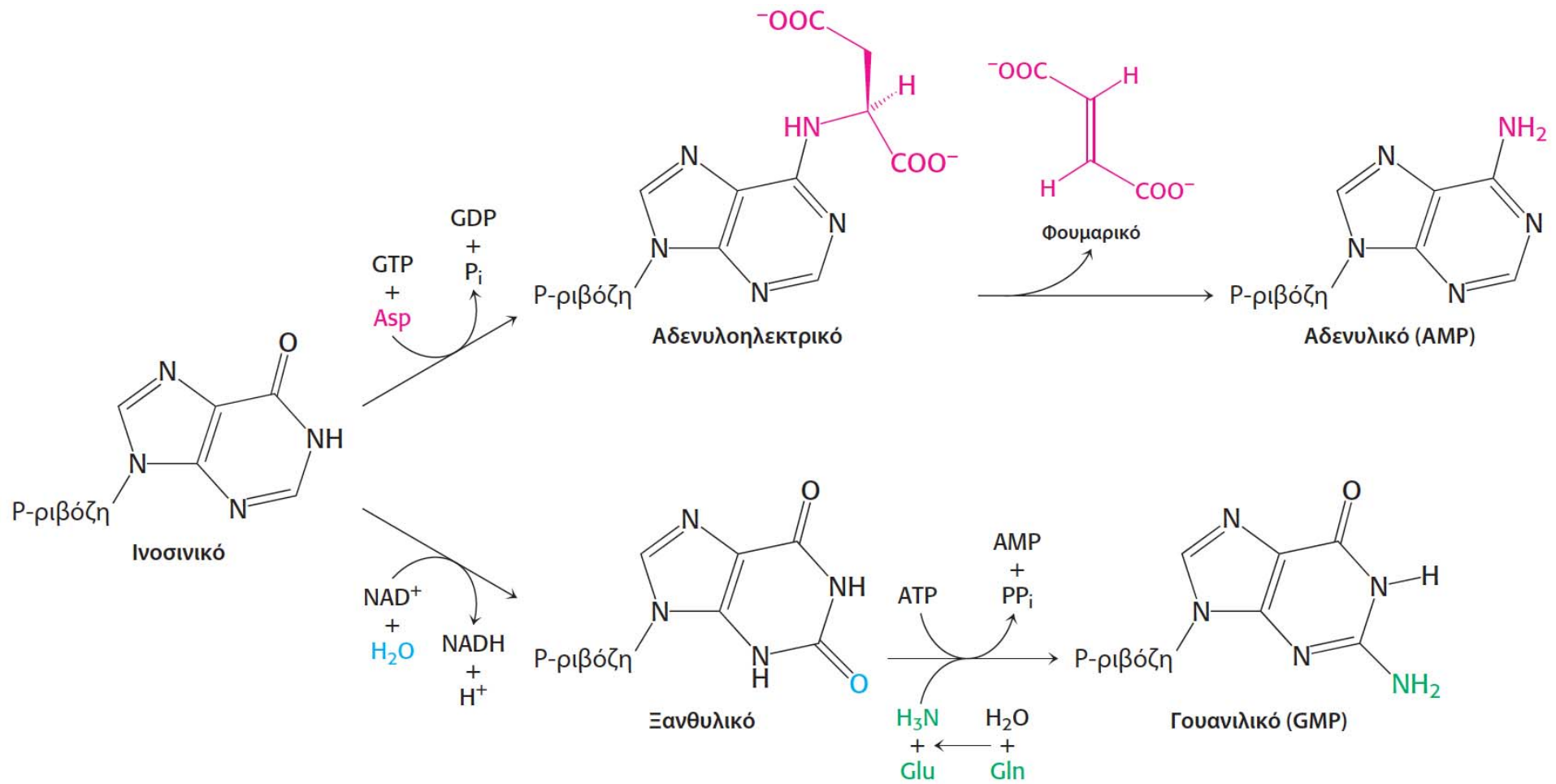
## 10. Κυκλοποίηση εξαμελούς δακτυλίου – παραγωγή ινοσικού



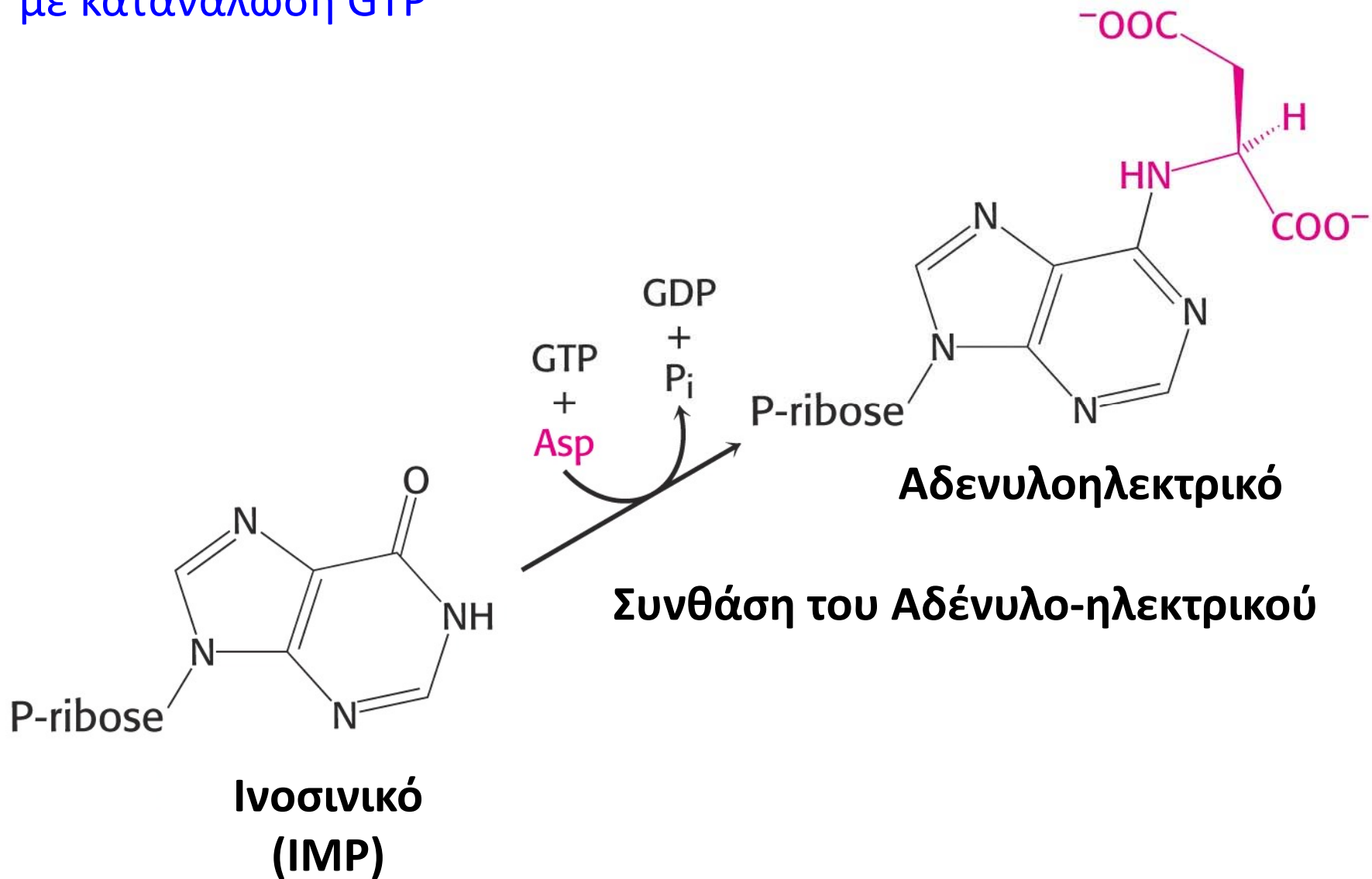
5-Φορμαμιδο-4-καρβοξαμιδο-  
ιμιδαζολο-  
ριβονουκλεοτίδιο

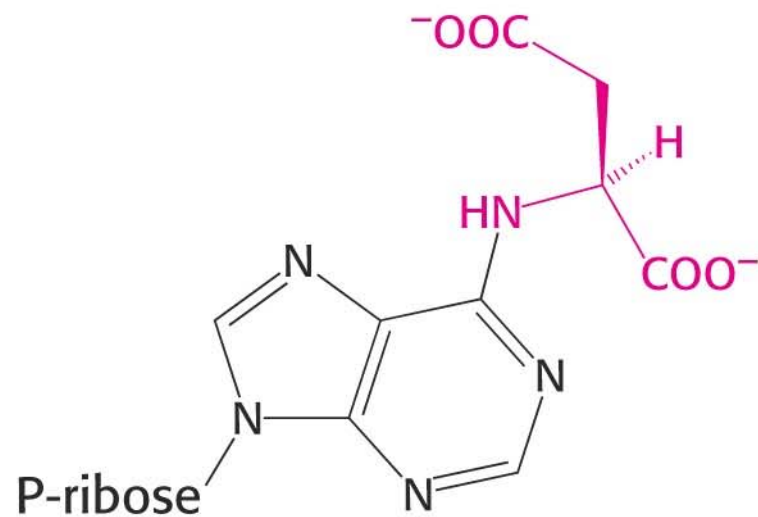
Ινοσινικό (IMP)

*Κατανάλωση 6 μορίων ATP έως ινοσινικό*

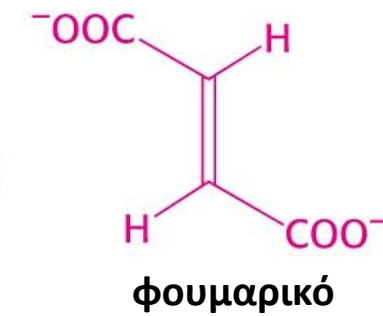


Η τελική παραγωγή AMP γίνεται με κατανάλωση GTP

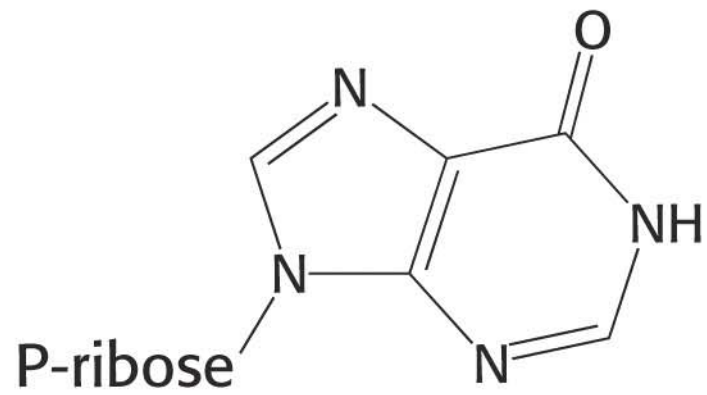




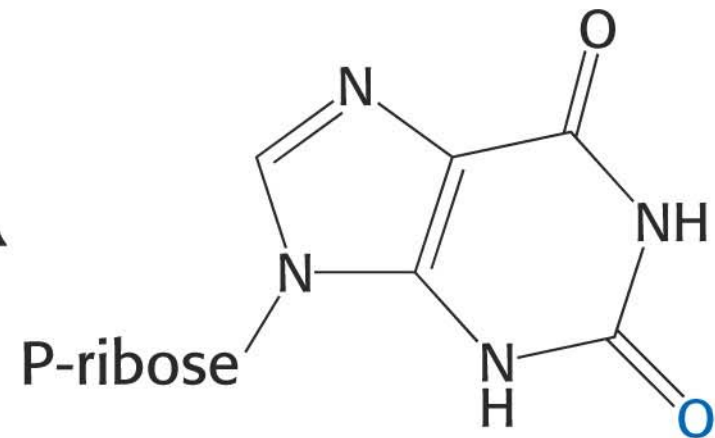
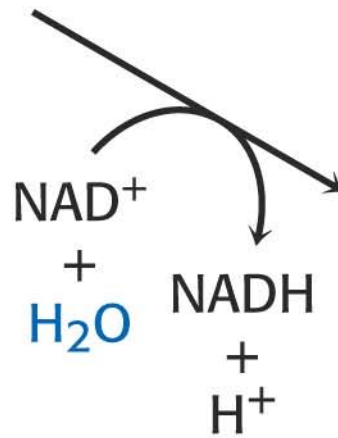
**Αδενυλοηλεκτρικό**



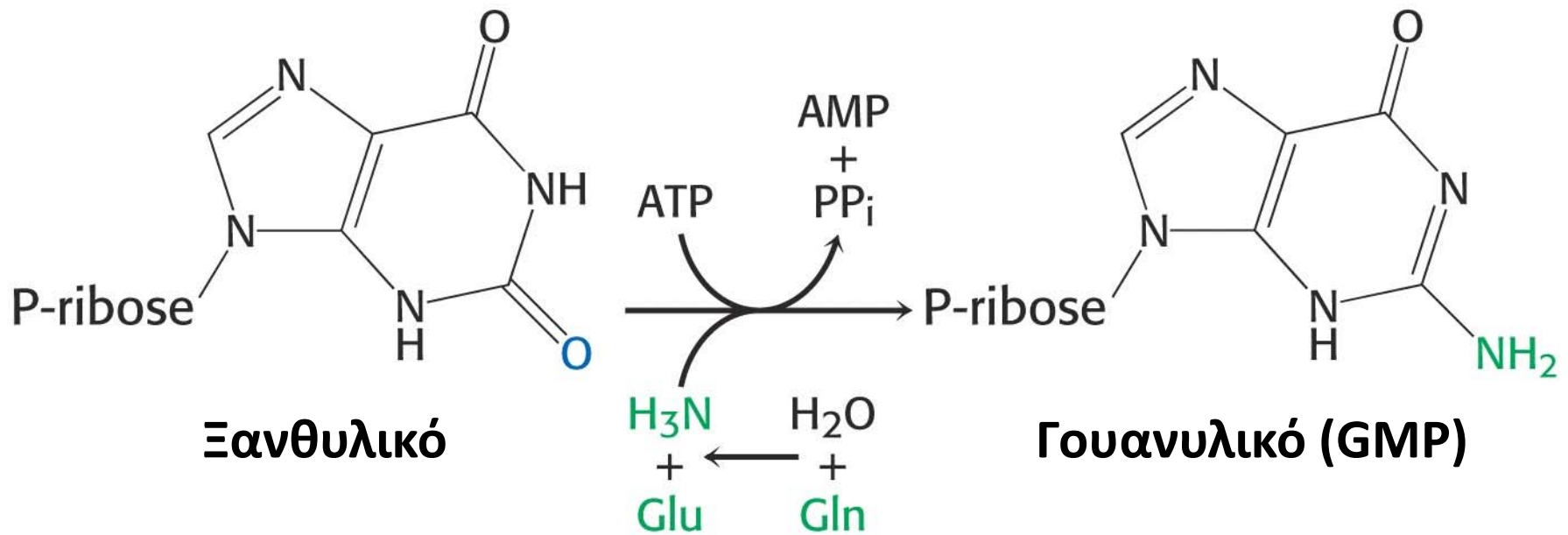
**Αδενυλικό (AMP)**



**Ινοσινικό (IMP)**



**Ξανθυλικό**



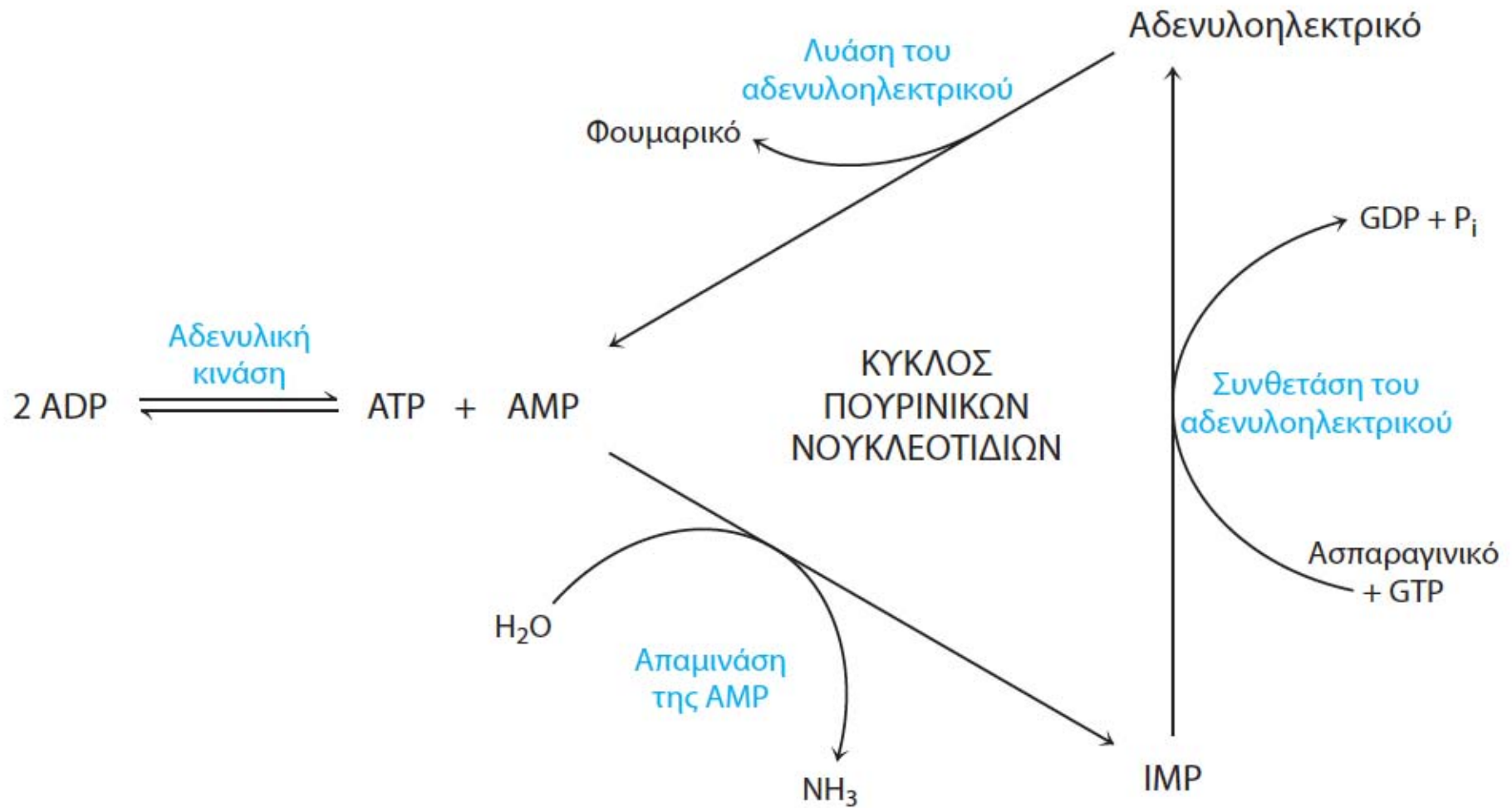
*Η τελική παραγωγή GMP γίνεται με κατανάλωση ATP*

Η σύνθεση του αδενυλικού απαιτεί την κατανάλωση GTP ενώ η σύνθεση του γουανυλικού απαιτεί την κατανάλωση ATP.

Σε τι μπορεί να χρησιμοποιηθεί αυτό ;

Αυτή η αλληλεξάρτηση της βιοσύνθεσης των δύο πουρινονουκλεοτιδίων επιτρέπει τη ρύθμιση της βιοσύνθεσής τους.





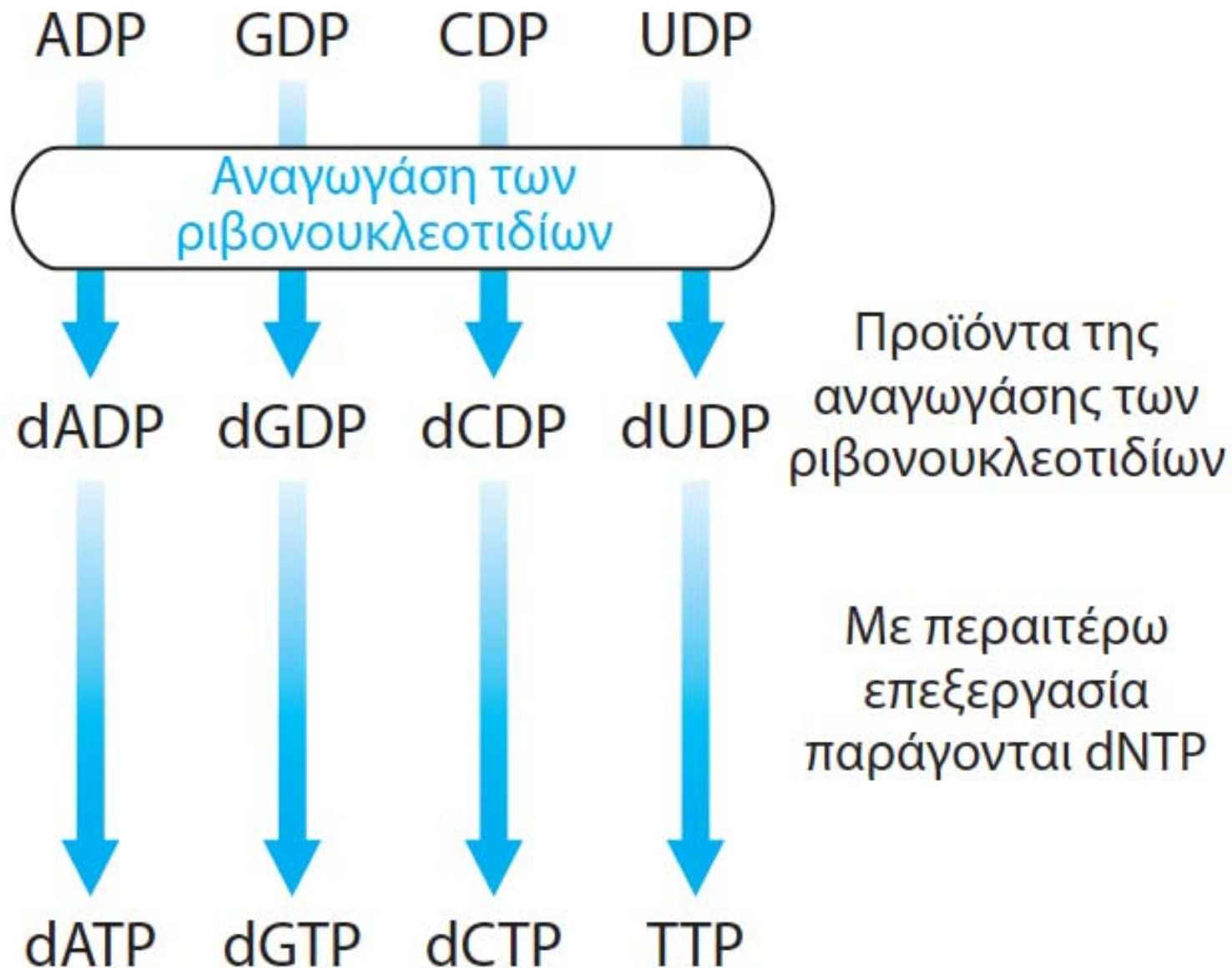
## Πίνακας 25.2 Τα ένζυμα της *de novo* σύνθεσης των πουρινών

Βήμα	Ένζυμο
1	Συνθετάση του γλυκιναμιδικού ριβονουκλεοτιδίου (GAR)
2	Τρανσφορμυλάση του GAR
3	Συνθάση του φορμυλογλυκιναμιδινικού
4	Συνθετάση του αμινοϊμιδαζολικού ριβονουκλεοτιδίου
5	Συνθετάση του καρβοξααμινοϊμιδαζολικού ριβονουκλεοτιδίου
6	Συνθετάση του 5-αμινοϊμιδαζολο-4-( <i>N</i> -ηλεκτρυλοκαρβοξαμιδικού) ριβονουκλεοτιδίου
7	Λυάση του αδενυλοηλεκτρικού
8	Τρανσφορμυλάση του 5-αμινοϊμιδαζολο-4-καρβοξαμιδικού ριβονουκλεοτιδίου
9	Κυκλοϋδρολάση της μονοφωσφορικής ινοσίνης

# Βιοσύνθεση δεοξυριβονουκλεοτιδίων

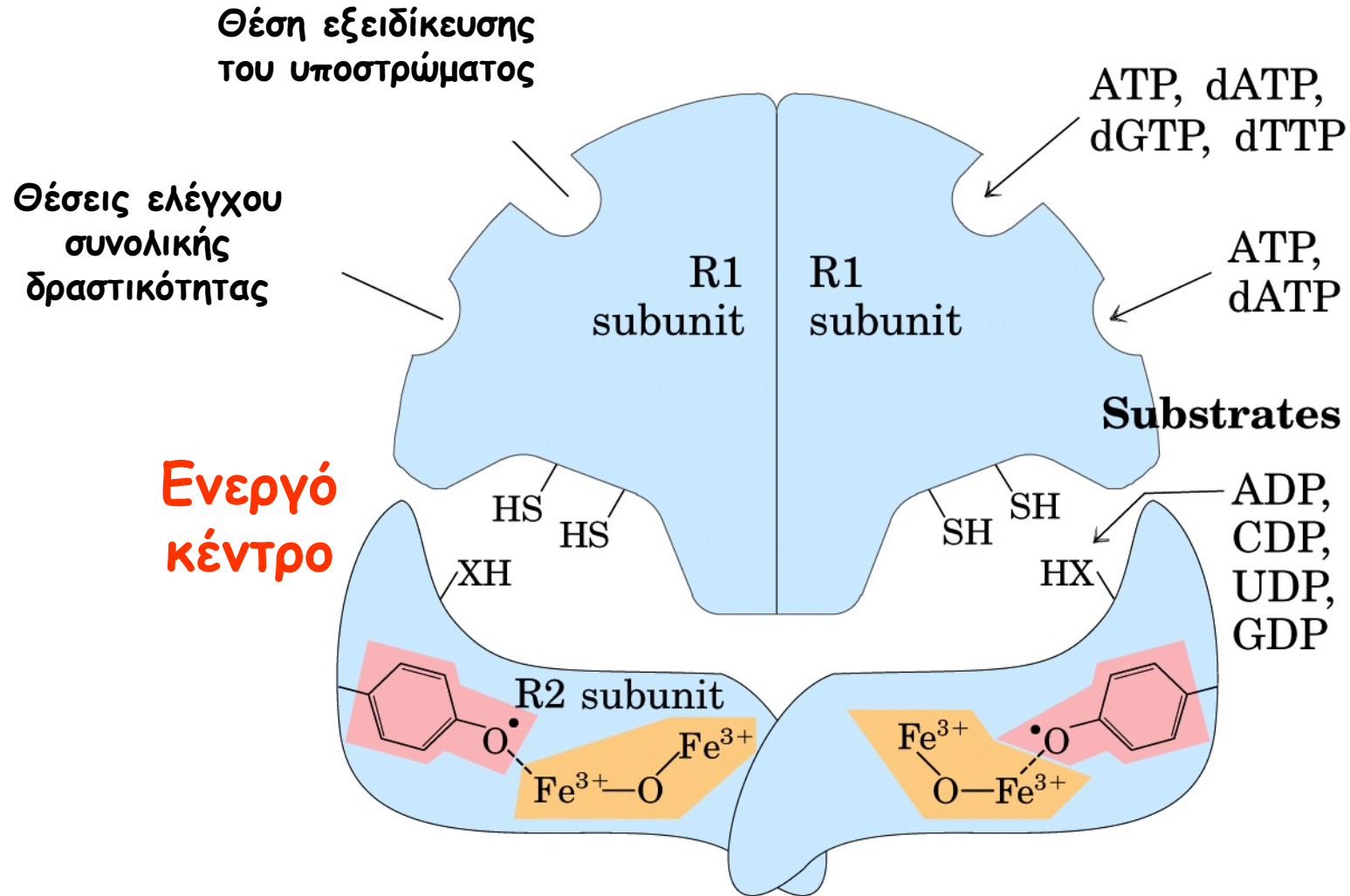
- ❖ Αναγωγή διφωσφορικών ή τριφωσφορικών ριβονουκλεοτιδίων
- ❖ Φαινομενικά απλή αντίδραση αλλά είναι πολύπλοκη χημικά
- ❖  $\text{NADPH} + \text{H}^+$
- ❖ **Αναγωγή των ριβονουκλεοτιδίων:** υπεύθυνη για την αντίδραση αναγωγής και για τα τέσσερα ριβονουκλεοτίδια

# Βιοσύνθεση δεοξυριβονουκλεοτιδίων



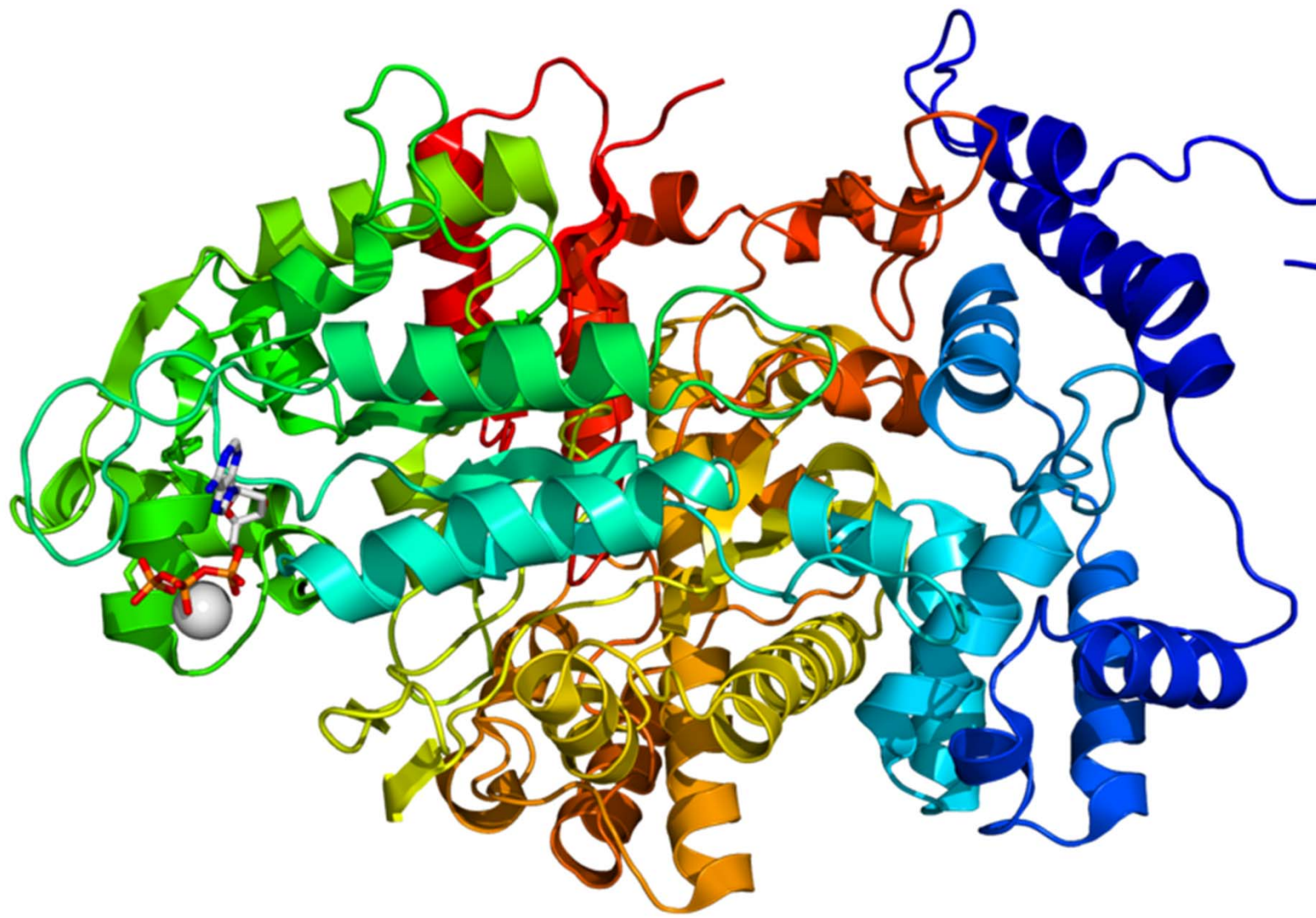
# Ρυθμιστικές θέσεις

# Αλλοστερικοί τροποποιητές



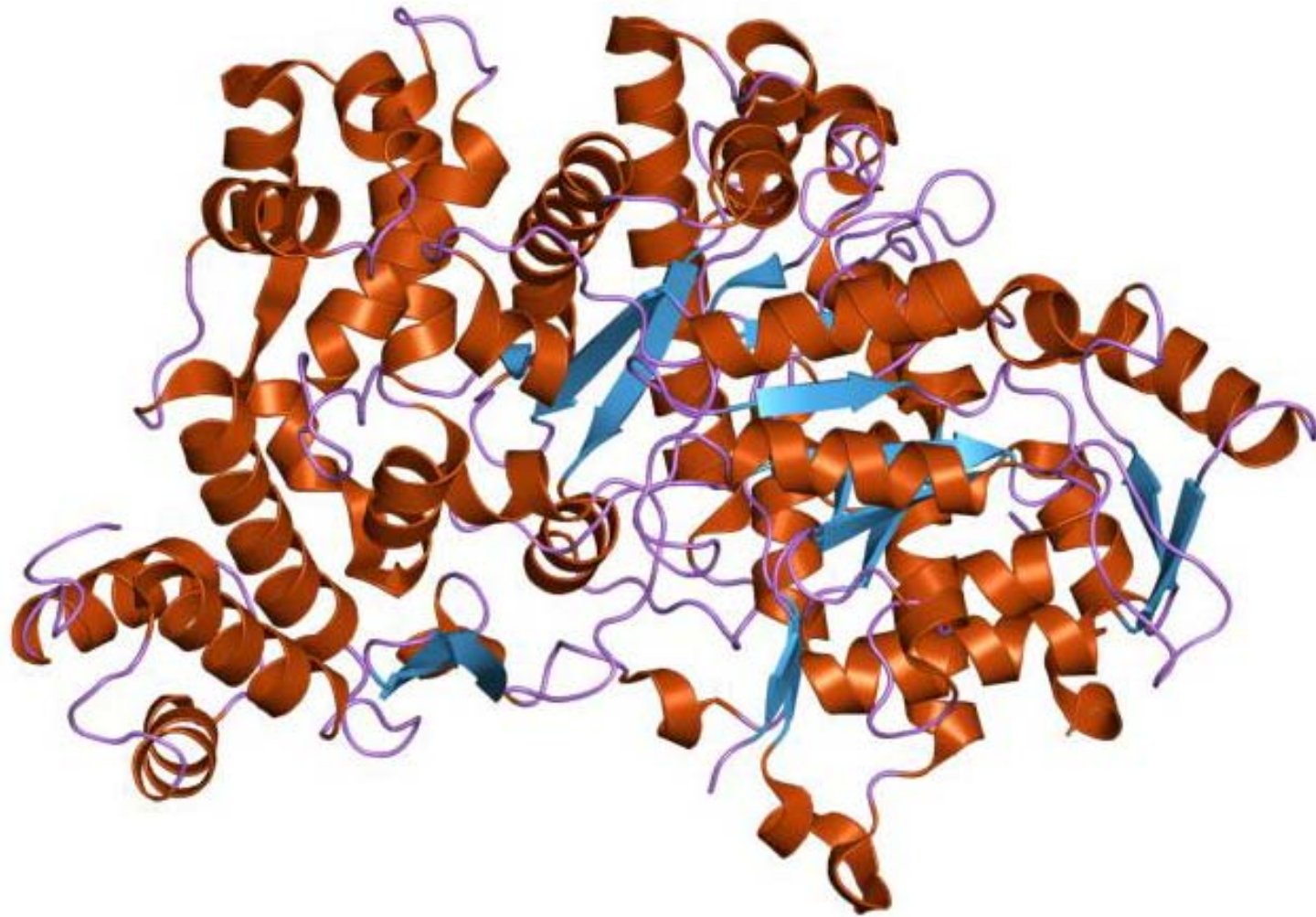
## Αναγωγή των ριβονουκλεοτιδίων

- ❑ Το ένζυμο αποτελείται από δύο υπομονάδες, R1 και R2.
- ❑ Η υπομονάδα R1 περιέχει τις θέσεις δέσμευσης για τα ριβονουκλεοτιδικά υποστρώματα και τους αλλοστερικούς τροποποιητές καθώς επίσης και τις σουλφυδρυλομάδες οι οποίες χρησιμεύουν ως ενδιάμεσοι δότες ηλεκτρονίων στην αναγωγή της ριβοζυλομάδας.
- ❑ Η υπομονάδα R2 συμμετέχει στην κατάλυση με τον σχηματισμό μιας ασυνήθους ελεύθερης ρίζας. Οι δύο υπομονάδες μαζί σχηματίζουν το ενεργό κέντρο του ενζύμου.



27/2/2015

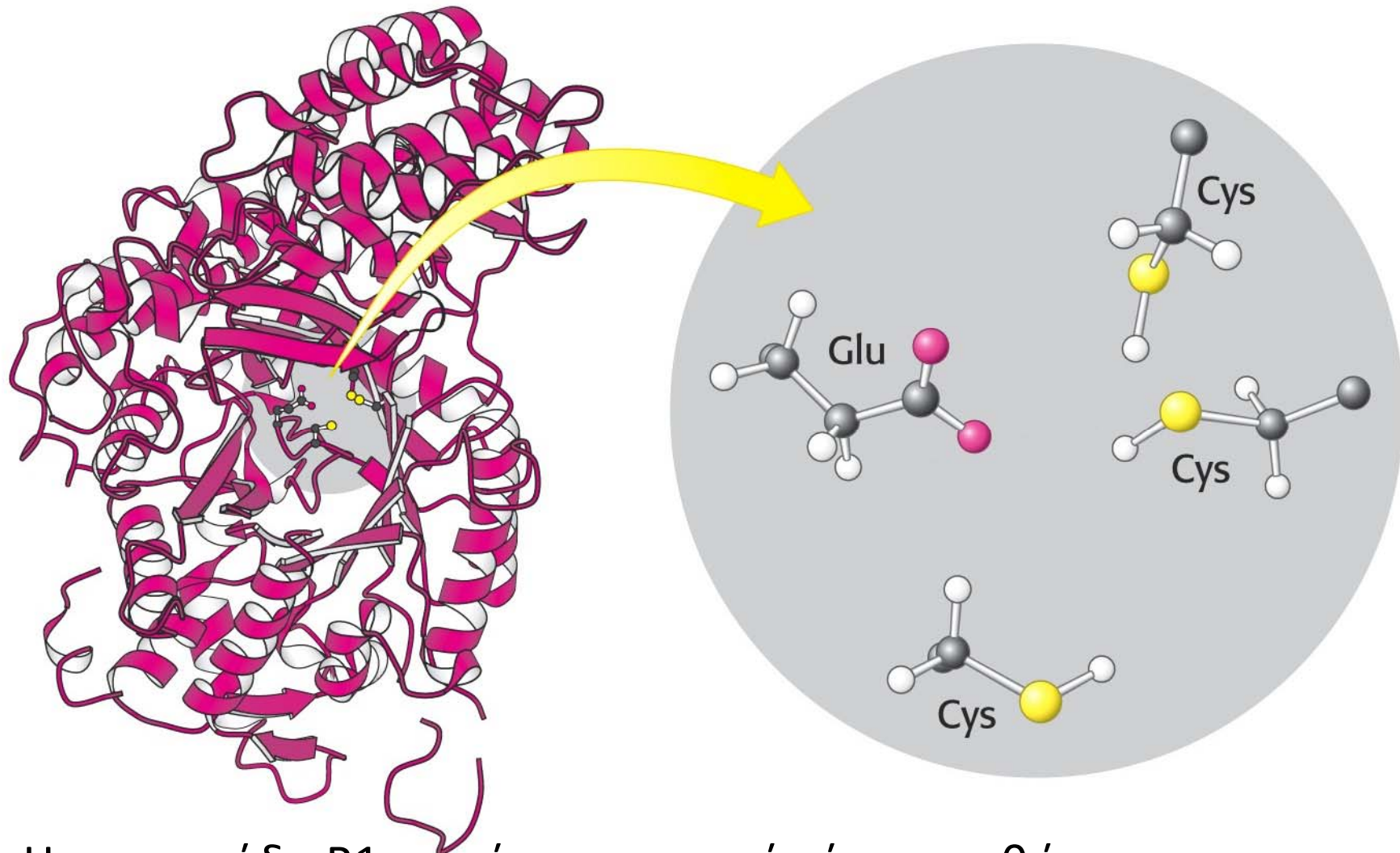
Δ.Δ. Λεωνίδας



27/2/2015

Δ.Δ. Λεονίδας

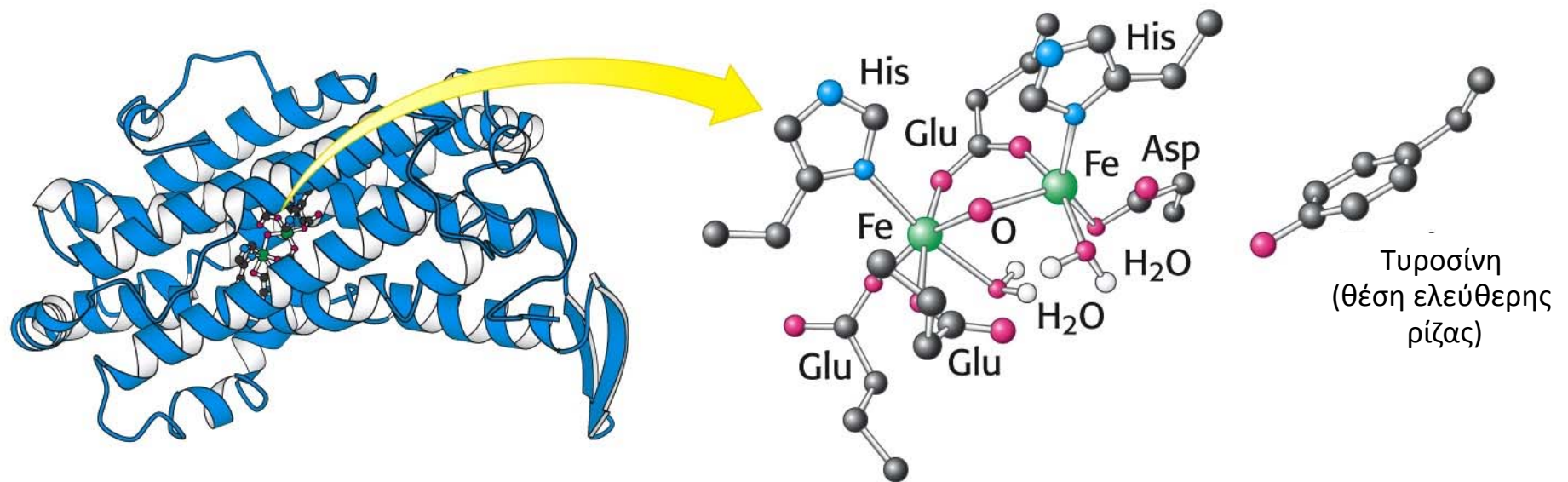




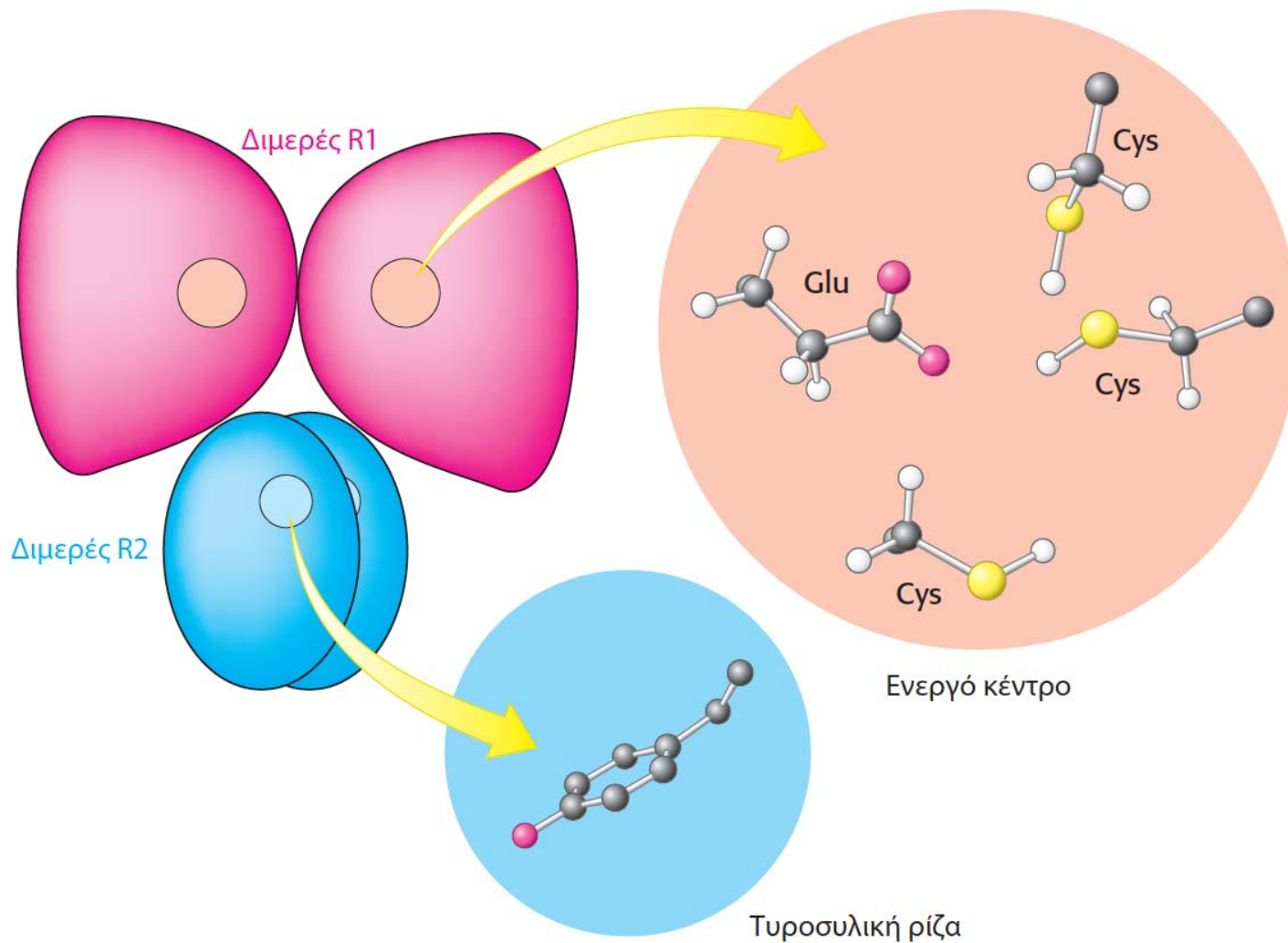
Η υπομονάδα R1 περιέχει το ενεργό κέντρο καθώς και τρεις αλλοστερικές ρυθμιστικές θέσεις. Περιέχει τρεις συντηρημένες κυστεΐνες και μια γλουταμίνη. Δύο υπομονάδες R1 συνδέονται για το σχηματισμό ενός διμερούς

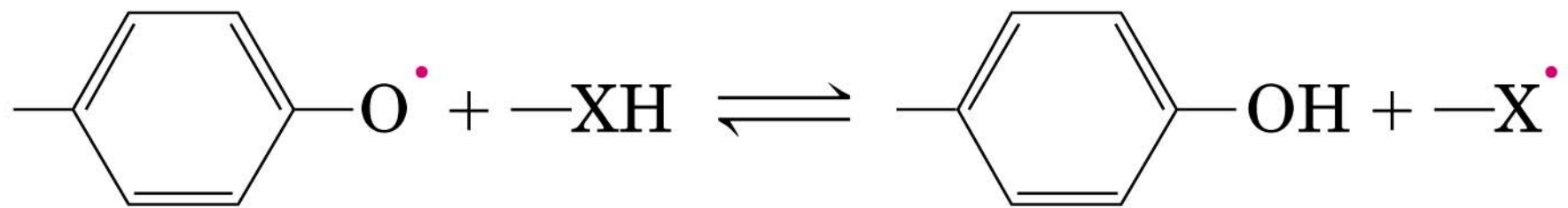
27/2/2015

Δ.Δ. Λεωνίδας



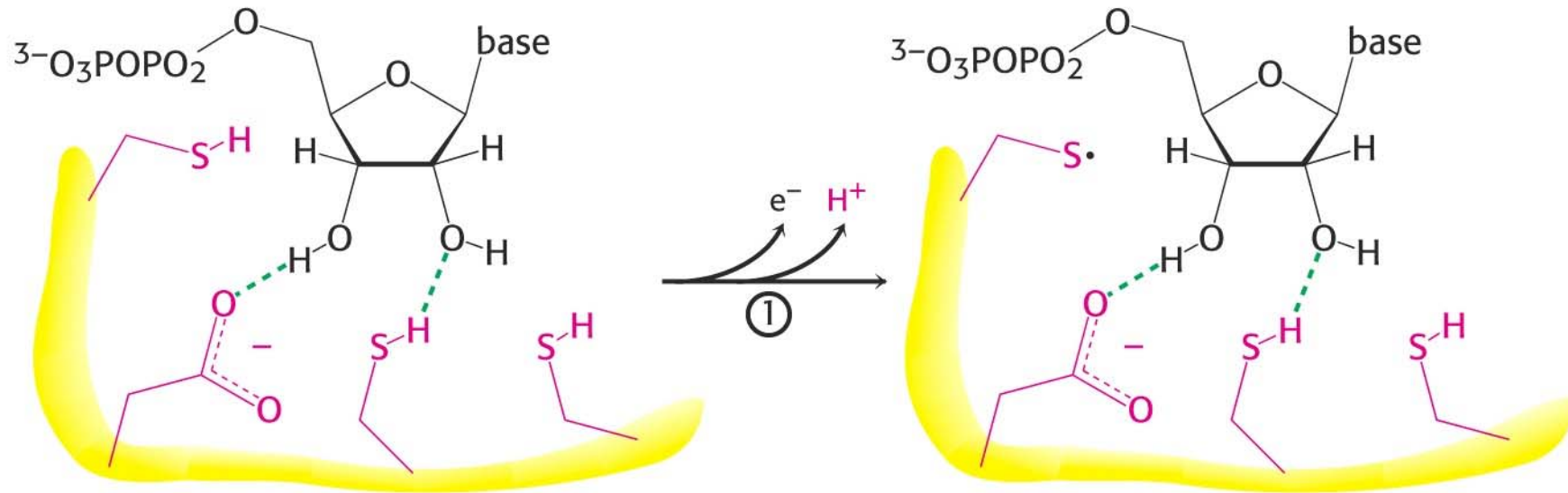
Οι υπομονάδες R2 παράγουν μια ελεύθερη ρίζα σε κάθε μία από τις δύο αλυσίδες του διμερούς. Κάθε υπομονάδα περιέχει μία σταθερή ρίζα τυροσίνης με ένα ασύζευκτο ηλεκτρόνιο στον αρωματικό δακτύλιο. Η πολύ ασυνήθης αυτή ελεύθερη ρίζα σχηματίζεται από ένα παρακείμενο κέντρο που περιέχει σίδηρο





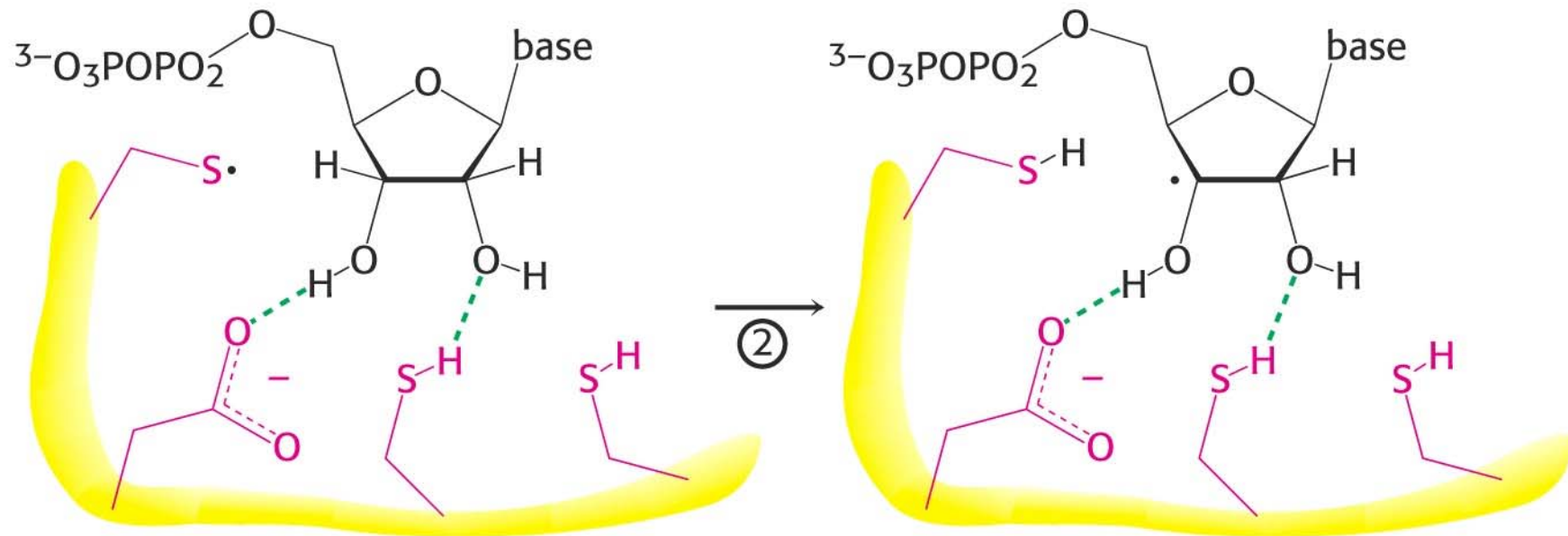


## Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων



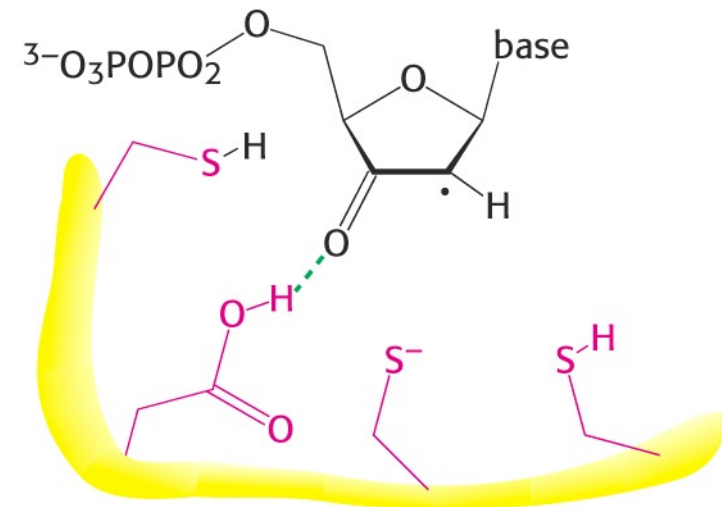
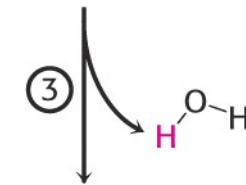
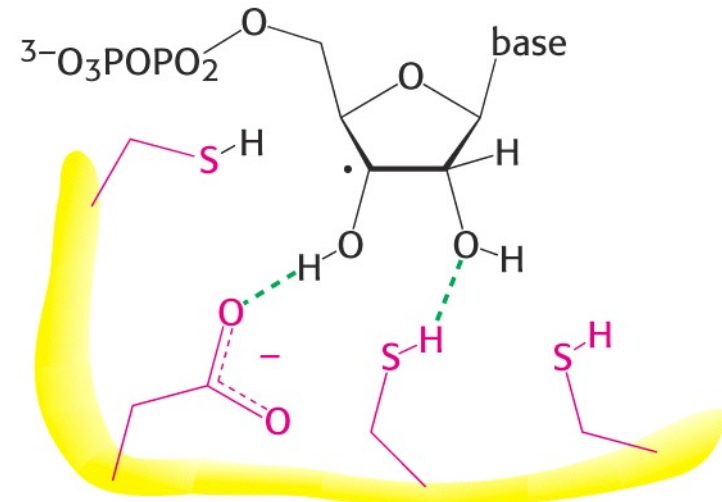
Η αντίδραση ξεκινά με τη μεταφορά ενός ηλεκτρονίου από τη μια κυστεΐνη στη τυρόσυλο ρίζα της υπομονάδας R2. Η απώλεια του ηλεκτρονίου έχει σαν αποτέλεσμα τη δημιουργία μιας πολύ δραστηκής ελεύθερης ρίζας θείου

## Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων



Η ρίζα αυτή αφαιρεί πρωτόνιο από C-3 δημιουργώντας ελεύθερη ρίζα σε αυτό τον άτομο άνθρακα

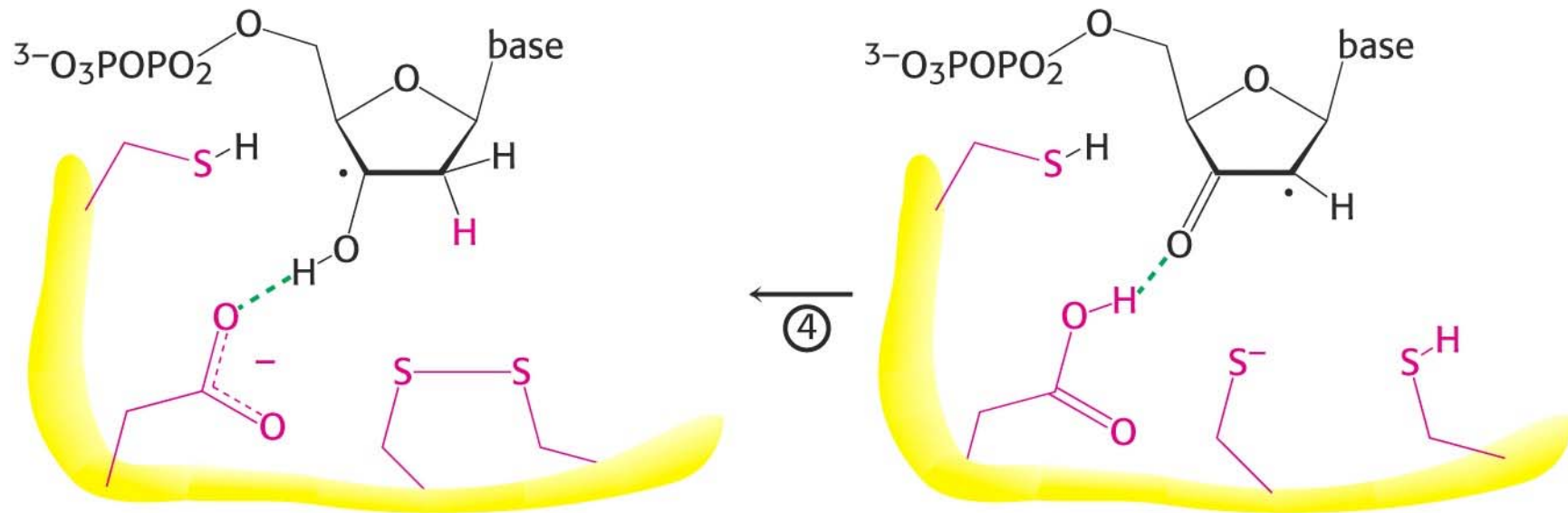
# Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων



Η ρίζα προάγει την απομάκρυνση υδροξυλίου από τον C-2 το οποίο με την προσθήκη ενός πρωτονίου από την σουλφυδρυλομάδα μιας άλλης κυστεΐνης απομακρύνεται ως ένα μόριο νερού.

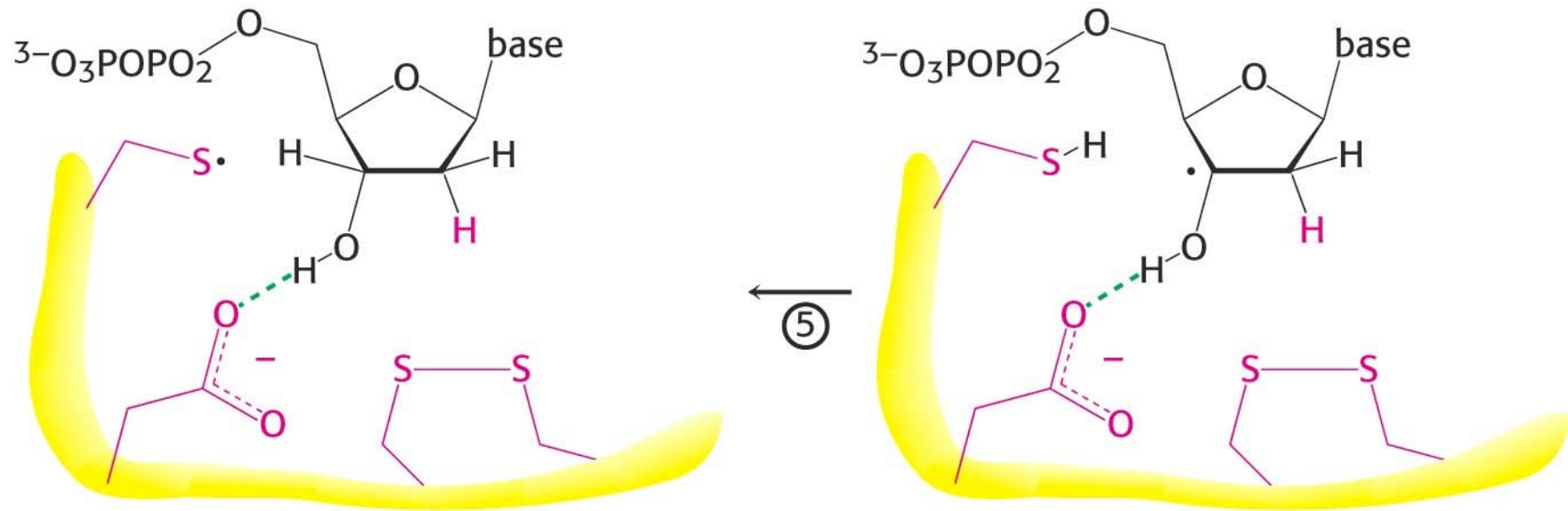


## Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων



Η τρίτη κυστεΐνη μεταφέρει ένα πρωτόνιο στο C-2 για να ολοκληρωθεί η αναγωγή. Κατά την αναγωγή αυτή έχουμε το σχηματισμό ενός δισουλφιδικού δεσμού και μιας ρίζας στον C-3.

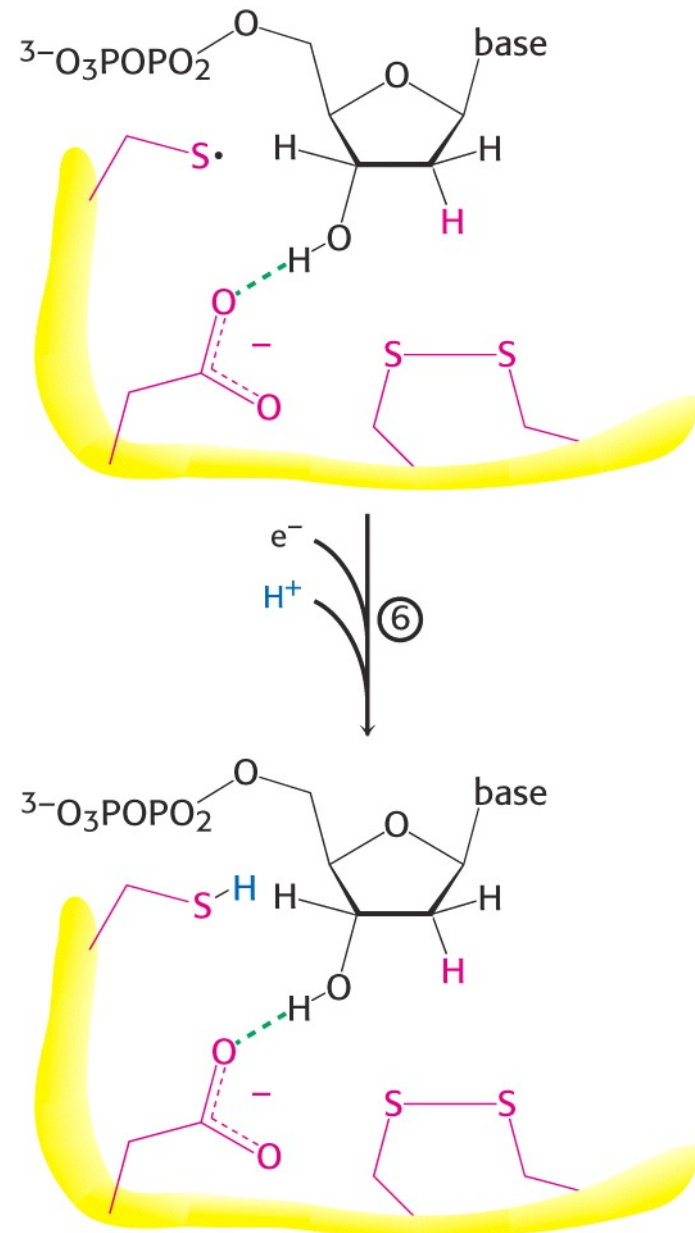
## Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων

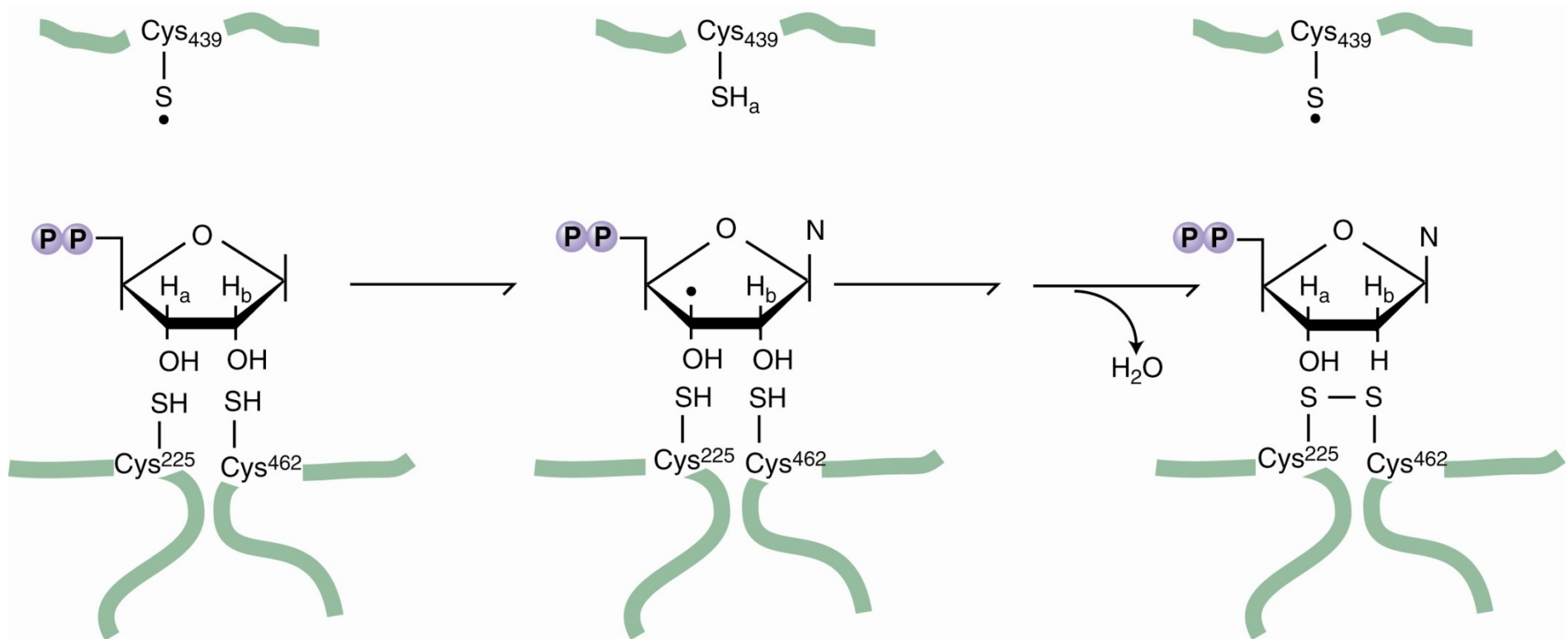


Ο C-3 επανακτά το πρωτόνιο που είχε αρχικά αφαιρεθεί από την κυστεΐνη και το παραγόμενο δεοξυριβονουκλεοτίδιο είναι έτοιμο να απελευθερωθεί από το ένζυμο

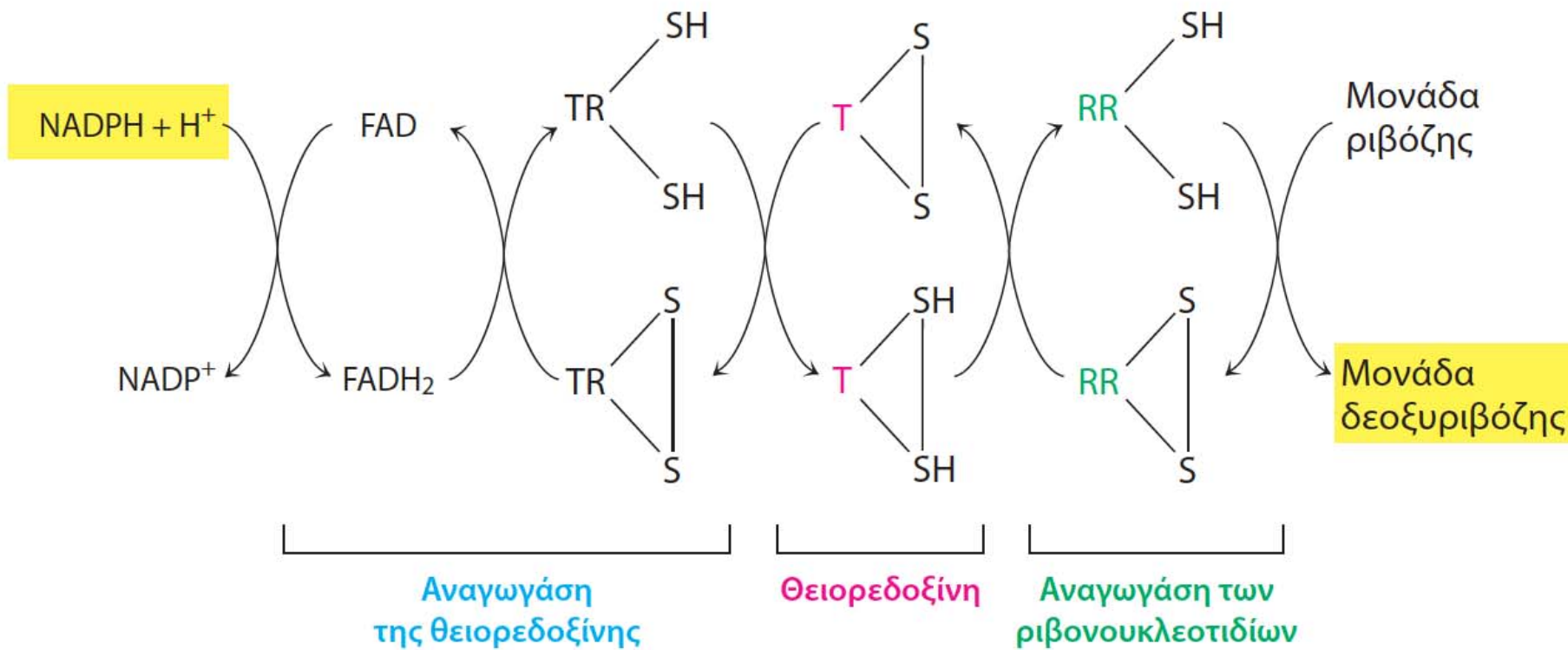
# Μηχανισμός της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων

- Στο τελευταίο στάδιο έχουμε την αναγέννηση του ενζύμου.
- Το πρωτόνιο που είχε αφαιρεθεί από την αρχική κυστεΐνη από την τυρόσυλο ρίζα επανακτάται ενώ ο δισουλφιδικός δεσμός ανάγεται από ειδικές πρωτεΐνες που περιέχουν και αυτές με τη σειρά τους δισουλφιδικούς δεσμούς, όπως είναι η θυρεδοξίνη και η γλουταρεδοξίνη.
- Η οξειδωμένη θυρεδοξίνη ανάγεται από το NADPH

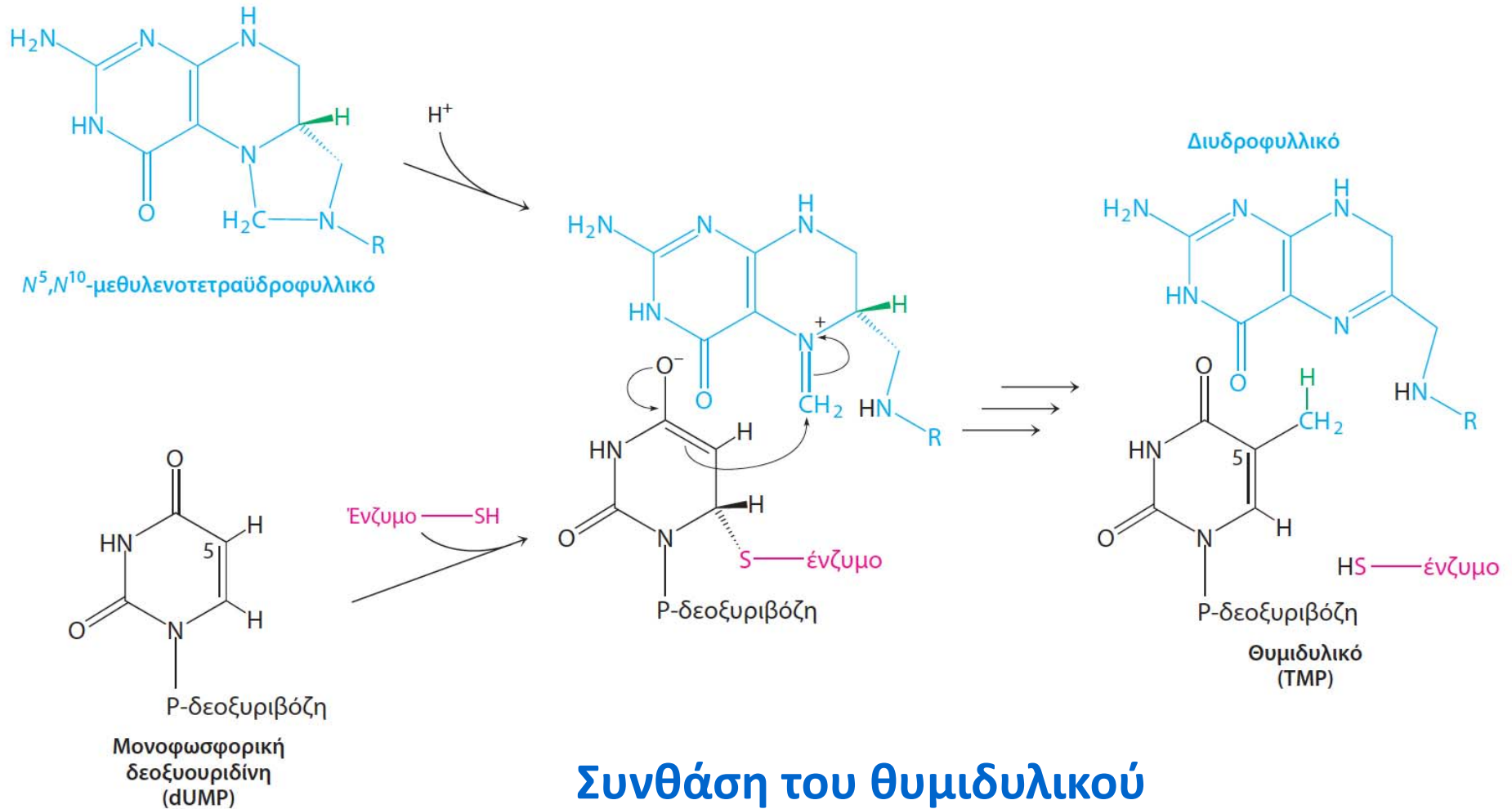




- Η δραστηκότητα εξαρτάται από τις Cys<sup>439</sup>, Cys<sup>225</sup>, και Cys<sup>462</sup> στην υπομονάδα R<sub>1</sub> και στην Tyr<sup>122</sup> στην R<sub>2</sub>.
- Η Cys<sup>439</sup> απομακρύνει το 3'-H, και ακολουθεί αφυδάτωση και σχηματισμός δισουλφιδικού δεσμού μεταξύ των Cys<sup>225</sup> και Cys<sup>462</sup>.
- Το καθαρό αποτέλεσμα είναι η μεταφορά υδριδίου στον C-2'.
- Η θειορεδοξίνη και η αναγωγία της θειορεδοξίνης αποδίδουν τα αναγωγικά ισοδύναμα.

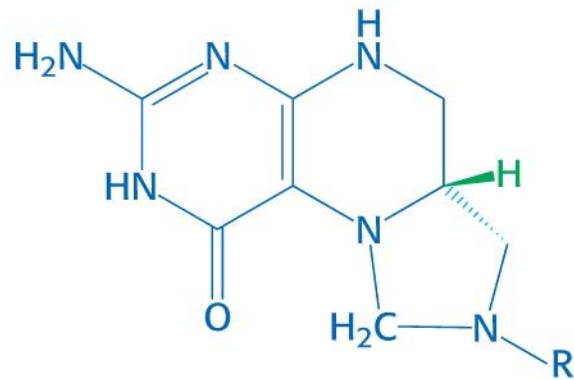


# Το θυμιδυλικό προκύπτει από μεθυλίωση του δεοξουριδυλικού

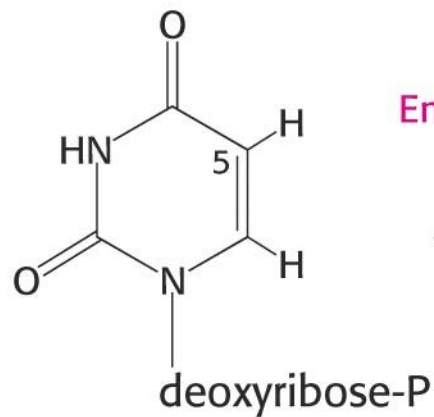
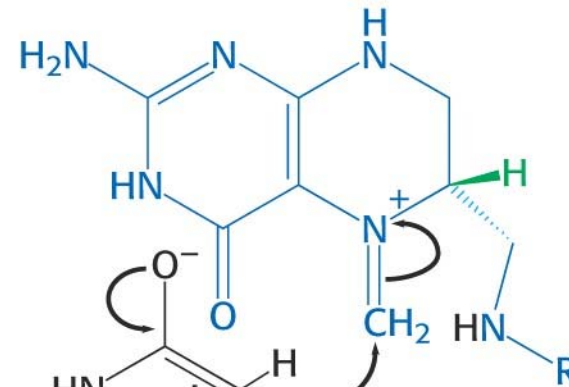
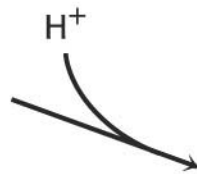


Αυτή η μεθυλίωση διευκολύνει την αποκάλυψη βλαβών στο DNA ώστε να επιδιορθωθούν. Συνεπώς η μεθυλίωση του ουριδυλικού σε θυμιδυλικό βοηθά στη διατήρηση της σταθερότητας της γενετικής πληροφορίας.

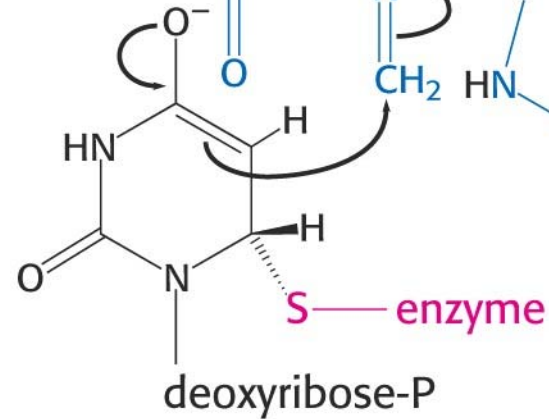
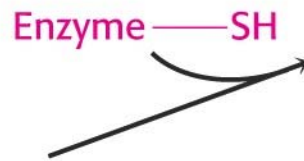




**N<sup>5</sup>,N<sup>10</sup>-Μεθυλενο-τετραϋδροφολικό**

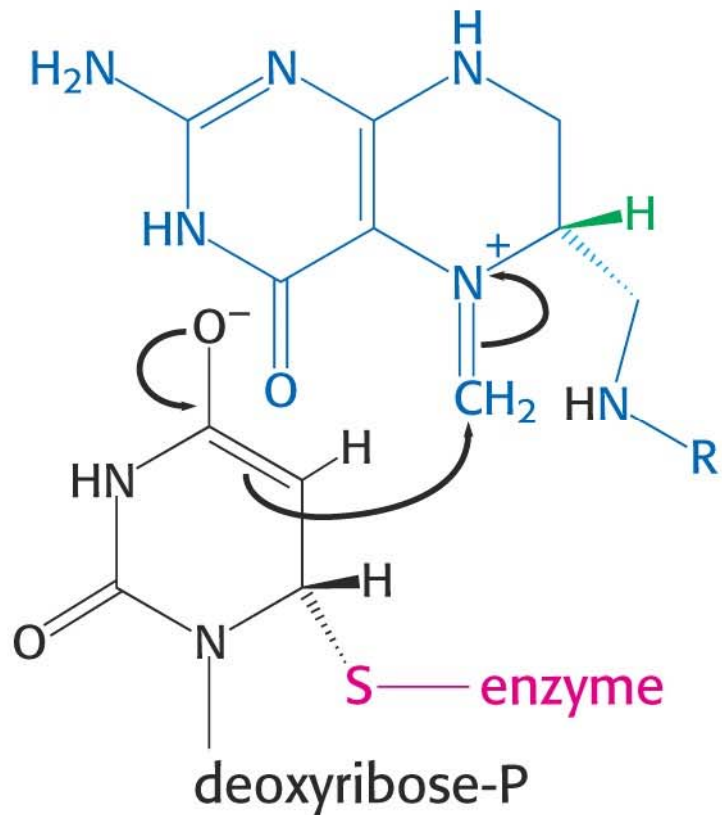


**Μονοφωσφορική  
δεοξουριδίνη (dUMP)**

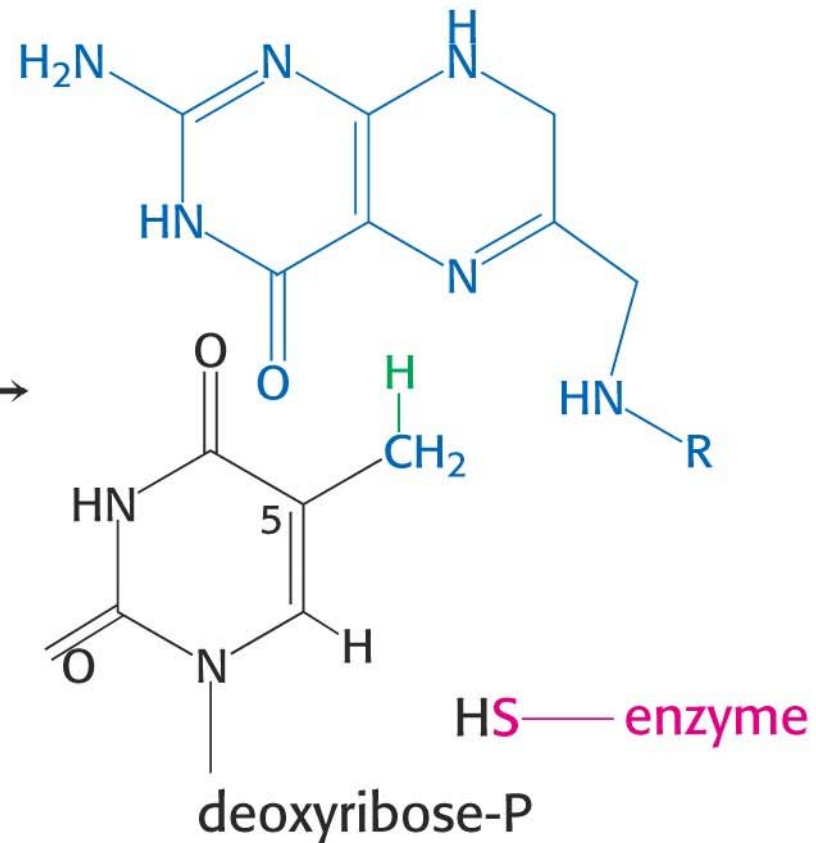


Ο C<sub>5</sub> δεν είναι καλό νουκλεόφιλο και δεν μπορεί από μόνος του να προσλάβει την μεθυλομάδα από το μόριο δότη. Για το λόγο αυτό η συνθάση του θυμιδυλικού προάγει τη μεθυλίωση μέσω πρόσδεσης ενός ατόμου θείου από ένα κατάλοιπο κυστεΐνης του ενζύμου στον αρωματικό δακτύλιο του ουριδυλικού με αποτέλεσμα τη δημιουργία ενός νουκλεόφιλου που μπορεί τώρα να προσβάλλει το μόριο δότη μεθυλομάδας

## Συνθάση του θυμιδυλικού

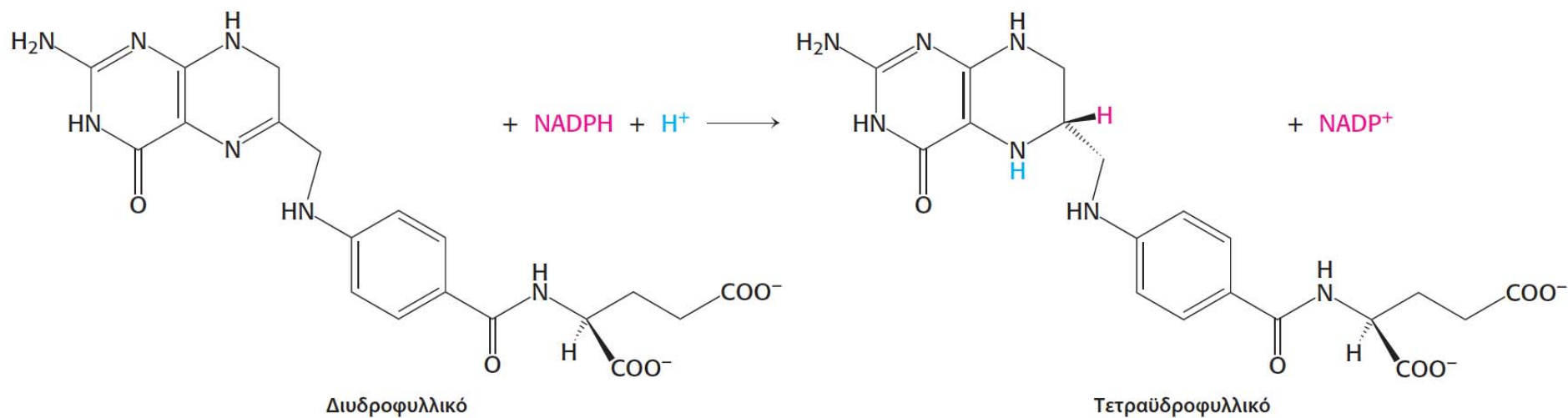


## Διυδροβολικό

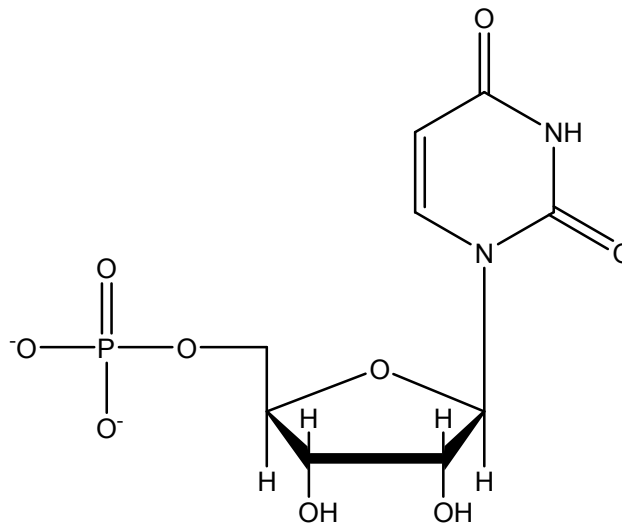
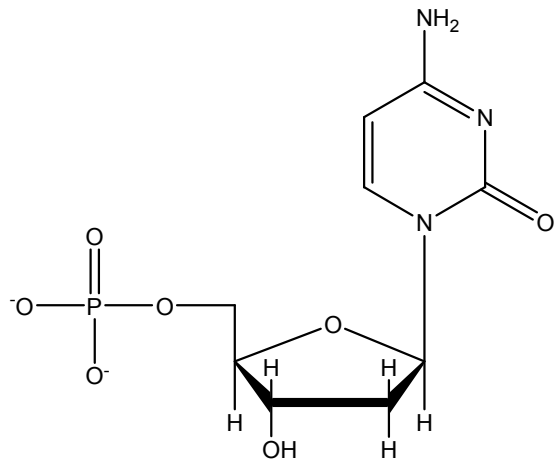


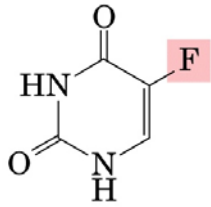
Θυμιδυλικό  
(dTMP)

## Αναγέννηση του τετραϋδροφυλλικού



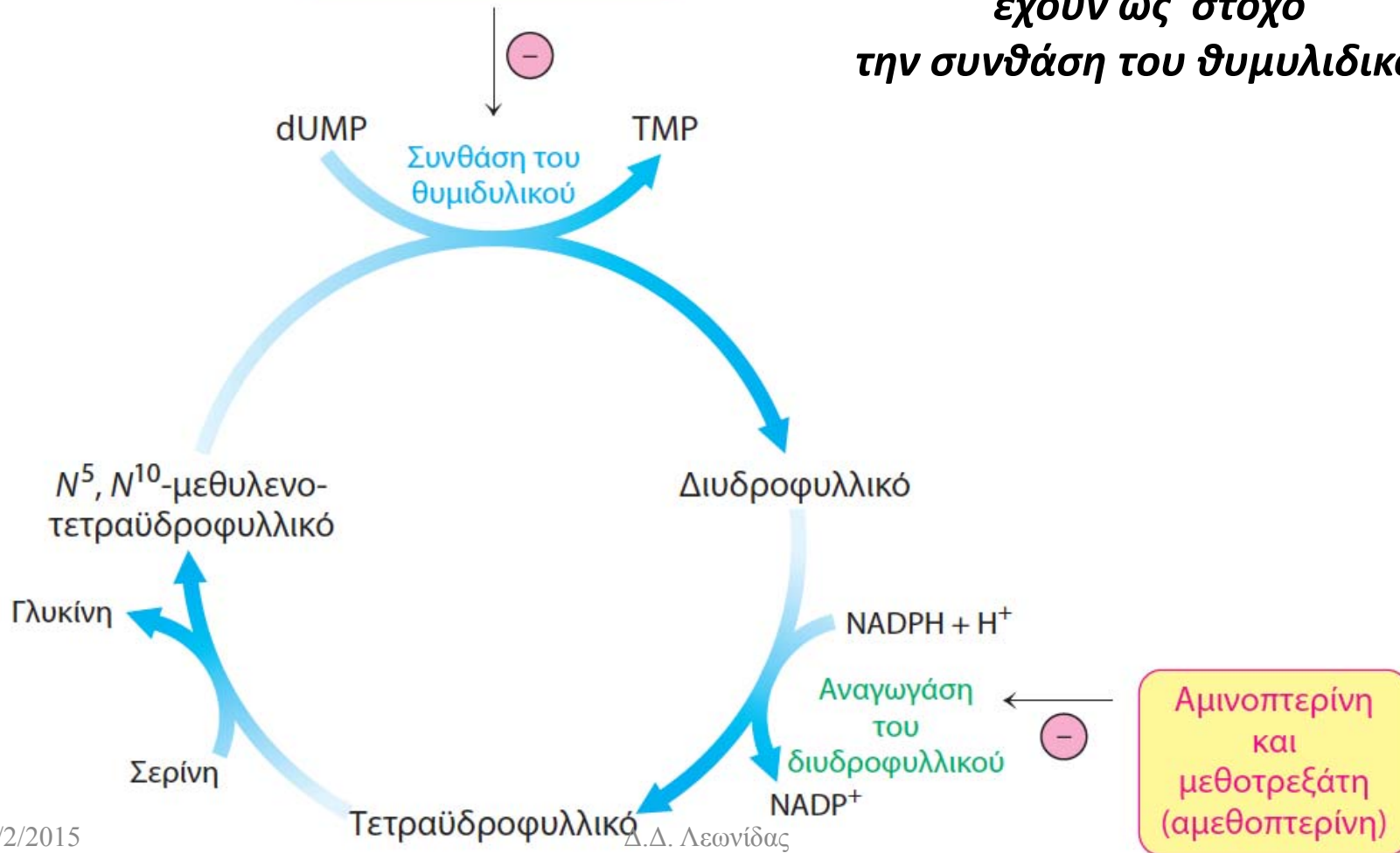
## Αναγωγή του διυδροφυλλικού





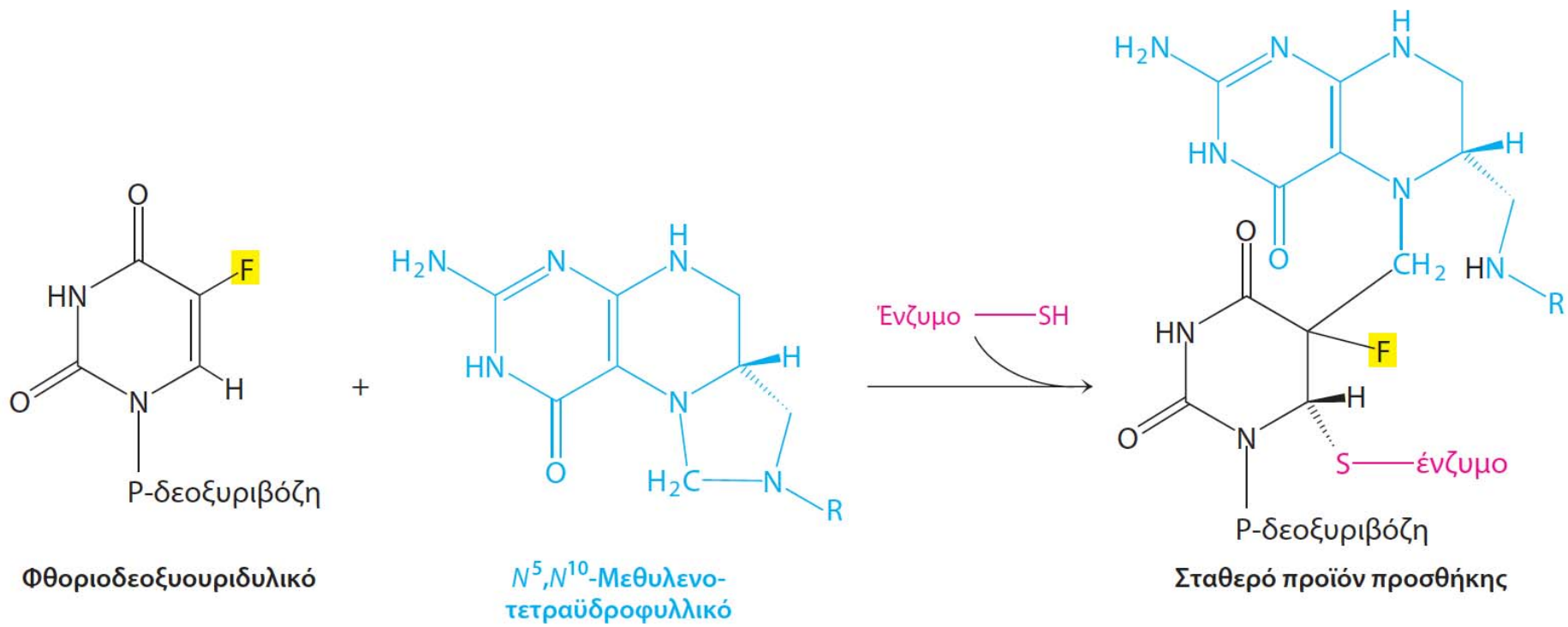
Φθοριοουρακίλη  
 ↓  
 Φθοριοδεοξουριδυλικό  
 (αναστολέας αυτοκτονίας)

**Πολλά αντικαρκινικά  
 φάρμακα  
 έχουν ως στόχο  
 την συνθάση του θυμιδυδικού**



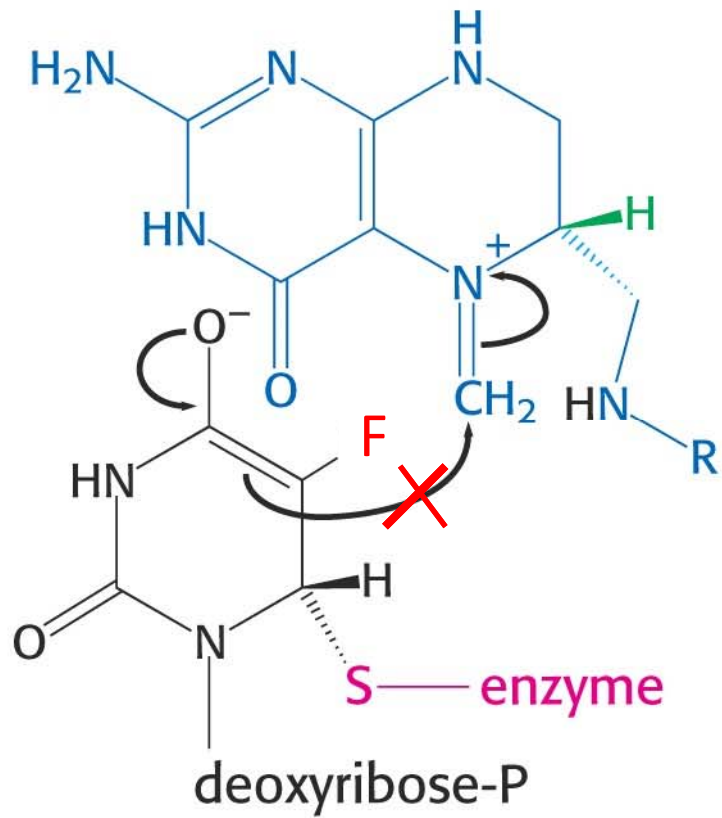
27/2/2015

Δ.Δ. Λεωνίδας

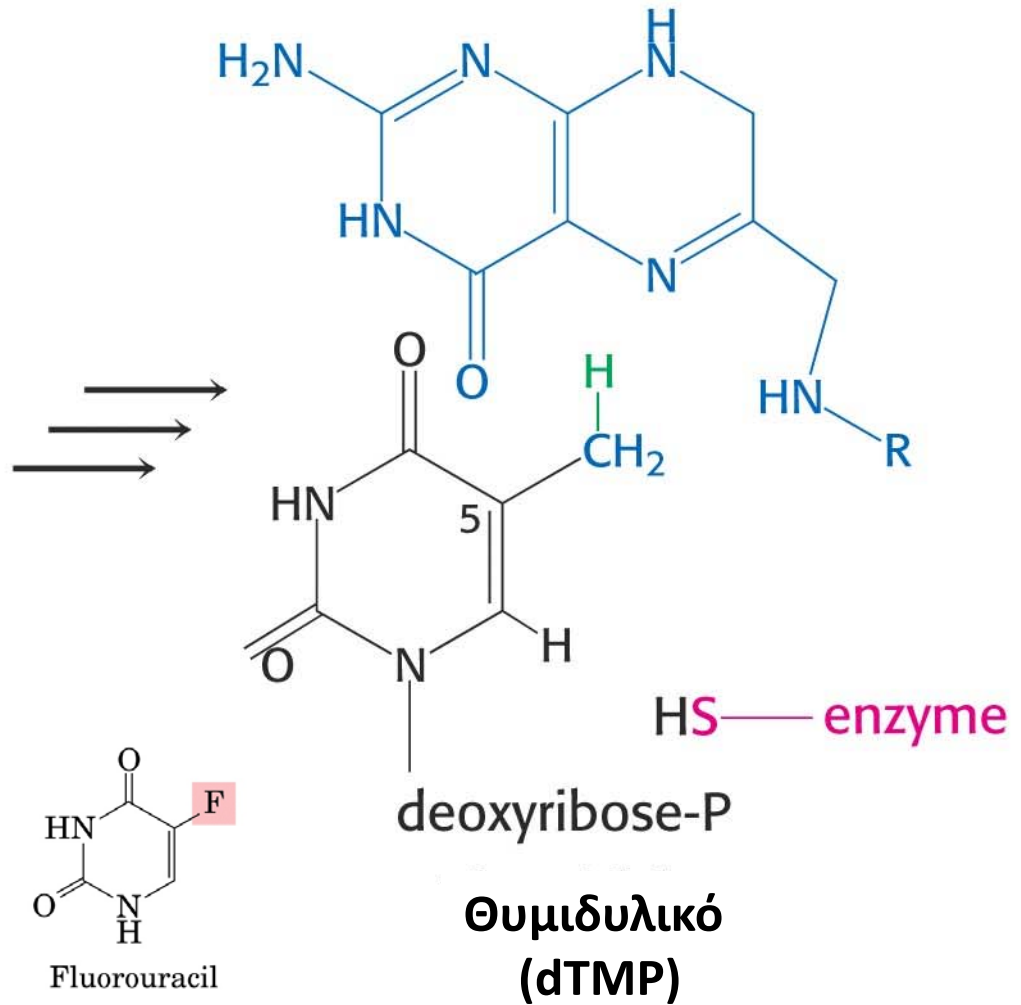


**Εικόνα 25.14 Αναστολή αυτοκτονίας.** Το φθοριοδεοξουριδυλικό (που δημιουργείται από τη φθοριοουρακίλη) παγιδεύει τη συνθάση του θυμιδυλικού σε μια μορφή που δεν μπορεί να προχωρήσει στην πορεία της αντίδρασης.

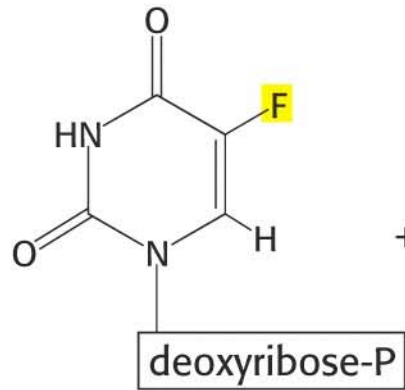
## Συνθάση του θυμιδυλικού



## Διυδροβολικό

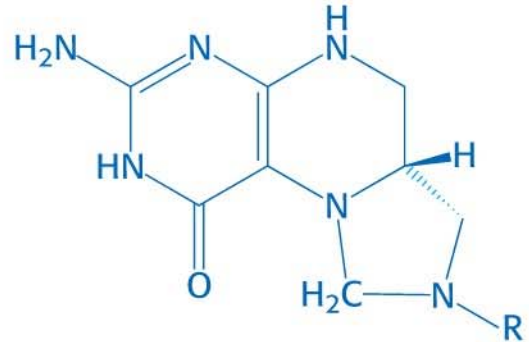




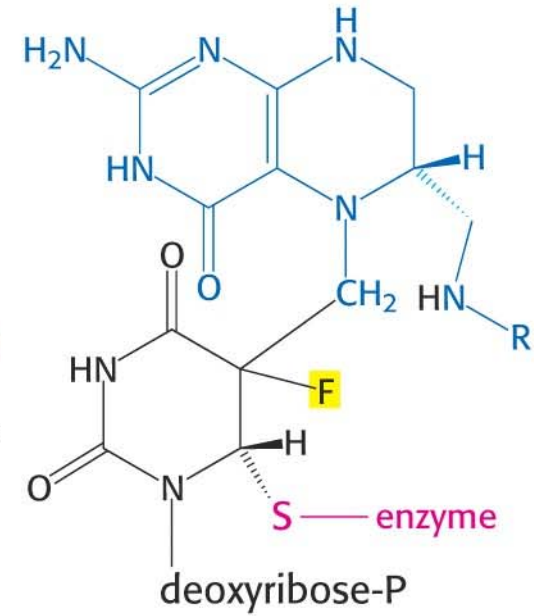
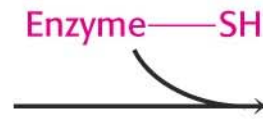


Φθοροδεοξουριδυλικό

+



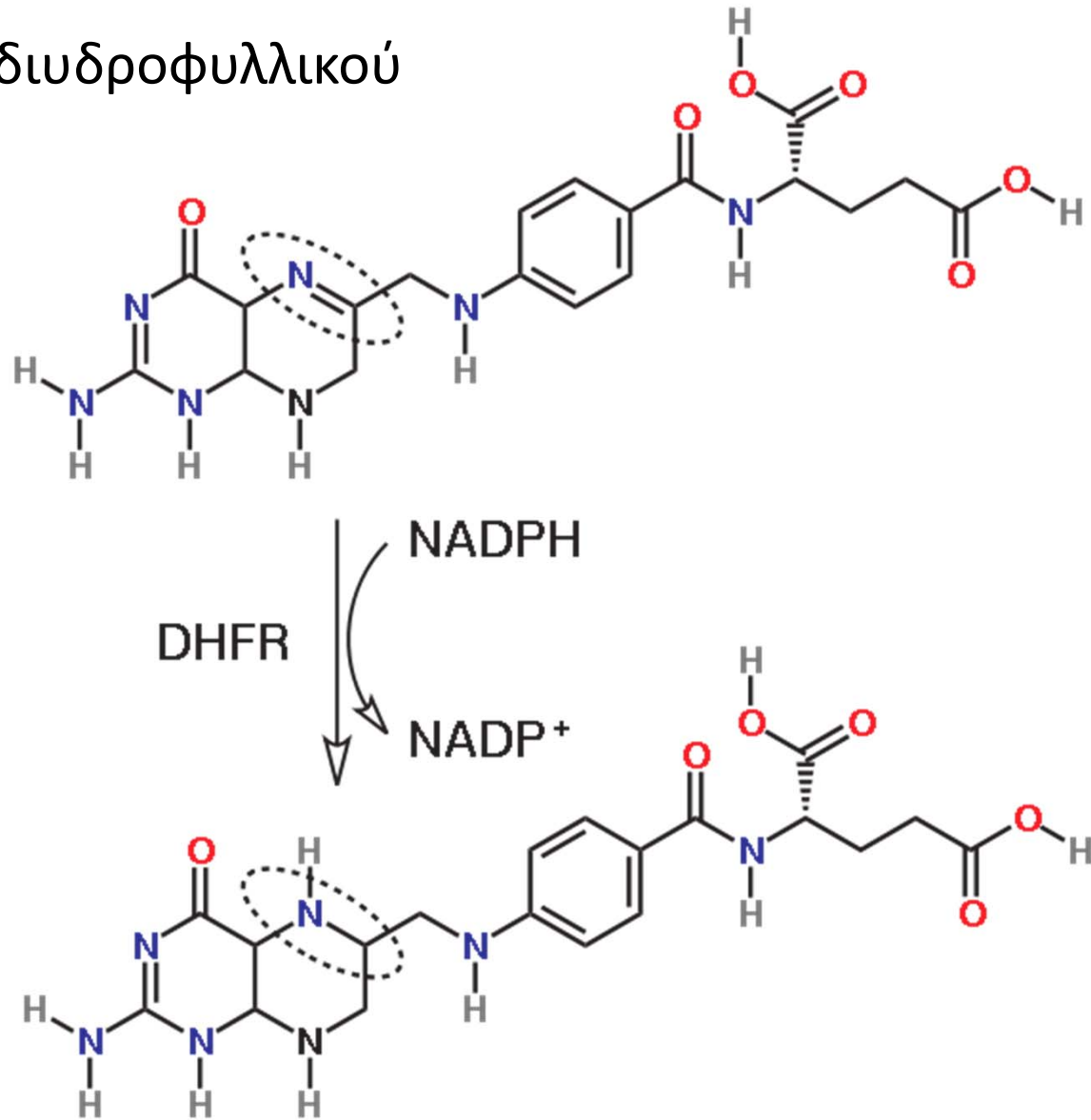
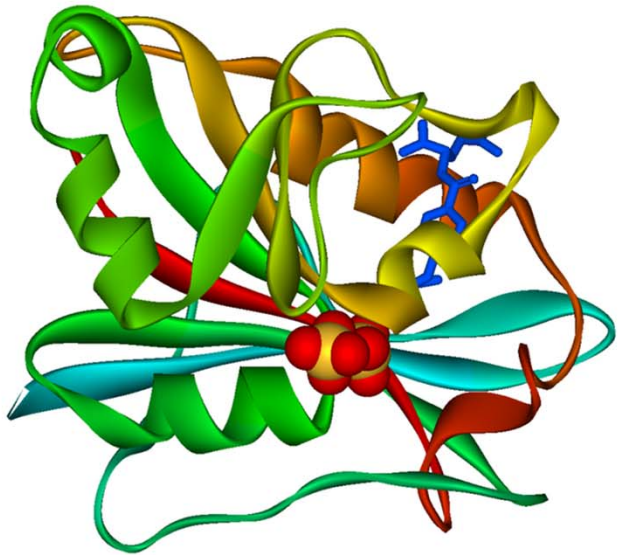
$N^5, N^{10}$ -μεθυλενο-  
τετραυδροφυλλικό

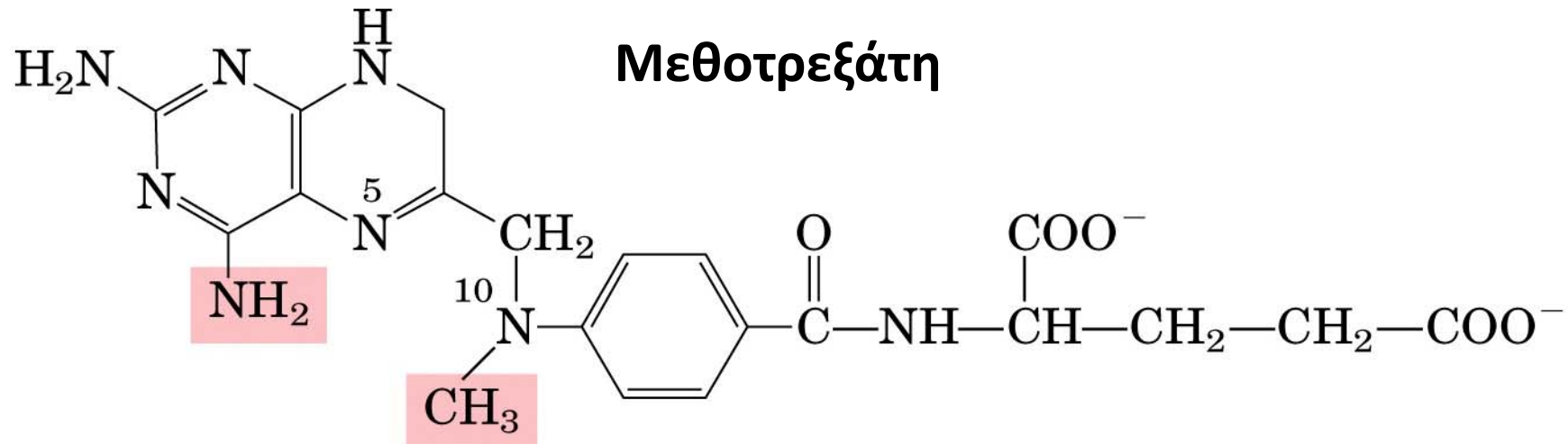


Σταθερό προϊόν προσθήκης

Η φθοροουρακίλη μετατρέπεται *in vivo* σε φθοροδεοξουριδυλικό (F-dUMP). Το ανάλογο αυτό δρα ως φυσιολογικό υπόστρωμα λόγω δομικής ομοιότητας. Η βιοσύνθεση της TMP απαιτεί την αφαίρεση πρωτονίου από τον C<sub>5</sub>. Το ένζυμο όμως δεν μπορεί να αφαιρέσει το F<sup>+</sup> από το F-dUMP και άρα η κατάλυση σταματά στο στάδιο που έχει σχηματιστεί το σταθερό σύμπλοκο του F-dUMP, μεθυλενοτετραϋδροφυλλικό και σουλφυδρυλομάδας του ενζύμου

# αναγωγή του διυδροφυλλικού

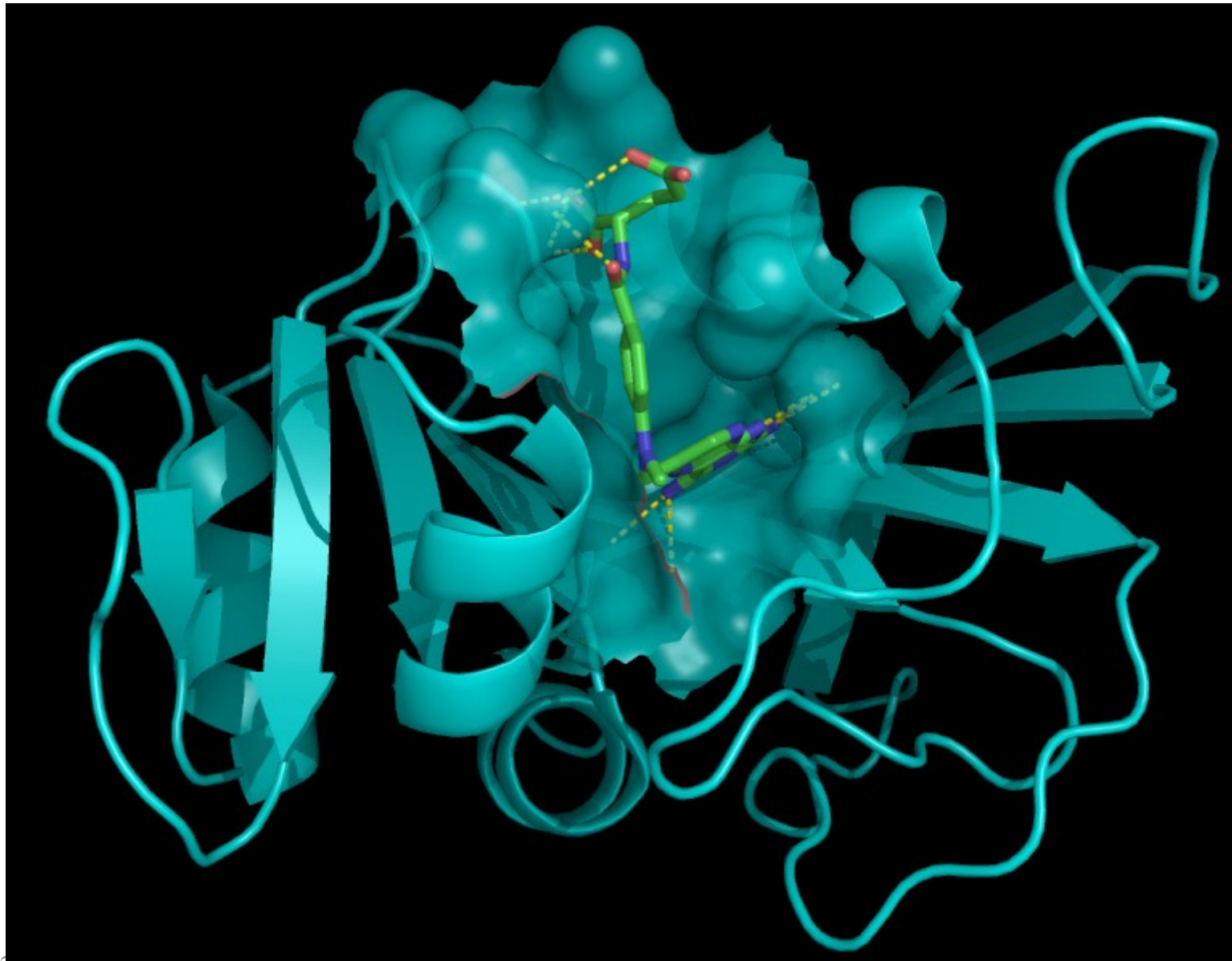


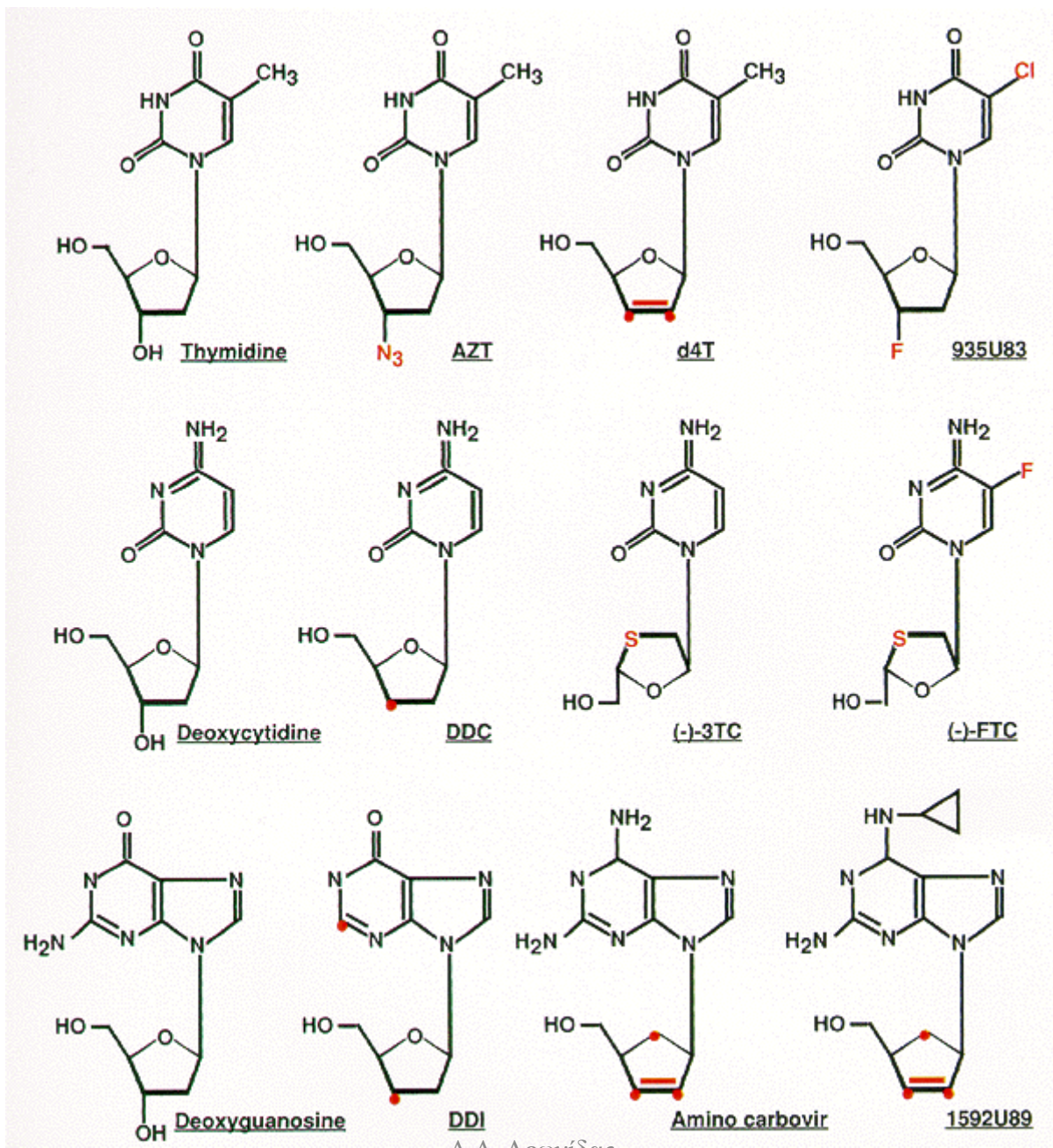


Η **μεθοτρεξάτη** είναι ισχυρός **συναγωνιστικός αναστολέας** της αναγωγής του διυδροφυλλικού ( $K_i < 1 \text{ nM}$ ) ως προς το φυλλικό (φολικό) και είναι ένα πολύτιμο φάρμακο για τη θεραπεία ταχέως αναπτυσσόμενων όγκων όπως η **οξεία λευχαιμία**.

Παρόλαυτά όμως η **μεθοτρεξάτη** δεν κάνει διάκριση για τα καρκινικά και τα φυσιολογικά κύτταρα και καταστρέφει και τα φυσιολογικώς ταχέως διαιρούμενα κύτταρα όπως τα κύτταρα του **μυελού των οστών** και τους **θυλάκους των τριχών**

# Μεθοτρεξάτη

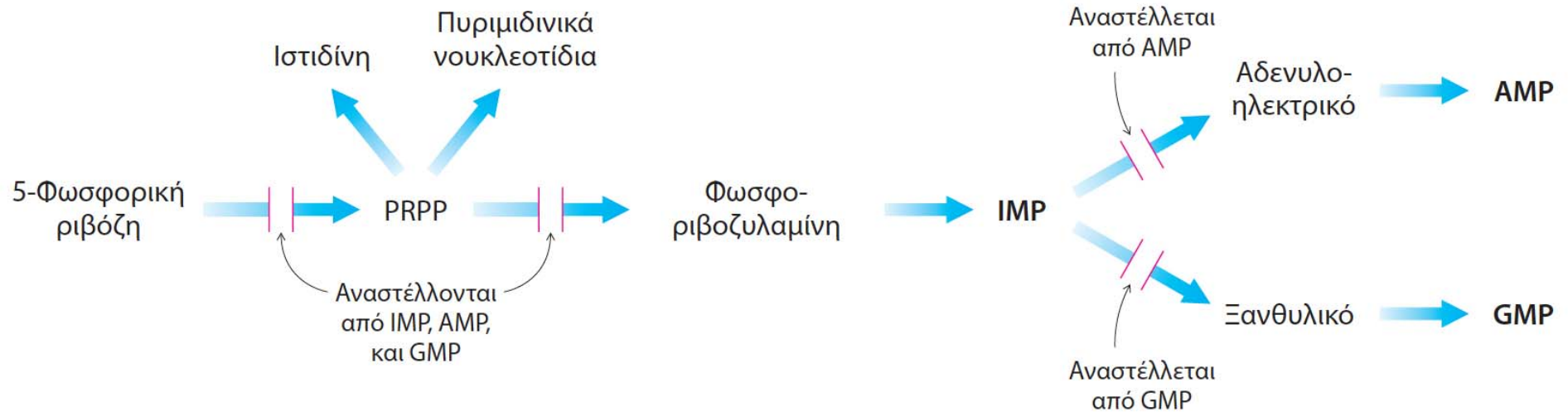


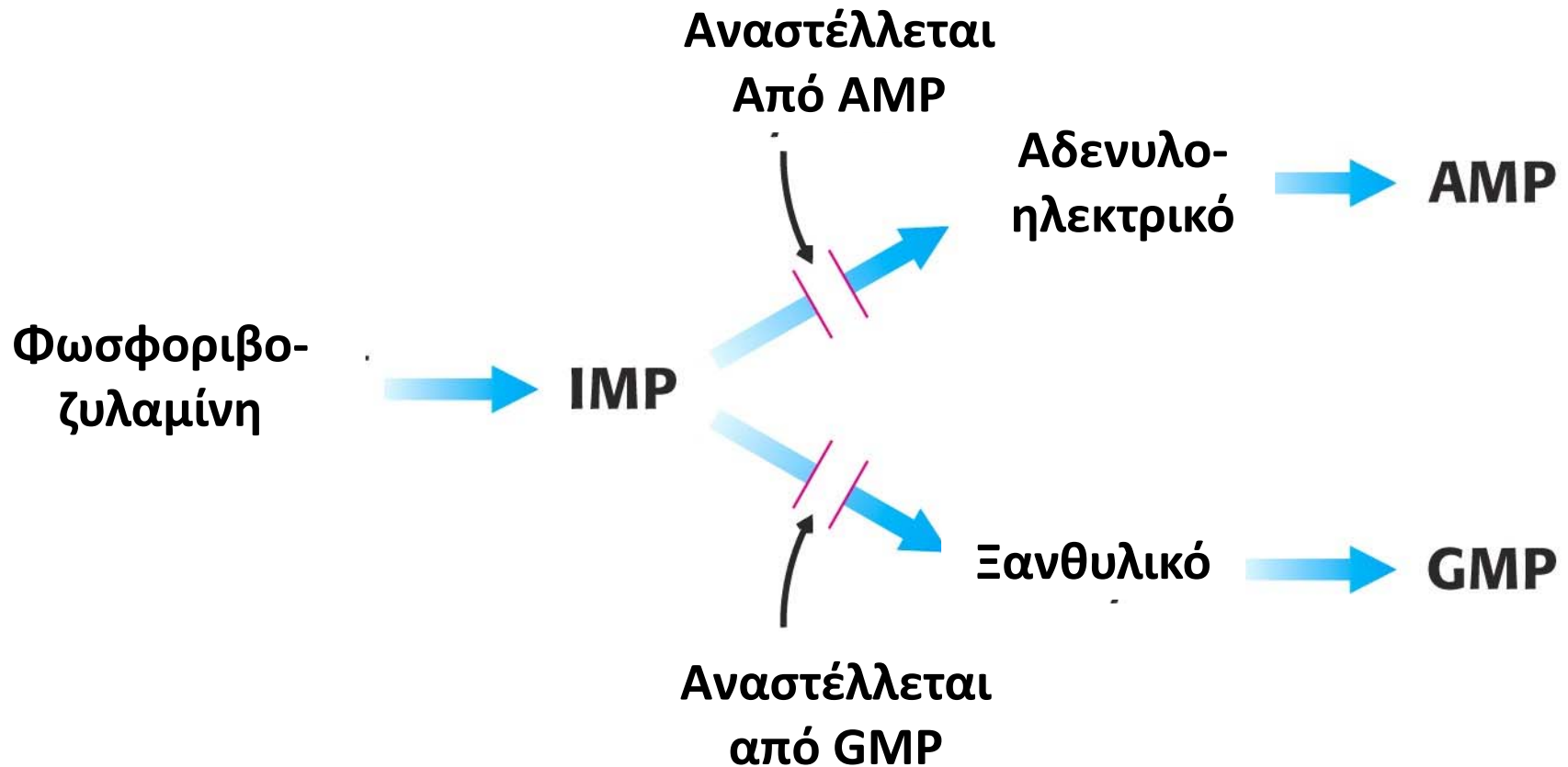


Δ.Δ. Λεωνίδας

27/2/2015

# Η βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων ελέγχεται σε διάφορες θέσεις με επανατροφοδότηση





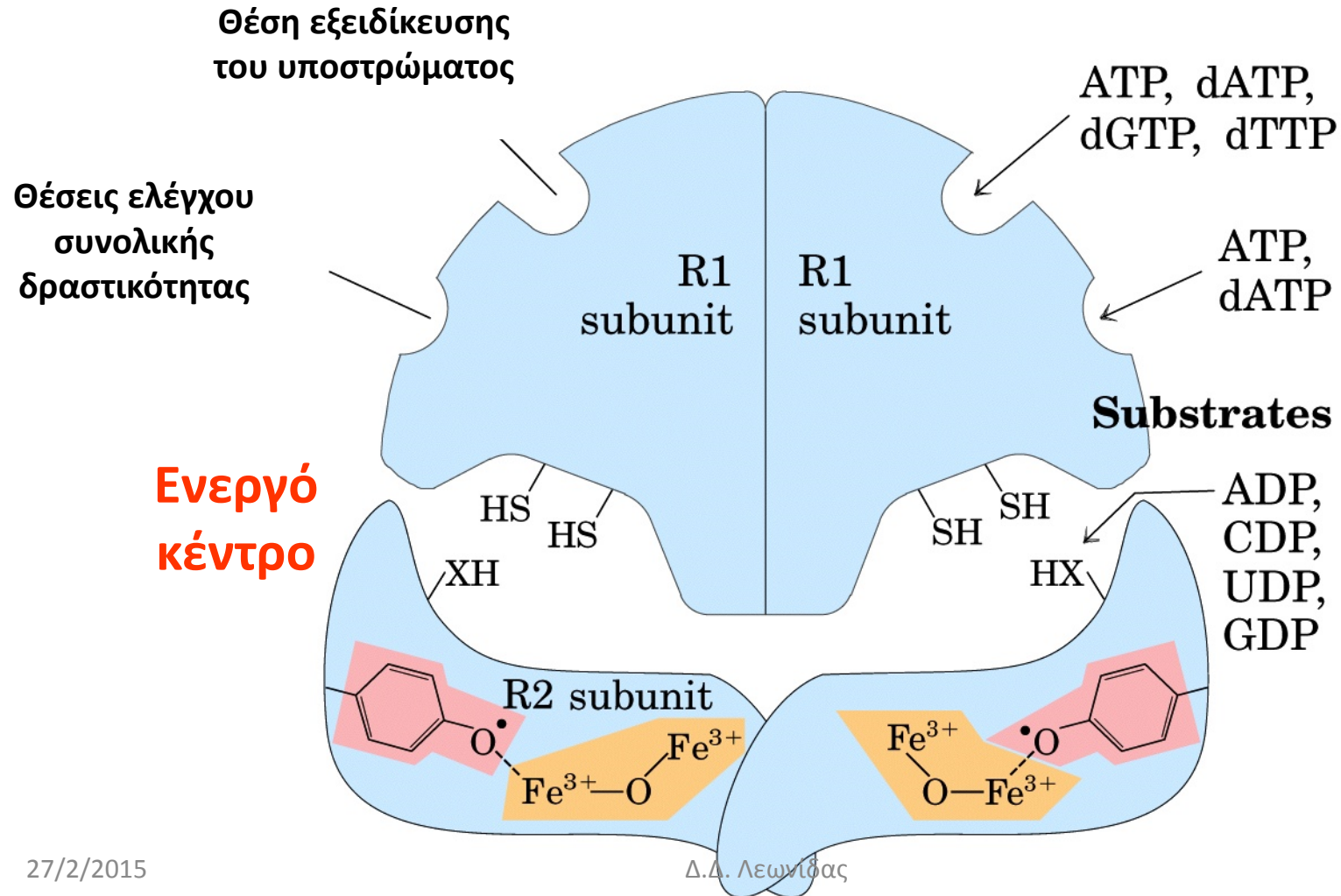
Το ινοσινικό είναι κομβικό σημείο για τη βιοσύνθεση του GMP και του ATP. Τα δύο αυτά νουκλεοτίδια αναστέλλουν με επανατροφοδότηση την πρώτη αντίδραση της βιοσύνθεσής τους από το ινοσικό.

Επιπρόσθετα το GTP είναι υπόστρωμα για τη βιοσύνθεση του ATP και το ATP υπόστρωμα για τη βιοσύνθεση του GTP. Η σχέση αυτή διατηρεί κάποια ισορροπία στην συντονισμένη βιοσύνθεση

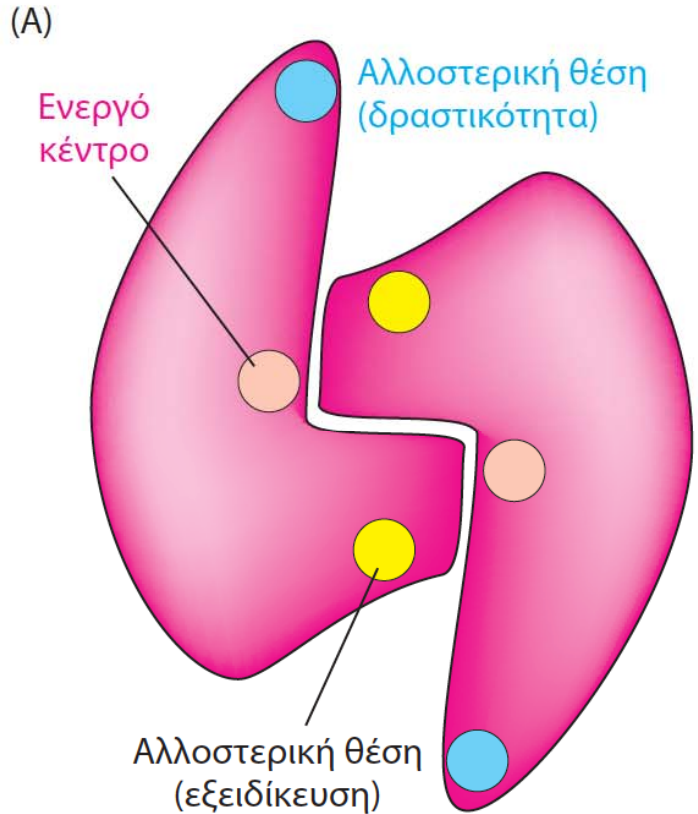
# Αλλοστερική ρύθμιση της σύνθεσης των dNTPs

Ρυθμιστικές θέσεις

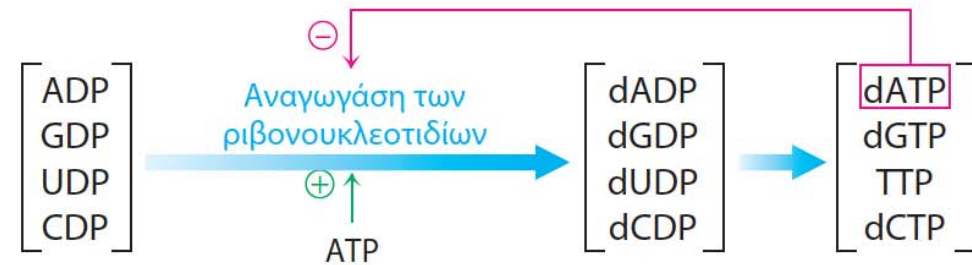
Αλλοστερικοί τροποποιητές



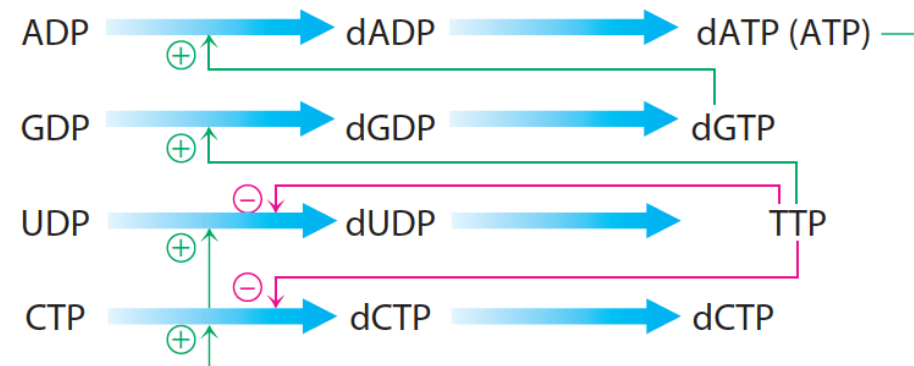




(B) Ρύθμιση της συνολικής δραστηριότητας

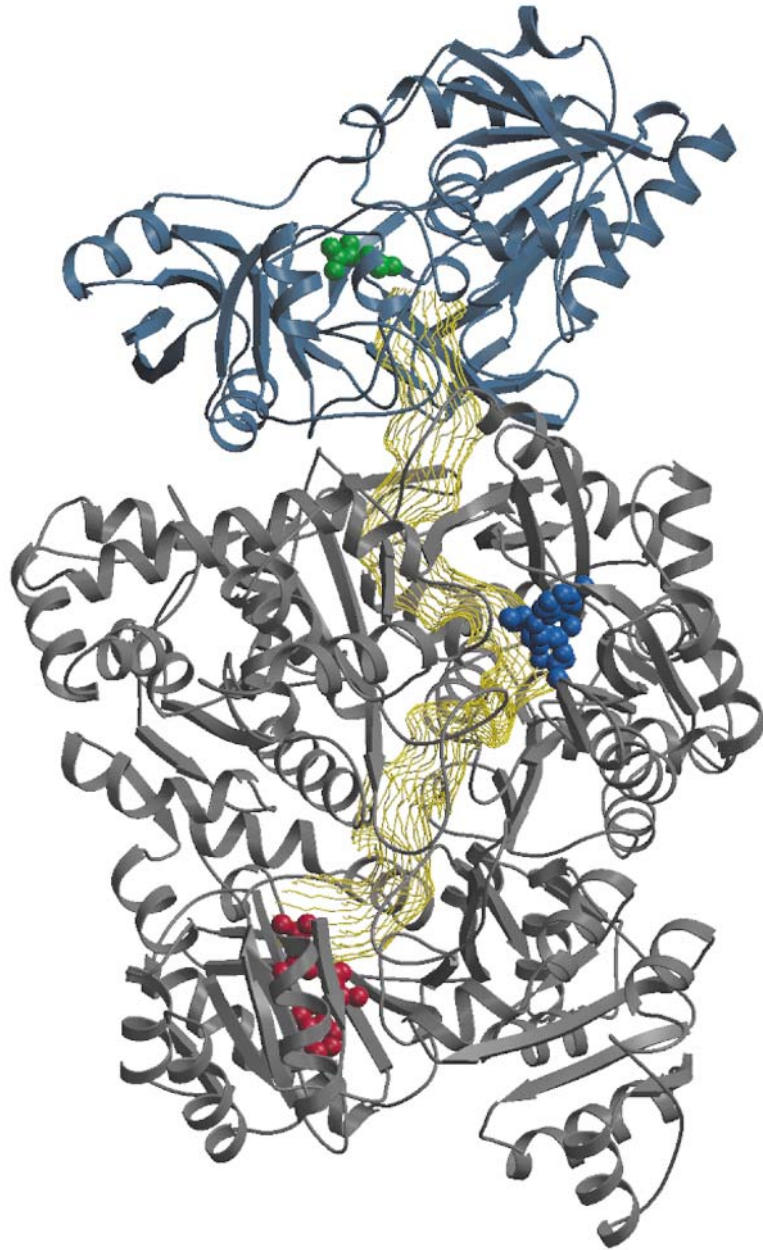


Ρύθμιση της εξειδίκευσης υποστρώματος



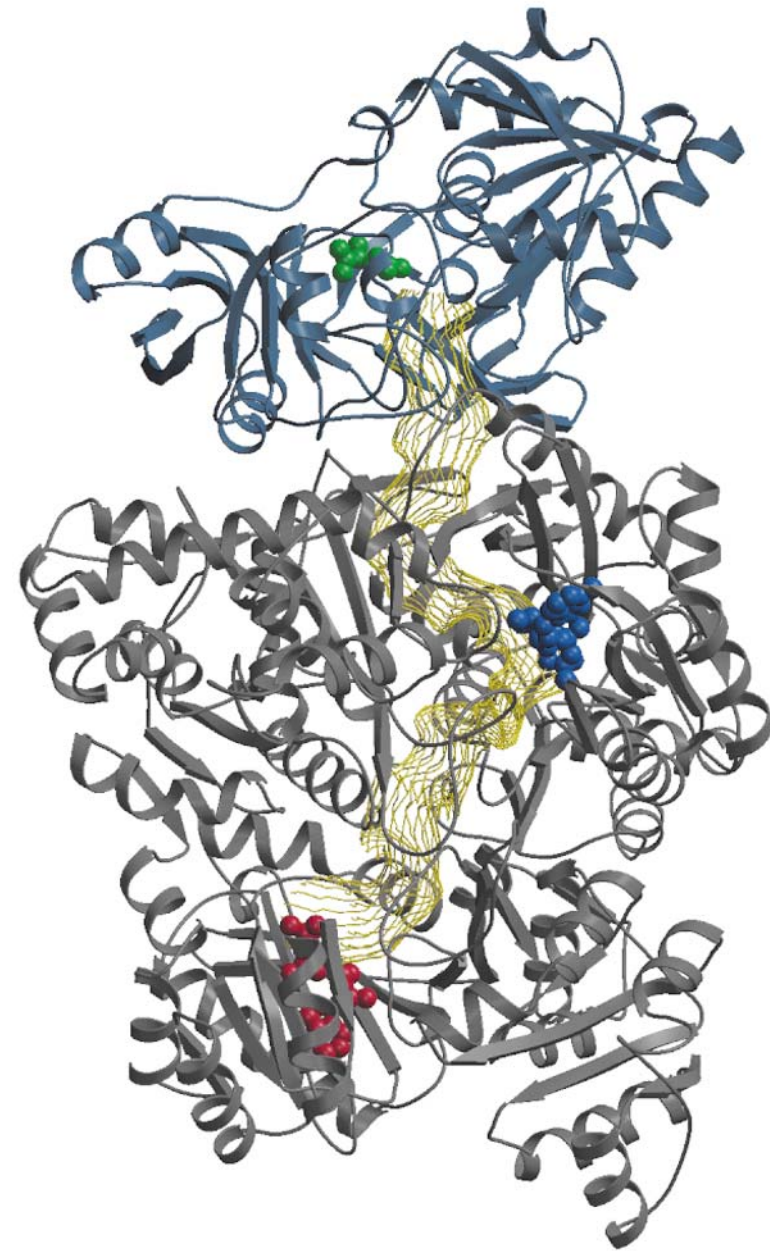
**Εικόνα 25.16 Η ρύθμιση της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων.** (A) Κάθε υπομονάδα του διμερούς R1, εκτός από το ενεργό κέντρο περιέχει και δύο αλλοστερικές θέσεις. Η μία θέση ρυθμίζει τη συνολική δραστηριότητα και η άλλη την εξειδίκευση υποστρώματος. (B) Τα σχήματα ρύθμισης που εμφανίζει η αναγωγή των ριβονουκλεοτιδίων σε σχέση με τους διάφορους διφωσφορικούς νουκλεοζίτες.

- Κάθε μία από τις δύο πολυπεπτιδικές αλυσίδες της υπομονάδας R1 έχει δύο αλλοστερικές θέσεις δέσμευσης.
- Η μία ρυθμίζει τη συνολική δραστικότητα του ενζύμου ενώ η άλλη ρυθμίζει την πρόσδεση των υποστρωμάτων (εξειδίκευση).
- Η συνολική δραστικότητα της αναγωγής των ριβονουκλεοτιδίων αναστέλλεται από dATP που είναι σήμα ύπαρξης αφθονίας dNTPs.
- Πρόσδεση ATP αντιστρέφει αυτή την αναστολή με επανατροφοδότηση.

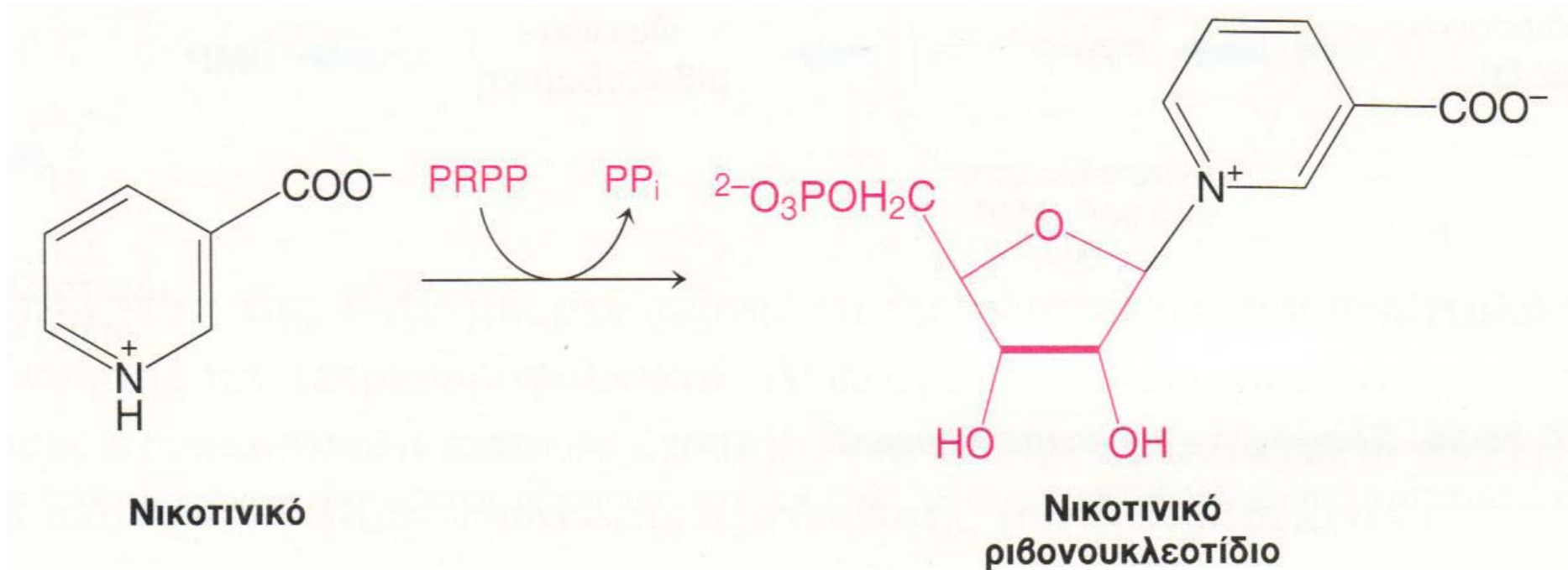


Όσον αφορά τις θέσεις που έχουν να κάνουν με την εξειδίκευση του ενζύμου για τα υποστρώματα, πρόσδεση στις αλλοστερικές αυτές θέσεις ATP ή dATP αυξάνει την αναγωγή των πυριμιδίνονουκλεοτιδίων (CDP, UDP).

Πρόσδεση TTP προάγει την αναγωγή GDP και αναστέλλει την περαιτέρω αναγωγή των πυριμιδινονουκλεοτιδίων. Η επικείμενη αύξηση της συγκέντρωσης του dGTP ενεργοποιεί την αναγωγή του ATP σε dATP. Αυτή η πολύπλοκη ρύθμιση επιτρέπει τη διατήρηση της ισορροπίας των επιπέδων των τεσσάρων ριβονουκλεοτιδίων που απαιτούνται για τη σύνθεση του DNA.

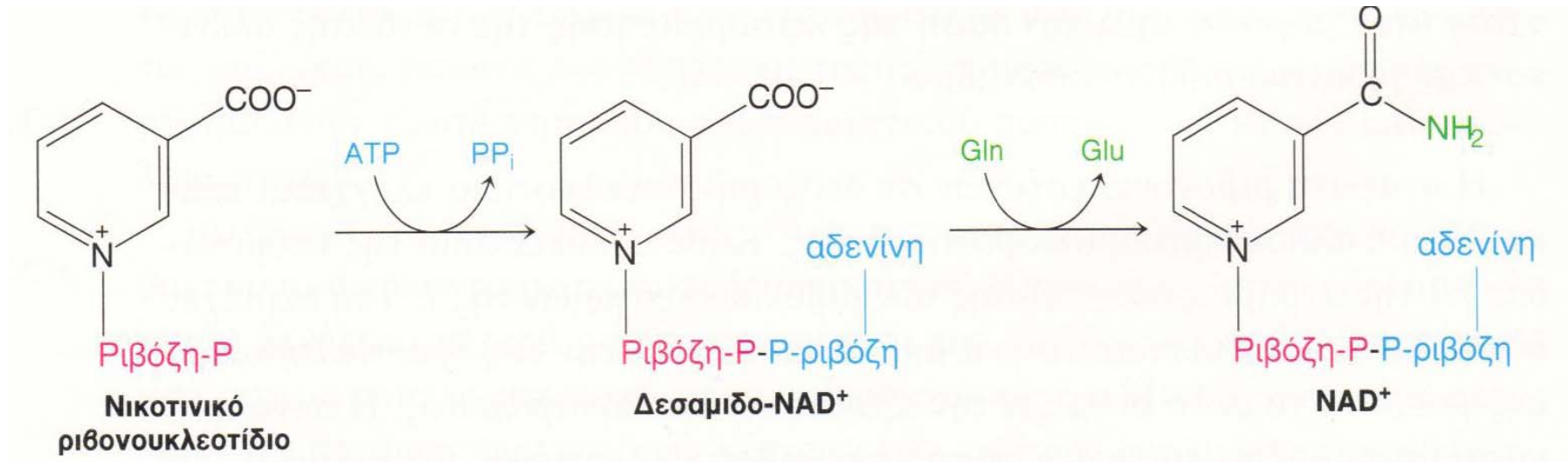


# Βιοσύνθεση NAD



Το νικοτινικό προέρχεται από την τρυπτοφάνη και με προσθήκη PRPP μετατρέπεται σε νικοτινικό ριβονουκλεοτίδιο

# Βιοσύνθεση NAD

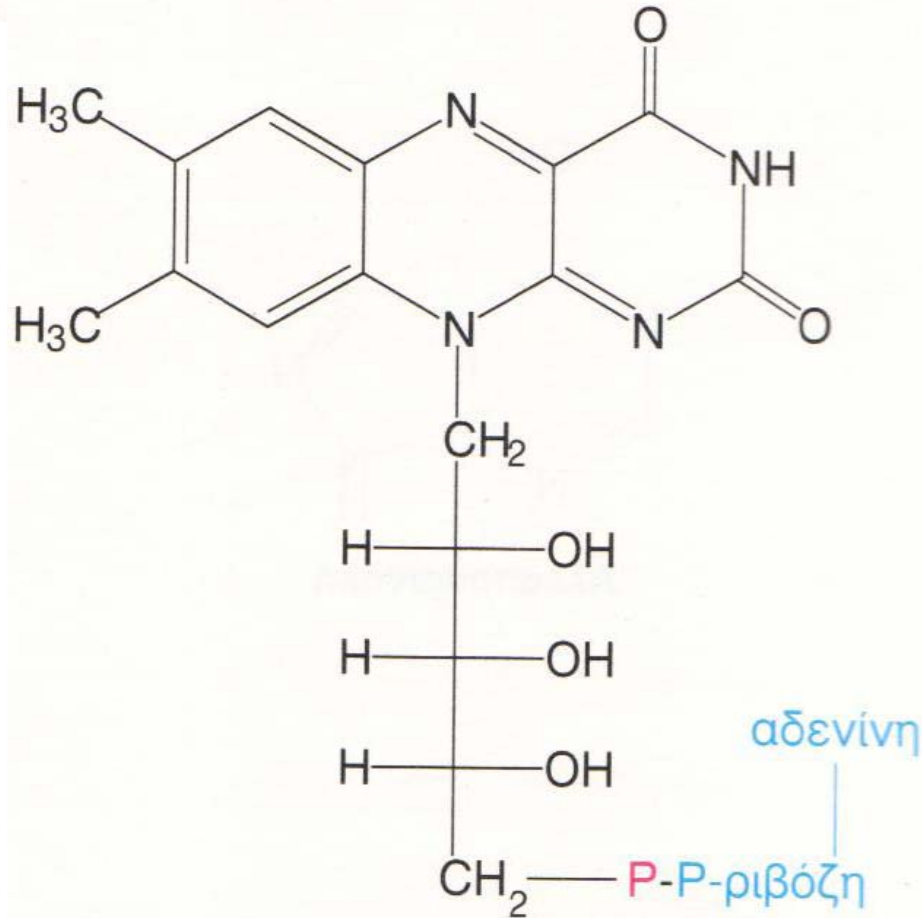


*Το  $\text{NADP}$  προέρχεται από τη φωσφορυλίωση του  $\text{NAD}$  από την κινάση του  $\text{NAD}$*

# Βιοσύνθεση FAD

Ριβοφλαβίνη + ATP  $\longrightarrow$  5'-φωσφορική ριβοφλαβίνη + ADP

5'-φωσφορική ριβοφλαβίνη + ATP  $\longrightarrow$  φλαβινοαδενοδινουκλεοτίδιο + PP<sub>i</sub>



Φλαβινοαδενοδινουκλεοτίδιο  
(FAD) μονάδας

Η μονάδα AMP του συνένζυμου A προέρχεται επίσης από την ATP.

Κοινό χαρακτηριστικό της βιοσύνθεσης NAD, FAD και CoA είναι η μεταφορά της μονάδας AMP της ATP στη φωσφορική ομάδα ενός φωσφορυλιωμένου ενδιάμεσου μορίου.

Το πυροφωσφορικό που σχηματίζεται από τις συντήσεις υδρολύεται στη συνέχεια σε ορθοφωσφορικό.

Η περισσότερη από τη θερμοδυναμική κινητήρια δύναμη προέρχεται από την υδρόλυση του ελευθερούμενου πυροφωσφορικού.



# Αποικοδόμηση νουκλεοτιδίων

- **Νουκλεοτιδάσες:**

- Νουκλεοτίδια  $\longrightarrow$  νουκλεοζίτες

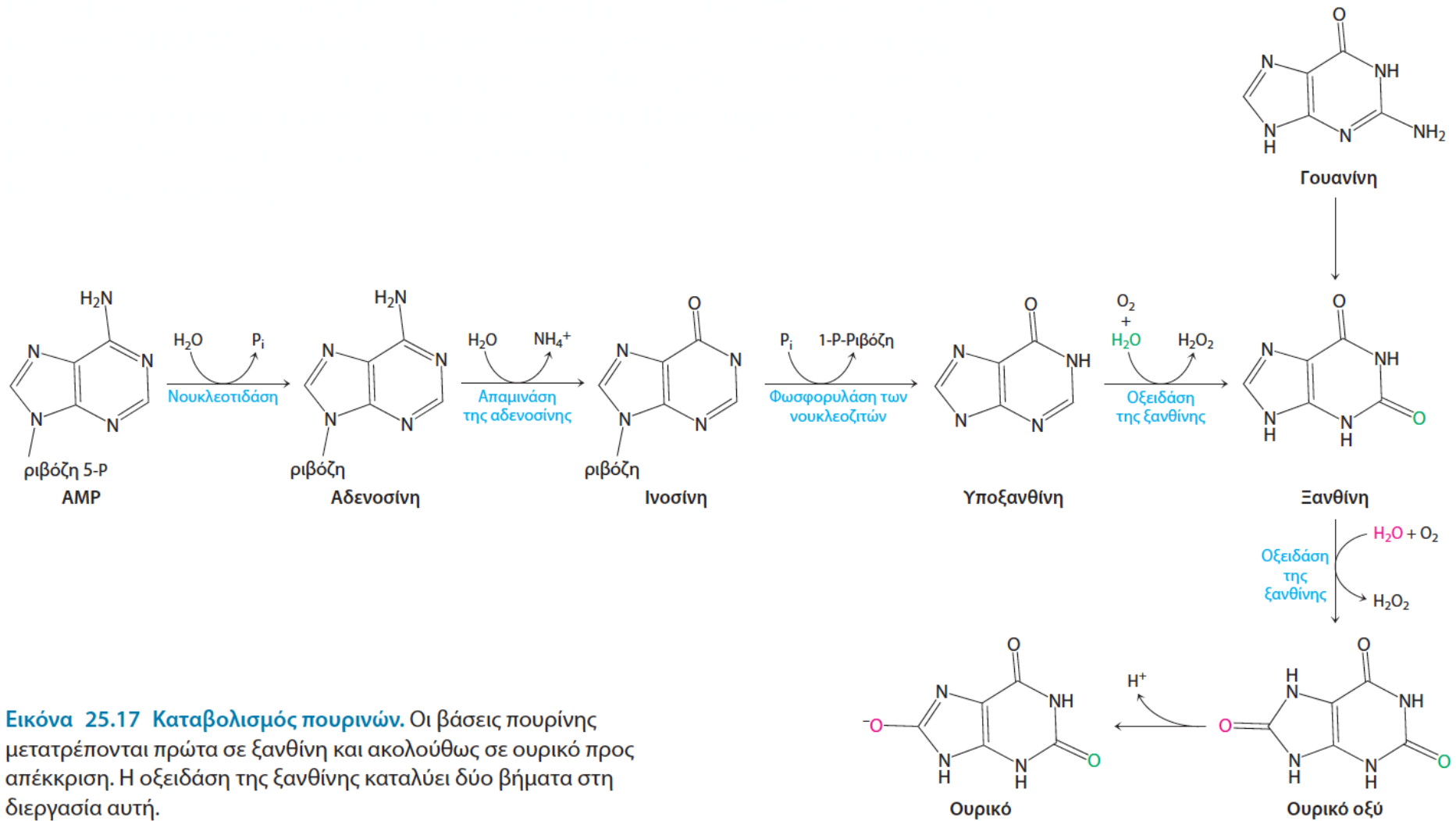
- **Φωσφορυλάσες νουκλεοζιτών:**

- Νουκλεοζίτες  $\longrightarrow$  βάσεις + 1-P-ριβόζη

- **Μουτάση της φωσφοριβόζης:**

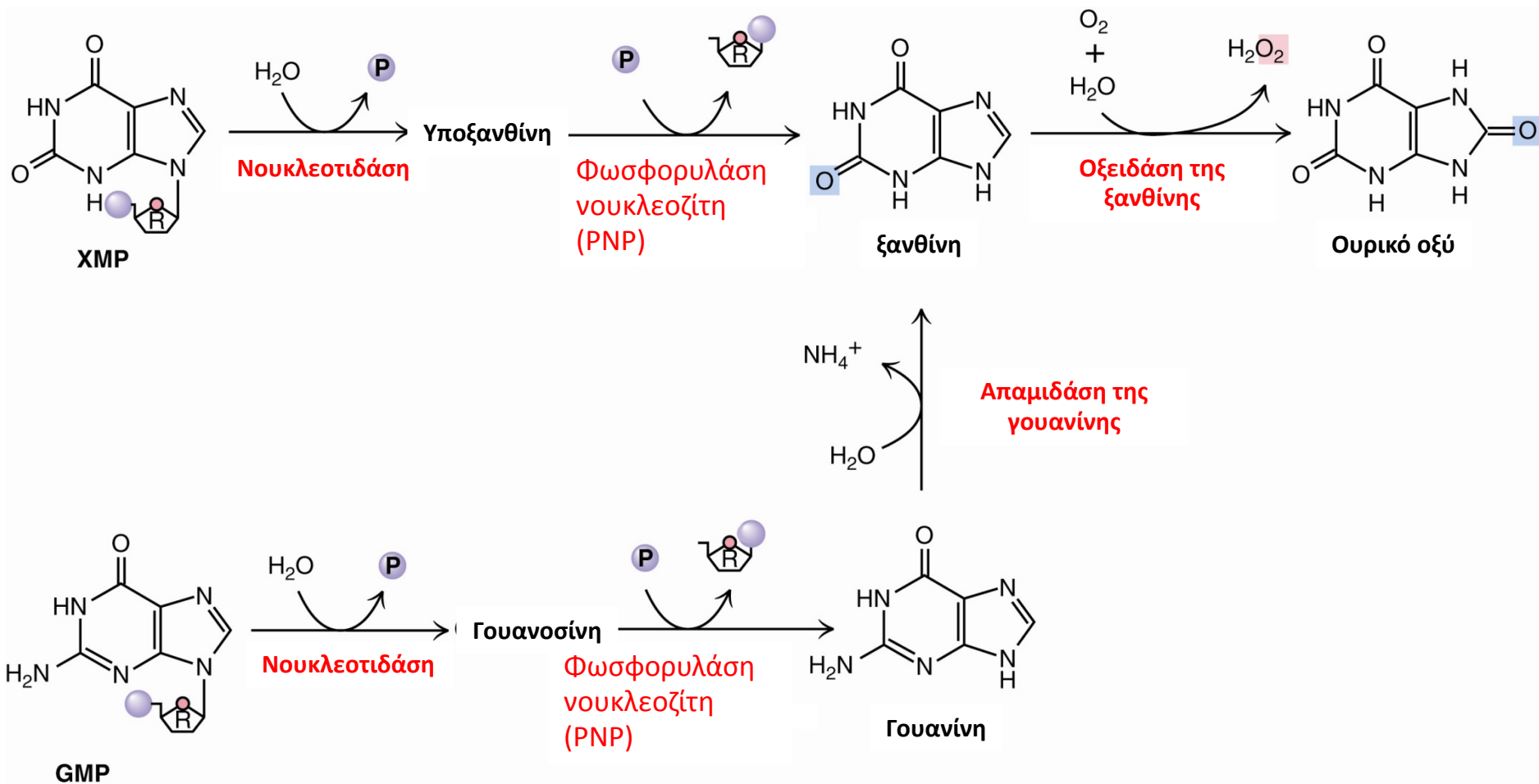
- 1-P-ριβόζη  $\longrightarrow$  5-P-ριβόζη

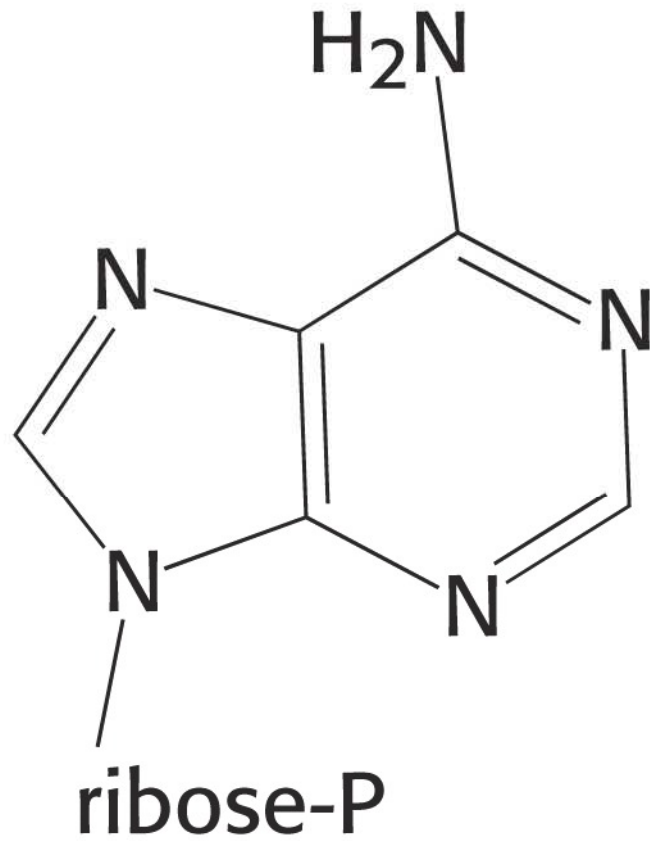
# Οι πουρίνες καταβολίζονται προς ουρικό οξύ



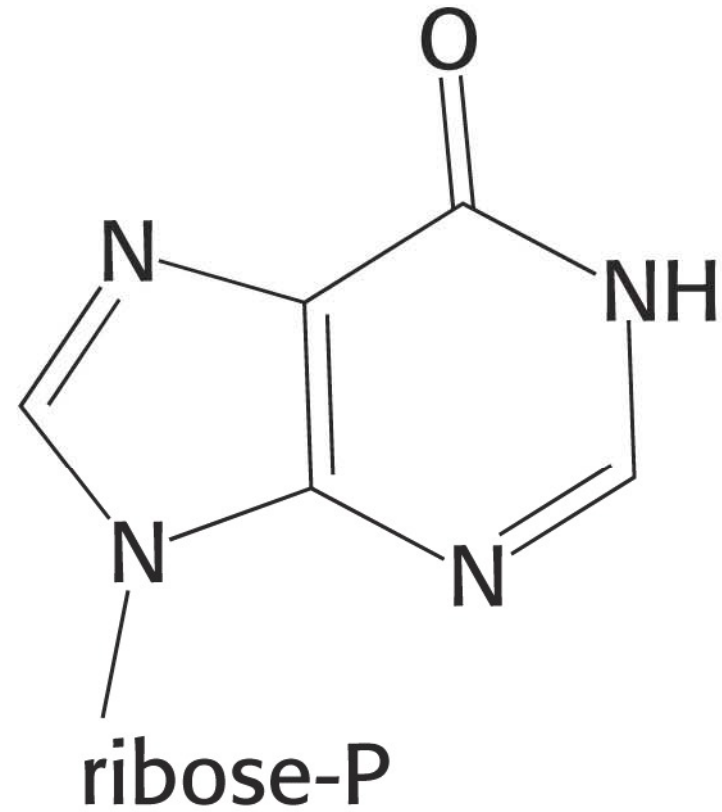
**Εικόνα 25.17 Καταβολισμός πουρινών.** Οι βάσεις πουρίνης μετατρέπονται πρώτα σε Ξανθίνη και ακολούθως σε ουρικό προς απέκκριση. Η οξειδάση της Ξανθίνης καταλύει δύο βήματα στη διεργασία αυτή.

# Οι πουρίνες καταβολίζονται προς ουρικό οξύ

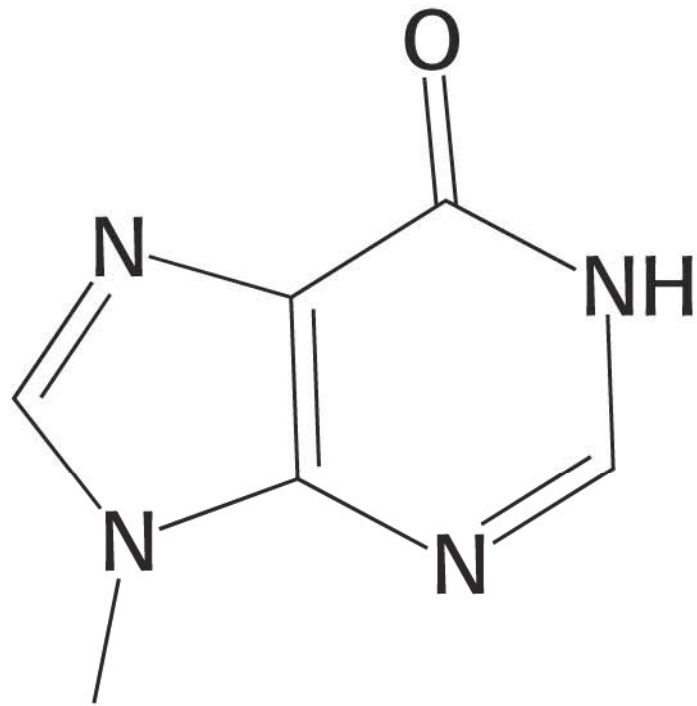




**AMP**

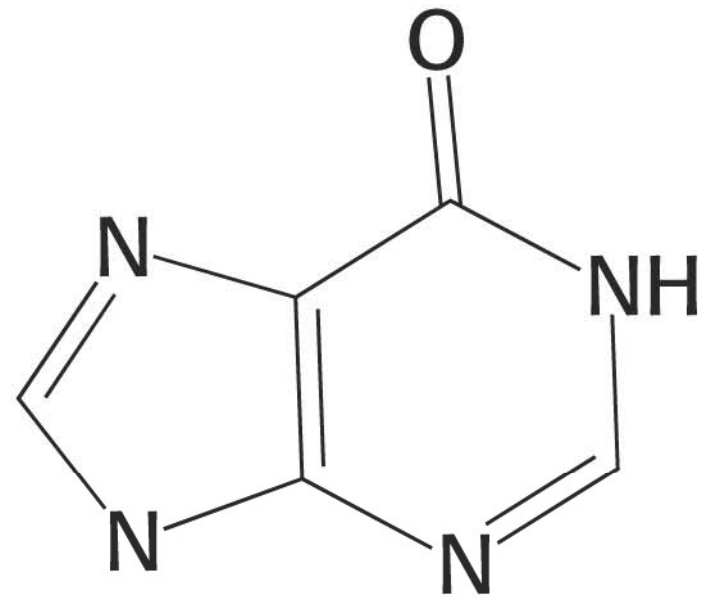


**IMP**

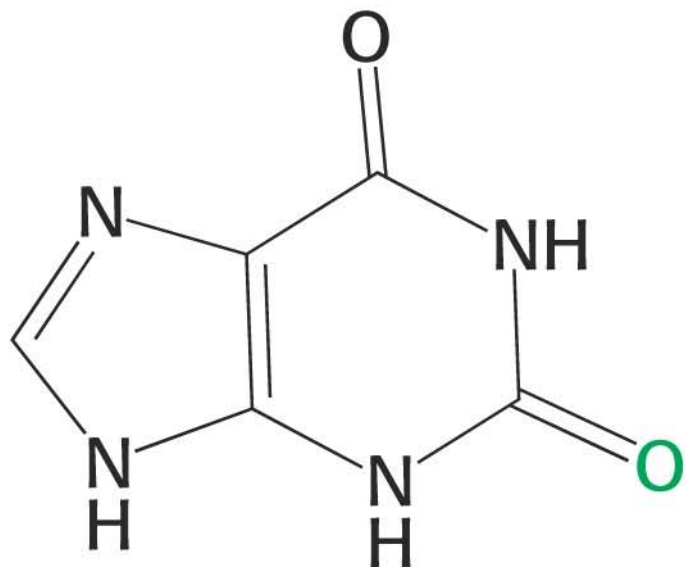


ribose-P

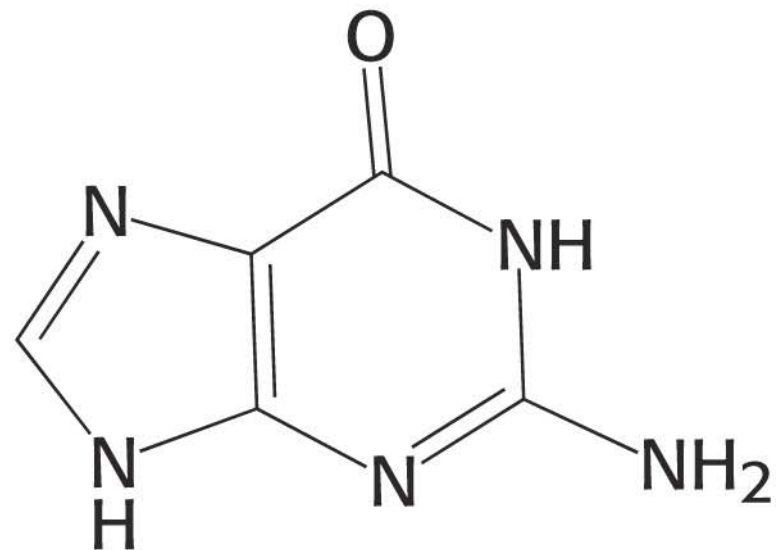
**IMP**



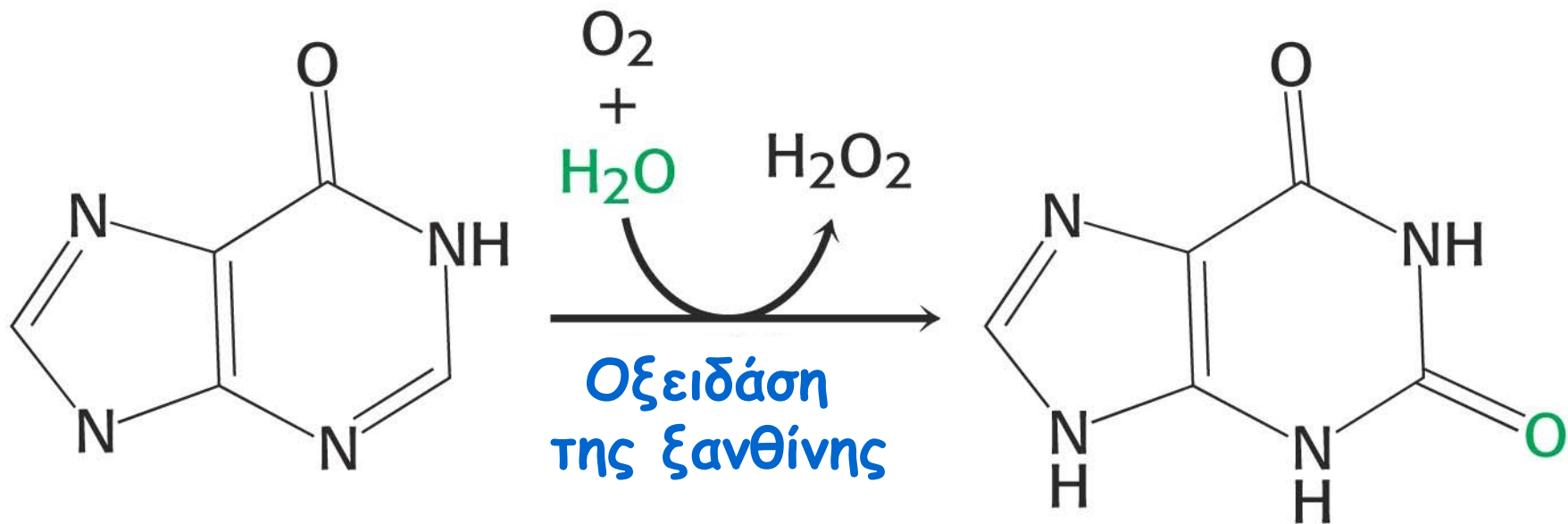
**Υποξανθίνη**



**Ξανθίνη**



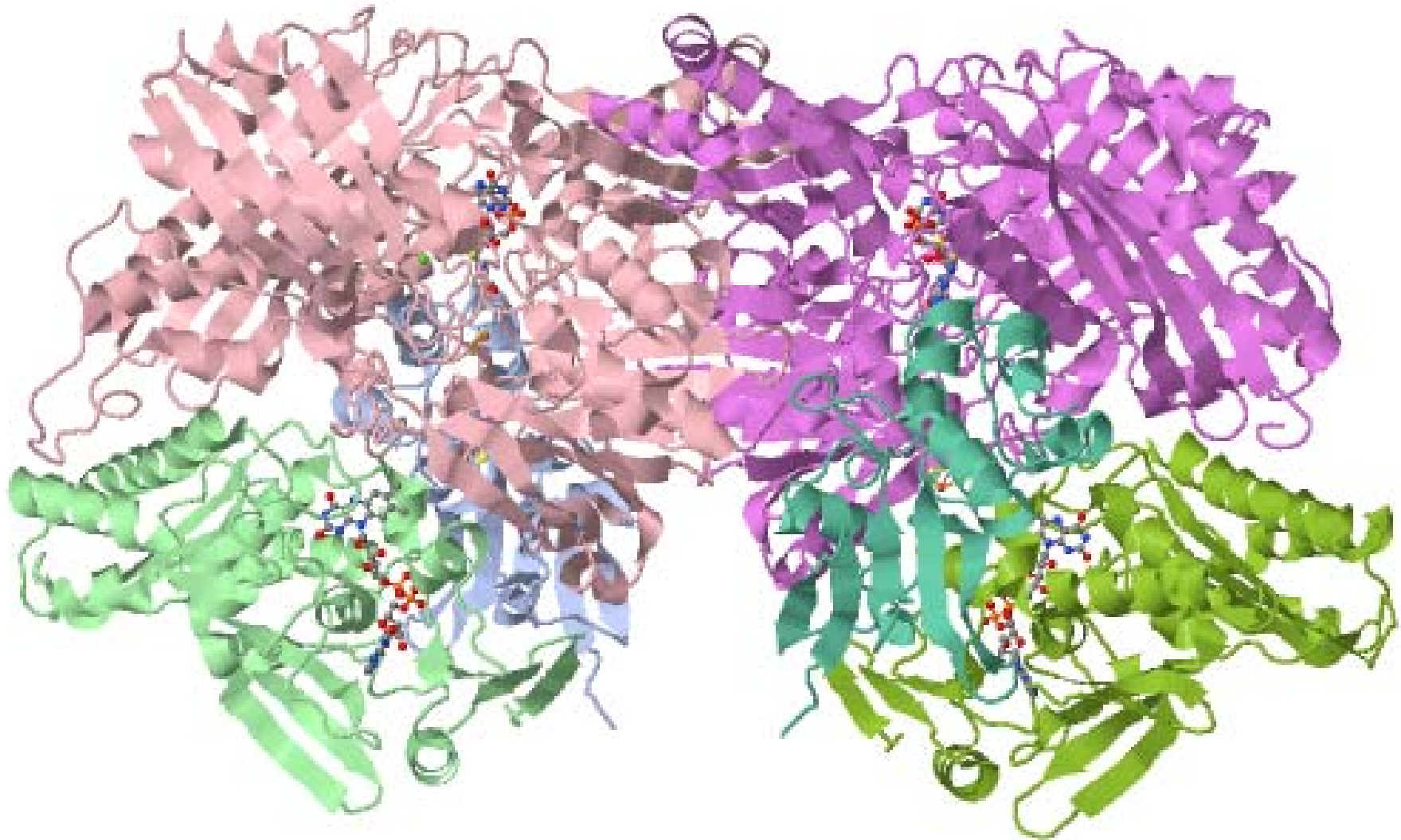
**Γουανίνη**



**Υποξανθίνη**

**Ξανθίνη**

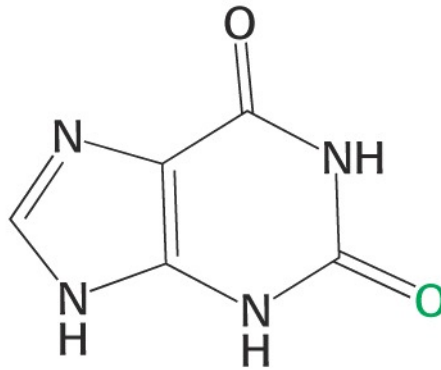
# Οξείδωση της ξανθίνης



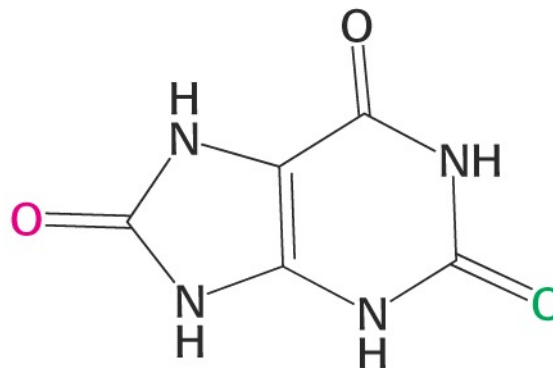


□ Η οξειδάση της ξανθίνης είναι μία φλαβοπρωτεΐνη που περιέχει μολυβδαίνιο και σίδηρο και οξειδώνει την υποξανθίνη προς ξανθίνη και στη συνέχεια προς ουρικό οξύ.

□ Το μοριακό οξυγόνο είναι ο οξειδωτικός παράγοντας και στις δύο αντιδράσεις, ανάγεται προς  $H_2O_2$ , το οποίο αποσυντίθεται προς  $H_2O$  και  $O_2$  από την καταλάση.



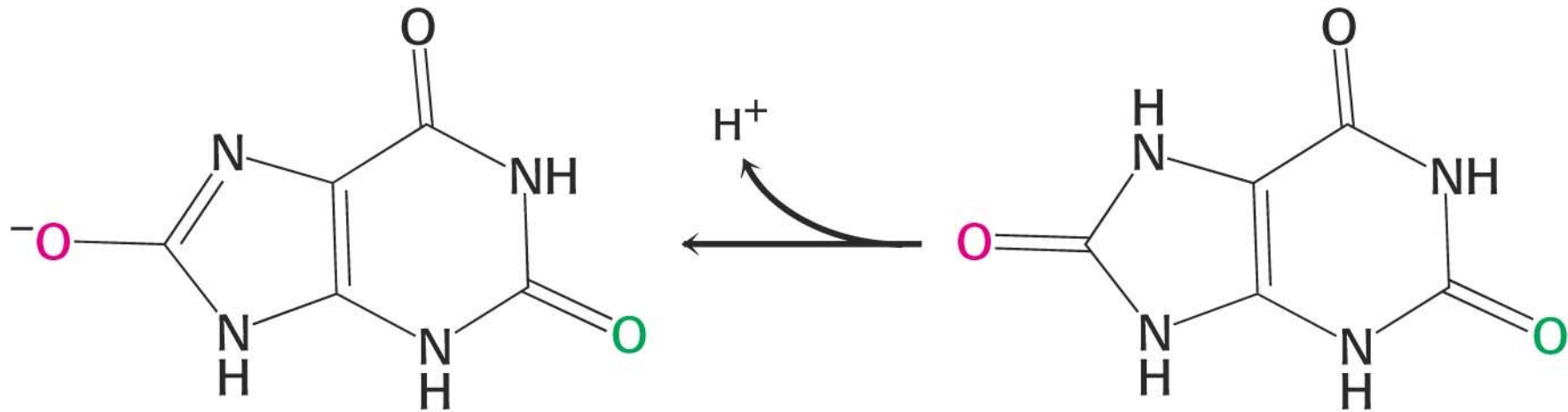
## Ξανθίνη



## Ουρικό οξύ

Δ.Δ. Λεωνίδας

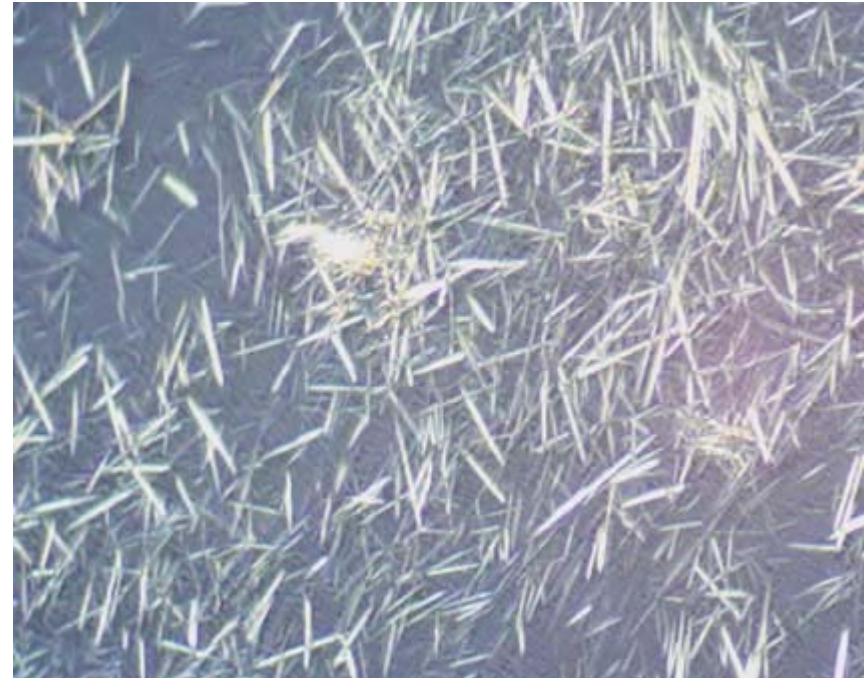
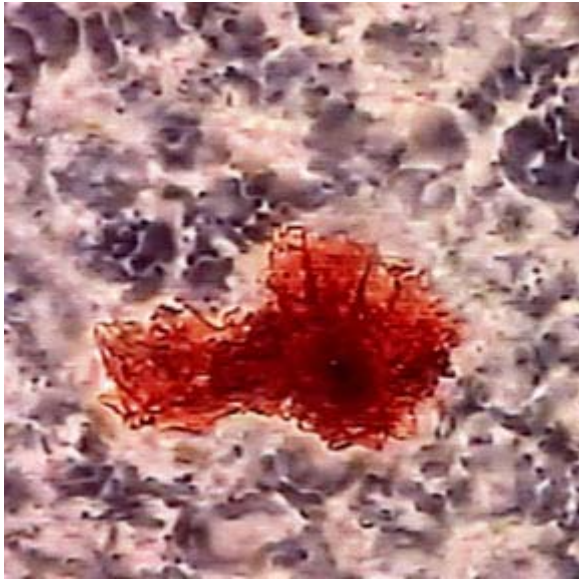
Το ουρικό οξύ χάνει ένα πρωτόνιο σε συνθήκες φυσιολογικού pH για να σχηματιστεί ουρικό ιόν.



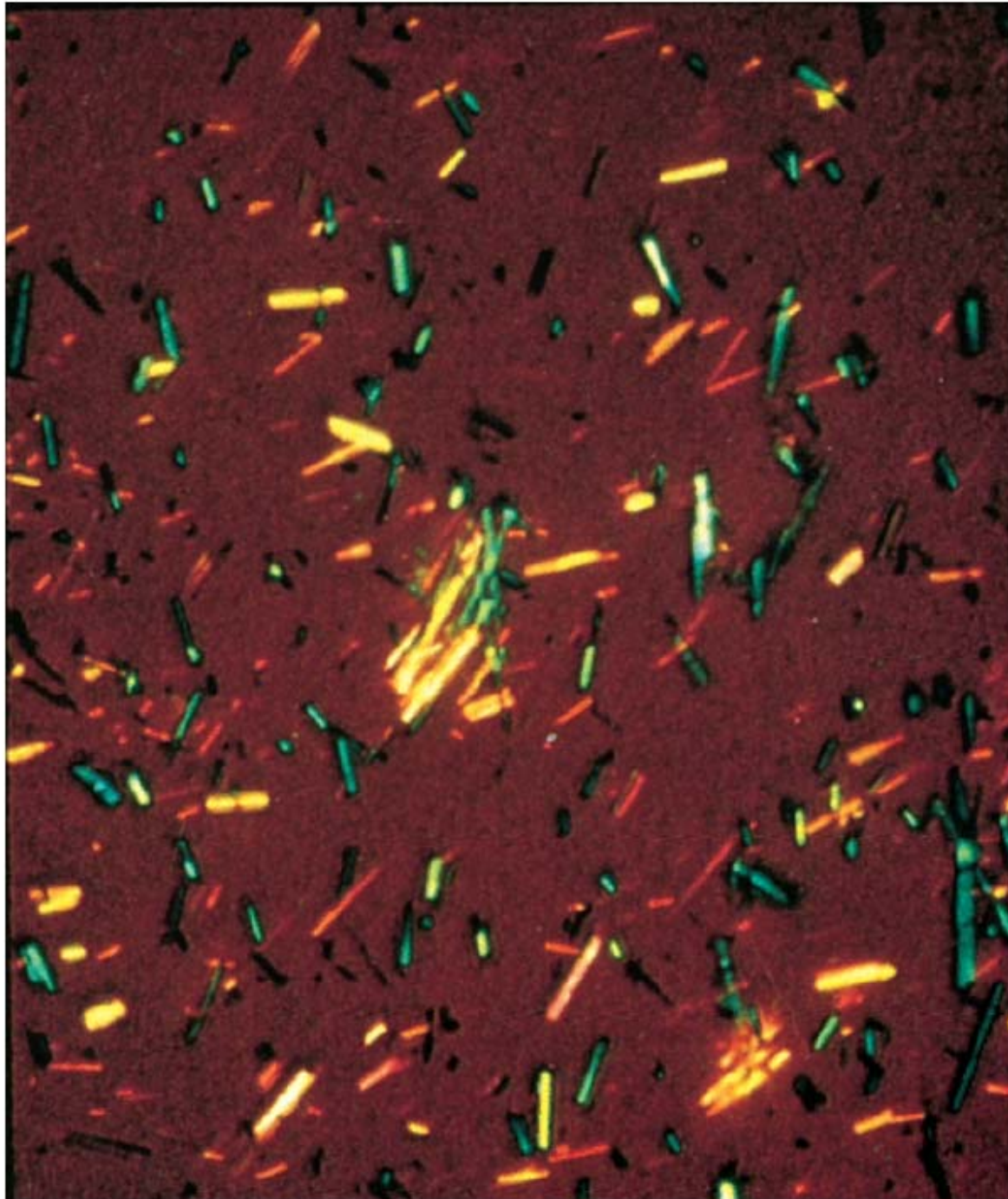
**Ουρικό ιόν**

**Ουρικό οξύ**

Στον άνθρωπο το ουρικό ιόν είναι το τελικό προϊόν της αποικοδόμησης πουρινών και απεκκρίνεται με τα ούρα.



Το μέσο επίπεδο του ουρικού στον ορό του ανθρώπου είναι κοντά στο όριο διαλυτότητας

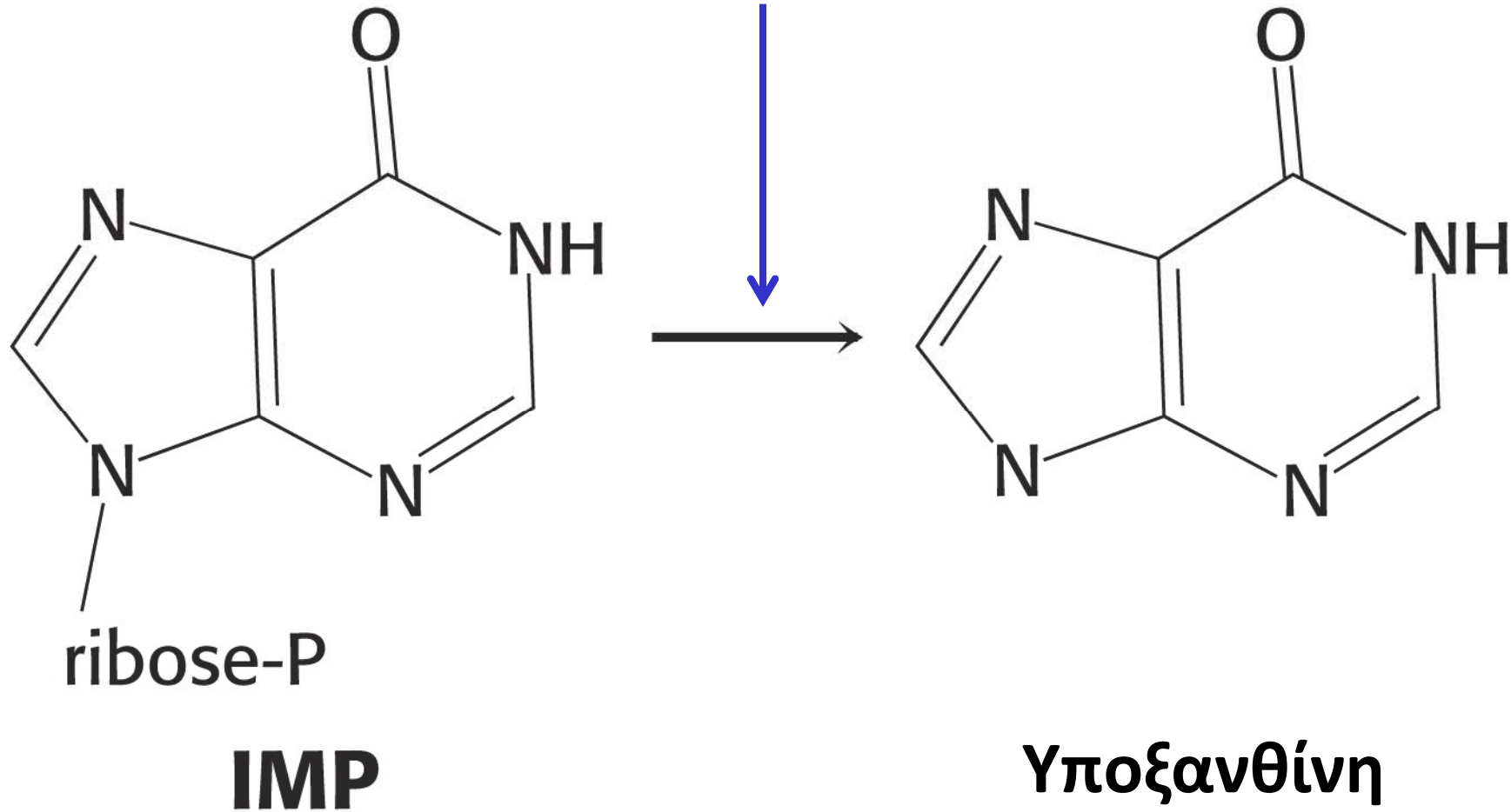


27/2/2015

# Οι πυριμιδίνες καταβολίζονται σε β-αμινοξέα, $\text{NH}_3$ και $\text{CO}_2$

- Η κυτοσίνη απαμινώνεται σε ουρακίλη
- Η ουρακίλη διασπάται σε β-αλανίνη
- Η θυμίνη καταβολίζεται σε β-άμινο-ισοβουτυρικό που αποτελεί δείκτη αποικοδόμησης πυριμιδινών

φωσφο-ριβοζυλο-τρανσφεράση  
της υποξανθίνης



Στο σύνδρομο Lesch-Nyhan η σχεδόν παντελής απουσία της φωσφο-ριβοζυλο-τρανσφεράσης υποξανθίνης (hGPRT) έχει δραματικές συνέπειες: καταναγκαστική συμπεριφορά αυτοκαταστροφής.

Τα παιδιά με τη νόσο αυτή σε ηλικία 2-3 ετών αρχίζουν να δαγκώνουν τα δάκτυλα και τα χείλη τους και μπορούν να τα μασήσουν τελείως εάν δεν εμποδιστούν ενώ είναι βίαια έναντι άλλων. Άλλα χαρακτηριστικά της νόσου είναι η νοητική καθυστέρηση και η σπαστικότητα.