

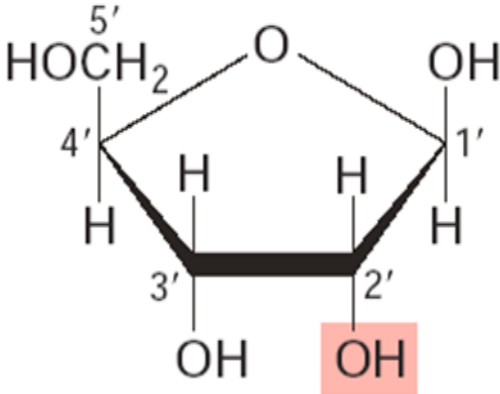
NK

Nukleové kyseliny

- Nukleové kyseliny hrají v našem těle velice důležitou roli – molekuly DNA **uchovávají** genetickou informaci (využívají k tomu proces zvaný **replikace**) a molekuly
- RNA zajišťují **vyjádření** této informace (nejprve pomocí přepisu a následně pomocí translace). O jednotlivých procesech se budeme bavit podrobněji v dalších částech této kapitoly.
- Nejprve se ale zaměříme na strukturu nukleových kyselin.
- Základními stavebními jednotkami nukleových kyselin jsou **nukleotidy**. Ty se skládají z **pentosy** (ribosy nebo deoxyribosy), **fosfátu** a **báze** (purinové nebo pyrimidinové).

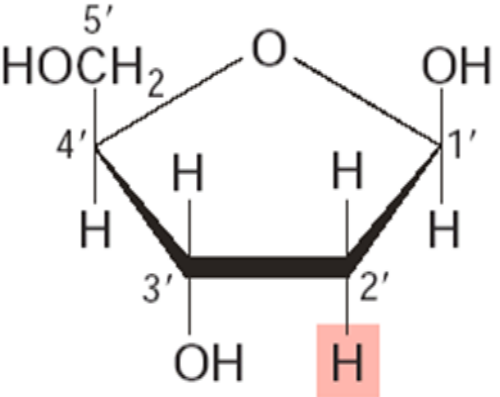
Rozdílné pentózy RNA & DNA

RNA



Ribose

DNA

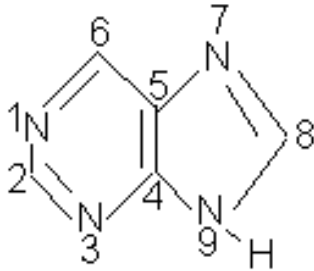


2-Deoxyribose

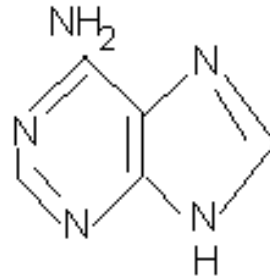
Uhlíky cukrů mají hlavní čísla pro odlišení od atomů bazí

Puriny & Pyrimidiny

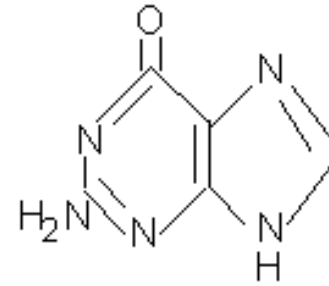
Purines



purine

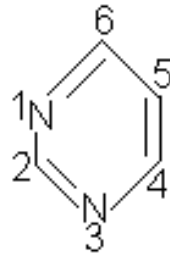


adenine

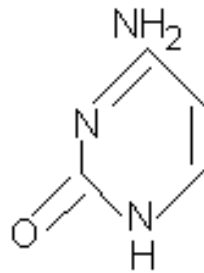


guanine

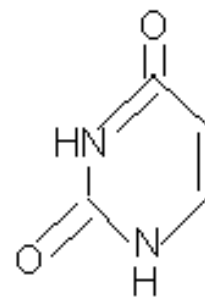
Pyrimidines



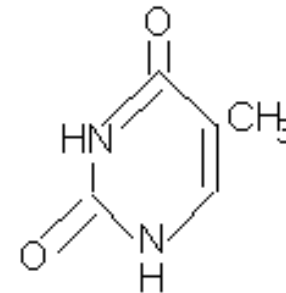
pyrimidine



cytosine



uracil

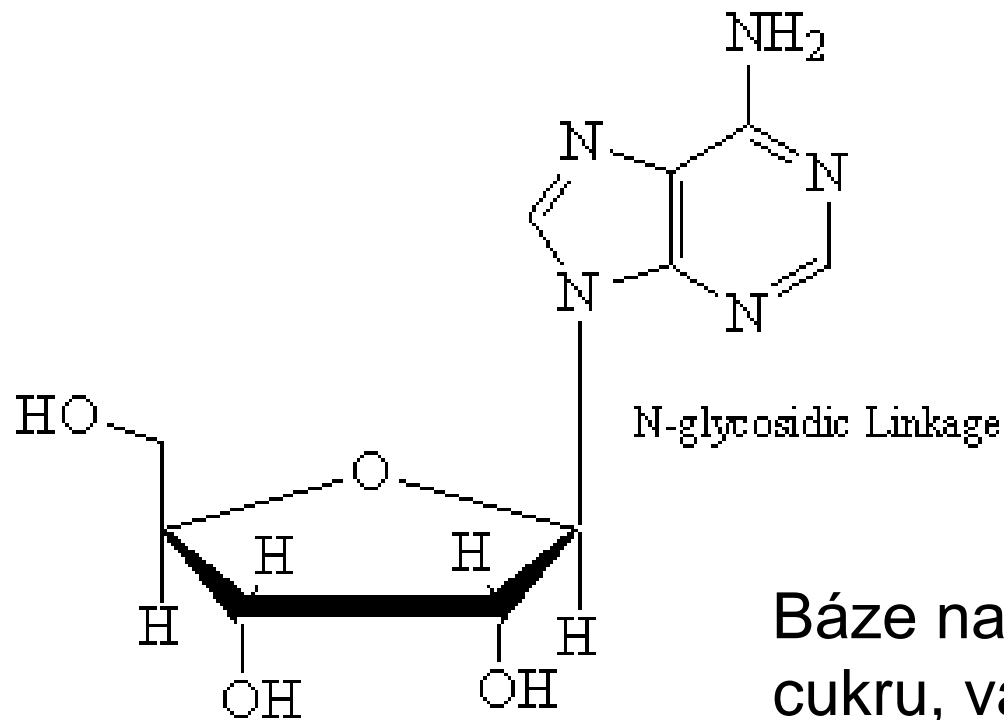


thymine

RNA

DNA

Spojení cukr - báze



Adenosine

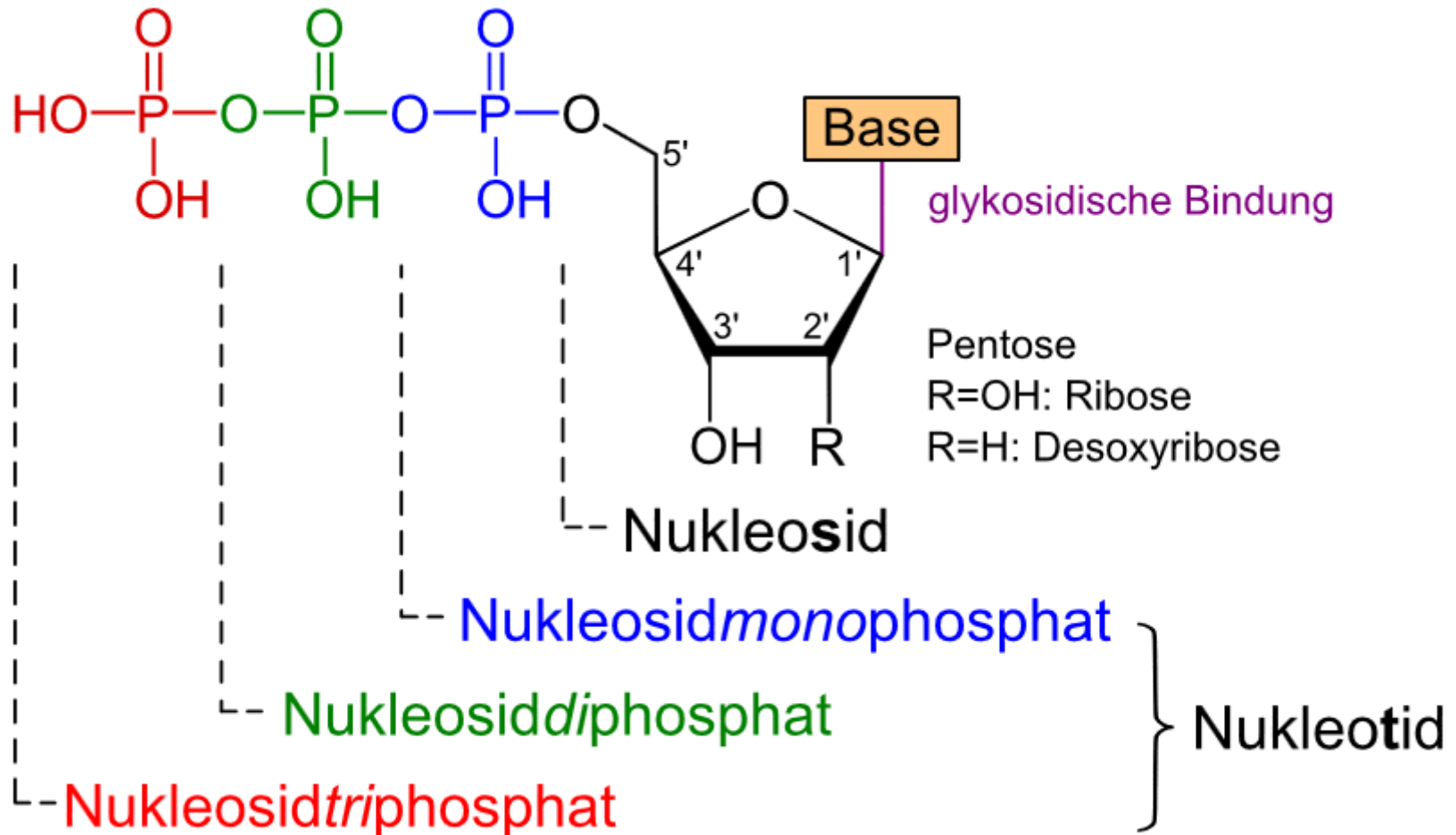
Nucleotides. [online]. [cit. 2014-07-23]. Dostupné z: <http://homepages.rpi.edu/~bellos/nucleotides.htm>

Nucleosid

RNA: adenosin, guanosin, cytidin, & uridin

DNA: deoxyadenosin, deoxyguanosin, deoxycytidin, & thymidin

Základní struktura NK



File:Nucleotide nucleoside general.svg. [online]. 5.9.2013 [cit. 2014-07-23]. Dostupné z: http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Nucleotide_nucleoside_general.svg

Biosyntéza purinových a pyrimidinových nukleotidů

- Všechny buňky potřebují ribonukleosidy, deoxyribonukleosidy a jejich fosfáty
- Purinové a pyrimidinové báze přijaté potravou (nukleoproteiny) prakticky nejsou využívány pro syntézu
- **Syntéza** purinových a pyrimidinových nukleotidů je koordinována

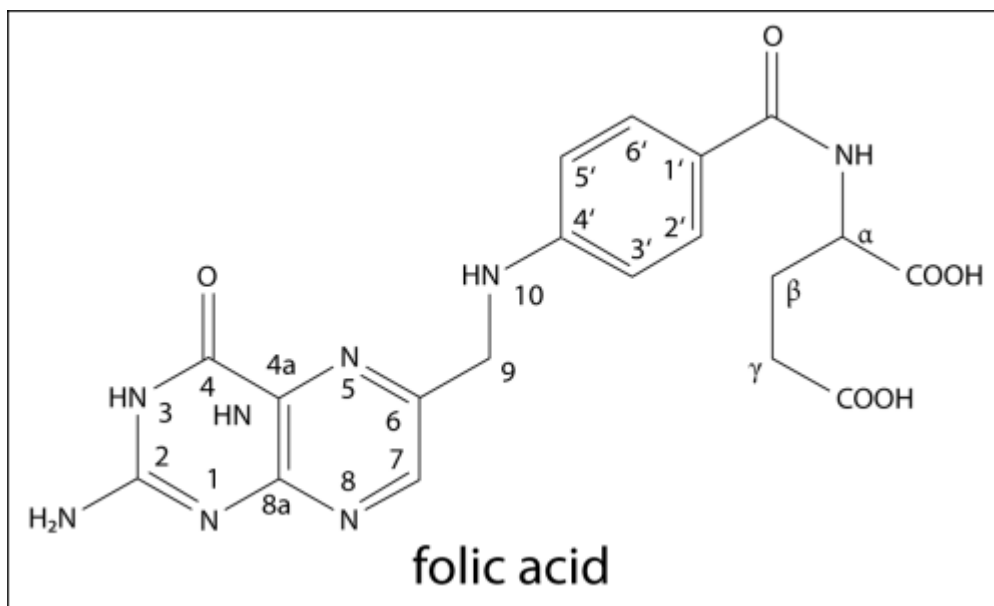
Látky potřebné pro syntézu nukleotidů

- Pro tuto syntézu jsou velmi důležité tři sloučeniny:
- **tetrahydrofolát (esenciální kys.listová)**
- **glutamin**
- **PRPP – fosforibosyldifosfát**

Význam kyseliny listové pro syntézu bází

Folát

Listová zelenina, játra,
kvasnice, žloutek



Kyselina listová - ordinace-lekarny.cz. [online]. [cit. 2014-08-27]. Dostupné z:
http://www.ordinace-lekarny.cz/clanky/Kyselina_Listova.html

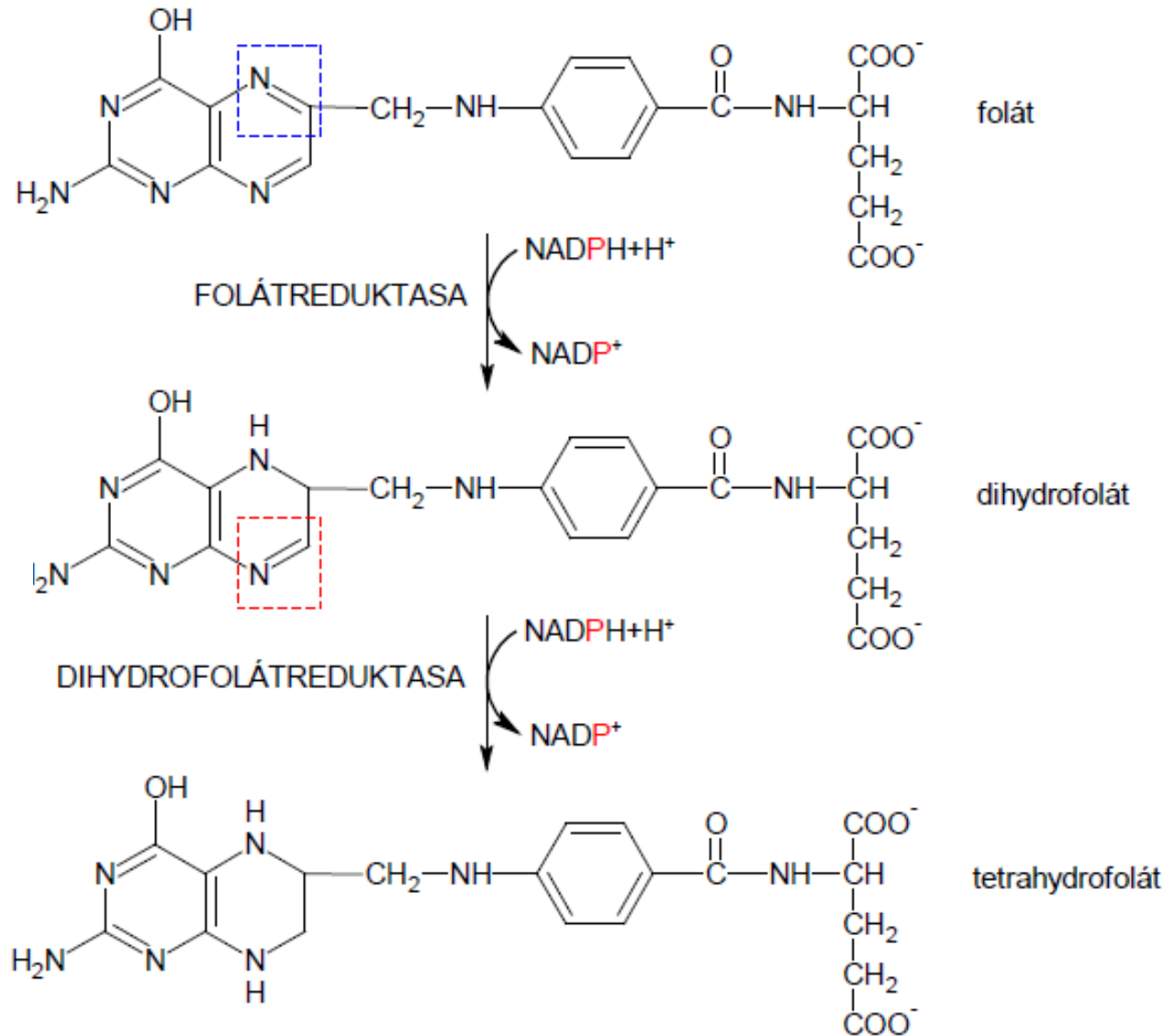
Účinnou formou v organismu člověka je tetrahydrofolát

Vznik tetrahydrofolátu

DEHYDOGENACE

(dihydro)folát
reduktasa

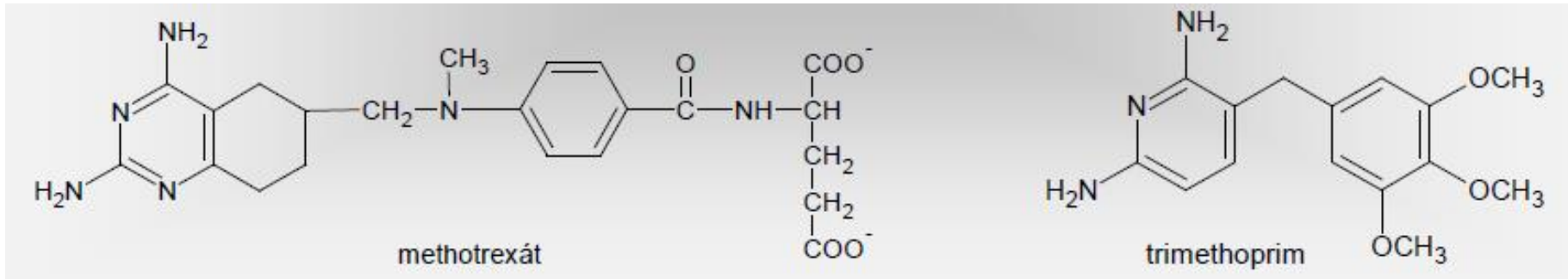
(u živočichů
a některých
mikroorganismů,
katalyzuje obě
reakce)



Inhibitory (dihydro)folátreduktasy:

Methotrexát (protinádorové léčivo)

Trimethoprim (bakteriostatikum)



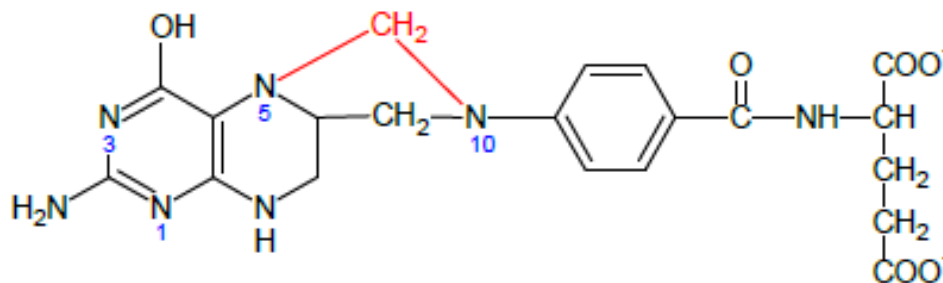
NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 267.

Enzym **(dihydro)folátreduktasa** je velice důležitý pro syntézu tetrahydrofolátu a vznikající tetrahydrofolát je velice důležitý pro syntézu nukleotidů (bez jeho činnosti nevznikají). Nukleotidy jsou zase potřeba pro syntézu DNA, která je jedním z procesů probíhajících v buněčném cyklu (S-fáze). **Některé léky inhibují činnost tohoto enzymu a tím zabraňují množení buněk** – toho se využívá:

- v **protinádorových léčivech (methotrexát)**
- v léčivech **antibakteriálních (trimethoprim; inhibuje bakteriální dihydrofolátreduktasu)**

Využití tetrahydrofolátu

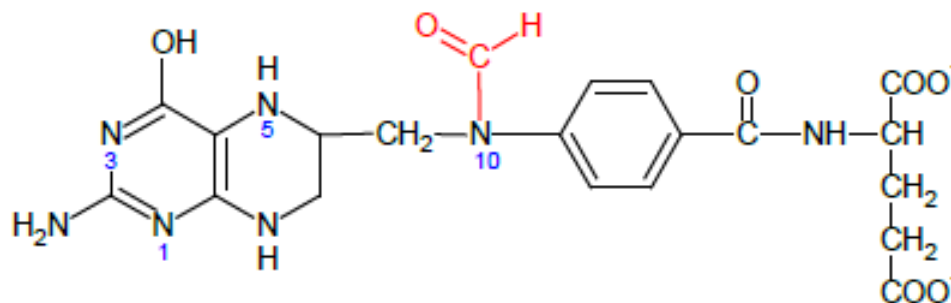
N-5,N-10- methylen H_4F - syntéza thyminu



N-5,N-10-methylen-tetrahydrofolát

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 267.

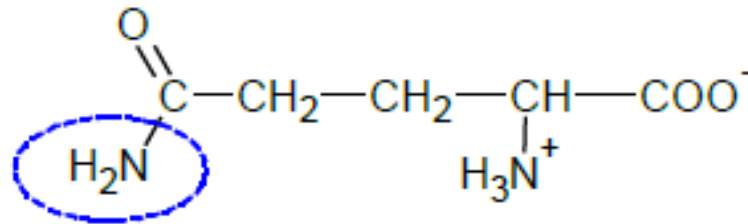
N-10-formyl H_4F - syntéza purinů



N-10-formyl-tetrahydrofolát

Význam glutaminu pro biosyntézu purinů a pyrimidinů

- je donorem aminoskupiny při syntéze purinů i pyrimidinů

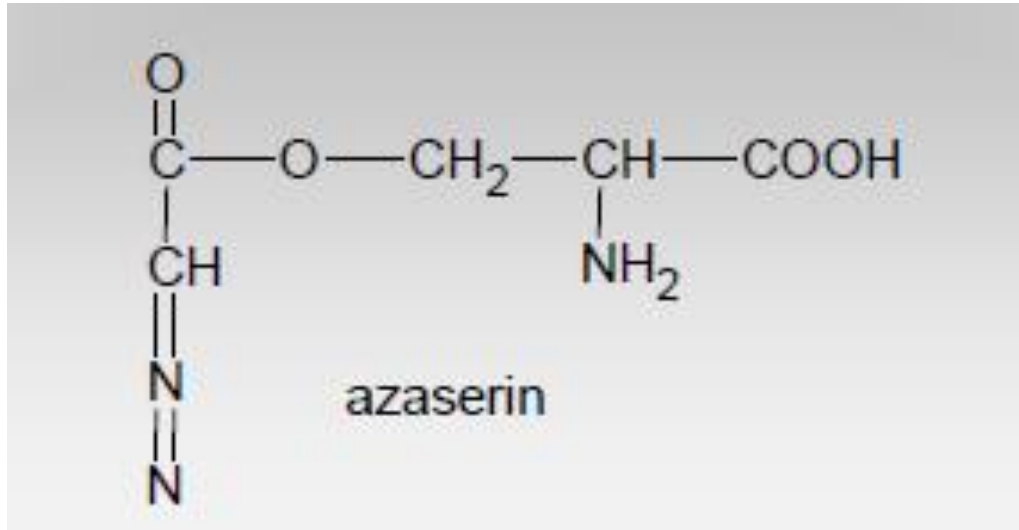


NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 267.

Dělící se buňky potřebují **hodně glutamátu** (aby mohly syntetizovat puriny a pyrimidiny). Přidáním glutaminu do organismu můžeme usnadnit dělení buněk – toho se využívá např. v případě, potřebujeme-li zvýšit počet imunitních buněk. Ovšem přesně opačné činnosti (zamezení příjmu glutamátu) se využívá k zastavení dělení buněk.

Podobného principu využívají některé léčiva, která slouží jako **inhibitory enzymů**, které využívají glutamin (léčiva jsou glutaminu strukturně podobná, obsadí tak aktivní místa enzymů a neumožní glutaminu vstoupit do kostry purinu, či pyrimidinu). Příkladem takové látky je **azaserin**.

Antagonisté glutaminu inhibují syntézu purinů a pyrimidinů



azaserin

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 267.

PRPP - fosforibosyldifosfát

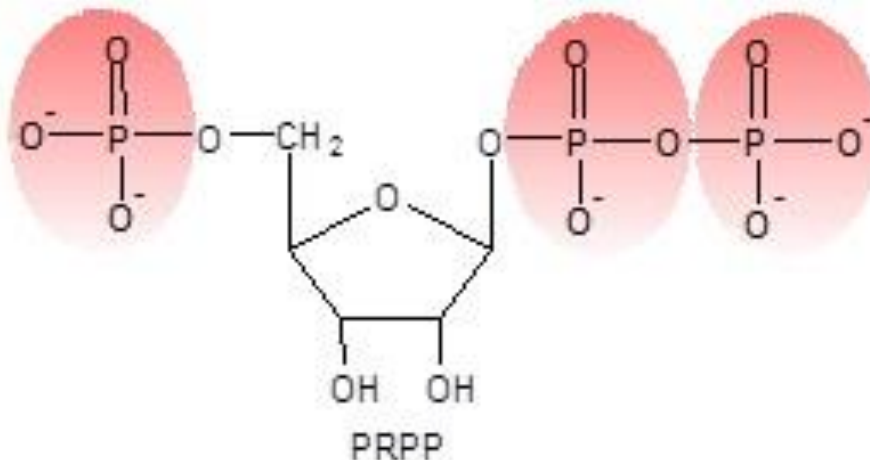
Nezbytný pro syntézu:

purinových nukleotidů

pyrimidinových nukleotidů

NAD⁺, NADP⁺

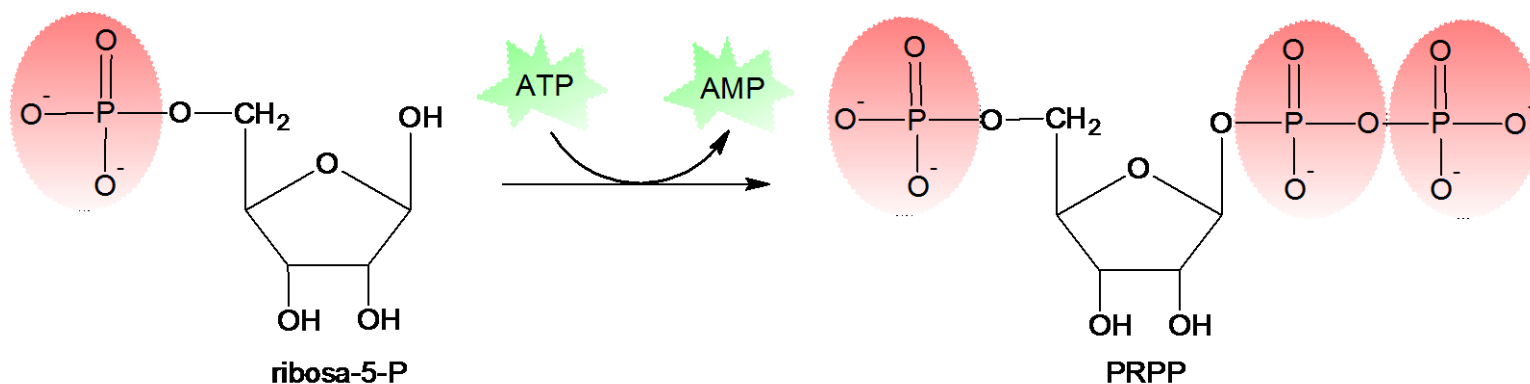
PRPP je nezbytný pro syntézu purinových i pyrimidinových nukleotidů, ale kromě toho také pro syntézu NAD⁺ a NADP⁺.



Syntéza fosforibosyldifosfátu (PRPP)



PRPP-synthetasa



NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 268.

Získáme jej reakcí **ribosa-5-fosfátu** (který jsme získali v pentosovém cyklu) s ATP. ATP předá molekule ribosa-5-P **dva fosfáty** a stane se z něj AMP, ribosa-5-P se přemění na PRPP. O PRPP můžeme říct, že se jedná o **aktivovanou pentosu**.

Reakci katalyzuje enzym **PRPP-synthetasa**.

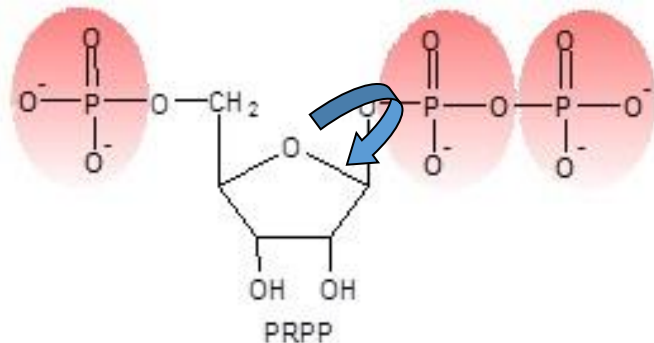
Rozdíly v syntéze purinů a pyrimidinů

Syntéza purinů a pyrimidinů *probíhá jako puzzle* – do molekuly výsledné báze jsou postupně přidávány kousky z jiných molekul, aby nakonec vytvořily požadovanou strukturu.

Rozdíl v syntéze purinů a pyrimidinů **je již v začátku**. Při syntéze purinů je nejprve nasyntetizováno PRPP, na které se následně napojí různé skupiny, které dají základ budoucí bázi, u syntézy pyrimidinů je nejprve vytvořena báze, na kterou se poté naváže ribosa-5-P z PRPP.

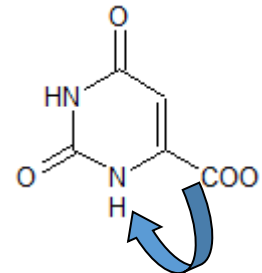
Puriny

Základem PRPP, na něj se postupně navazují další skupiny



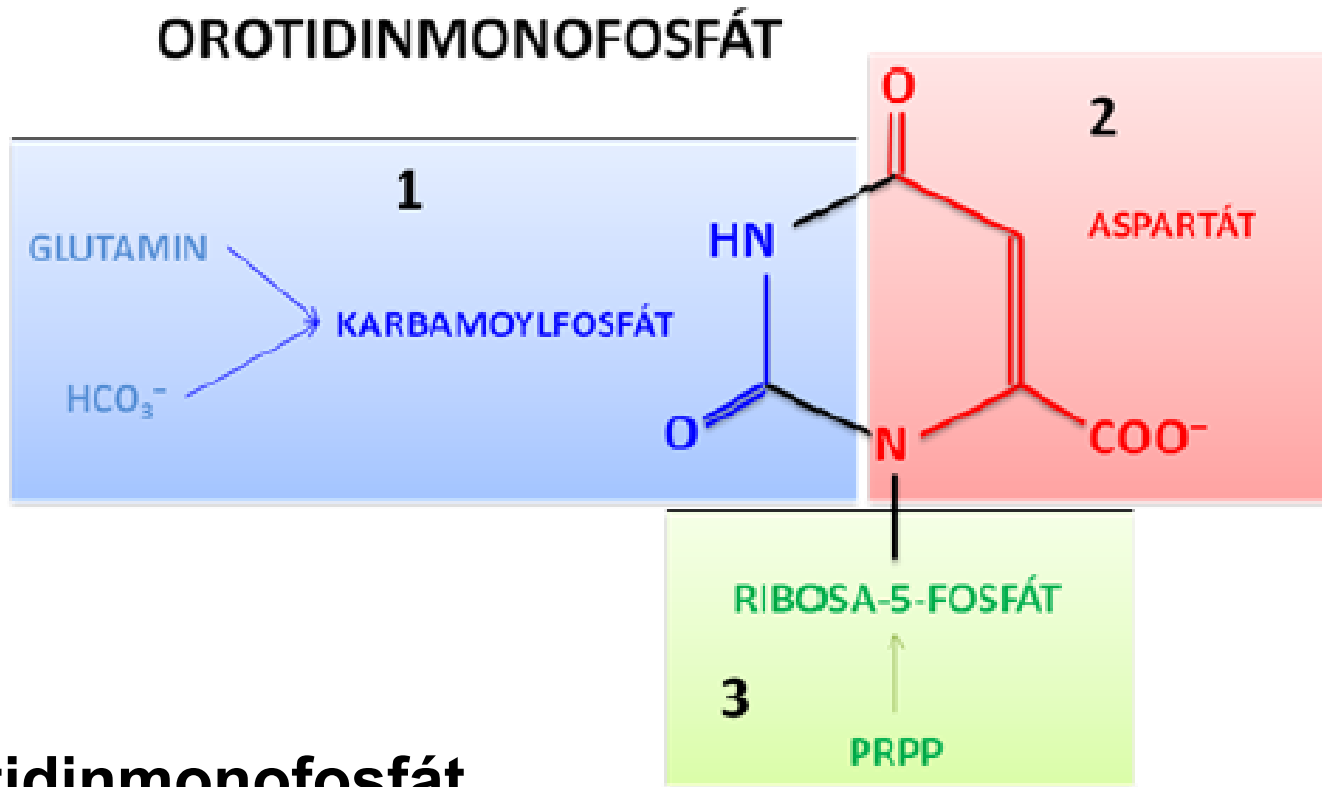
Pyrimidiny

Nejprve syntéza heterocyklu, po té navázání ribosa-P z PRPP



BIOSYNTÉZA PYRIMIDINŮ

původ atomů v pyrimidinových derivátech



Orotidinmonofosfát

Dekarboxylací vzniká uridinmonofosfát

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 268.

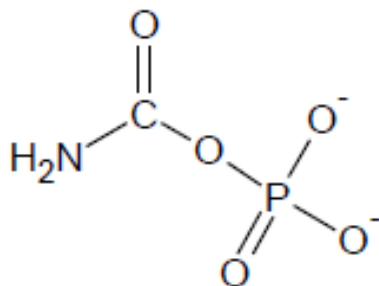
Syntéza karbamoylfosfátu

CYTOPLASMA

V **cytoplasmě** vznikne **karbamoylfosfát** z **glutaminu** (zdroj dusíku) a **HCO₃⁻**.
Reakce je energeticky náročná – pro její průběh je potřeba dodat **2 ATP**.
Reakci katalyzuje enzym **karbamoylfosfátsynthetasa II**, která je **inhibována** pomocí **UTP** („inhibice produktem“) a **aktivována** pomocí **ATP**.

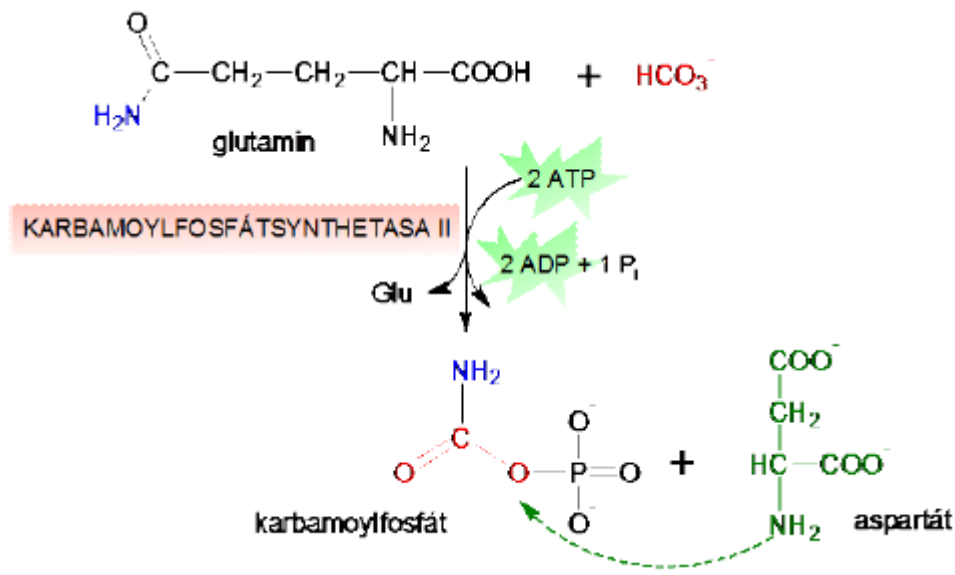
karbamoylfosfátsynthetasa

- 1 Glutamin + 2 ATP + HCO₃⁻ → karbamoylfosfát + glutamát + 2 ADP + P_i

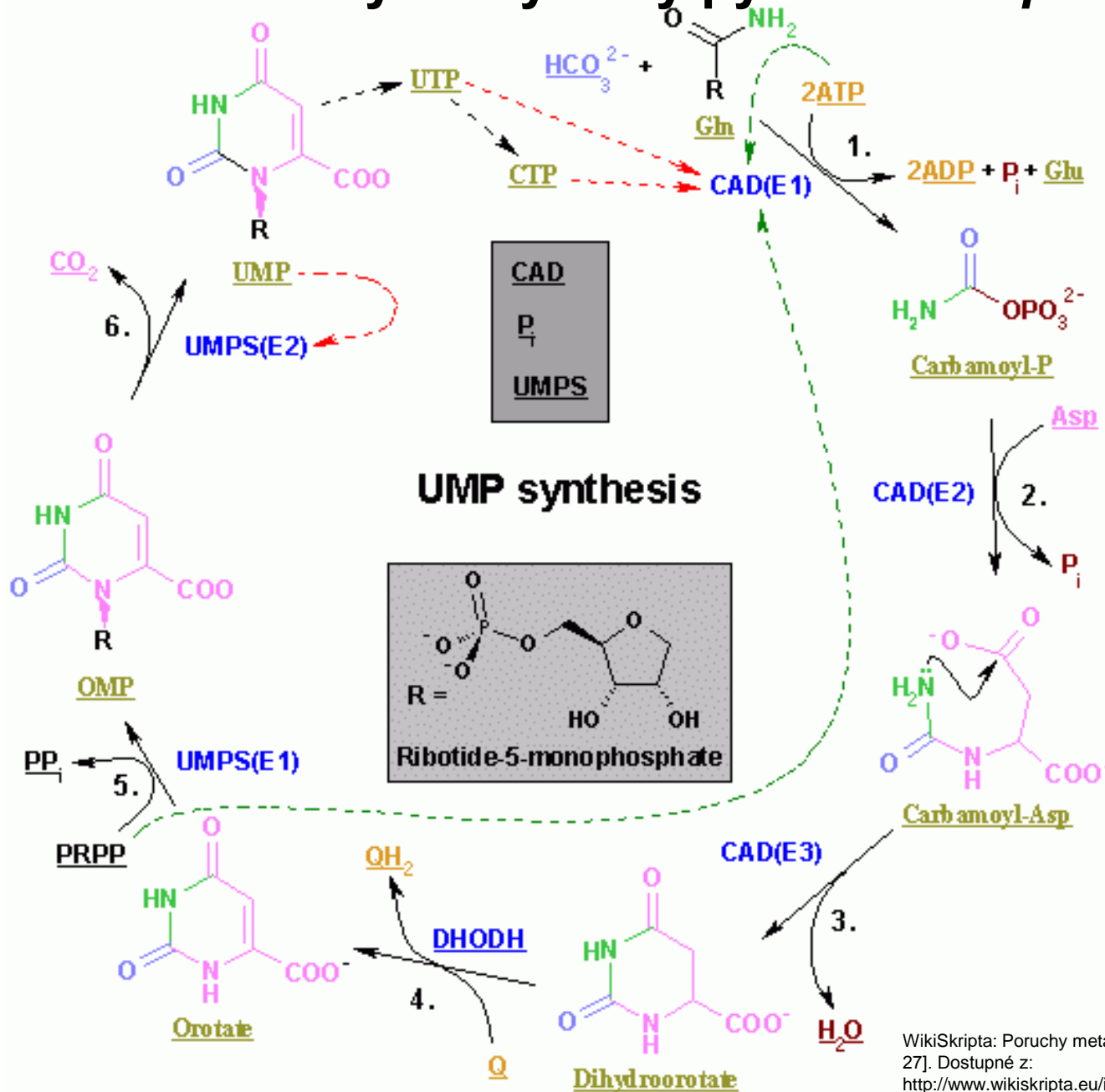


NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 75.

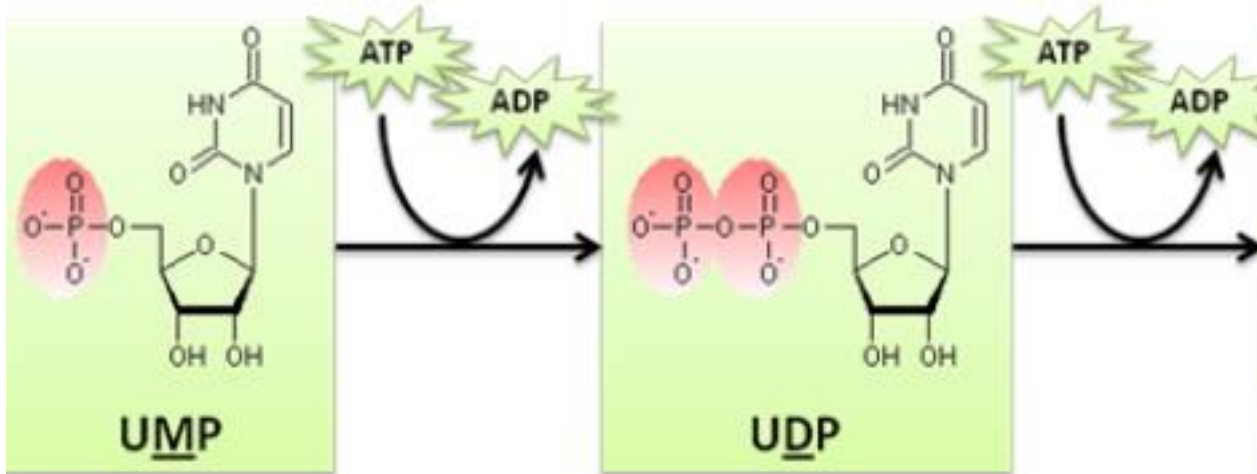
*Srovnejte se syntézou
močoviny - mitochondrie*



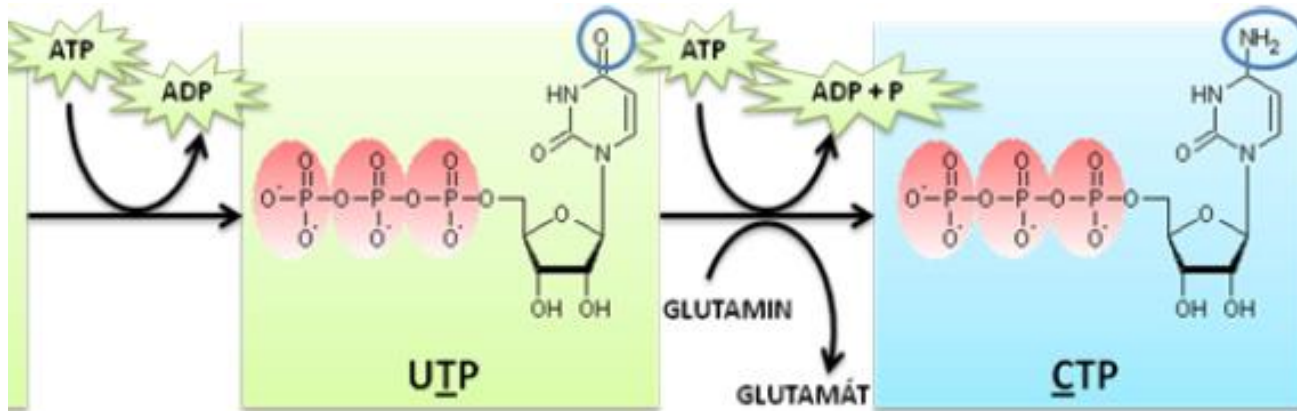
Další kroky biosyntézy pyrimidinů - *podrobněji*



Biosyntéza UTP a CTP



uridinmonofosfát

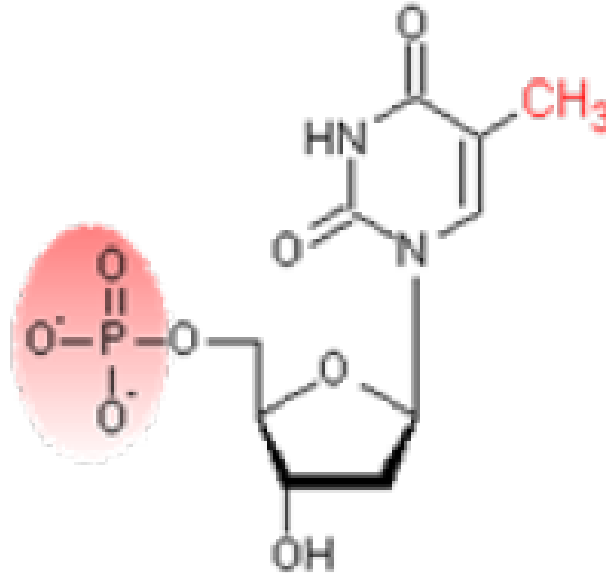


uridin trifosfát

cytidin trifosfát

Vznik dTMP (methylace)

deoxythymidintrifosfát

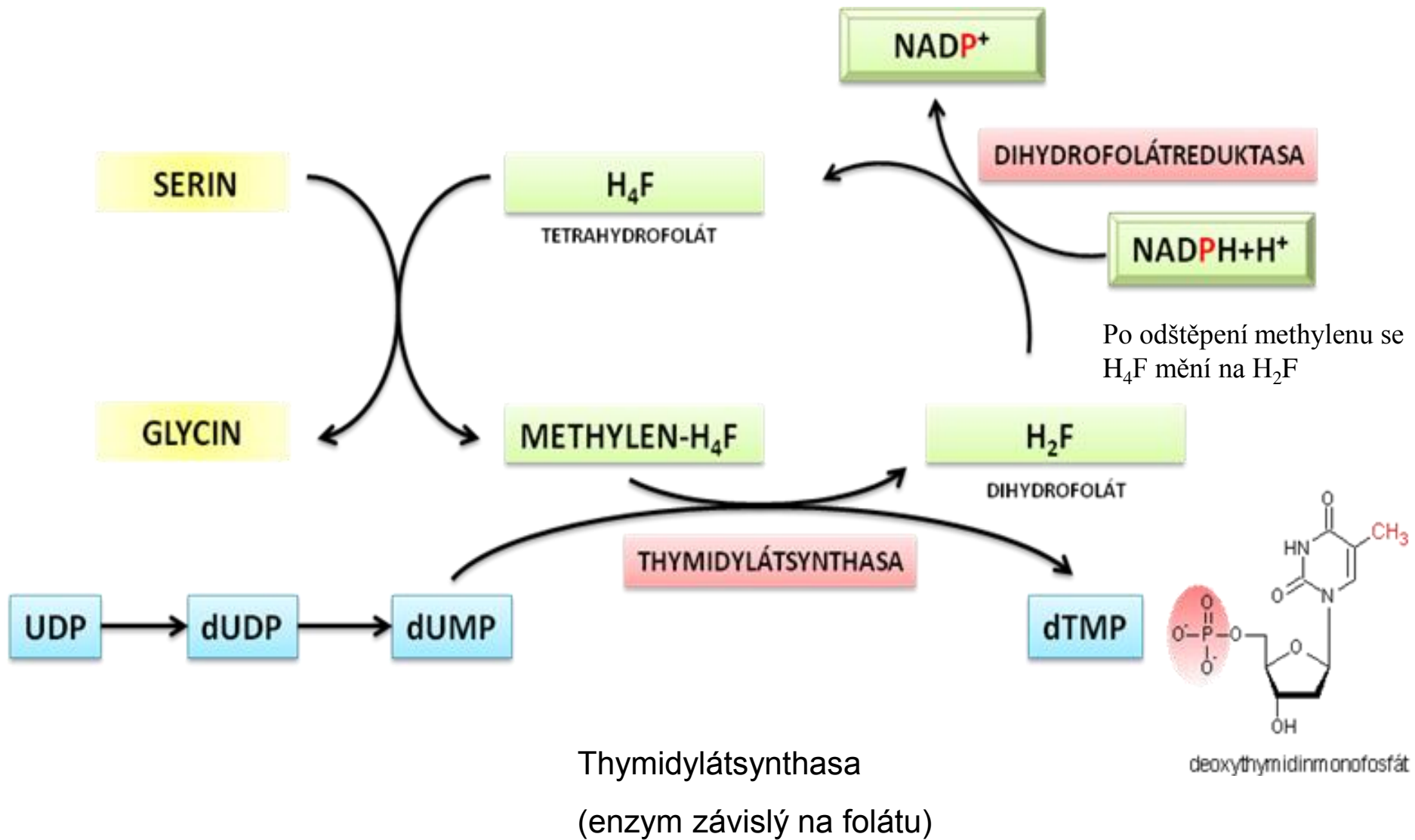


deoxythymidinmonofosfát

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 270.

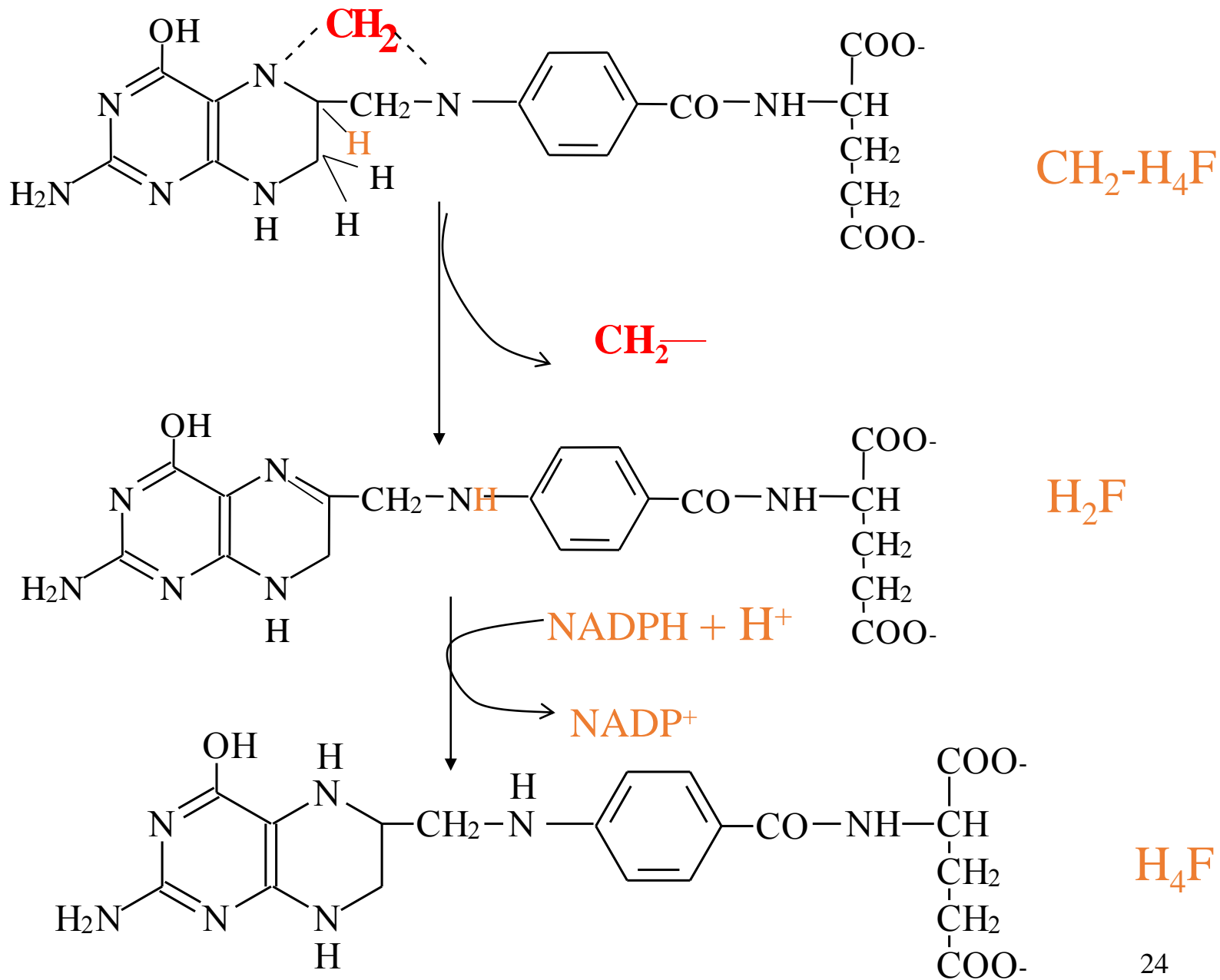
Na methylaci je potřebný H₄F

Methylenová skupina vázaná na H₄F je během svého přenosu na dUMP redukována na methylovou



Cíle protinádorové léčby

NOVÁK, Jan. *Biochemie I.* Brno: Muni, 2009, s. 270.



(Dihydro)folát reduktasa
redukuje dihydrofolát (H_2F) zpět na
tetrahydrofolát (H_4F)

Proč metotrexát působí jako cytostatikum ?



Dihydrofolátreduktasa - cíl protinádorové terapie.

Dihydrofolát reduktasa byla prvním enzymem, na nějž se zaměřila protinádorová terapie.

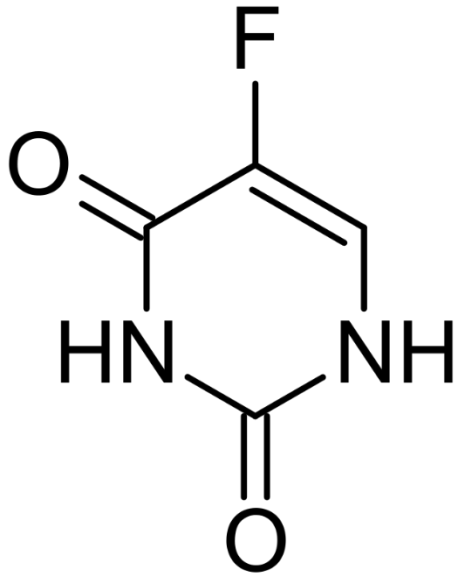
První používaný inhibitor byl aminopterin.

Váže se k enzymu 1000x pevněji než folát, působí jako kompetitivní inhibitor.

V současné době užíván **methotrexát** a podobné deriváty.

Všechny léky, které ovlivňují syntézu purinů a pyrimidinů, poškozují rychle dělící se buňky – to však nejsou pouze buňky nádorové, ale i buňky kostní dřeně, GI-traktu a např. i buňky vlasových folikulů.

Také thymidylát synthasa může být inhibována



Wikipedia: Fluorouracil. [online]. [cit. 2014-07-27]. Dostupné z: <http://en.wikipedia.org/wiki/Fluorouracil>

Thymidylátsynthasa je jím proto blokována jako **kompetitivním inhibítorem**, což ve výsledku zabrání vzniku dTMP, což se projeví zpomalením (znemožněním) buněčného dělení.

Podávání fluorouracilu



v organismu přeměna na

5-fluorodeoxyuridin monofosfát

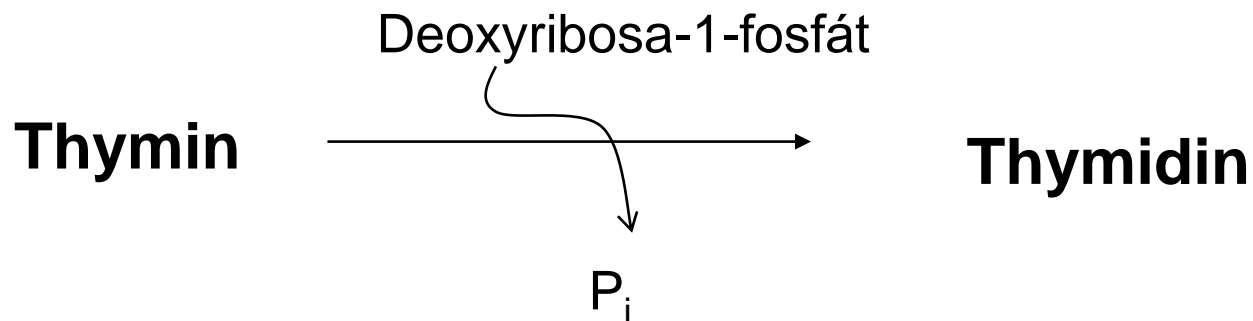
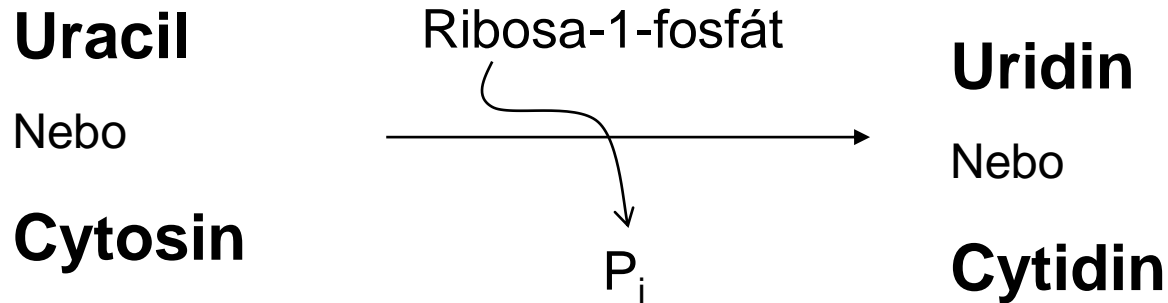


**Kompetitivní inhibice
thymidylátsynthasy**

Cytostatický účinek léčiva

2. Způsob vznik pyrimidinových nukleotidů *šetřícím procesem (salvage pathway)*

1. Tvorba nukleosidů



2. Tvorba nukleotidů působením kináz

- thymidin + ATP → TMP + ADP
- cytidin + ATP → CMP + ADP
- deoxycytidin + ATP → dCMP + ADP
- uridin + ATP → UMP + ADP

Salvage pathway hraje významnou roli především v **extrahepatálních tkáních**.

Regulace biosyntézy pyrimidinových nukleotidů

❑ **Allostericky:**

- Karbamoylfosfátsynthetasa:
inhibice UTP, purinové nukleotidy
aktivace PRPP

❑ **Závislost na buněčném cyklu**

Karbamoylfosfátsynthetasa v S fázi je senzitivnější k aktivaci PRPP (zprostředkováno fosforylací)

Odbourávání pyrimidinových nukleotidů

Pyrimidinové báze **jsme schopni v našem těle odbourat** na jednodušší složky, které je možné **vyloučit močí**. **Toho nejsme schopni u purinových bází!**

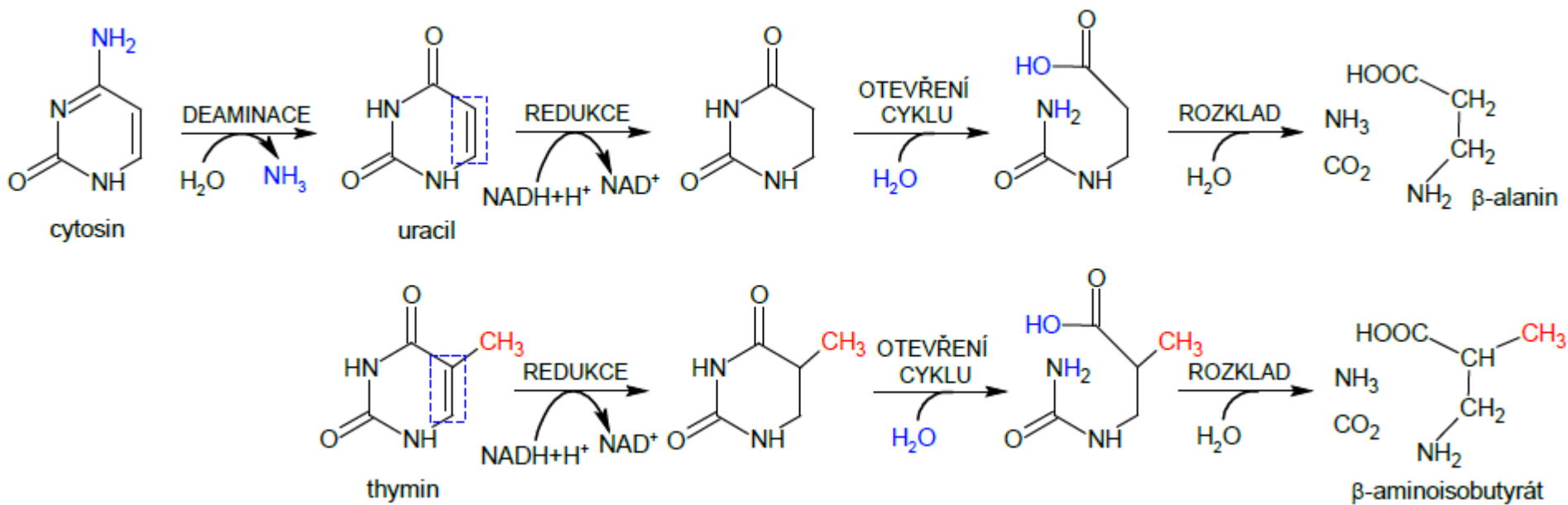
Odbourávání pyrimidinů v sobě zahrnuje:

- a) odštěpení fosfátu**
- b) odštěpení cukerné složky**
- c) štěpení dusíkaté báze**

Konečné produkty štěpení bází:

NH_3 , CO_2 , β -alanin, (β -aminoisobutyrate)

rozpuštné metabolity – vyloučeny močí

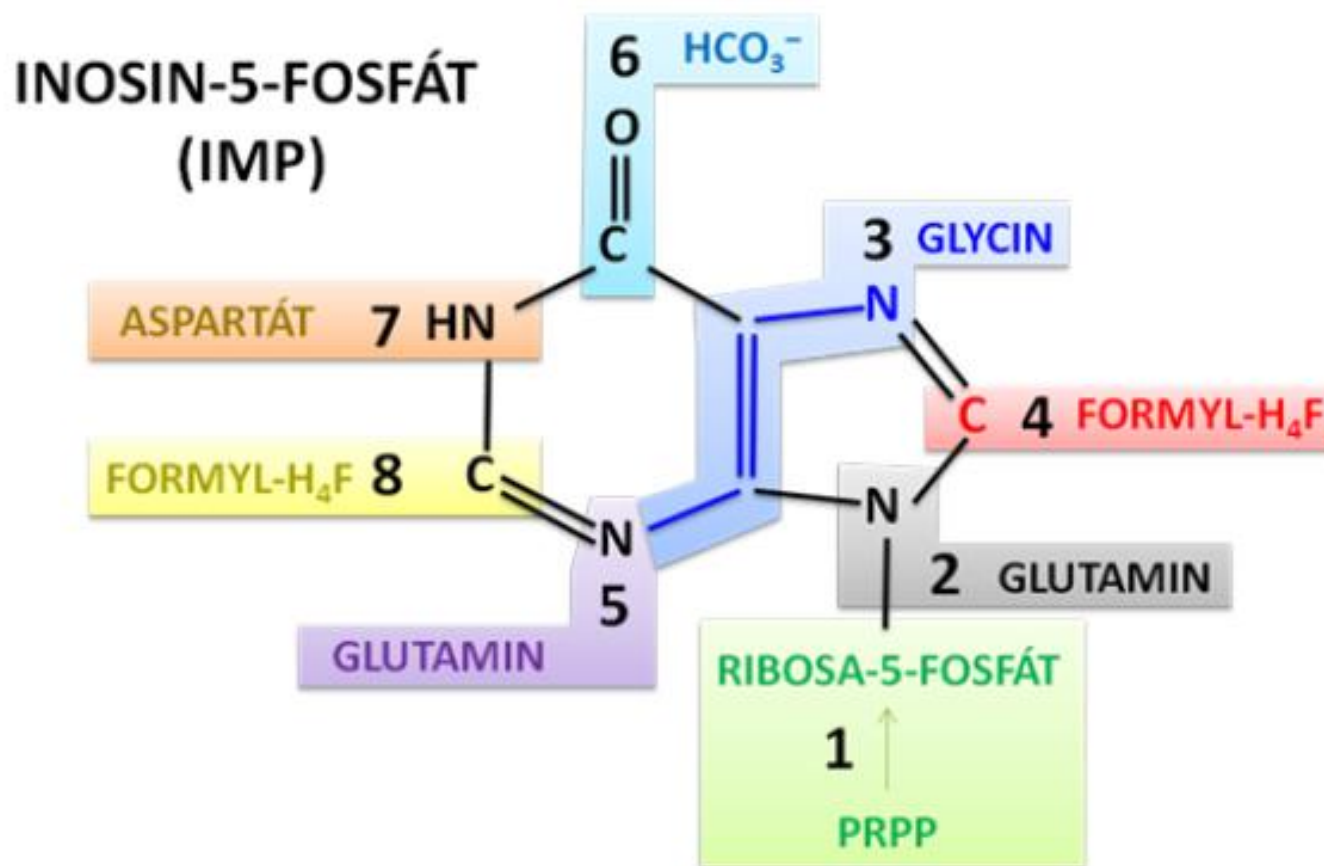


Biosyntéza purinových nukleotidů

(multienzymový komplex)

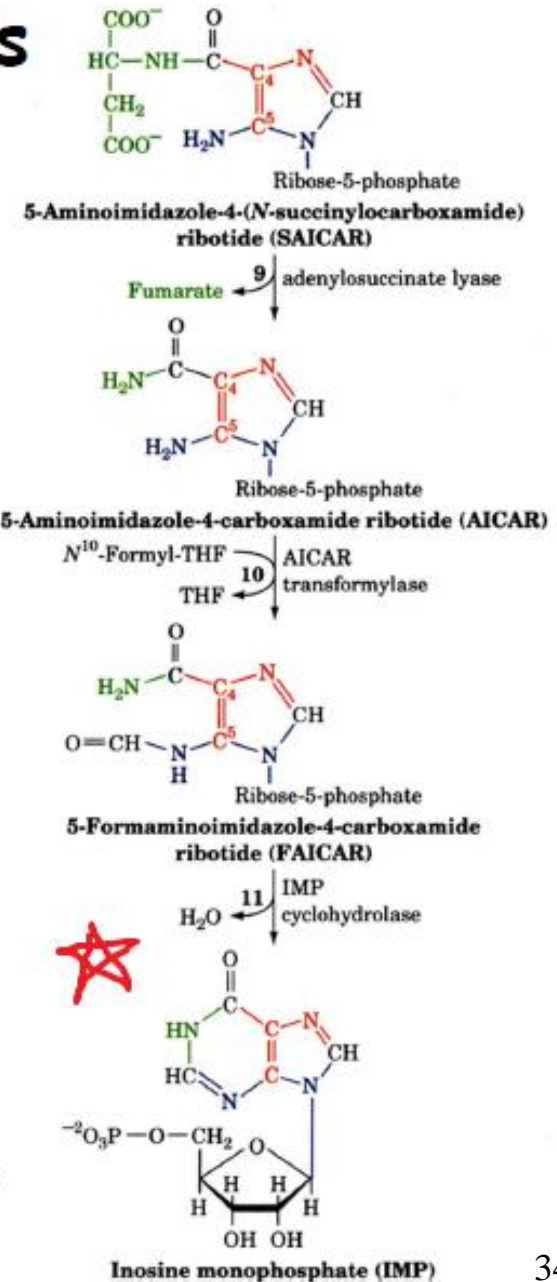
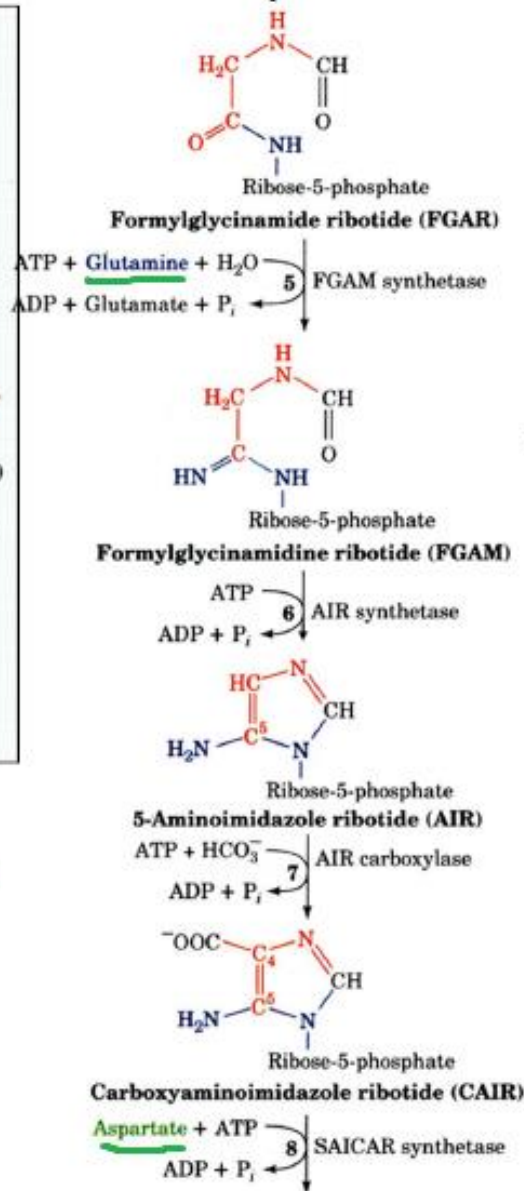
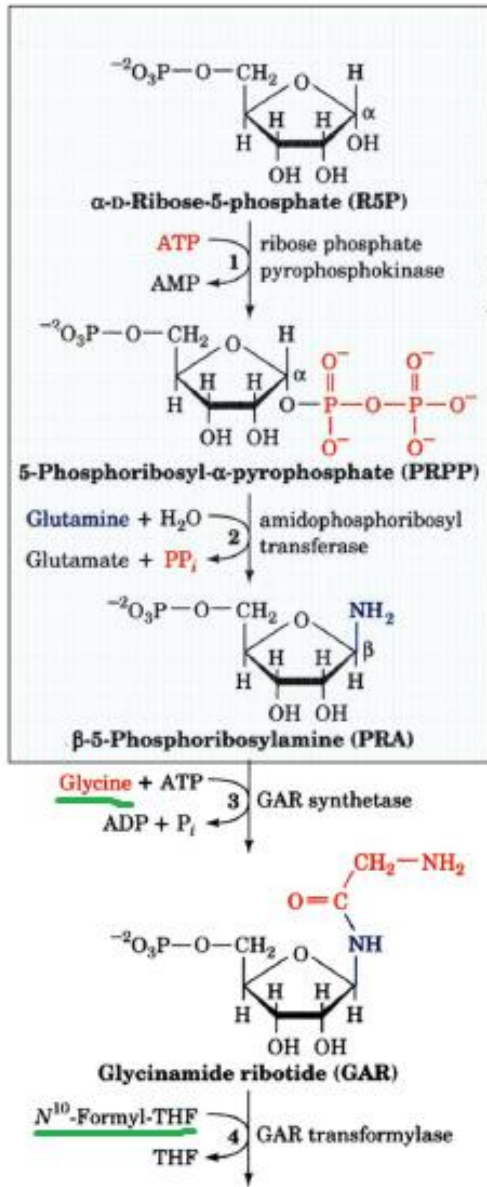
Převážně
játra

cytoplasma



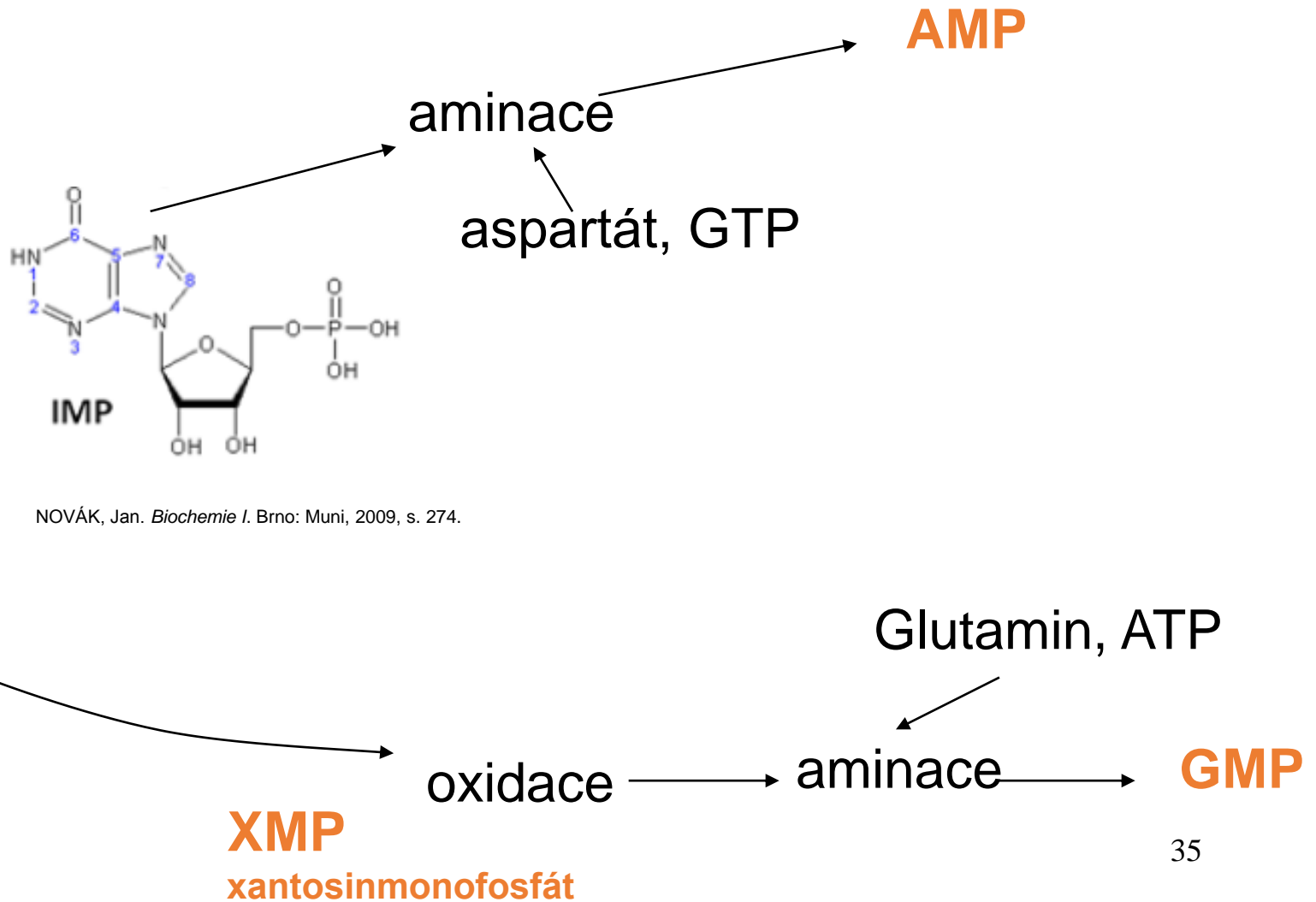


IMP Synthesis



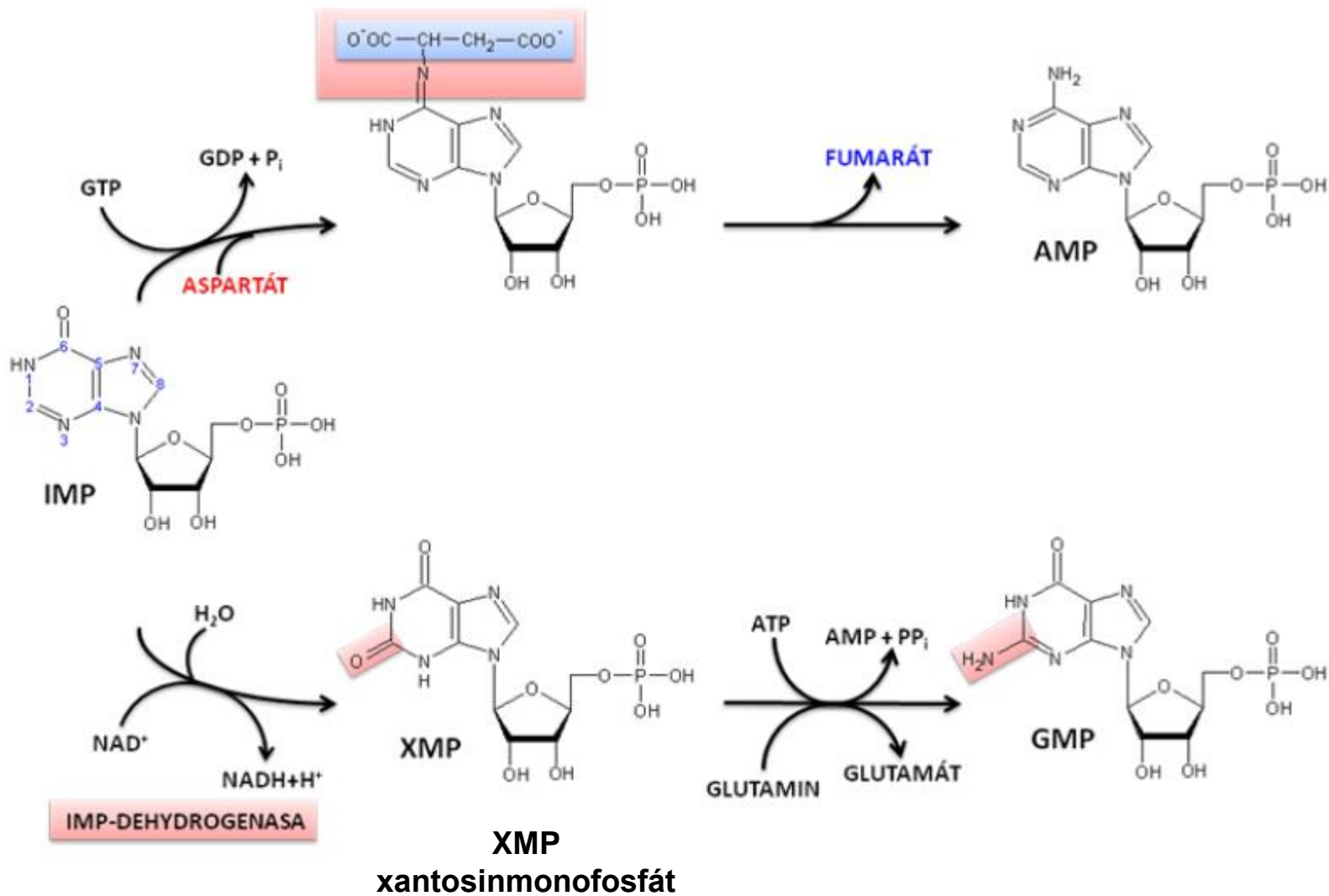
Inosin-5-P (IMP)

výchozí látka syntézy purinových bází



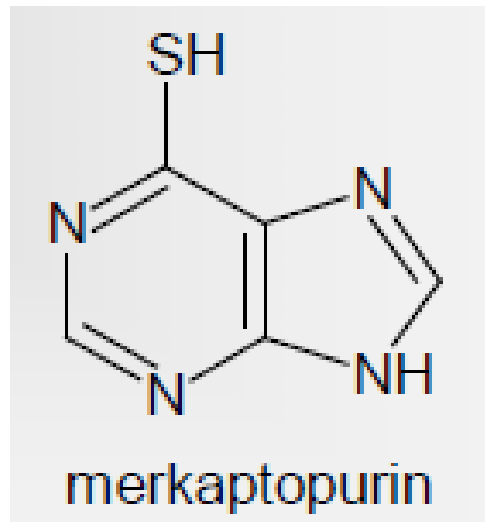
Syntéza AMP a GMP

(podrobněji)



Inhibitory syntézy purinů (cytostatika)

- inhibitory dihydrofolátreduktasy
- analogy glutaminu (azaserin)
- 6-merkaptopurin- inhibice přeměny IMP na AMP a GMP



Syntéza purinových nukleotidů šetřícími reakcemi (salvage pathway)

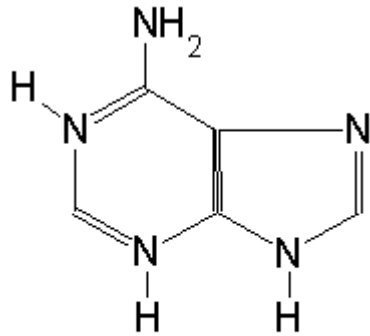
extrahepatální tkáně

fosforibosyltransferasy



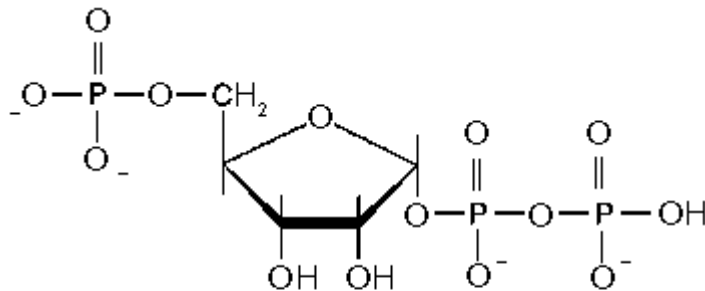
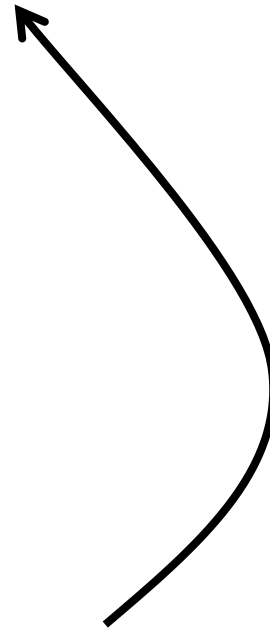
Recyklace purinových bází **fosforibosyltransferasou**

fosforibosyltransferasou



Adenin

Vznik purinových
nukleotidů účinkem
fosforibosyltransferasy



PRPP

Články a informace z různých oblastí lékařství. [online]. [cit. 2014-07-27]. Dostupné z: <http://www.biology.estranky.cz/clanky/vzorci-sloucenin/pismo-a.html>

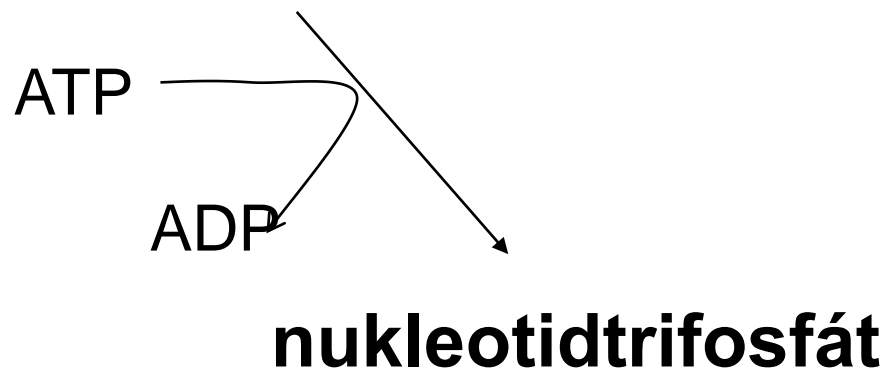
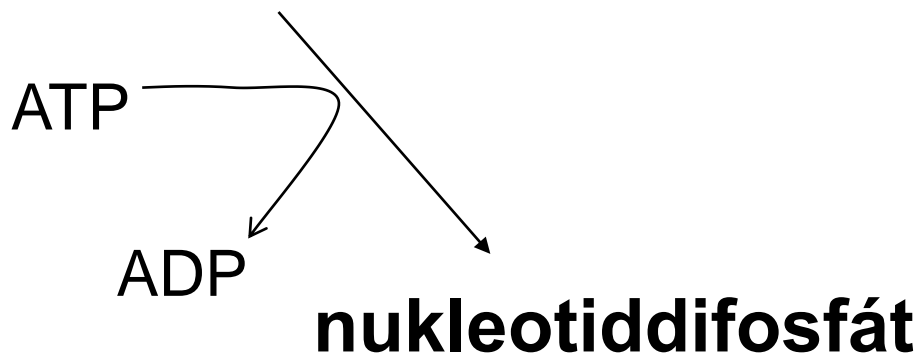
Mathews/van Holde/Ahern 3rd edition: Phosphoribosyl Pyrophosphate (PRPP). [online]. [cit. 2014-07-27]. Dostupné z: <http://www.pearsonhighered.com/mathews/ch22/prpp.htm>

Deficit fosforibosyltransferasy vyvolává Lesch-Nyhanův syndrom

- dědičná choroba
- nadprodukce purinových bází
- hromadění kyseliny močové – dna
- mentální retardace, sebepoškozování

Syntéza nukleotiddifosfátů a nukleotidtrifosfátů

nukleosidmonofosfát



Regulace biosyntézy purinových nukleotidů

1.

- koncentrace PRPP

Rychlost
spotřeby

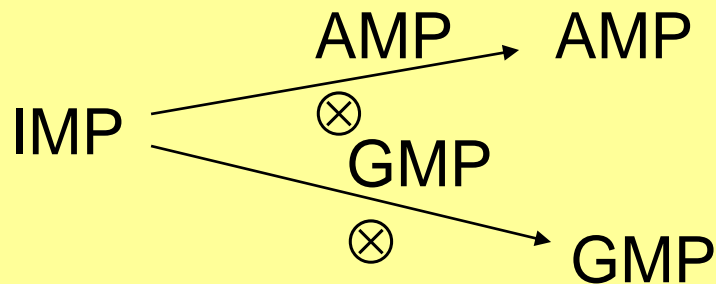
Rychlost
odbourání

Rychlost
syntézy

2.

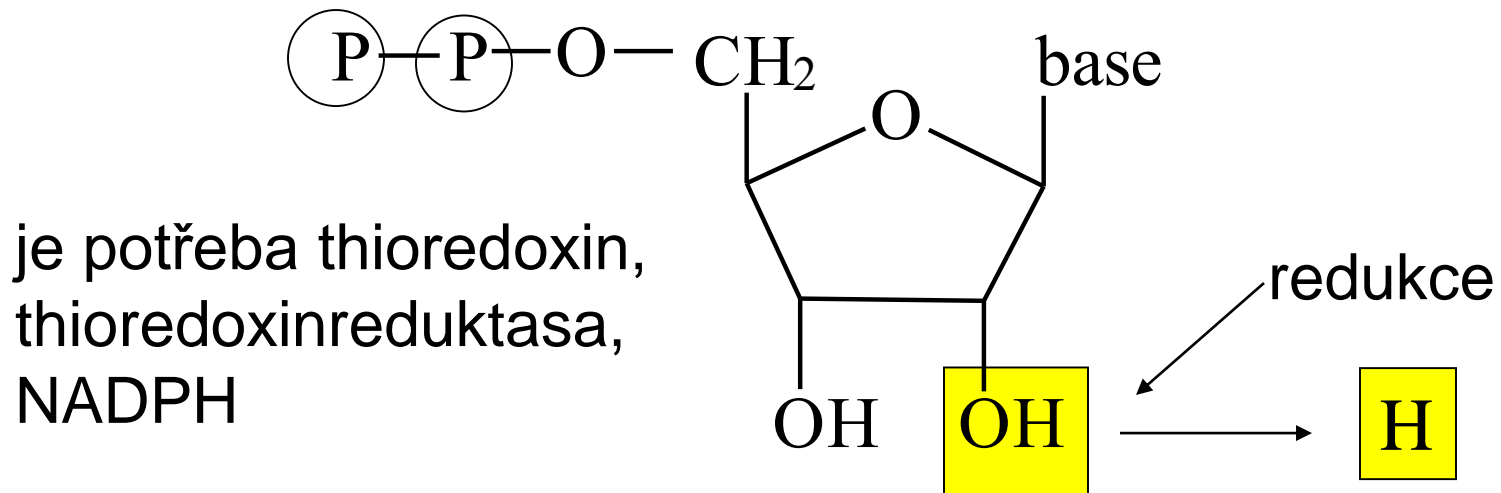
- inhibice PRPP-glutamylamidotransferasy AMP a GMP (konečnými produkty)

3.



Vznik 2-deoxyribonukleotidů (purinových i pyrimidinových)

Nukleotiddifosfát → 2-deoxynukleotiddifosfát

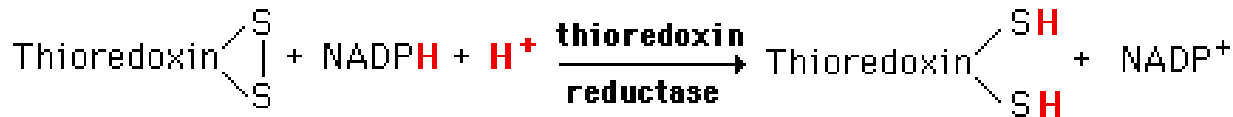
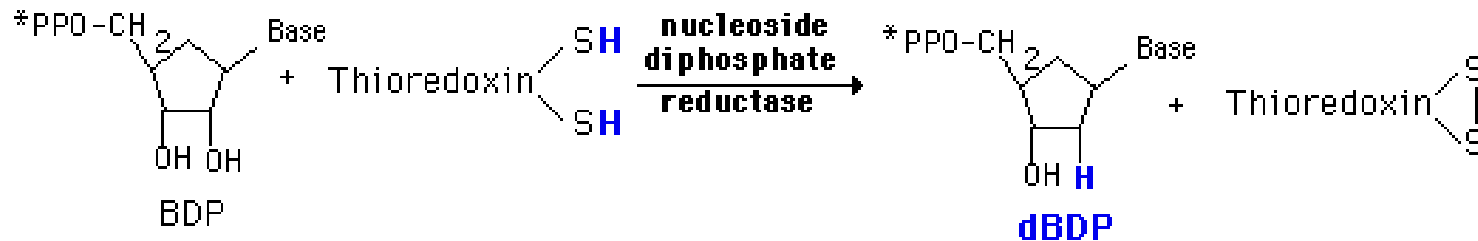


Thioredoxinreduktasa obsahuje selen deoxygenace

Nukleotiddifosfát → deoxynukleotiddifosfát

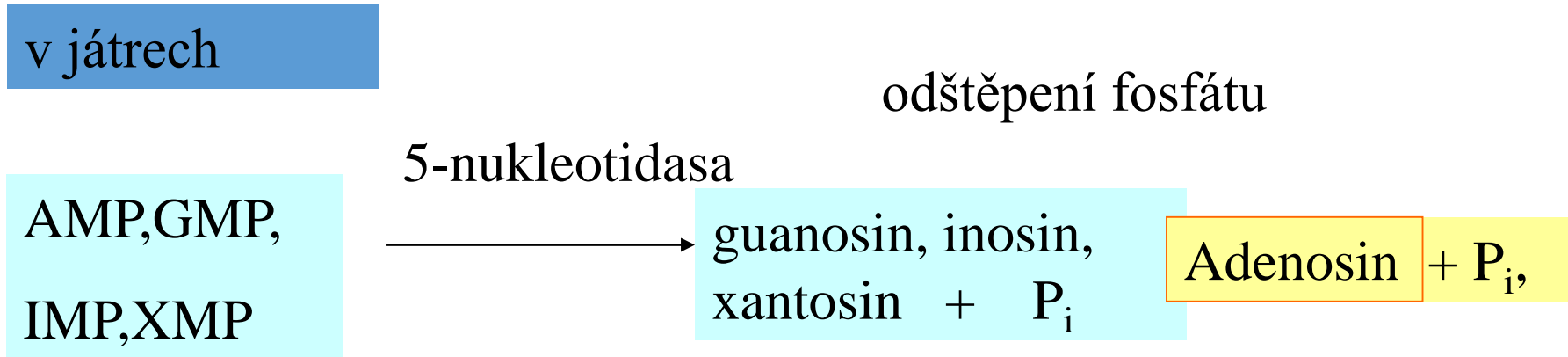
podrobněji

ribonukleotidreduktasa

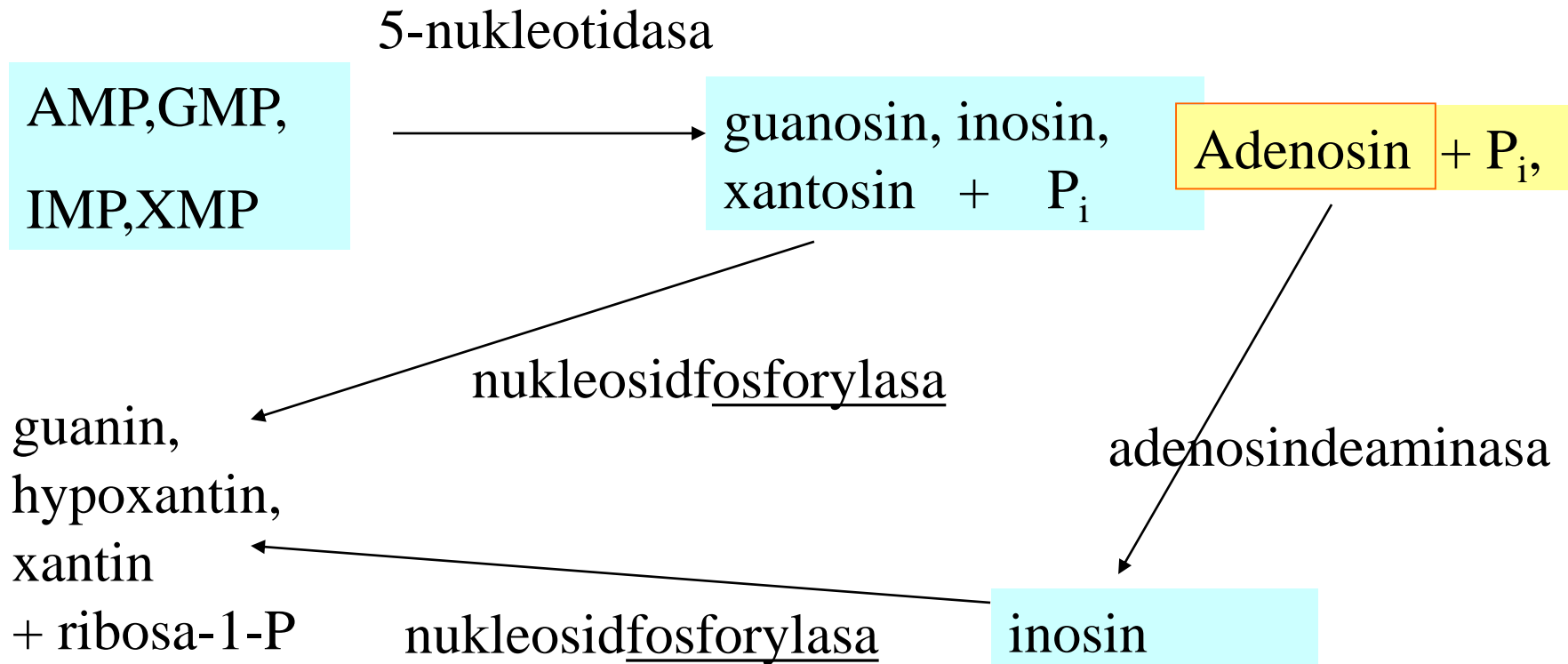


kofaktor vázaný na bílkovinu

Odbourání purinových nukleotidů



Odbourání purinových nukleotidů a deoxynukleotidů



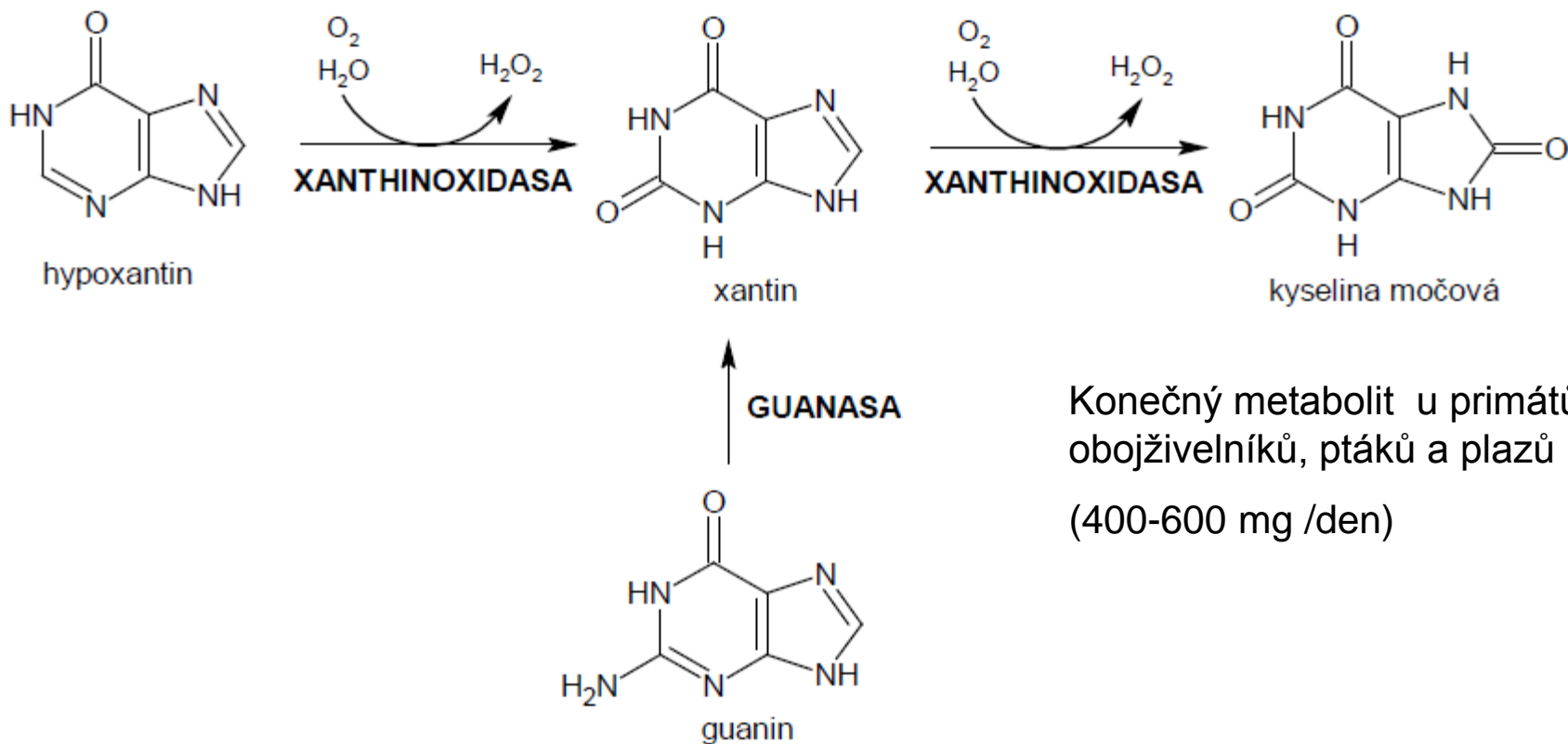
Deficit adenosindeaminasy

Deficit enzymu vede k nahromadění toxického deoxyadenosinu, který postihuje imunokompetentní buňky

Jedna z příčin těžkého kombinovaného imunodeficitu (severe combined immunodeficiency disease -SCID).

Odbourání purinů

Inhibice
allopurinolem



Konečný metabolit u primátů,
obojživelníků, ptáků a plazů
(400-600 mg /den)

Poruchy metabolismu purinů

Dna

- zvýšená produkce nebo snížené vylučování kys. močové
- porucha v šetřícím procesu
 - (deficit hypoxantin-guaninfosforibosyltransferasy) (HGPRT)

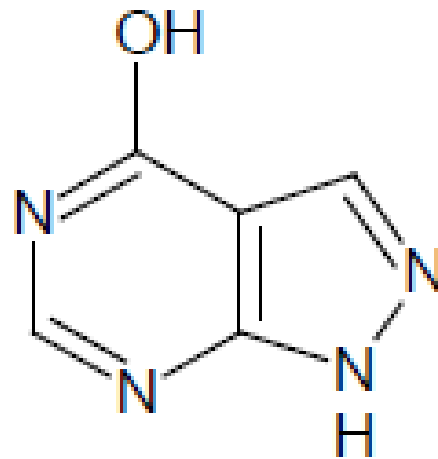


- snížená clearance v ledvinách



ukládání krystalů kyseliny močové ve tkáních

Allopurinol – kompetitivní inhibitor xantinoxidasy



allopurinol

NOVÁK, Jan. *Biochemie I*. Brno: Muni, 2009, s. 276.

Léčba dny: allopurinol inhibuje oxidaci hypoxantinu na xantin
hypoxantin je rozpustnější a je snadněji vylučován

Hypourikemie

deficit xantinoxidasy (vylučování hypoxantinu a xantinu)