

Prof. Giorgio Sartor

Metabolismo dei nucleotidi

- 1: introduzione
- 2: biosintesi de-novo delle purine
- 3: biosintesi de-novo delle pirimidine
- 4: **catabolismo delle purine**
- 5: **catabolismo delle pirimidine**
- 6: sintesi deossiribonucleotidi
- 7: regolazione della sintesi deossiribonucleotidi

Copyright © 2001-2013 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

N01 - Versione 0.1 - may 2013

Prof. Giorgio Sartor

Metabolismo dei nucleotidi

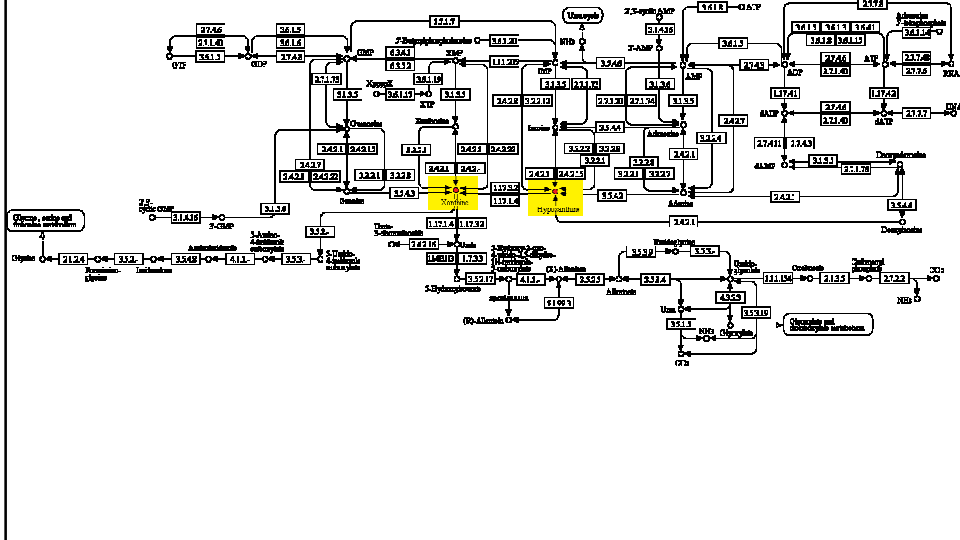
4: **catabolismo delle purine**

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 2

Catabolismo delle purine

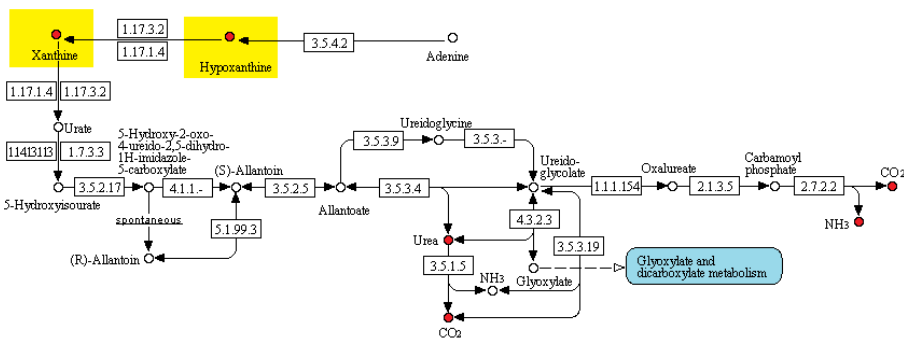


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 3

Catabolismo delle purine



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 4

Catabolismo dei nucleotidi purinici

Nucleotidasi



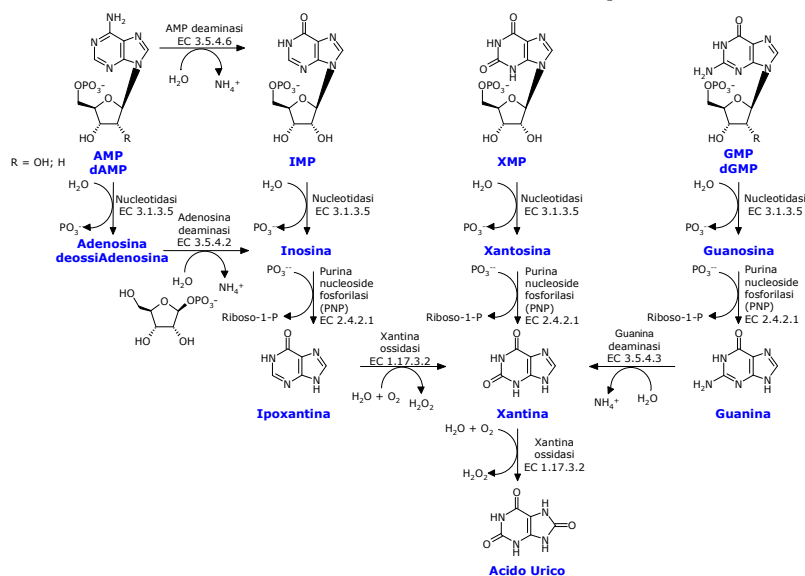
- I nucleotidi provenienti dalla degradazione del mRNA sono convertiti in nucleosidi da **nucleotidasi intracellulari** che sono sotto stretto controllo metabolico per evitare la deplezione di nucleotidi;
- I nucleosidi sono scissi in base purinica e ribosio-1-P da **purina nucleoside fosforilasi (PNP)** ma né l'Adenosina né la Deossadenosina sono substrati di PNP, questi due nucleosidi sono convertiti in Inosina da **Adenosina deaminasi**, l'Inosina viene processata;
- I prodotti di PNP vengono convertiti in Xantina da **Guanina deaminasi** e **Xantina ossidasi** la quale converte anche la Xantina in Acido Urico.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 5

Catabolismo delle purine

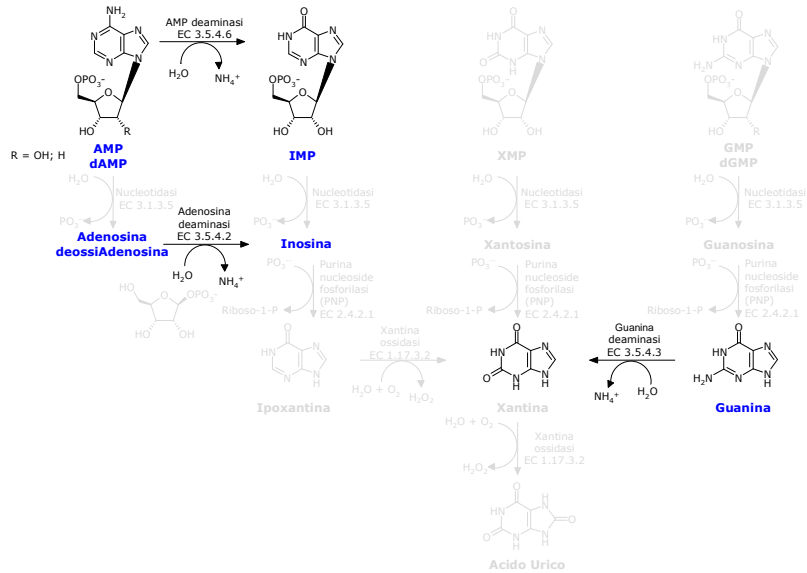


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 6

Deaminasi



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 7

Deaminasi

- Tre deaminasi:
 - AMP deaminasi (EC 3.5.4.6),
 - Adenosina deaminasi (EC 3.5.4.2) e
 - Guanina deaminasi (EC 3.5.4.3).
- Intervengono, a diverso livello, per produrre xantina.

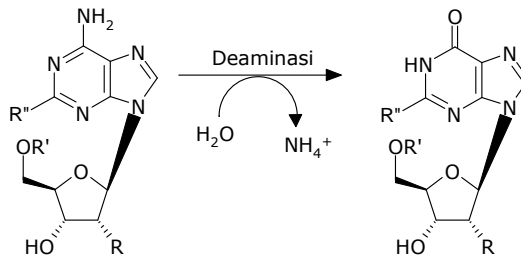
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 8

AMP deaminasi (EC 3.5.4.6) Adenosina deaminasi (EC 3.5.4.2) Guanosina deaminasi (EC 3.5.4.3)

Nucleotide; deossiNucleotide
R = -OH; -H
Nucleoside; Nucleotide
R' = -H; -PO₃⁻
Adenosina; Guanosina
R'' = -H; -NH₂



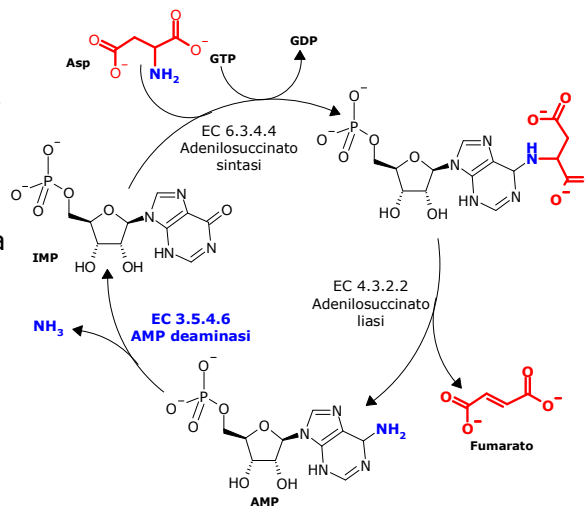
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 9

AMP deaminasi

- Nel muscolo scheletrico serve per rifornire il ciclo di Krebs di fumarato.
- La carenza di AMP deaminasi provoca la sindrome da immunodeficienza combinata (SCID).



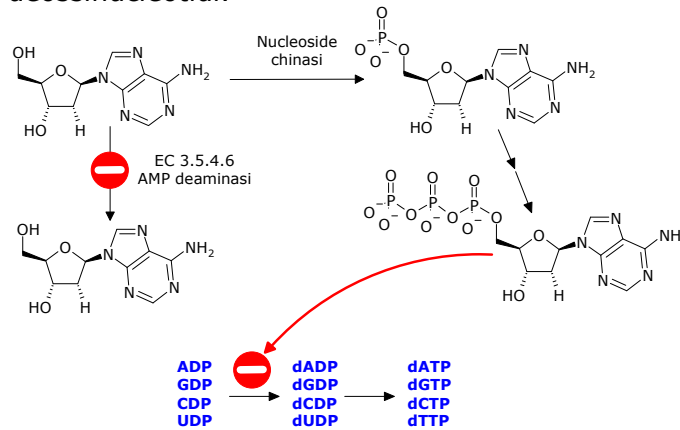
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 10

SCID

- **Sindrome da ImmunoDeficienza Combinata**
 - Mancata capacità proliferativa di linfociti B e T a causa della aumentata sintesi di dATP che inibisce la sintesi dei deossinucleotidi.



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 11

Fermentazione e acidosi

- Il passaggio attraverso la via anaerobica genera un'acidosi dalla quale gli organismi acquatici che vivono nella zona intertidale si difendono utilizzando diversi meccanismi:
 - Eliminazione durante l'alta marea
 - Effetto tampone dei pigmenti respiratori
 - Conversione in specie meno pericolose (etanolo)
 - Utilizzo della conchiglia per tamponare
 - Trasporto in un altro distretto
 - **Conversione di AMP in IMP e NH₃ che viene usata per tamponare il pH acido.**

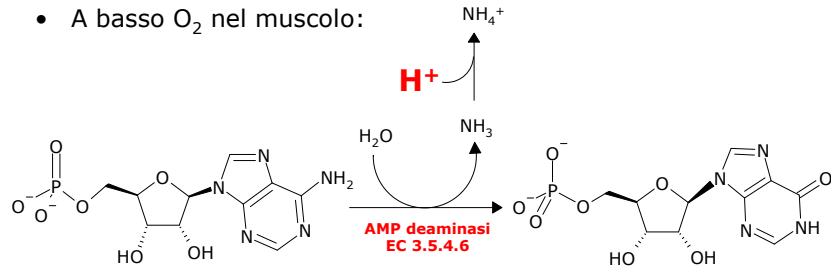
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 12

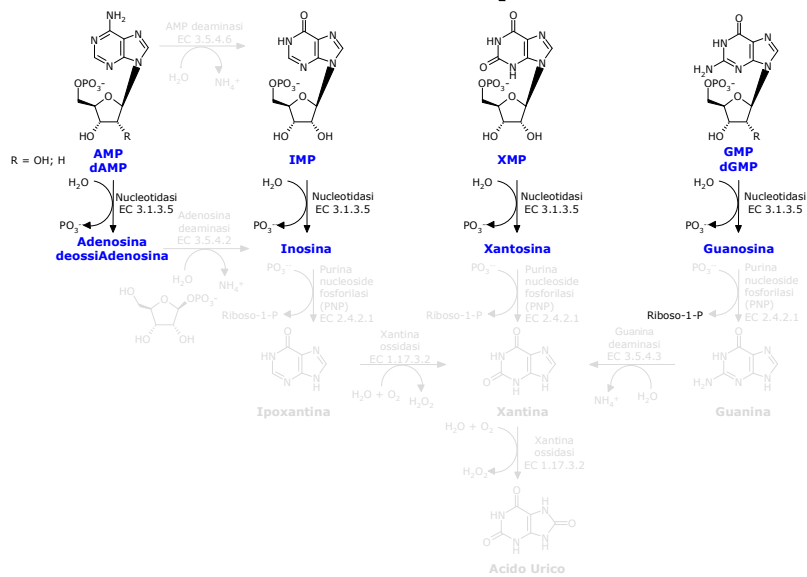
Acidosi

- Minimizzare l'acidificazione utilizzando vie di consumo di H⁺
- A basso O₂ nel muscolo:



- AMP è convertito in IMP e NH₃ il quale è protonato a NH₄⁺
- La concentrazione di IMP può crescere fino a 5 mM a pH 7
 - Aspetto positivo: buon sistema di protezione
 - Aspetto negativo: deplezione del pool dell'adenilato

5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)



5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)

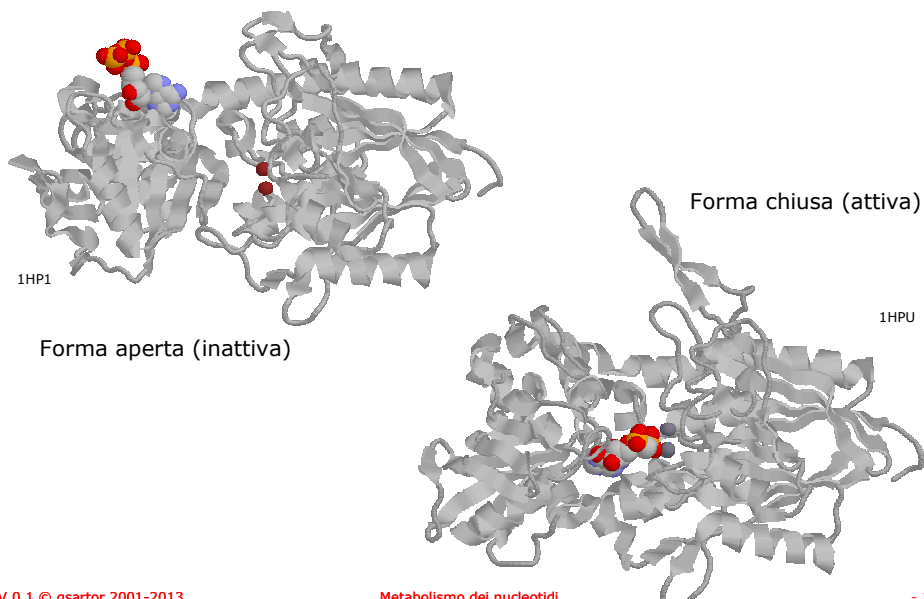
- Le 5'-Nucleotidasi appartengono ad una famiglia di metallo (Zn^{++}) proteine dinucleari;
- Il passaggio tra la forma aperta (inattiva) e la forma chiusa (attiva) dell'enzima è dovuto ad una rotazione del dominio catalitico di 96° ;
- L'adenosina lega una specifica tasca nel dominio C-terminale formando una struttura "stacked" tra la Phe429 e Phe498;
- Il dominio N-terminale contiene il centro bimetallico e un residuo conservato (His117) i quali formano il centro catalitico;
- Anche tre residui di Ala (375, 379 e 410) sono coinvolti nel legame del substrato e probabilmente stabilizzano lo stato di transizione;
- Uno ione metallico coordina anche una molecola d'acqua posizionata opportunamente per effettuare l'attacco nucleofilo sull'atomo di fosforo.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 15

5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)

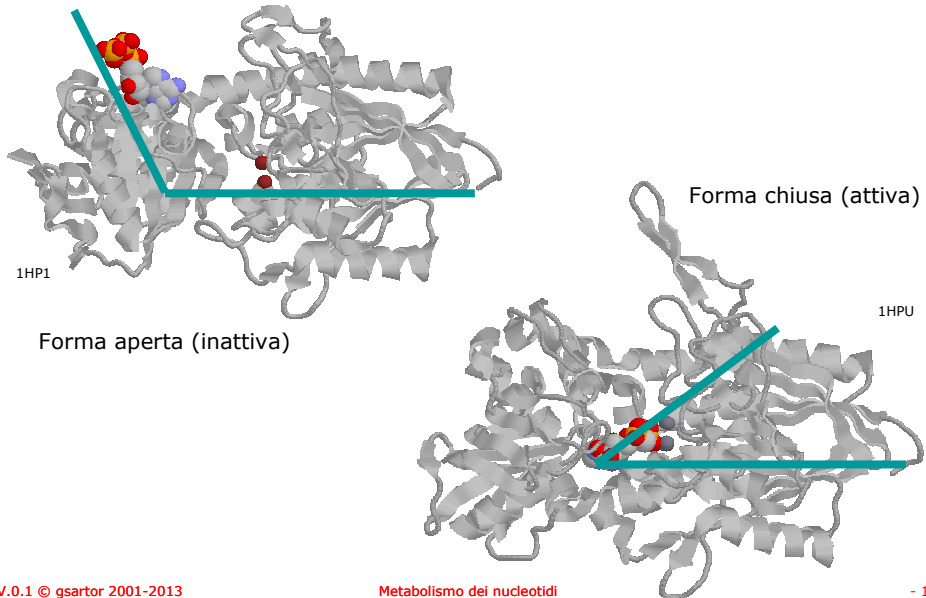


V.0.1 © gsartor 2001-2013

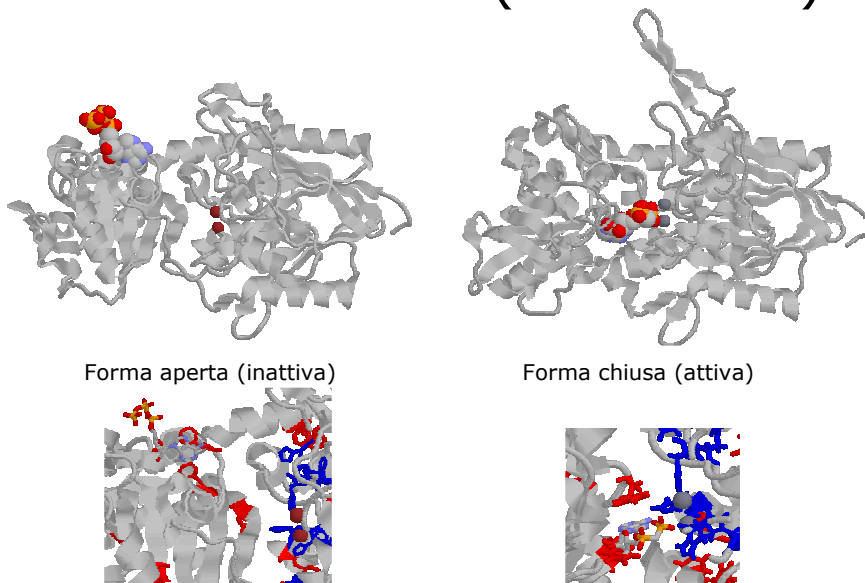
Metabolismo dei nucleotidi

- 16

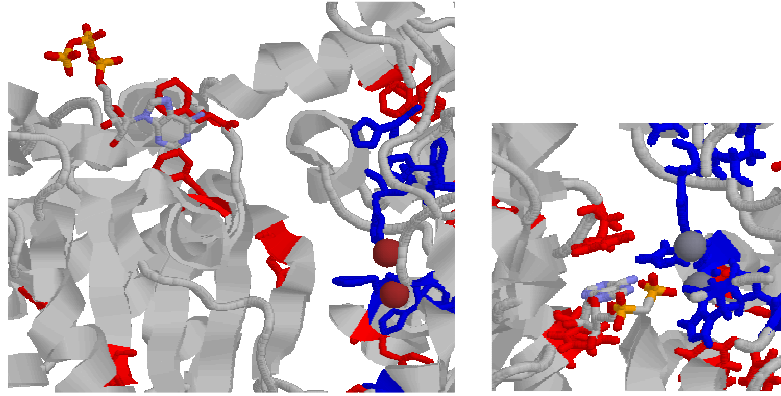
5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)



5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)



5'-nucleotidasi (EC 3.1.3.5)



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 19

Nucleotidasi (EC 3.1.3.5)

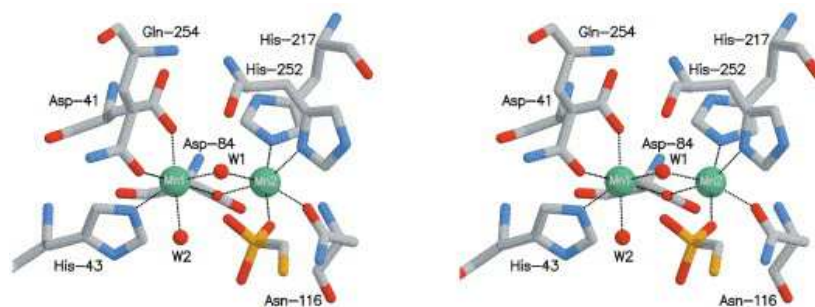


Figure 3. Structure of the dimetal center and the coordination sphere. Only the β -methylene-phosphate group and the α -phosphorus atom of AMPCP are shown for clarity.

Knöfel T, Sträter N.
Mechanism of hydrolysis of phosphate esters by the dimetal center of 5'-nucleotidase based on crystal structures.
J Mol Biol. 2001 May 25;309(1):239-54.

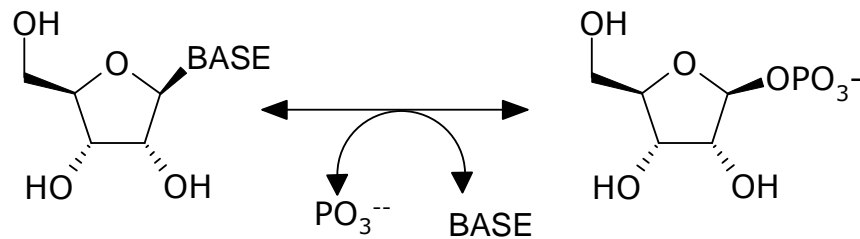
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 20

Purina nucleoside fosforilasi (EC 2.4.2.1)

- Purina nucleoside fosforilasi (PNP) è un enzima chiave nel meccanismo di riciclo delle basi azotate come alternativa alla sintesi *de-novo* delle purine;
- Catalizza, in modo reversibile, la fosforolisi dei 2'-deossipurina ribonucleosidi a base purinica e 2-deossiriboso 1-fosfato.

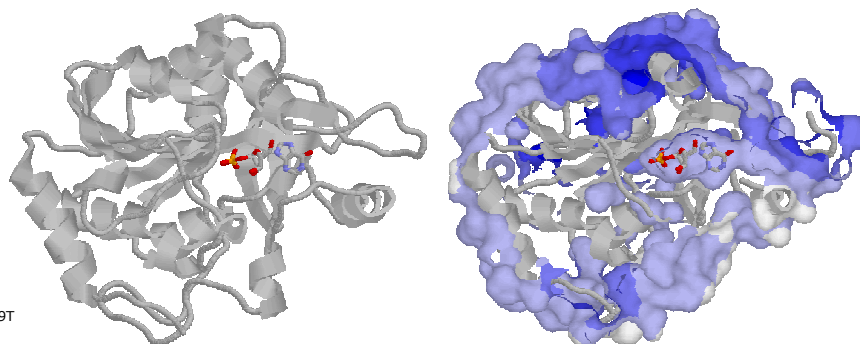


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 21

Purina nucleoside fosforilasi (EC 2.4.2.1)



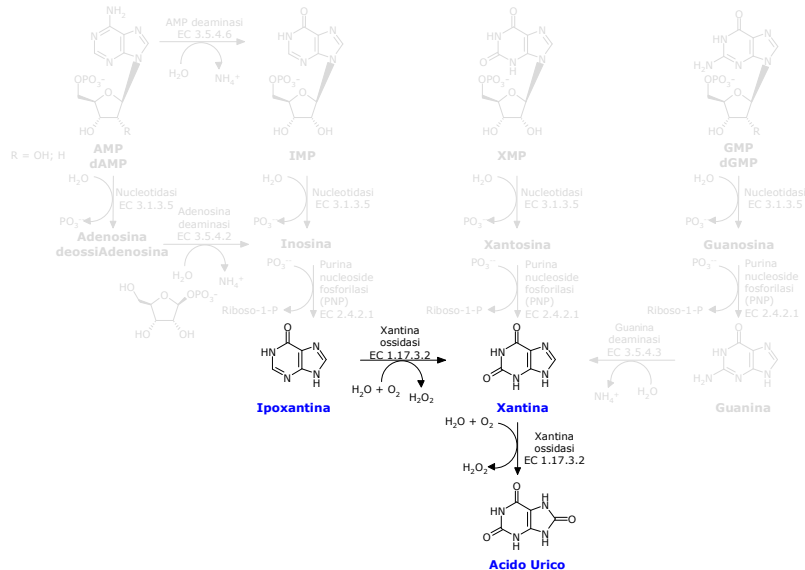
1A9T

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 22

Xantina ossidasi (EC 1.17.3.2)



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 23

Xantina ossidasi (EC 1.17.3.2 - EC 1.17.1.4)

- L'enzima agisce su diversi substrati purini e aldeidici
- Nei mammiferi converte anche il retinolo (all-trans) in acido retinoico (all-trans) con il substrato legato alla retinoid-binding protein (RBP);
- Negli eucarioti contiene due centri Ferro Zolfo [2Fe-2S], FAD e un centro molibdeno;
- Nei mammiferi è predominante la forma deidrogenasi NAD-dipendente (EC 1.17.1.4)
- Nella purificazione viene convertito nella forma O₂-dipendente, xantina ossidasi (EC 1.17.3.2).
- La conversione può essere innescata dalla ossidazione di gruppi tiolici di Cys per formare ponte disolfuro, questa reazione può essere catalizzata da una tiolo-enzima transidrogenasi (EC 1.8.4.7) che usa glutatione ossidato oppure attraverso una parziale proteolisi enzimatica che rende irreversibile la conversione;
- La conversione avviene anche in vivo.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

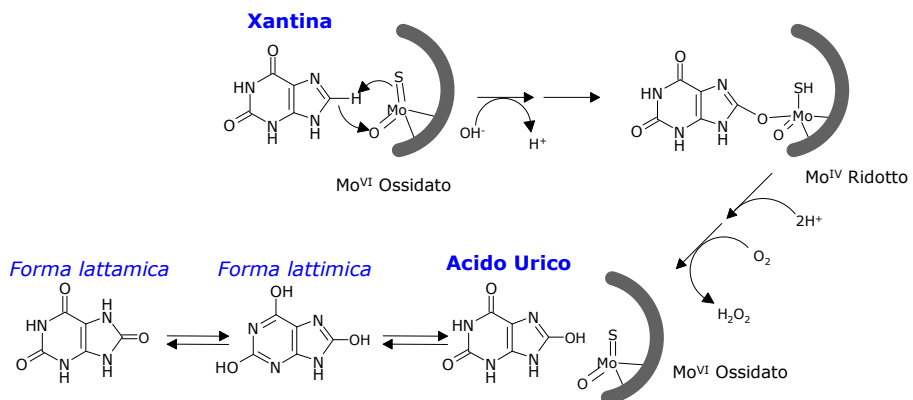
- 24

Xantina ossidasi (EC 1.17.3.2)



Xantina ossidasi (EC 1.17.3.2)

- Il centro catalitico è il centro Mo

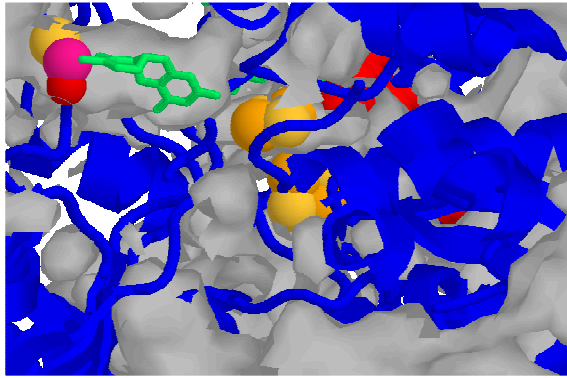


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 26

Xantina ossidasi (EC 1.17.3.2)

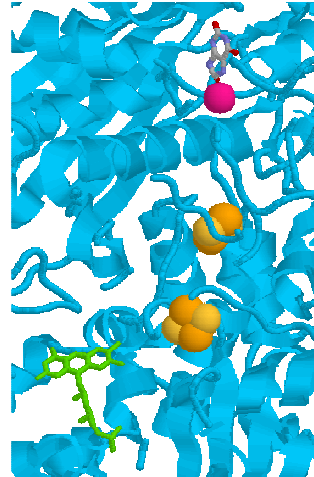


3AMZ

V.0.1 © gsartor 2001-2013

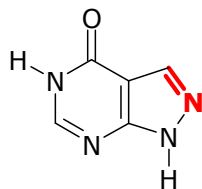
Metabolismo dei nucleotidi

- 27

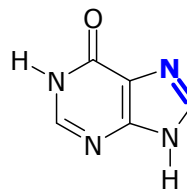


Xantina ossidasi e gotta

- Gli umani e gli altri primati eliminano acido urico con le urine ma la maggior parte dell'azoto viene eliminato come urea;
- Uccelli, rettili e insetti usano l'acido urico come mezzo principale per l'eliminazione dell'azoto;
- La gotta è una patologia provocata dall'accumulo di urati nelle articolazioni delle estremità;
- L'**allopurinolo**, un inibitore della xantina ossidasi, è utilizzato nel trattamento della gotta.



Allopurinolo



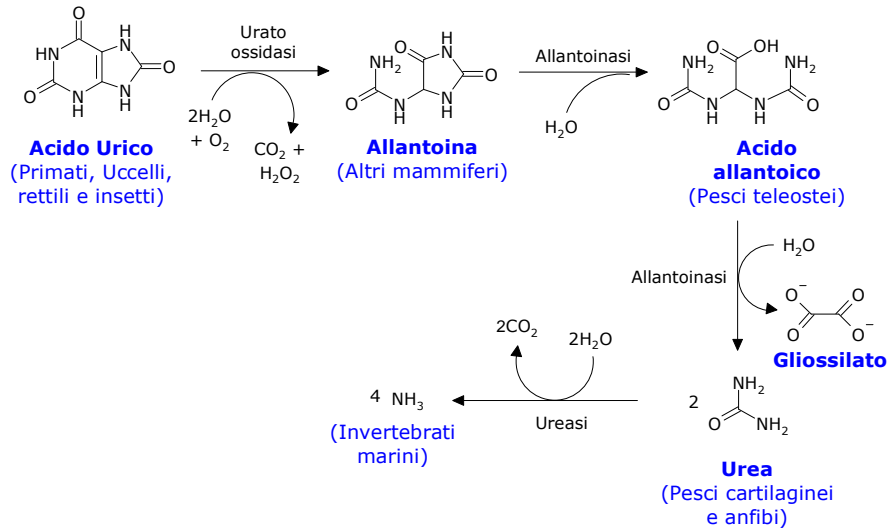
Xantina

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 28

Destino acido urico



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 29

Destino acido urico

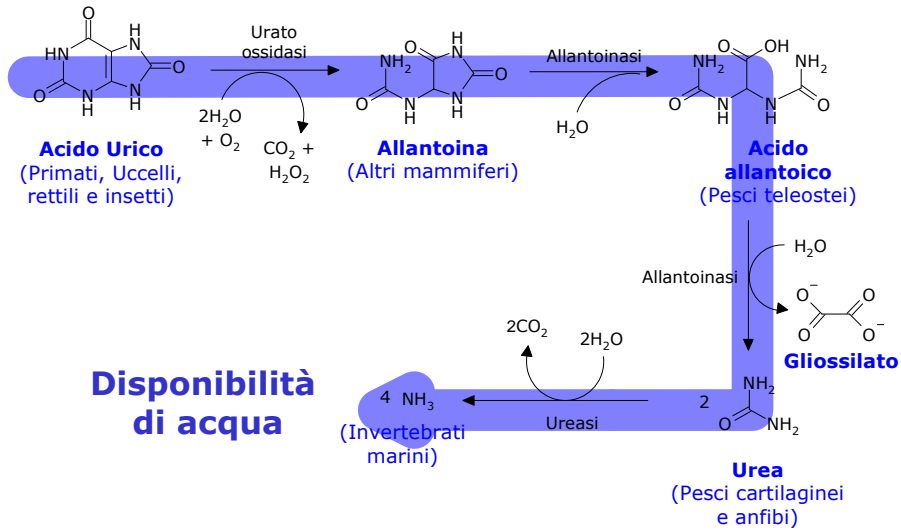
- Negli umani e negli altri primati:
 - L'acido urico è il prodotto finale del metabolismo delle basi puriniche e viene escreto con le urine;
 - L'azoto amminico proveniente dal metabolismo aminoacidico viene eliminato come urea.
- Negli uccelli, nei rettili terrestri e in molti insetti l'acido urico è l'unica via di escrezione dell'azoto anche quello proveniente dagli aminoacidi e l'acido urico viene escreto come solido per mantenere l'acqua;
- La conversione dell'acido urico nei suoi derivati è funzione della disponibilità di acqua per l'organismo.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 30

Destino acido urico

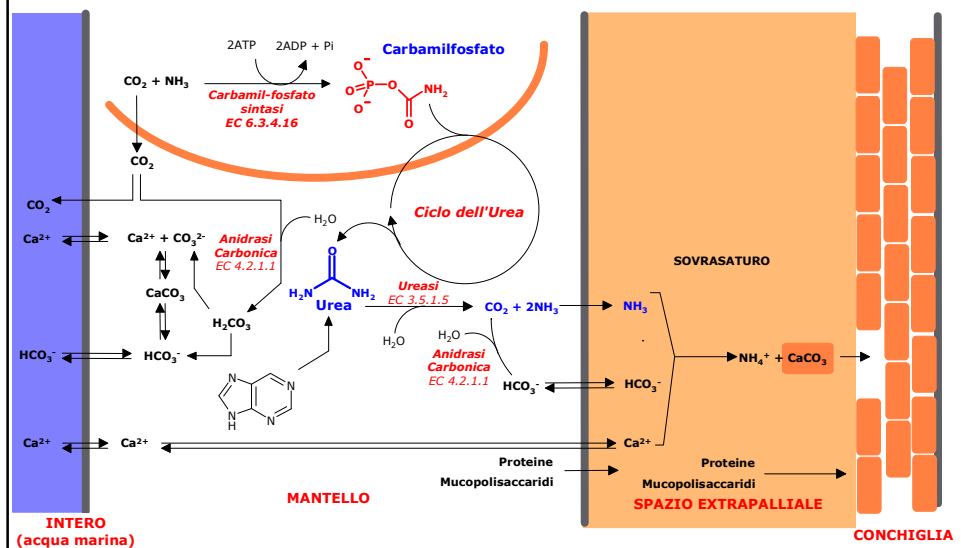


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 31

Urea, CO₂ e NH₃

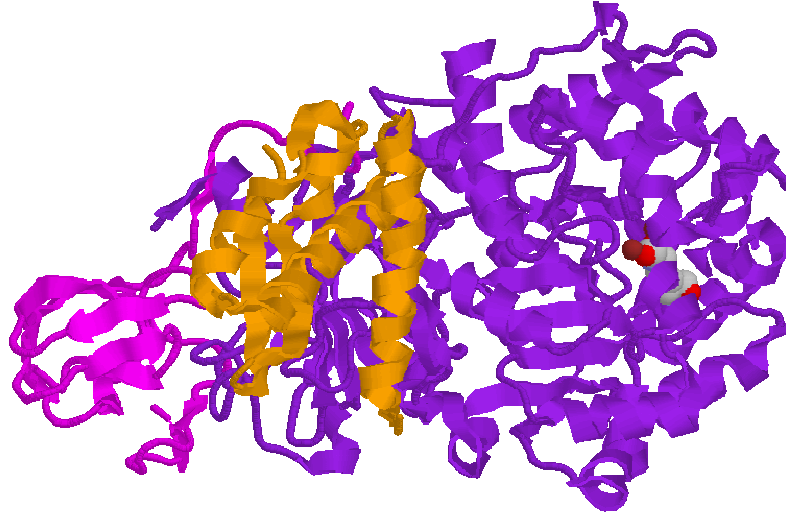


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 32

Ureasi (EC 3.5.1.15)



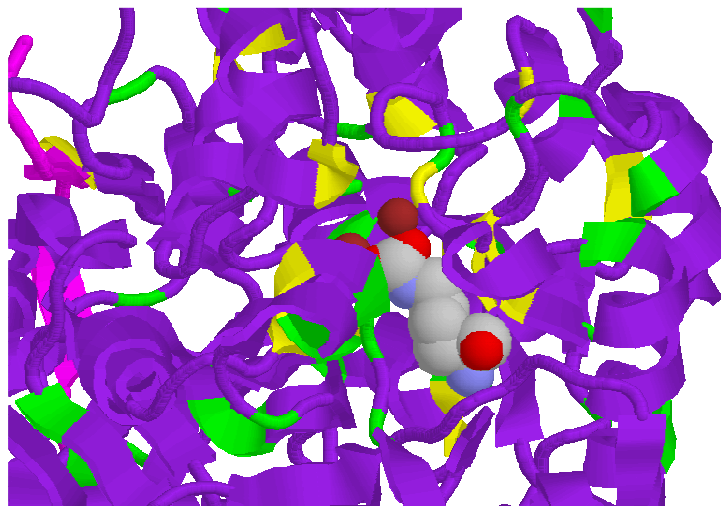
1EJW (298K)

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 33

Ureasi (EC 3.5.1.15)



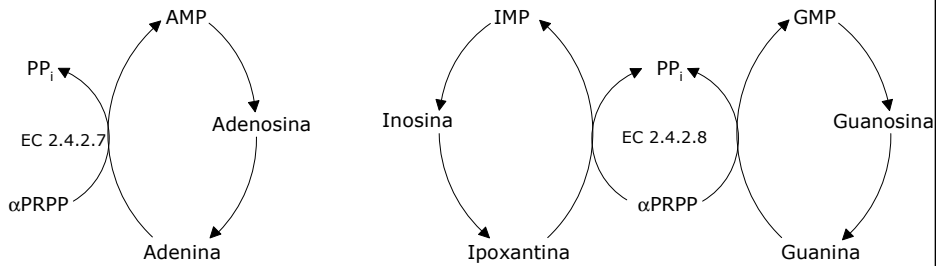
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 34

Recupero delle purine

- Una quota delle purine derivate dal metabolismo degli acidi nucleici viene recuperata per la formazione di nucleotidi attraverso le fosforibosiltransferasi:
 - Adenina fosforibosiltransferasi (EC 2.4.2.7)
 - Ipoxantina-guanina fosforibosiltransferasi (EC 2.4.2.8)

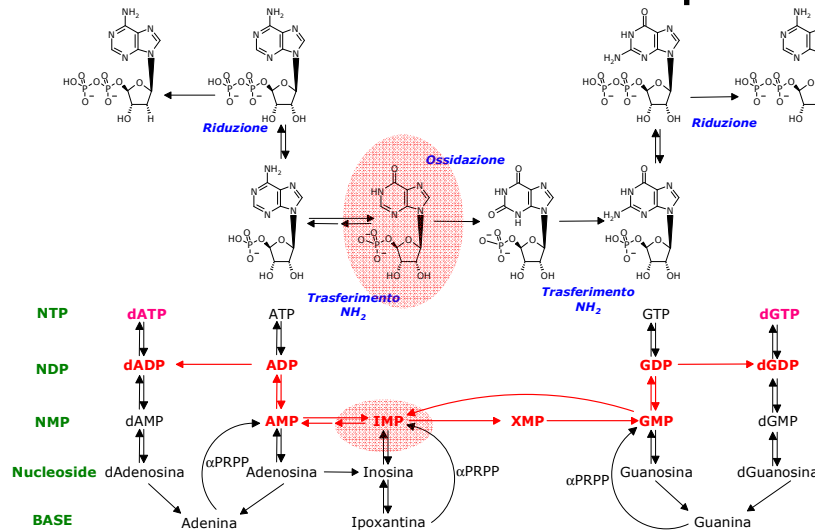


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 35

Interconversione delle purine



Traut TW. Enzymes of nucleotide metabolism: the significance of subunit size and polymer size for biological function and regulatory properties. CRC Crit Rev Biochem. 1988;23(2):121-69.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 36

Interconversione delle purine

- Il turnover degli acidi nucleici (soprattutto mRNA) porta al rilascio di basi puriniche per formare adenina, guanina e ipoxantina.
- Visto il costo metabolico per la loro sintesi vengono riutilizzate per risintetizzare i nucleotidi attraverso le fosforibosil trasferasi (HGPRT):
BASE + α PRPP \rightarrow NMP + PPi
- L'idrolisi di PPi rende la reazione irreversibile
- L'assenza, o la sintesi ridotta, di HGPRT è causa della sindrome di Lesch-Nyhan nella quale la sintesi di purine è circa 200 volte maggiore e la concentrazione di acido urico nel sangue è elevata
- Questo aumento è dovuto all'attivazione allosterica da α PRPP della biosintesi *de-novo* delle purine.

Patologie legate al metabolismo purinico

- Xantinuria
- Sindrome di Lesch-Nyhan
- Adenina fosforibosiltransferasi deficienza
- Superattività Fosforibosilpirofosfato sintetasi I
- Adenilosuccinato liasi deficienza
- Sindrome da deplezione di DNA Mitocondriale (MDS)
- Distrofia dei Coni e dei Bastoncelli
- Sindrome di Desbuquois
- Anemia
- Calcificazione delle articolazioni e delle arterie
- Sindrome di Arts
- AICA-ribosiduria
- Calcificazione arteriale infantile generalizzata
- Piruvato chinasi (PK) deficienza
- Oftalmoplegia progressiva estrena

Prof. Giorgio Sartor

Metabolismo dei nucleotidi

5: *catabolismo delle pirimidine*

Copyright © 2001-2013 by Giorgio Sartor.
All rights reserved.

N01 - Versione 0.1 - apr 2013

Catabolismo delle pirimidine

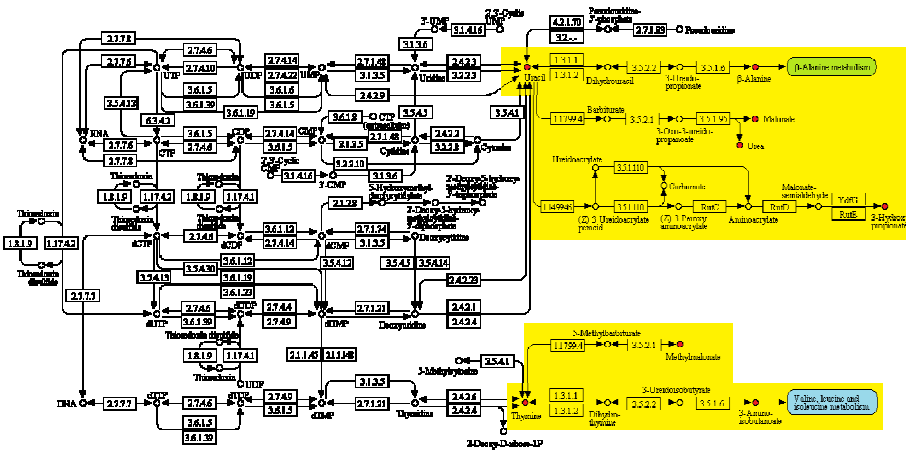
- Catabolismo riduttivo
 - $\text{NADH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{NAD}^+$
 - Animali, piante e alcuni batteri.
- Catabolismo ossidativo
 - Accettore ossidato \rightarrow Accettore ridotto
 - Esclusivamente batterico.
- Rut (Pyrimidine **u**t**il**ization) pathway
 - in *Escherichia coli* K-12
 - usa le pirimidine come unica sorgente di azoto (NH_3).

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 40

Catabolismo delle pirimidine

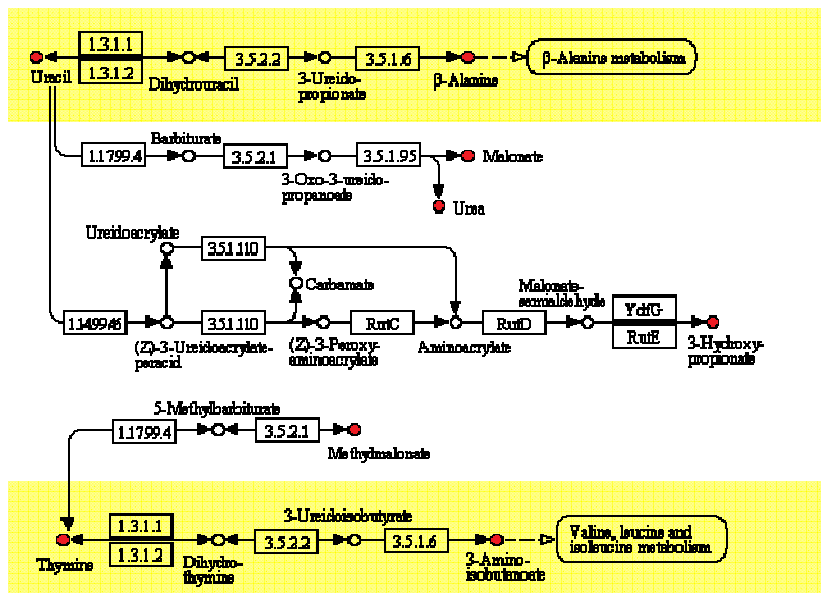


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 41

Catabolismo riduttivo delle pirimidine

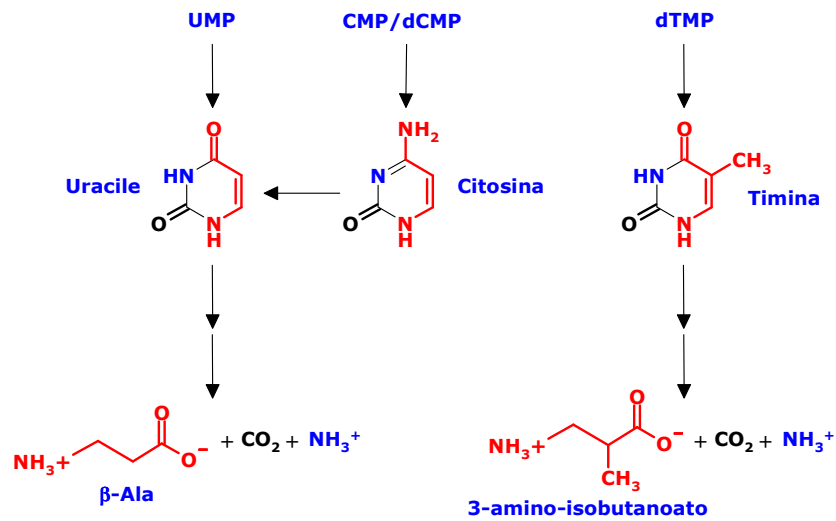


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 42

Catabolismo riduttivo delle pirimidine

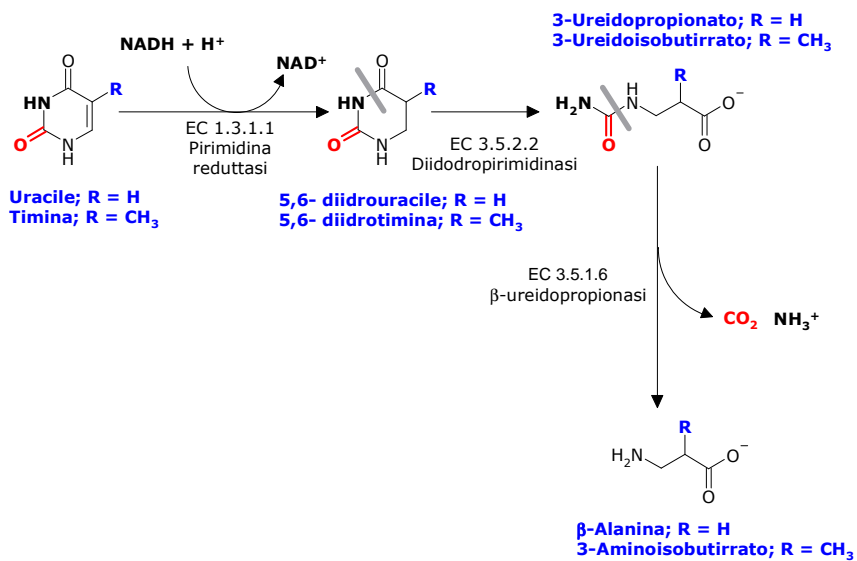


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 43

Catabolismo riduttivo delle pirimidine

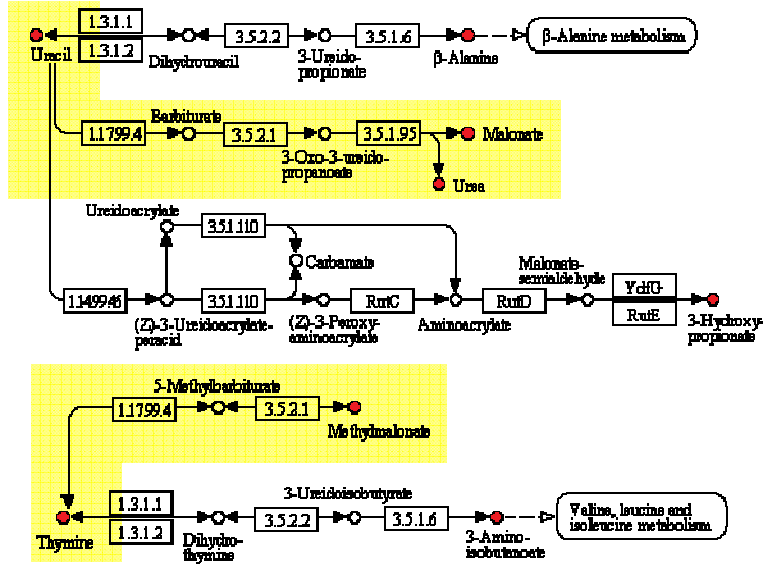


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 44

Catabolismo ossidativo delle pirimidine

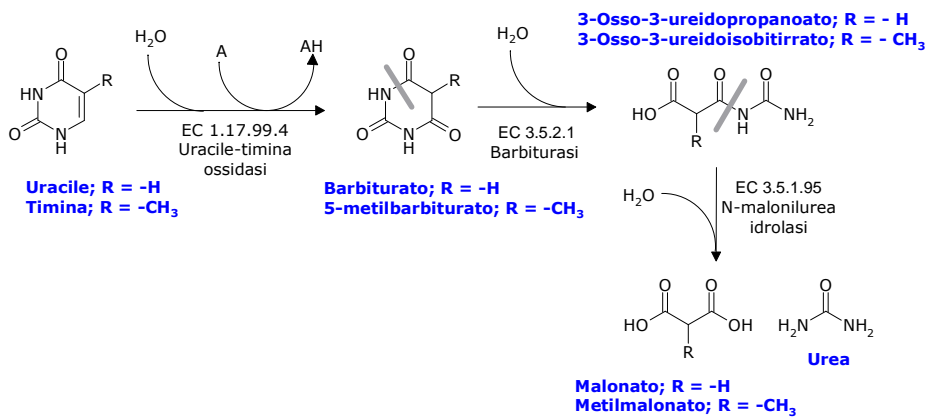


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 45

Catabolismo ossidativo delle pirimidine



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 46

Barbiturasi (EC 3.5.2.1)

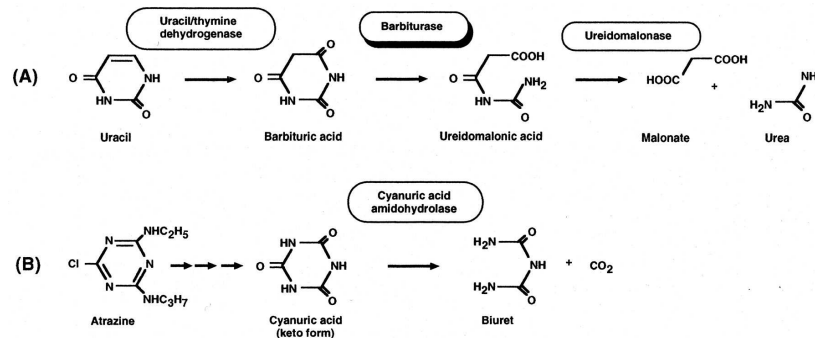
- Omotetramero;
- Contiene uno ione zinco;
- Ha come substrato specifico il barbiturato;
- Catalizza la reazione di apertura dell'anello ma non la formazione di malonato (metilmalonato) e urea;
- Sembra coinvolto nella regolazione del metabolismo delle pirimidine con uracile fosforibosiltransferasi (EC 2.4.2.9);
- Coinvolto anche nella degradazione dell'atrazina.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 47

Proposed pathway for oxidative pyrimidine metabolism (A) and catabolic pathway for atrazine degradation (B).



Soong C et al. J. Biol. Chem. 2002;277:7051-7058

©2002 by American Society for Biochemistry and Molecular Biology

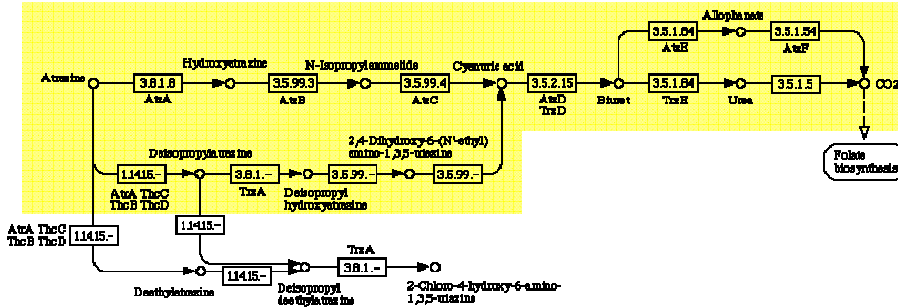
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

jbc

- 48

Degradazione dell'atrazina

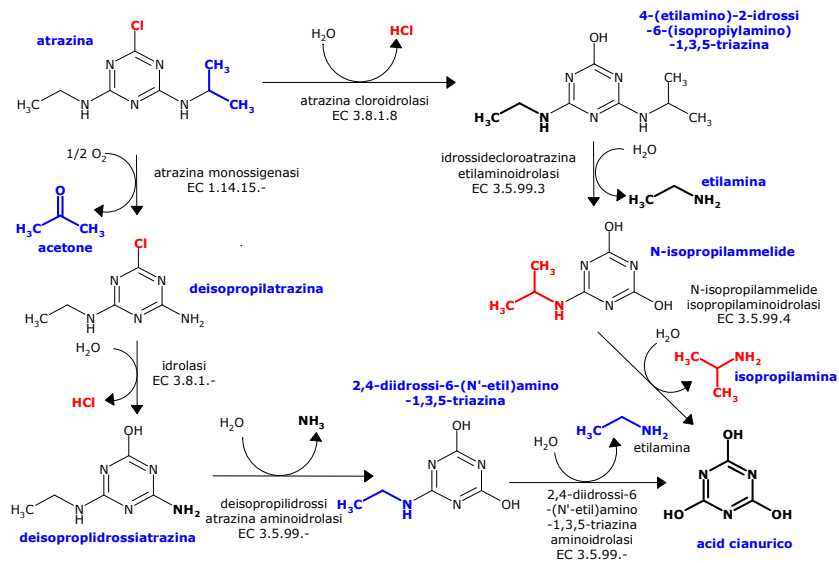


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 49

Formazione di acido cianurico

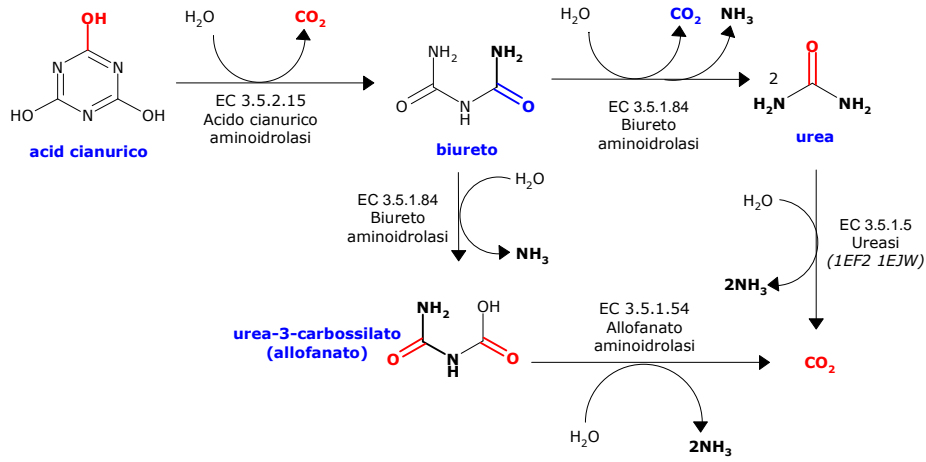


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 50

Destino dell'acido cianurico

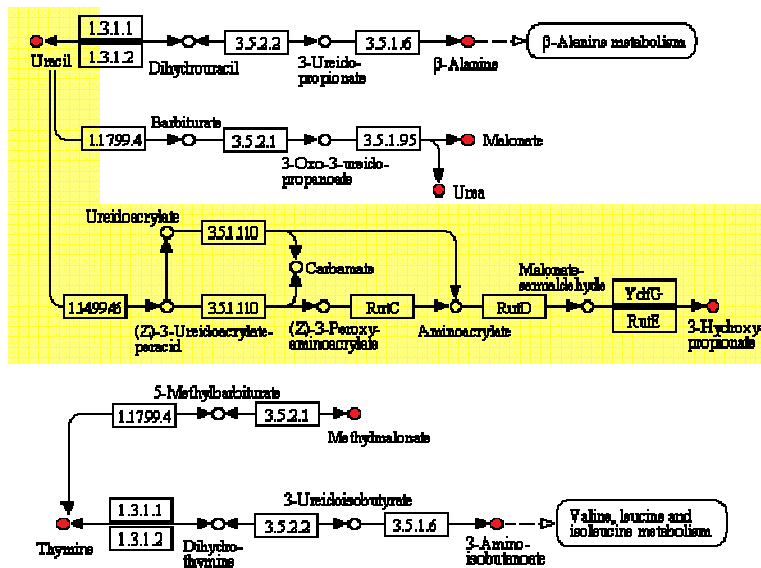


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 51

Rut (Pyrimidine utilization) pathway

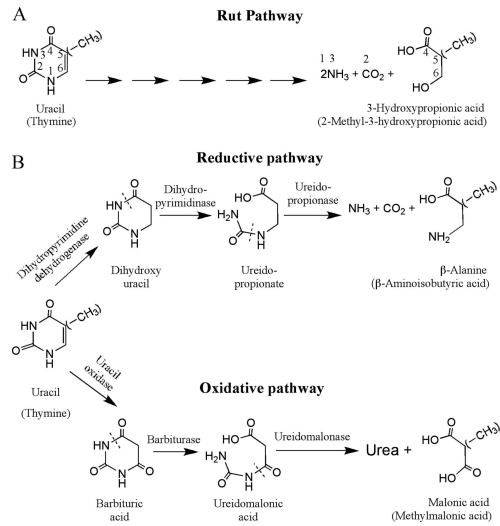


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 52

Comparison of Rut pathway products (E. coli K-12) to those of other pyrimidine catabolic pathways.

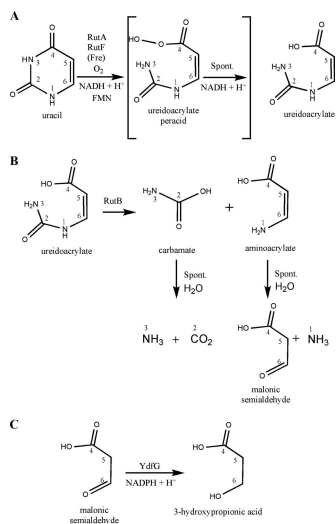


Kim K et al. *J. Bacteriol.* 2010;192:4089-4102

Journal of Bacteriology

Journals.ASM.org | Copyright © American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

In vitro reactions catalyzed by RutA/F, RutB, and the short-chain dehydrogenase YdfG.

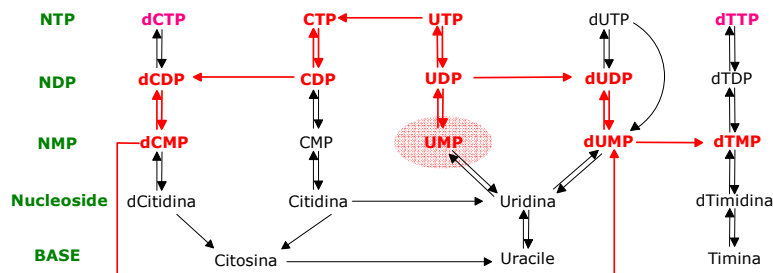
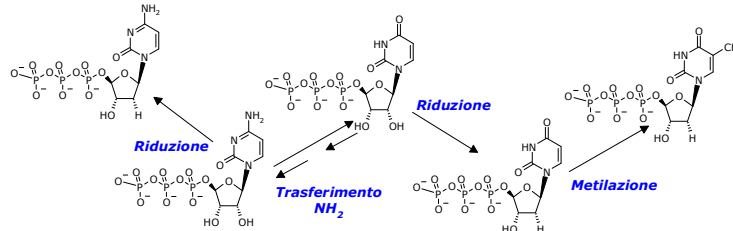


Kim K et al. *J. Bacteriol.* 2010;192:4089-4102

Journal of Bacteriology

Journals.ASM.org | Copyright © American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Interconversione delle pirimidine



Traut TW. Enzymes of nucleotide metabolism: the significance of subunit size and polymer size for biological function and regulatory properties. *CRC Crit Rev Biochem.* 1988;23(2):121-69.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 55

Crediti e autorizzazioni all'utilizzo

- Questo materiale è stato assemblato da informazioni raccolte dai seguenti testi di Biochimica:
 - CHAMPE Pamela , HARVEY Richard , FERRIER Denise R. LE BASI DELLA BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-17030-9] – Zanichelli
 - NELSON David L. , COX Michael M. I PRINCIPI DI BIOCHIMICA DI LEHNINGER - Zanichelli
 - GARRETT Reginald H., GRISHAM Charles M. BIOCHIMICA con aspetti molecolari della Biologia cellulare - PICCIN
 - VOET Donald , VOET Judith G , PRATT Charlotte W FONDAMENTI DI BIOCHIMICA [ISBN 978-8808-06879-8] – Zanichelli
- E dalla consultazione di svariate risorse in rete, tra le quali:
 - Kegg: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes <http://www.genome.ad.jp/kegg/>
 - Brenda: <http://www.brenda.uni-koeln.de/>
 - Protein Data Bank: <http://www.rcsb.org/pdb/>
 - Rensselaer Polytechnic Institute: <http://www.rpi.edu/dept/bcbp/molbiochem/MBWeb/mb1/MB1index.html>

Questo ed altro materiale può essere reperito a partire da:

<http://www.ambra.unibo.it/giorgio.sartor/> oppure da <http://www.gsartor.org/>

Il materiale di questa presentazione è di libero uso per didattica e ricerca e può essere usato senza limitazione, purché venga riconosciuto l'autore usando questa frase:

Materiale ottenuto dal Prof. Giorgio Sartor

Università di Bologna – Alma Mater

Giorgio Sartor - giorgio.sartor@unibo.it

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 56