

Nucleotide



Metabolism

Chadamas Sakonsinsiri
Dept of Biochemistry, MD, KKU
schadamas@kku.ac.th



วัตถุประสงค์



เมื่อสิ้นสุดการเรียนการสอนเรื่องนี้ นักศึกษาสามารถทำสิ่งต่อไปนี้ได้อย่างถูกต้อง

1. อธิบายการย่อยและการดูดซึมกรดนิวคลีอิกได้

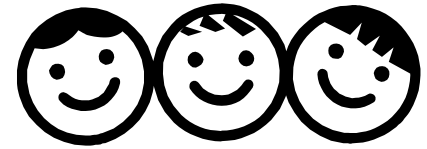
2. Purine metabolism

2.1 Biosynthesis

- บอกชื่อสารตั้งต้นและเอนไซม์ที่สำคัญของกระบวนการสังเคราะห์ purine แบบ de novo ได้
- อธิบายการควบคุมการสร้าง purine nucleotide แบบ de novo ได้
- บอกชื่อเอนไซม์และกระบวนการสังเคราะห์ purine ribonucleotide จาก salvage pathway ได้

2.2 Degradation

- อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างกระบวนการสลาย purine และการเกิดกรดยูริก
- อธิบายสาเหตุของภาวะ hyperuricemia และความสัมพันธ์กับโรค uric stone และ gouty arthritis ได้
- อธิบายกลไกการออกฤทธิ์ของยา allopurinol ในการรักษาภาวะ hyperuricemia



3. Pyrimidine metabolism

3.1 Biosynthesis

- บอกชื่อสารตั้งต้นของกระบวนการสังเคราะห์วงแหวน pyrimidine แบบ de novo ได้
- บอกชื่อเอนไซม์และอธิบายการสังเคราะห์ pyrimidine ribonucleotide จาก salvage pathway ได้

3.2 Degradation

- อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างการสลาย pyrimidine และการเกิดสารตัวกลางพลังงาน

4. อธิบายกระบวนการสังเคราะห์ deoxyribonucleotide ได้

5. อธิบายหลักการใช้ nucleotide analogue และ antifolate เป็นยาเคมีบำบัดได้

การย่อยและการดูดซึมกรดนิวคลีอิกในร่างกาย

Nuclease
จากตับอ่อน

Deoxyribonuclease

DNA



RNA

Ribonuclease

Nuclease
จากตับอ่อน

จากตับอ่อน
และเซลล์เยื่อบุ
ผนังลำไส้

Polynucleotide



*Phosphodiesterase
(polynucleotidase)*

Nucleotide



Nucleotidase

Nucleoside

+

Phosphate



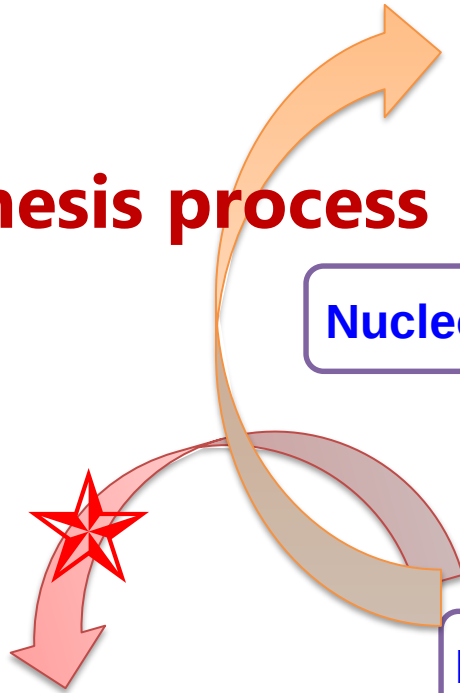
Nucleosidase

N-base

+

Ribose/Deoxyribose

Biosynthesis process

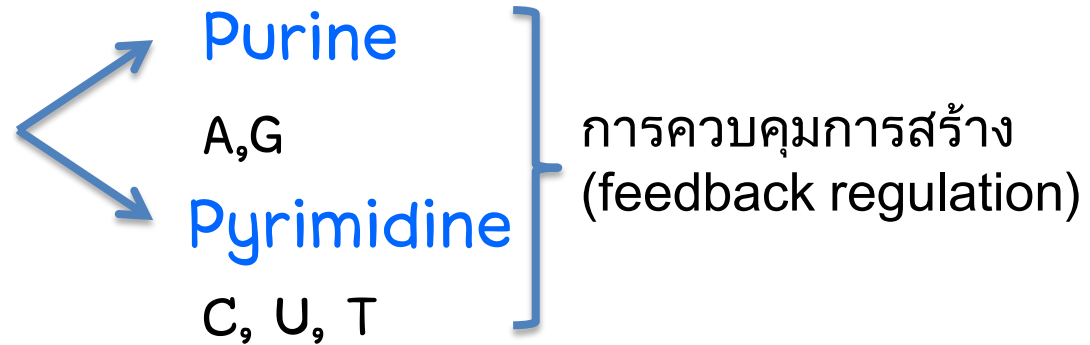


Degradation process

Nucleotide metabolism

■ Biosynthesis

- De Novo pathway
- Salvage pathway



สำคัญ ร่างกายสังเคราะห์เฉพาะ ribonucleotides แล้วจึงเปลี่ยนเป็น deoxyribonucleotides โดยเกิด reduction ที่ตำแหน่ง 2' (อาศัยเอนไซม์)

■ Degradation



Biosynthetic pathways of purine and pyrimidine ribonucleotides

วิธีหลัก

DE NOVO PATHWAY

Activated ribose (PRPP) + amino acids
+ ATP + CO₂ + ...



Nucleotide

- Ⓢ AAs เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ NTs
- Ⓢ Cell ที่กำลังเติบโต (growing cells)

วิธีกู้คืน

SALVAGE PATHWAY

Activated ribose (PRPP) + base



Nucleotide

- Ⓢ นำเอา Nt ที่มีอยู่ในอาหารหรือที่มีอยู่แล้วในเซลล์มาใช้ใหม่ (recycling)
- Ⓢ Cell ในระยะพัก (cells at rest)

Cell แต่ละชนิดในแต่ละสภาวะ อาจเลือกใช้ Pathway ที่แตกต่างกันในการสังเคราะห์ nucleotides เช่น ที่ตับใช้แบบ De novo

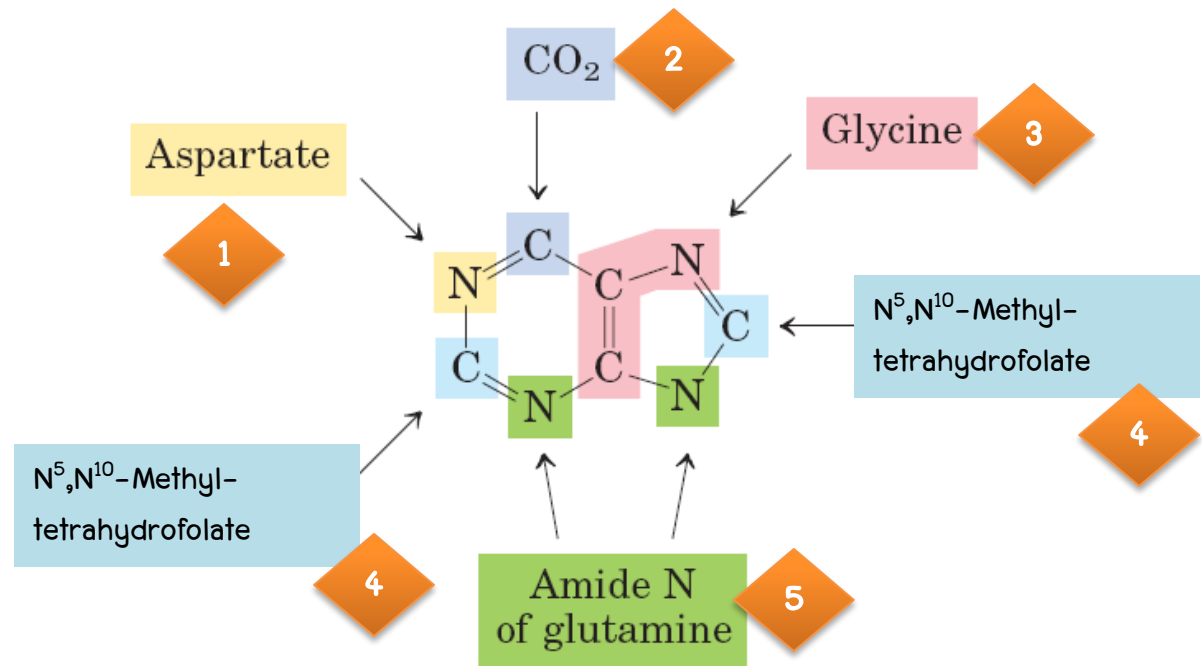
Biosynthesis of purine ribonucleotides

De Novo Pathway

- สารตั้งต้น คือ PRPP
- มี 11 ขั้นตอน
- เกิดใน cytoplasm
- Major site ของ purine synthesis คือ ตับ



John Buchanan



วงแหวนเบสพิวรีนเกิดจากสารตั้งต้นกำเนิด 5 ชนิด

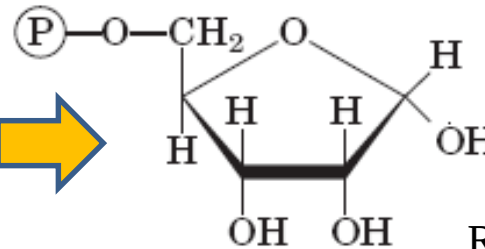
Biosynthesis of purine ribonucleotides

De Novo Pathway

Step ①

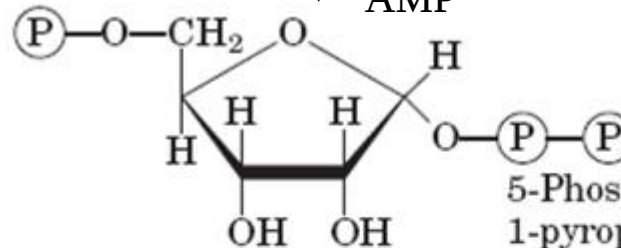
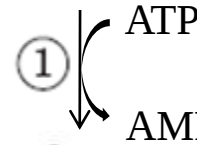
ปฏิกิริยาควบคุม

Product ของ pentose
phosphate pathway



Ribose-5-phosphate

PRPP synthetase

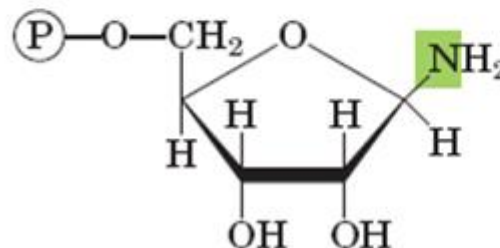
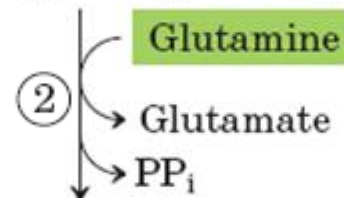


5-Phosphoribosyl
1-pyrophosphate (PRPP)

Step ②

ปฏิกิริยาเริ่มแรกที่แท้จริง
เป็น rate-limiting step
ถูกยับยั้งแบบย้อนกลับได้
(feedback regulation)

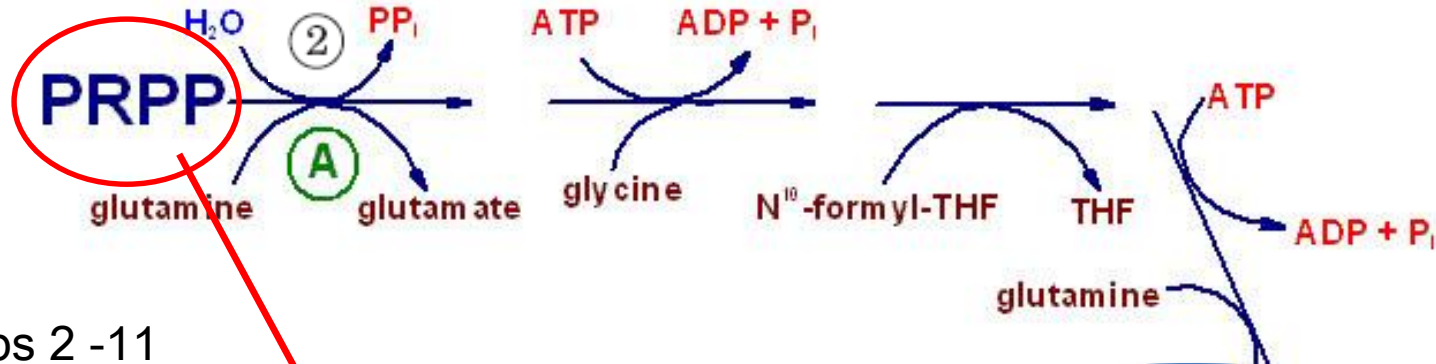
PRPP Glutamyl
amidotransferase



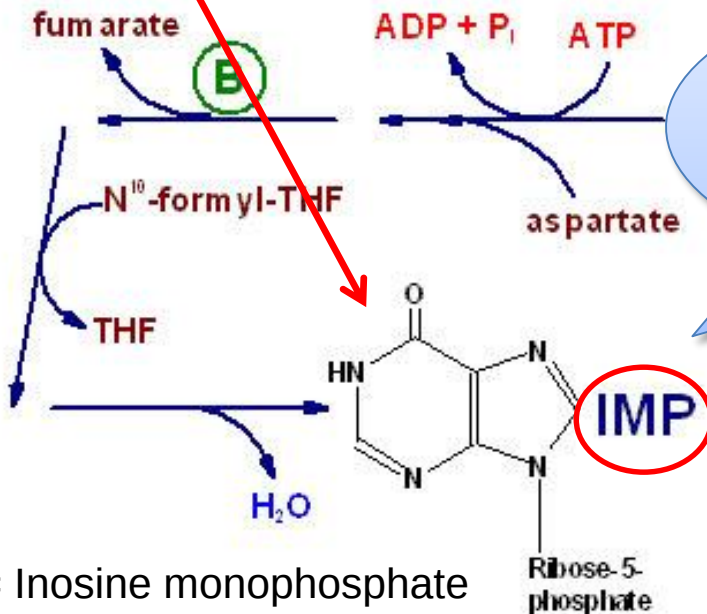
5-Phospho-β-
D-ribosylamine

Biosynthesis of purine ribonucleotides

De Novo Pathway



Steps 2 -11



Nucleotide ๓
ในลำดับนิวคลีโอไทด์

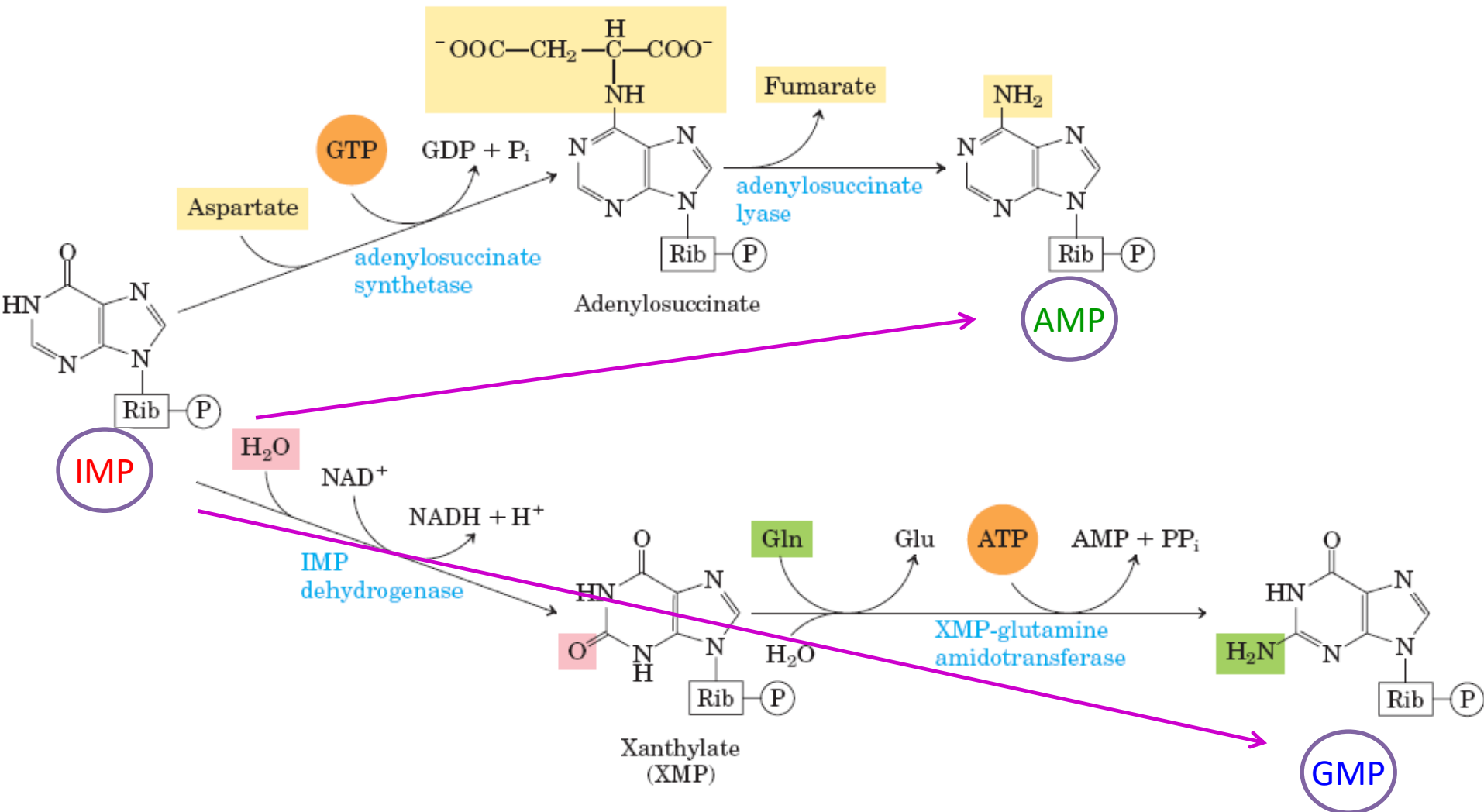
IMP = Inosine monophosphate

A= glutamine-PRPP
amidotransferase

B= adenylosuccinate
lyase

5 ATP
2 glutamine
1 glycine
1 CO_2
1 aspartate
2 formate

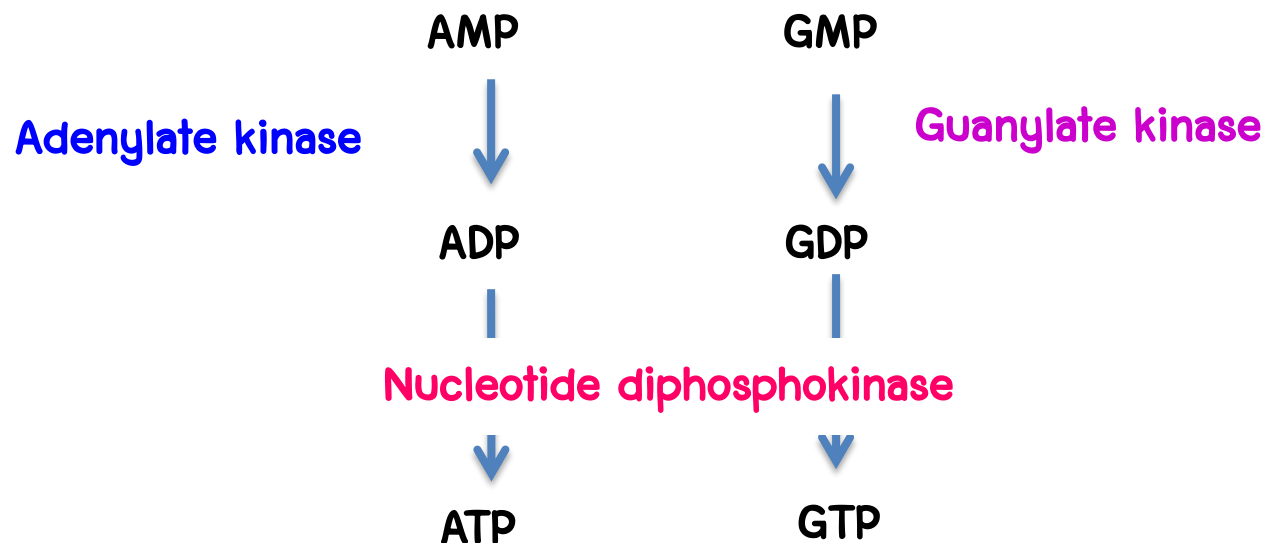
Biosynthesis of AMP and GMP from IMP



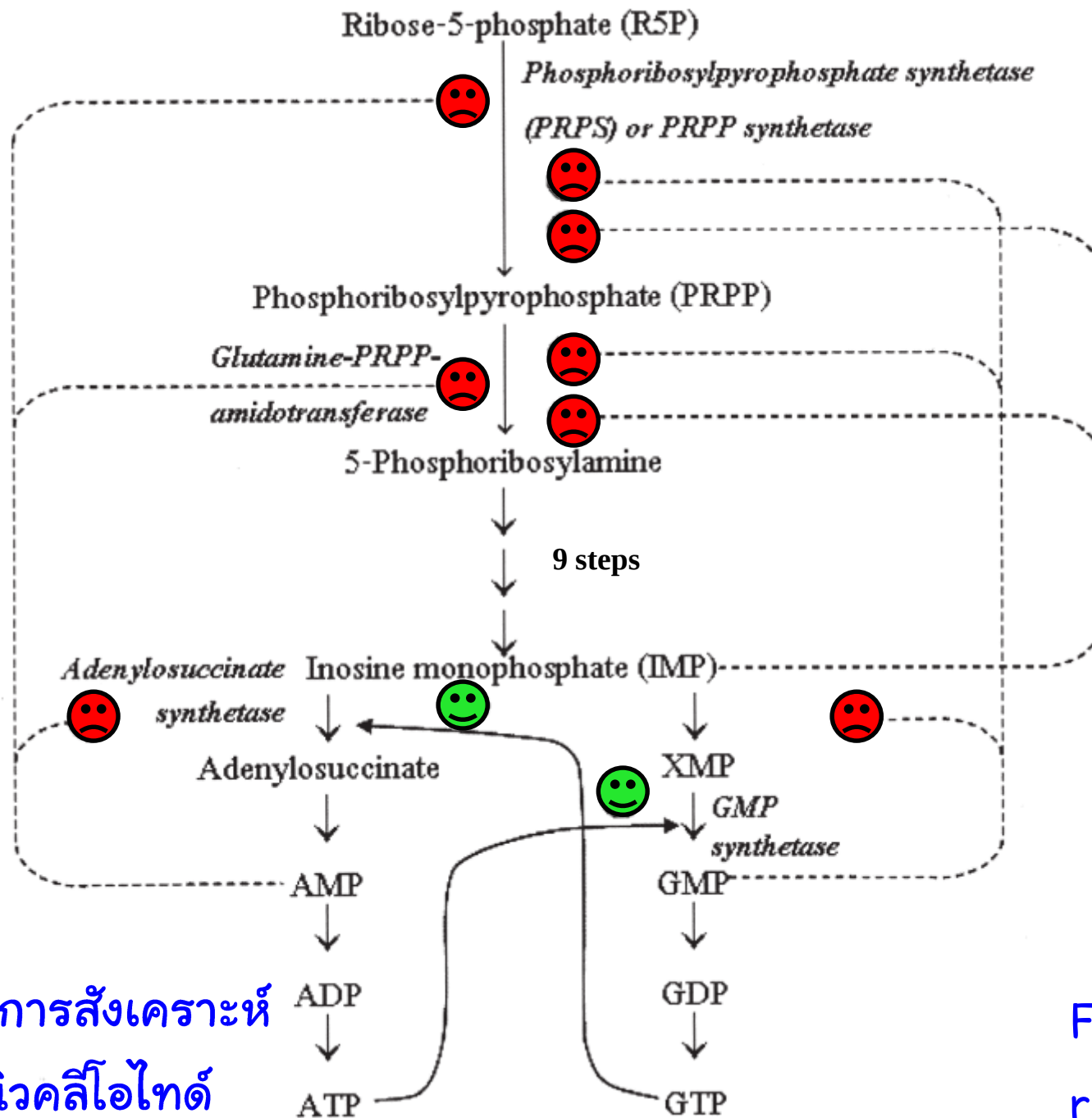
การสร้าง diphosphate และ triphosphate

สร้าง diphosphate form : **Adenylate kinase** และ **Guanylate kinase**

สร้าง triphosphate form : **Nucleotide diphosphokinase**



ทุกขั้นตอนใช้ ATP เป็นตัวให้หมู่ฟอสเฟต



การควบคุมการสังเคราะห์
พิวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

Feedback
regulation

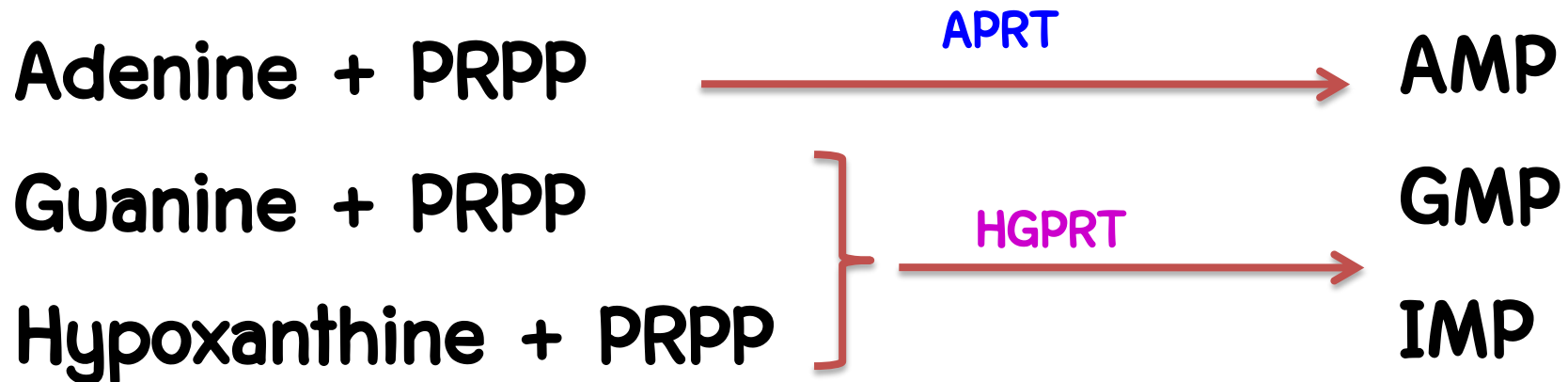
Biosynthesis of purine ribonucleotides

Salvage Pathway

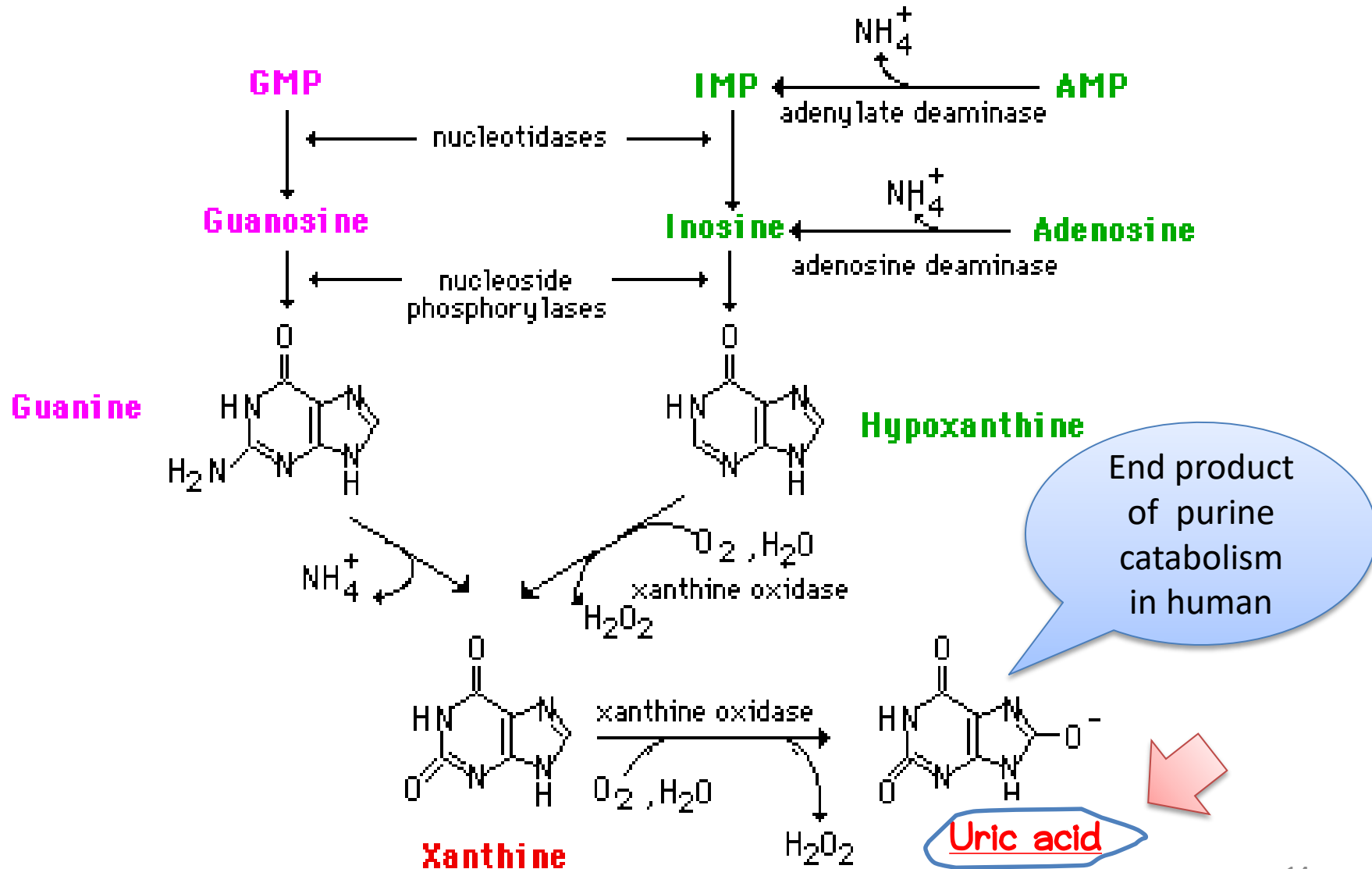


Base + PRPP  nucleotide-5'-monophosphate

enzyme ที่สำคัญ 2 ชนิด : Adenosine phosphoribosyltransferase (APRT)
Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HGPRT)



Degradation of purine nucleotides



ภาวะ Hyperuricemia และ Gout :

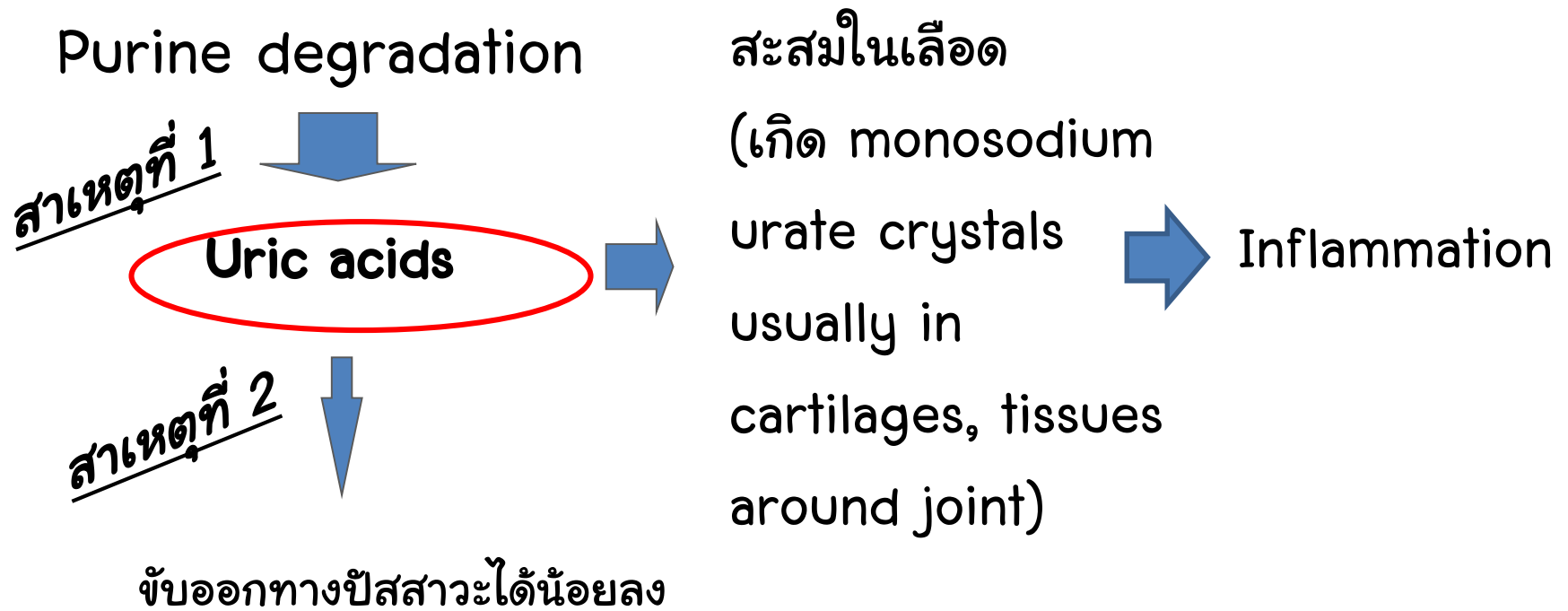
abnormal purine degradation



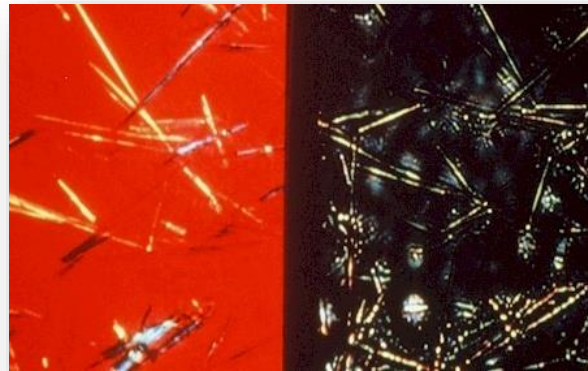
- ภาวะ hyperuricemia คือ ภาวะที่มีระดับ uric acid ในเลือดมากกว่า 7 mg/ml
- สาเหตุหลักของ hyperuricemia คือ ความผิดปกติของ purine metabolism (สร้าง uric acid  และมีการสลาย , การออกจากร่างกาย )
- อาจเกิดจากความผิดปกติของเอนไซม์ เช่น ขาด HGPRT หรือ PRPP synthetase ทำงานมากเกินไป
- มนุษย์ไม่มี enzyme uricase (uric acid $\rightarrow$ allantoin) จึงต้องขับออกทางไตเป็นส่วนใหญ่

ภาวะ Hyperuricemia และ Gout : abnormal purine degradation

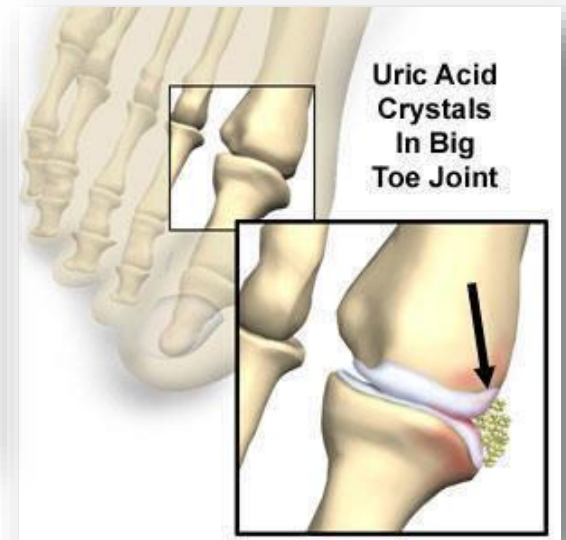
ผู้ป่วยโรค gout



Gout



Monosodium urate crystals

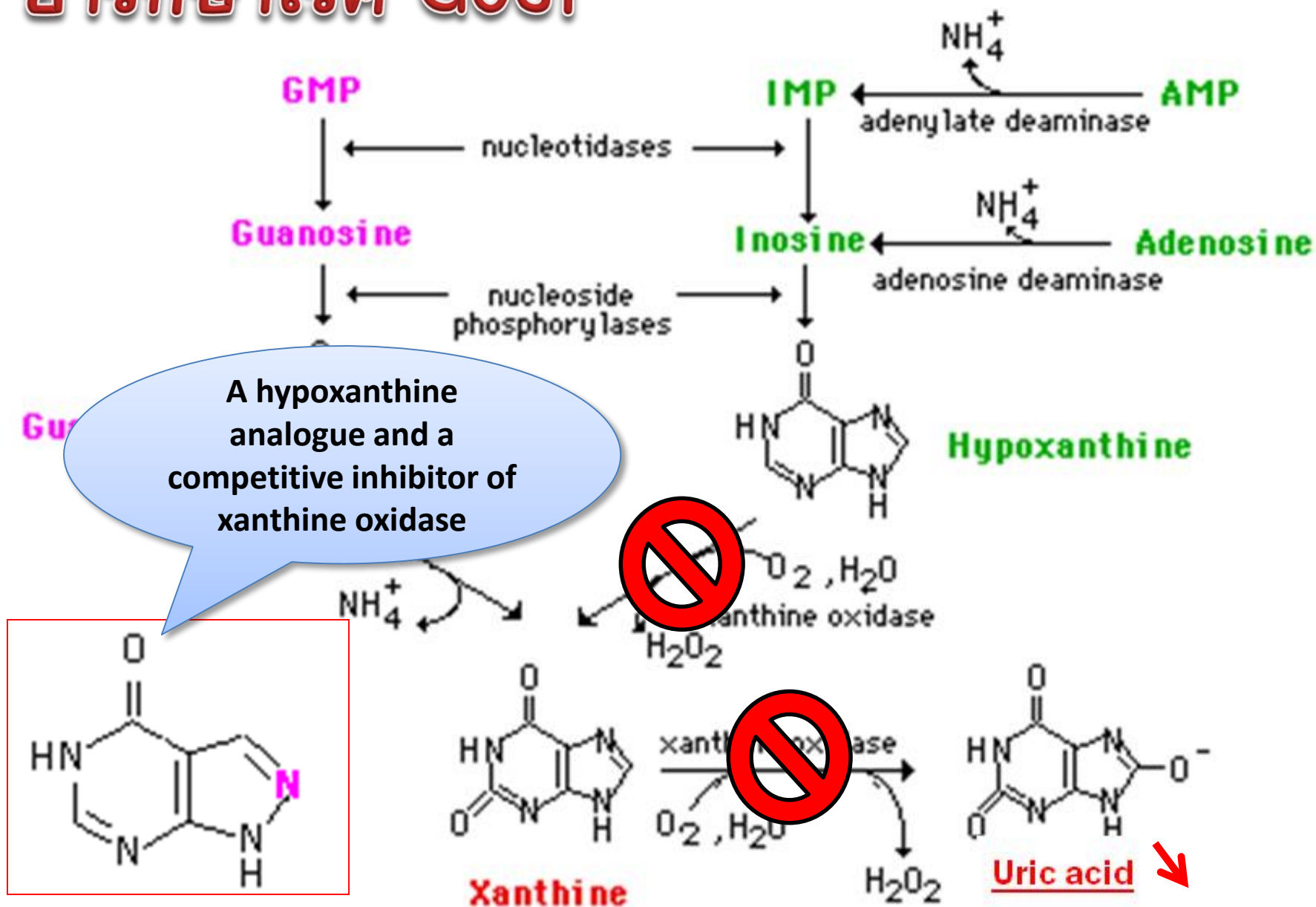


http://www.gout-site.com/Gout_dyn.jpg

<http://www.whatthehealth.com/goutpictures.html> 17

http://www.myfootshop.com/images/medical/ortho/urate_crystals_mod.jpg

ยารักษาโรค Gout



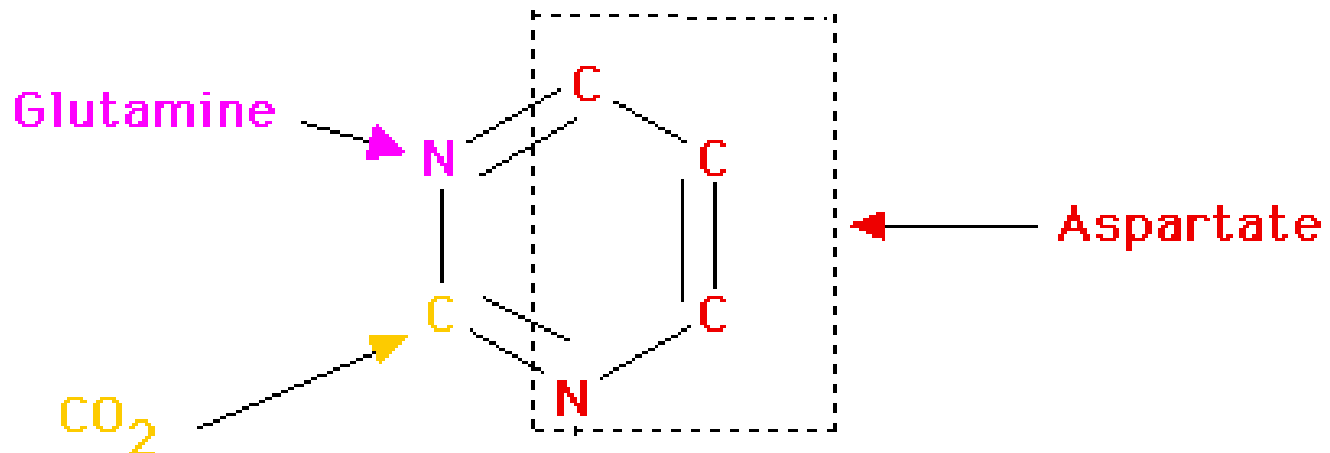
Allopurinol

Biosynthesis of pyrimidine ribonucleotides

De Novo Synthesis

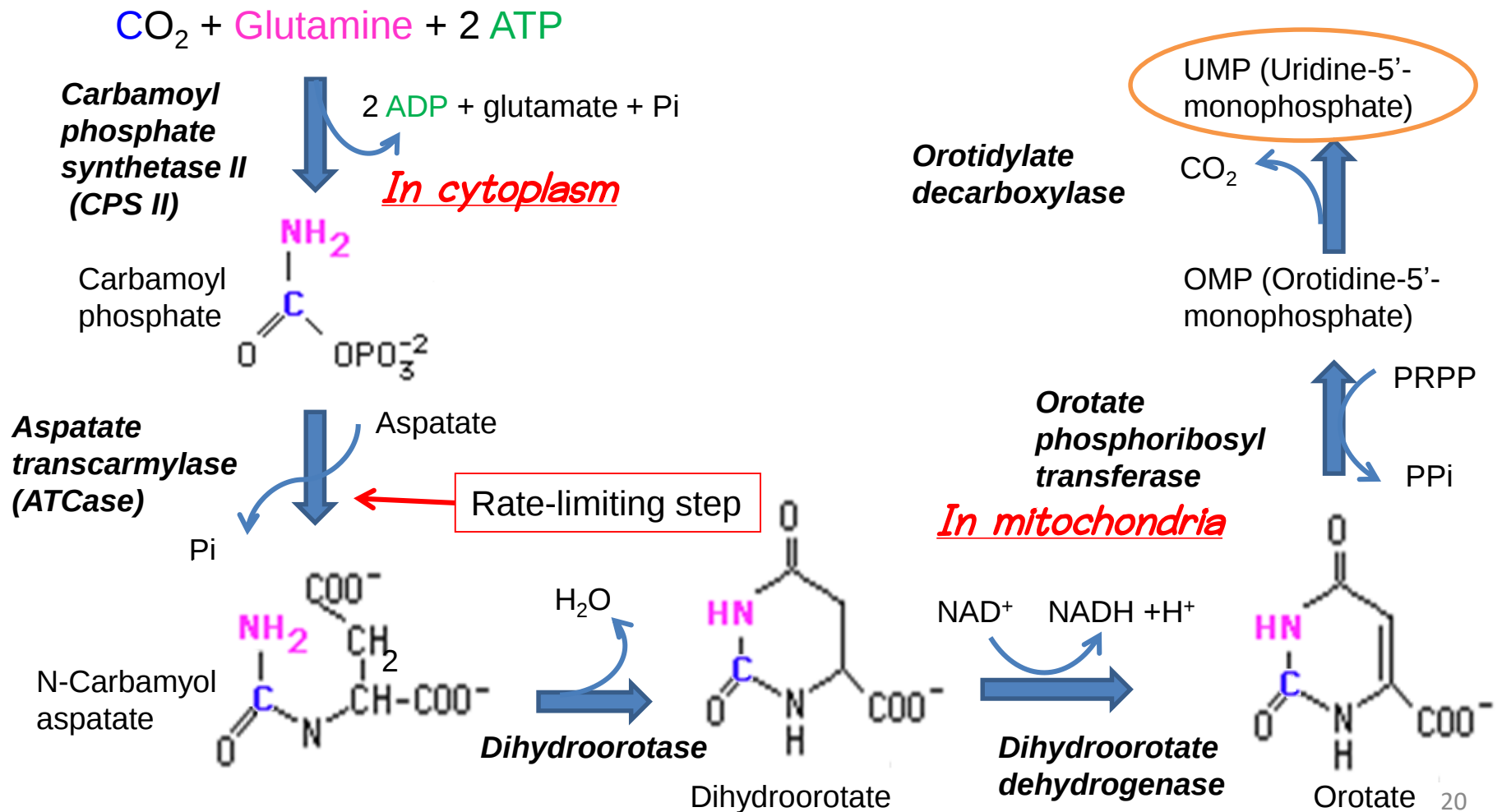
วงแหวนไพริมิดีนเกิดจากสารตั้งต้นกำเนิด:

CO_2 , กรดอะมิโนกลูตามีน, กรดแอสพาร์ติก



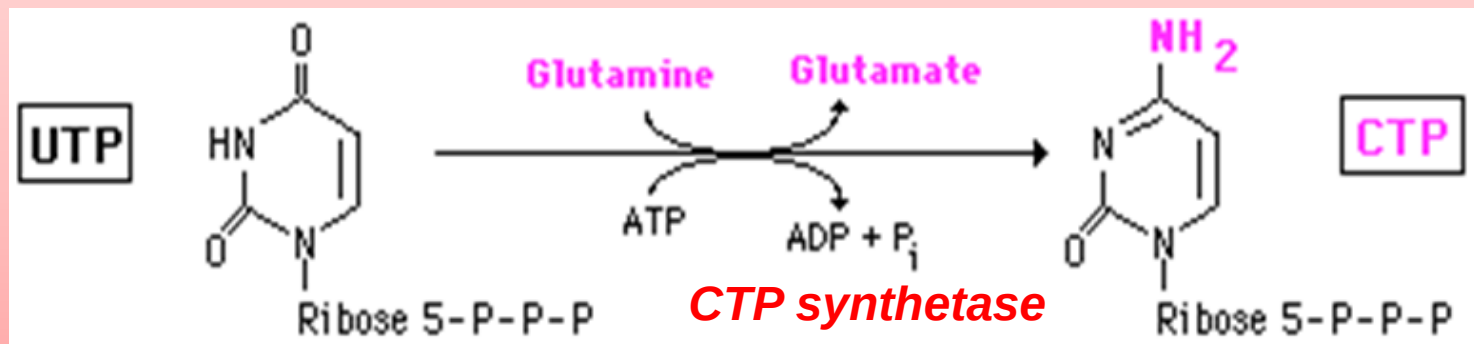
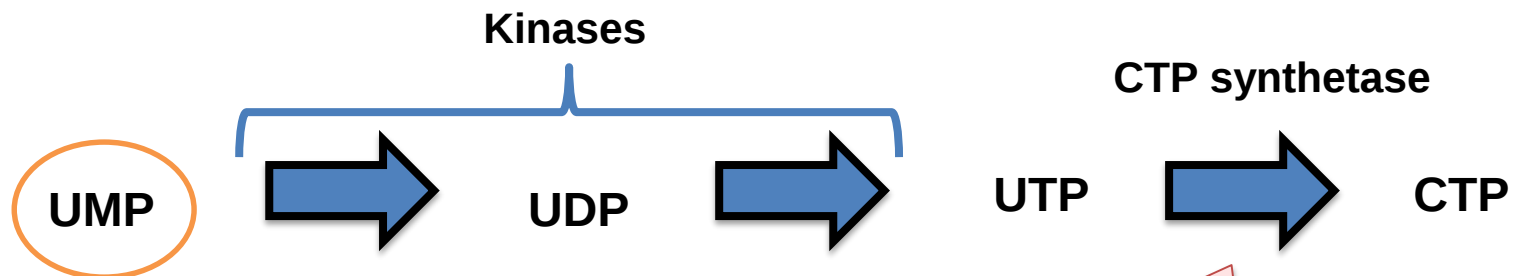
Biosynthesis of pyrimidine ribonucleotides

De Novo Synthesis



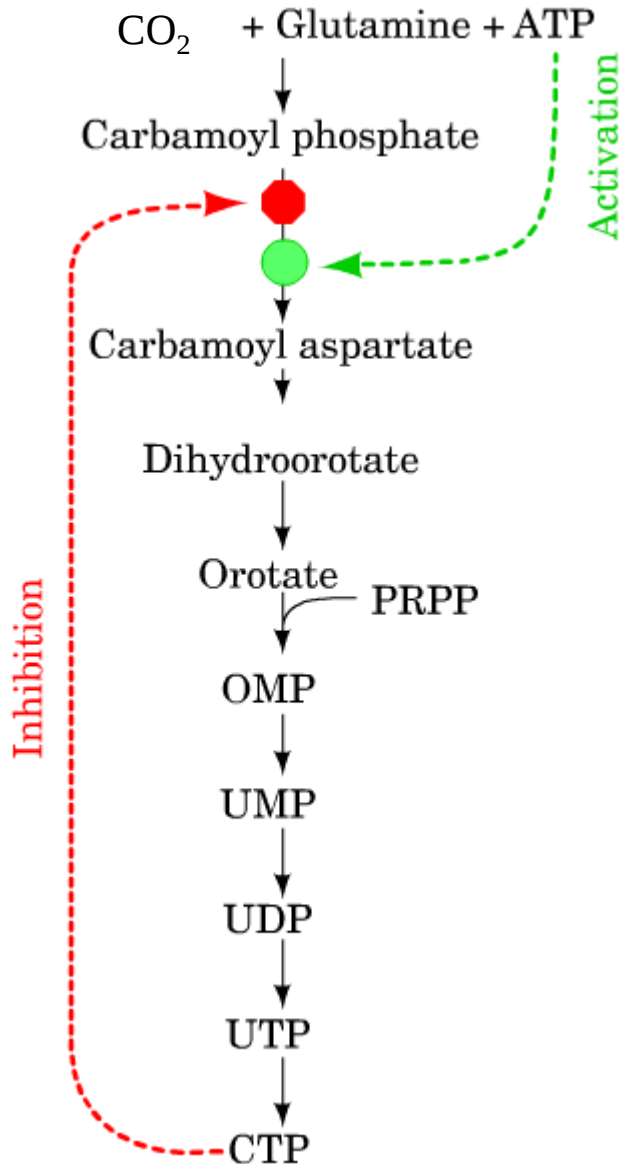
Biosynthesis of pyrimidine ribonucleotides

De Novo Synthesis

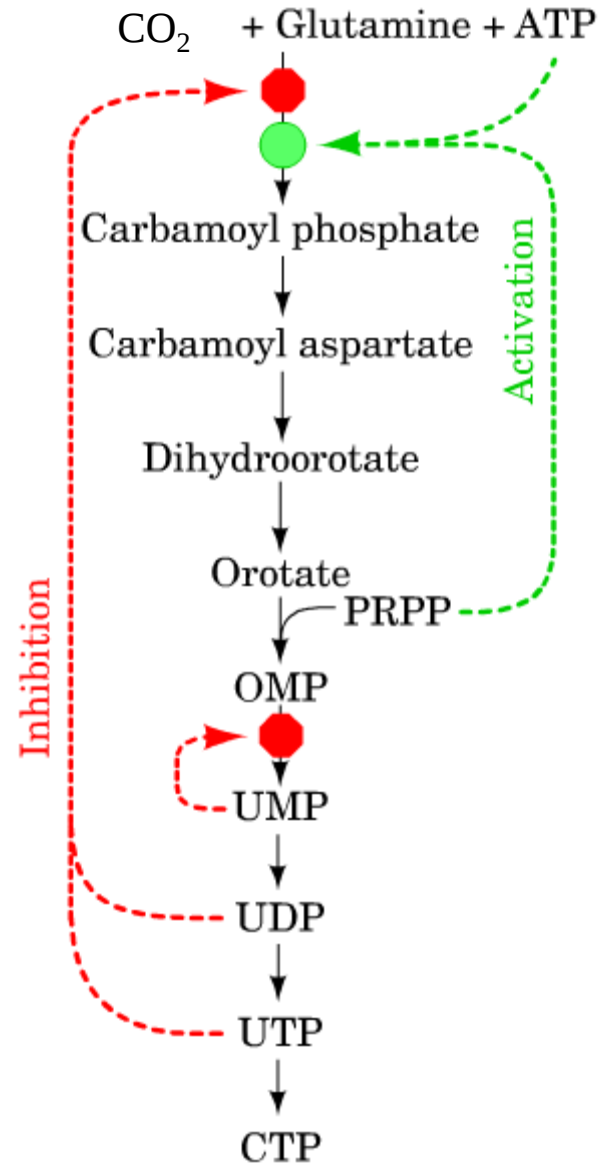


Regulation of pyrimidine nucleotide synthesis

E. Coli
pyrimidine
biosynthesis



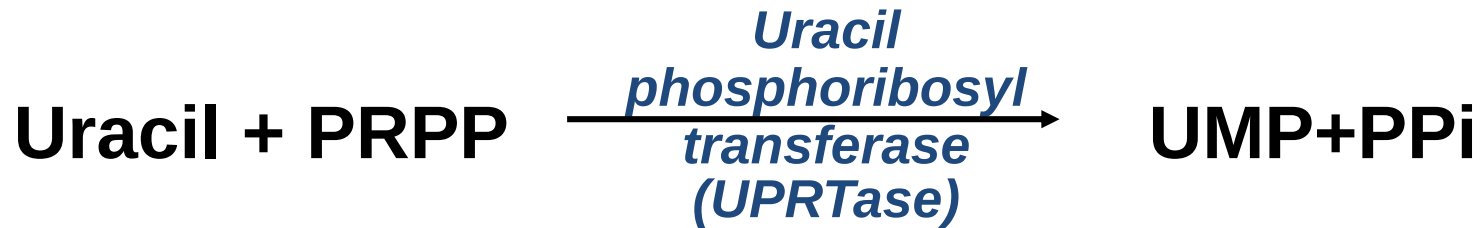
Animal
pyrimidine
biosynthesis



Biosynthesis of pyrimidine ribonucleotides

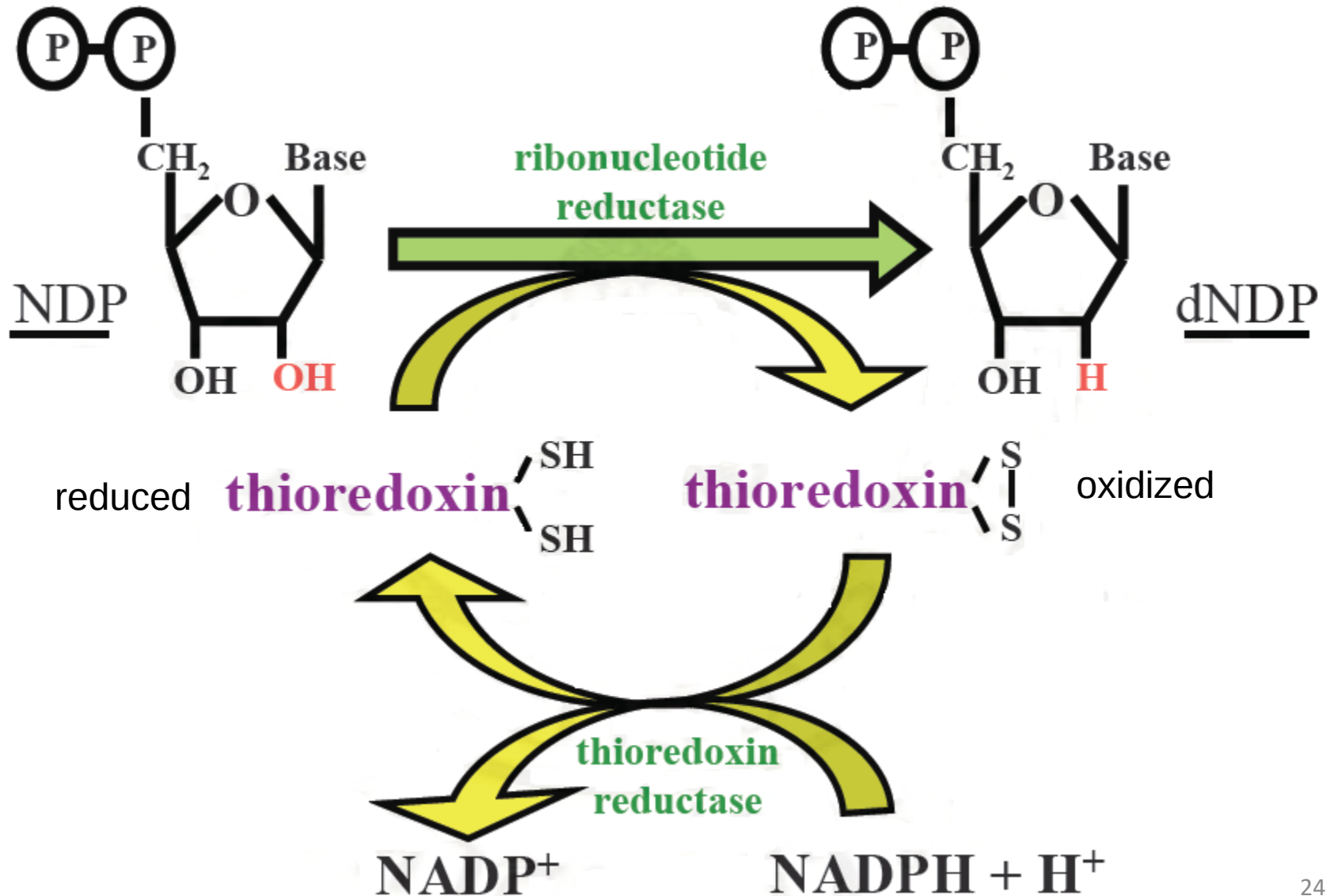
Salvage pathway

การสร้าง pyrimidine nucleotide โดยการดึงเอา free base จากอาหารหรือจากการย่อยสลาย nucleic acid ภายในเซลล์

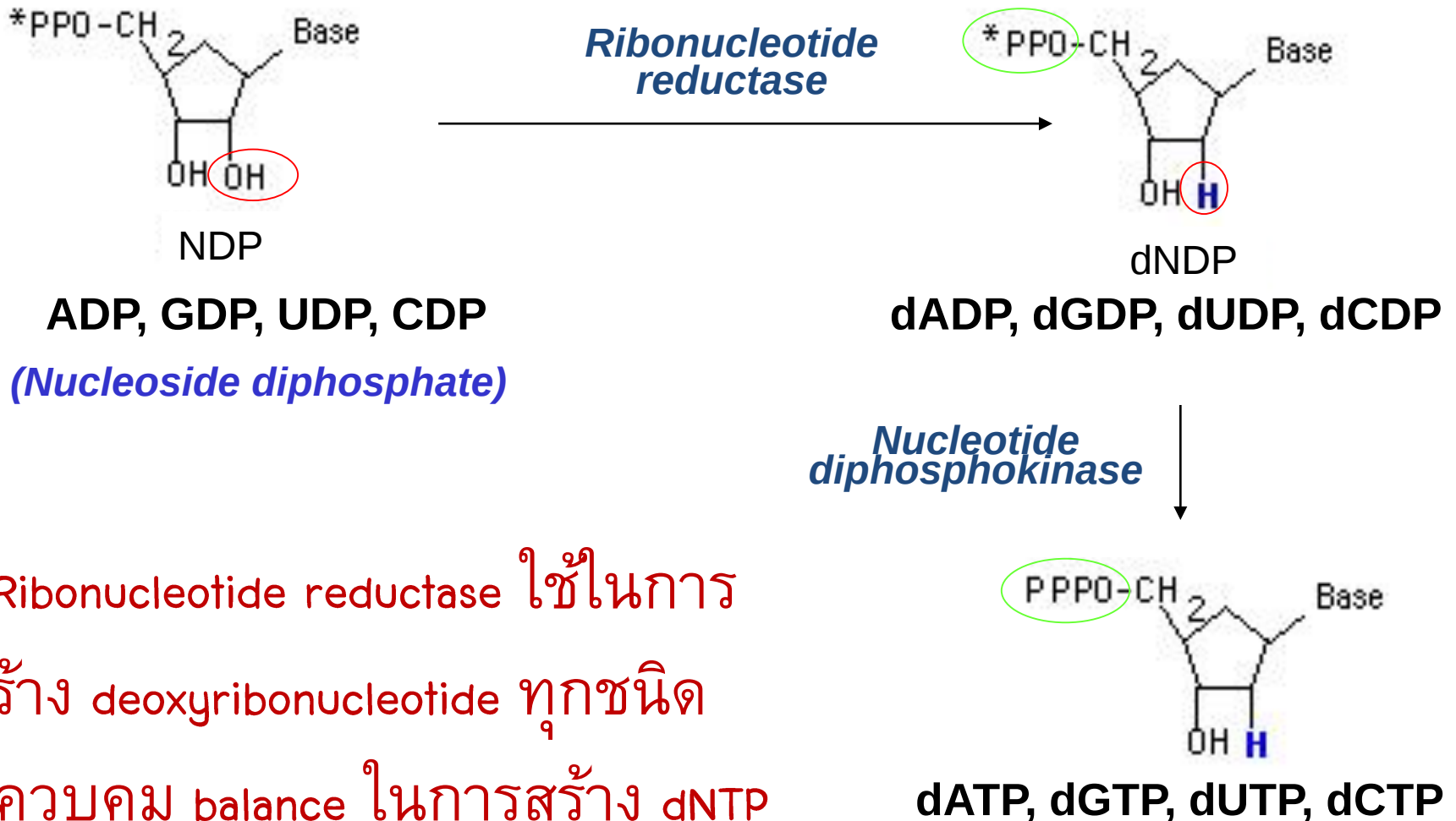


เกิดน้อยมากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

Deoxyribonucleotide biosynthesis

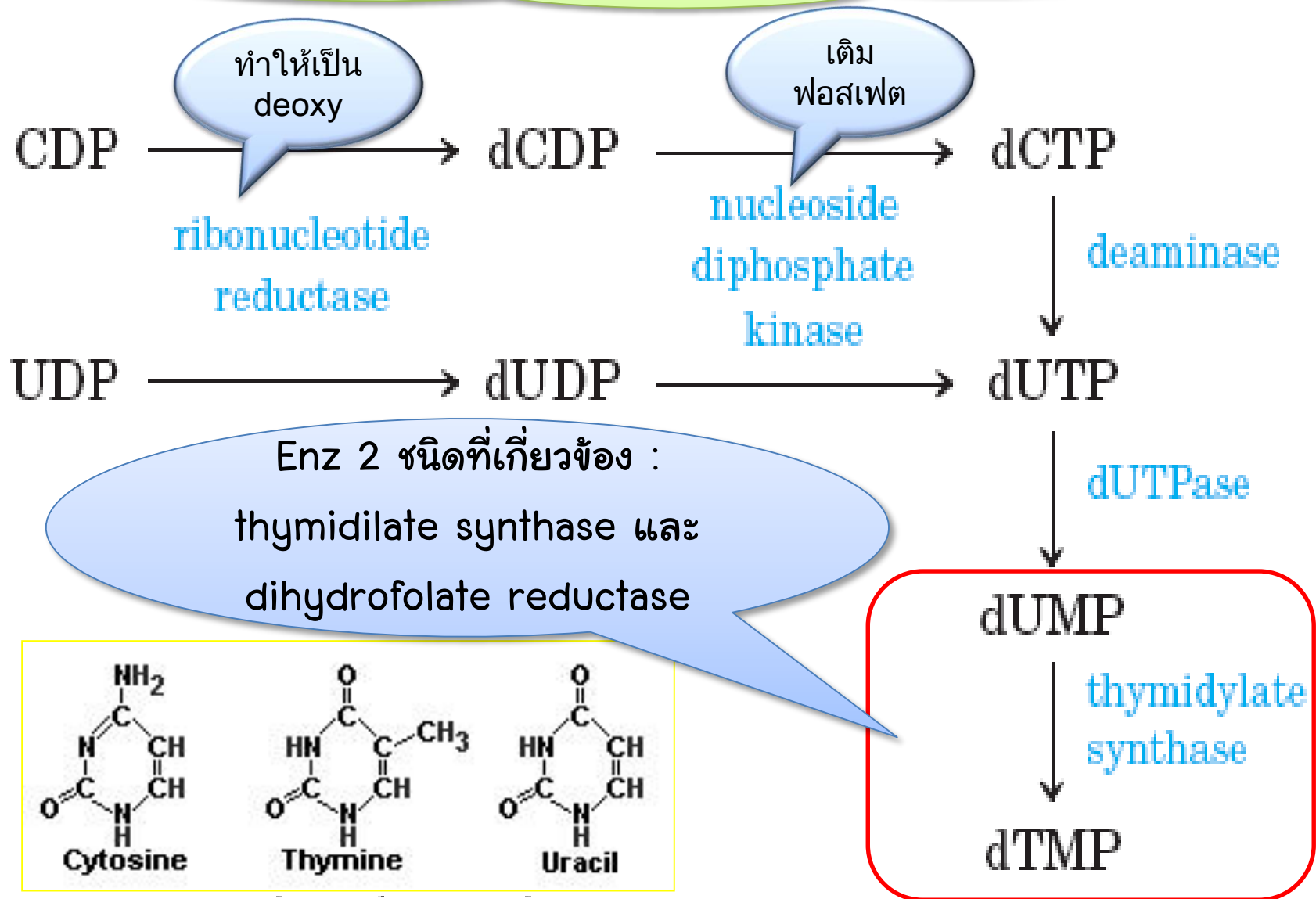


การสร้าง dATP, dGTP, dUTP, dCTP

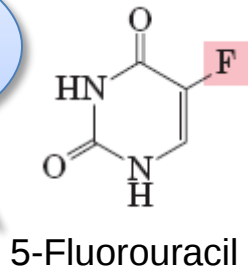


- Ribonucleotide reductase ใช้ในการสร้าง deoxyribonucleotide ทุกชนิด
- ควบคุม balance ในการสร้าง dNTP

Biosynthesis of thymidilate (dTMP)



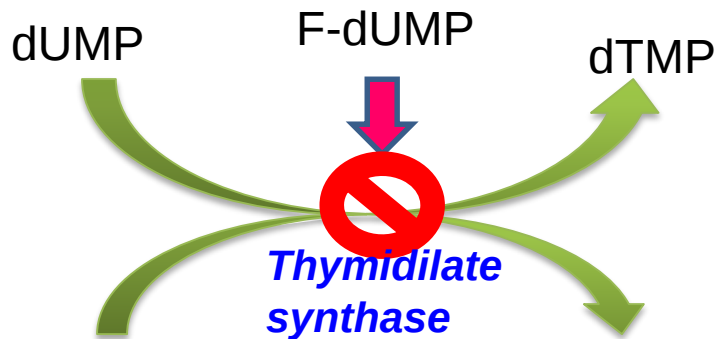
Nucleotide
analogue



5-FU



เติมหมู่ฟอสเฟต
เปลี่ยนเป็น Deoxy



N_5N_{10} methylene
 H_4 folate

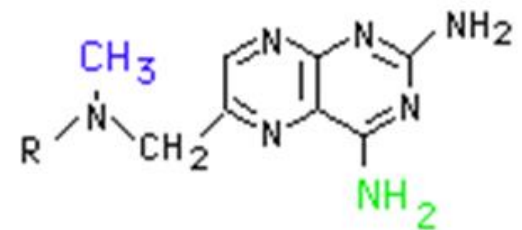
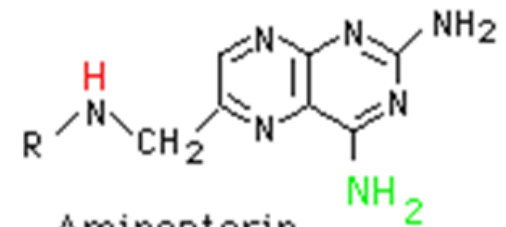
dihydrofolate

Dihydrofolate reductase

NADPH+H⁺

NADP⁺

H_4 folate



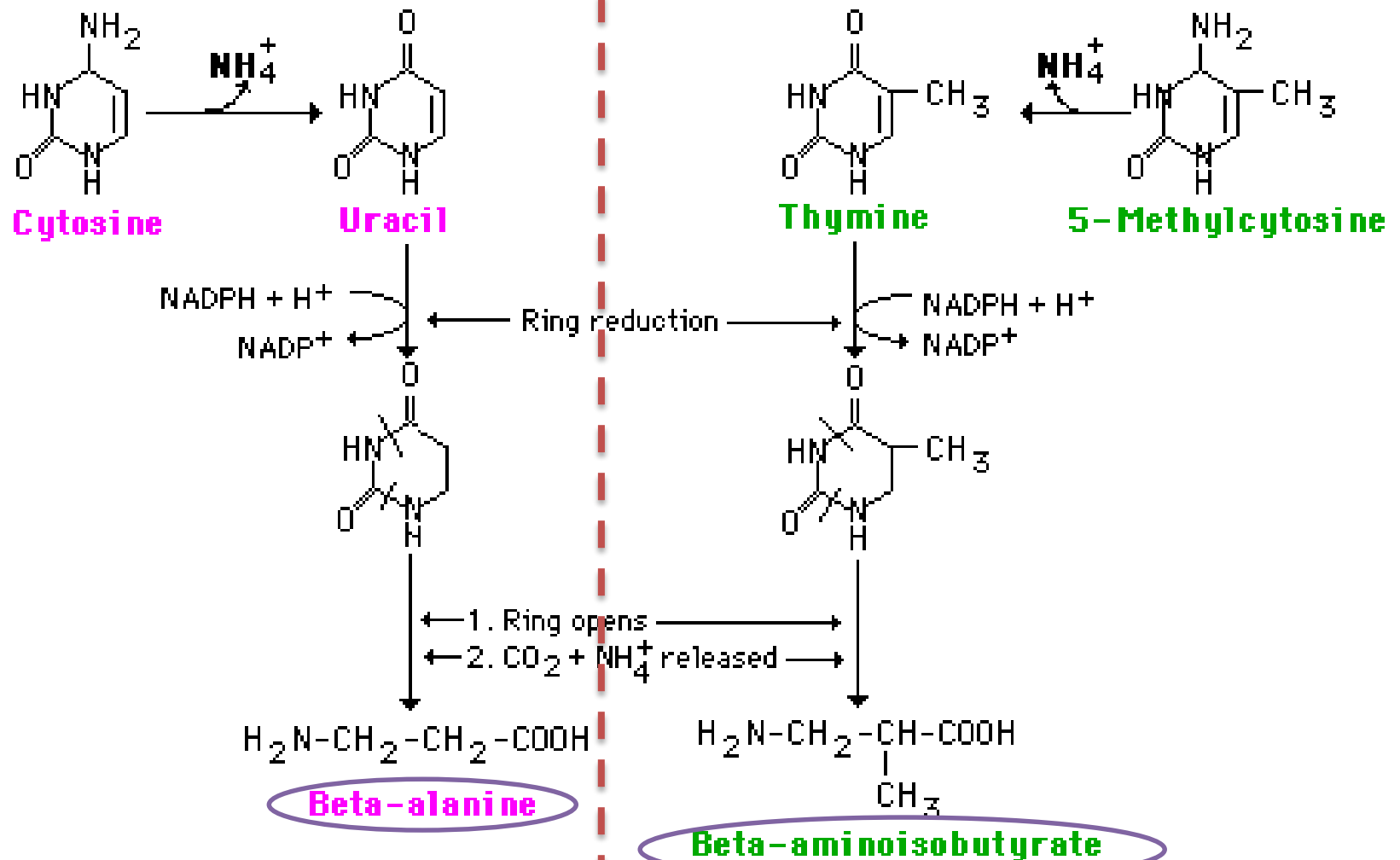
Methotrexate

Antifolate

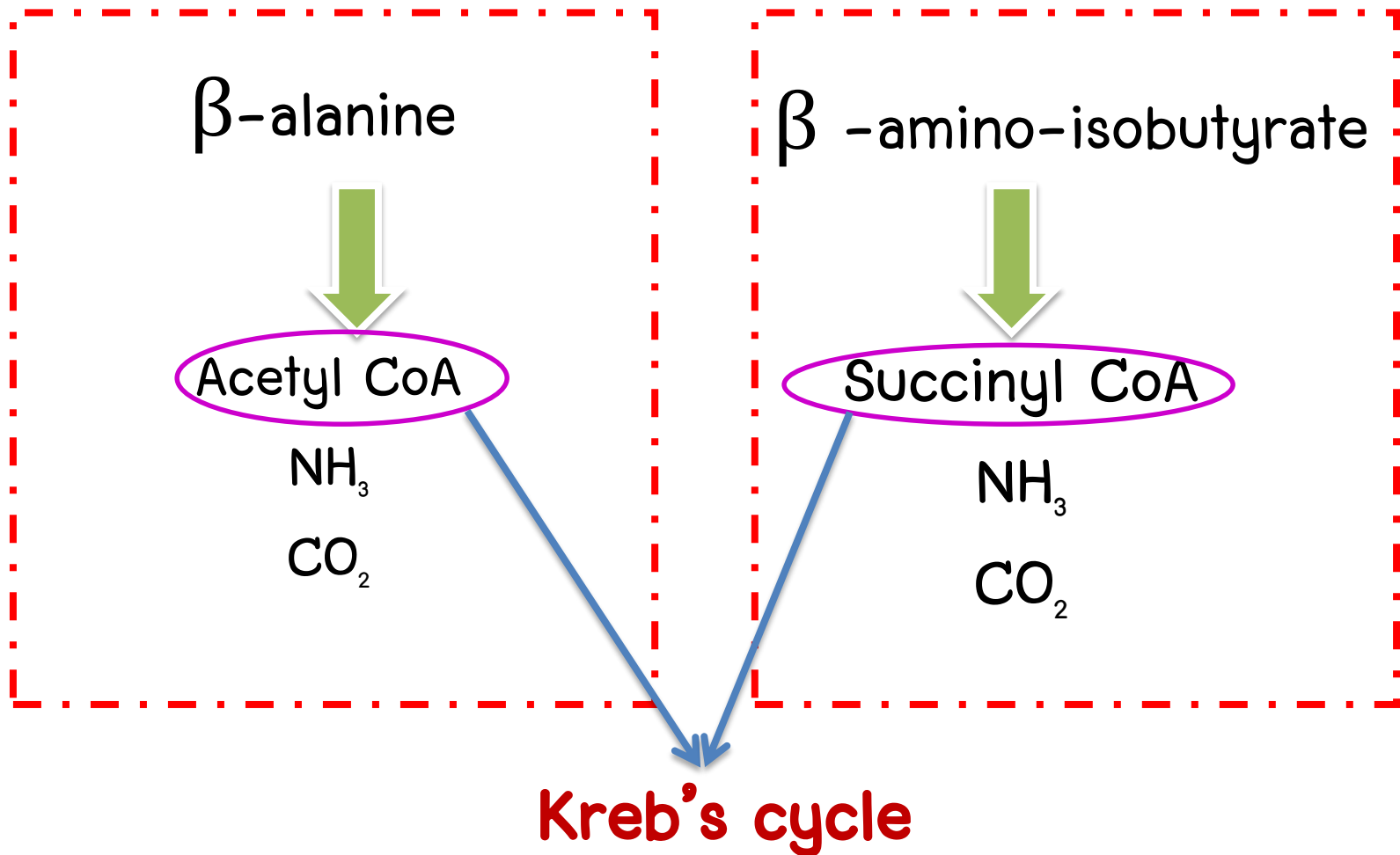
Methotrexate
Aminopterin

Anticancer drugs :
inhibit DNA synthesis

Degradation of pyrimidine nucleotides



Products from pyrimidine nucleotide degradation



สรุป

- **ย่อย Nucleic acid** โดย Nuclease 2 ชนิด คือ ribonuclease (ย่อย RNA) และ Deoxyribonuclease (ย่อย DNA) จากนั้นถูกย่อยโดย phosphodiesterase ได้นิวคลีโอไทด์ ซึ่งถูกย่อยต่อด้วย nucleotidase ได้เป็น phosphate และ nucleoside สุดท้าย nucleoside จะถูกย่อยโดย nucleosidase จนกลายเป็น น้ำตาล และ เบส ผลที่ได้ส่วนใหญ่เข้าสู่กระบวนการสลาย บางส่วนเข้ากระบวนการสังเคราะห์
- **การสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์** มี 2 แบบคือ De novo pathway (วิถีหลัก) และ salvage pathway (วิถีกู้คืน)
 - **Purine synthesis**
 - **De novo pathway :**
 - สร้างจาก amino acids และ PRPP โดย multistep process
 - จำเป็นในกระบวนการ cell proliferation
 - มีกระบวนการควบคุมการสร้าง (feedback regulation)
 - nucleotide ตัวแรกที่ถูกสร้าง คือ IMP ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็น AMP, GMP
 - Enz: PRPP synthetase, PRPP glutamyl amidotransferase

PRPP + glutamine + glycine + formyl-THF + aspartate + CO₂ + some ATP



Purines

สรุป

- Purine synthesis

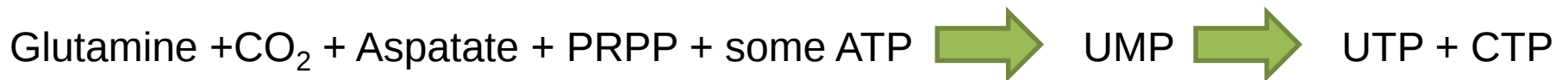
- Salvage pathway :

- นำเอาเบสอิสระหรือนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากสารอาหารมาสังเคราะห์ใหม่
- จำเป็นในกระบวนการ nucleotide metabolism/cell at rest
- Enz ที่สำคัญ ได้แก่ APRT, HGPRT

- Pyrimidine synthesis

- De novo pathway:

- สารตั้งต้น คือ CO_2 , Glutamine, ATP
- Precursor ที่สำคัญคือ UMP
- Enz ที่สำคัญหลายชนิด เช่น CPS II, ATcase, Dihydroorotate, CTP synthetase เป็นต้น



- Salvage pathway:

- นำเอาเบส pyrimidine มาสังเคราะห์ใหม่ เกิดน้อยมากในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม

สรุป

• การสลาย Nucleotide

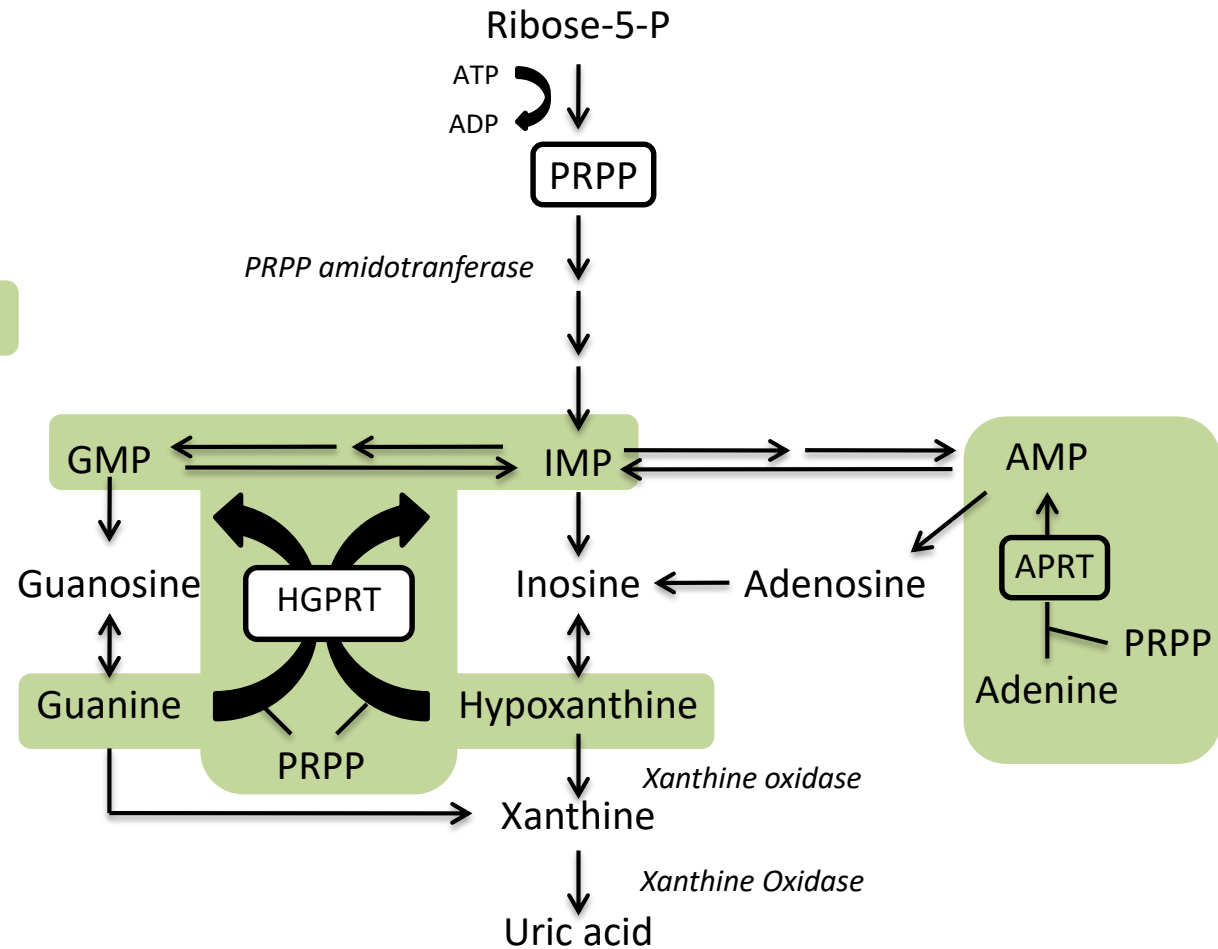
- Purine degradation จะได้ waste product คือ uric acid ซึ่งถ้ามีปริมาณมากเกินไปในร่างกายเรียกว่า ภาวะ hyperuricemia และเป็นสาเหตุของการเกิดโรค gout
- ยาที่ใช้รักษาโรค Gout คือ Allopurinol เป็น analogue ของ hypoxanthine
- Pyrimidine degradation จะได้อะซีติลโคเอและซักซินิลโคเอ เป็นสาร Intermediate ในวัฏจักรเครบส์

• การสังเคราะห์ deoxyribonucleotide

- Ribonucleotide diphosphate เปลี่ยนเป็น deoxyribonucleotide diphosphate โดย ribonucleotide reductase
- dTMP สร้างจาก dUMP เป็น pathway พิเศษที่ใช้ folate, thymidylate synthase, dihydrofolate reductase
- เอนไซม์ thymidylate synthase เป็นเป้าหมายของยาเคมีบำบัด กลุ่ม pyrimidine analogue : fluorouridine (5-FU)
- เอนไซม์ dihydrofolate reductase เป็นเป้าหมายของยาเคมีบำบัด กลุ่ม antifolate : methotrexate, aminopterin

DE NOVO SYNTHESIS

SALVAGE SYNTHESIS



References

1. พจน์ ศรีบุญลือ และคณะ “ตำราชีวเคมี” ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2555, พิมพ์ครั้งที่ 6
2. Thomas M. Devin., Textbook of biochemistry with clinical correlation, 6th edition., Wiley-Liss, 2006.
3. <http://themedicalbiochemistrypage.org/nucleotide-metabolism.html>
4. Lehninger AL., Nelson DL and Cox MM., Principle of Biochemistry, 5th edition, W.H freeman and company, 2008.

