

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 dNTP**
- 8: nucleotidi come coenzimi

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

N01 - Versione 0.2 - may 2013

Prof. Giorgio Sartor

Metabolismo dei nucleotidi

6: sintesi deossiribonucleotidi

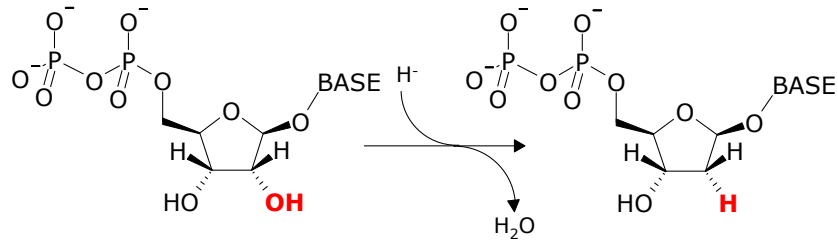
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 2

Deossiribonucleotidi

- Per mantenere costante il pool di deossinucleotidi trifosfati, necessari per la formazione del DNA, l'enzima di riferimento è **Ribonucleotide-difosfato reduttasi (EC 1.17.4.1)** che catalizza la reazione redox:



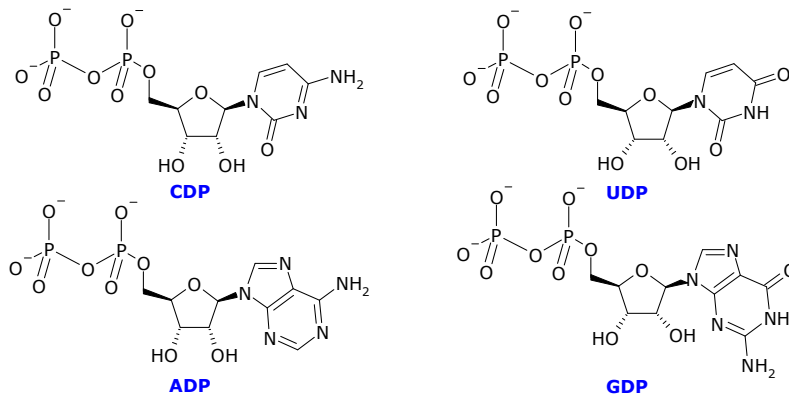
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 3

Deossiribonucleotidi

- I substrati sono:



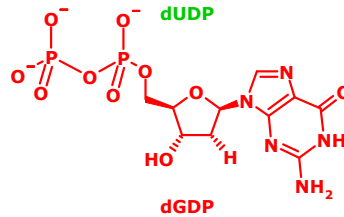
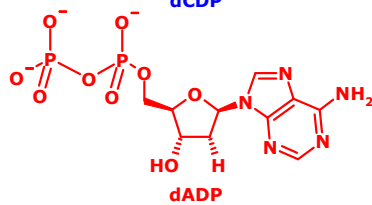
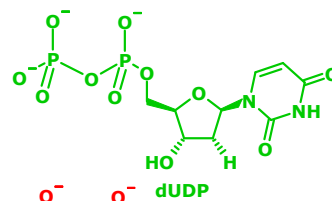
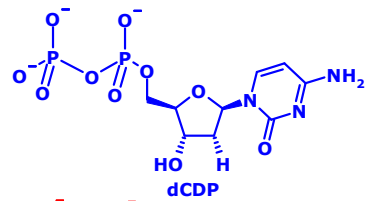
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 4

Deossiribonucleotidi

- I prodotti sono:



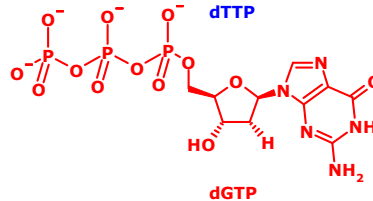
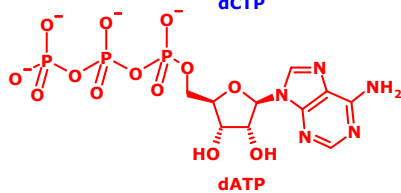
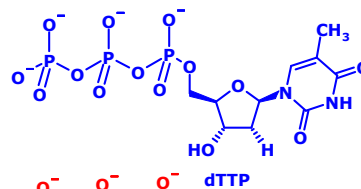
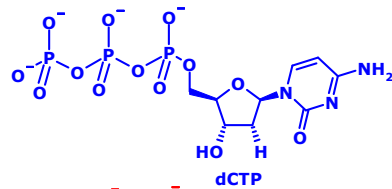
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 5

Deossiribonucleotidi

- Per la sintesi del DNA vengono usati i nucleotidi trifosfati:



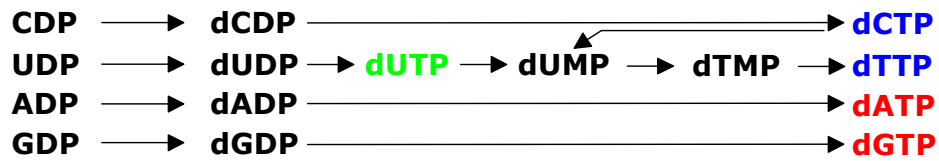
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 6

Deossiribonucleotidi

- dUTP non è un nucleotide del DNA ma è il precursore di dTTP



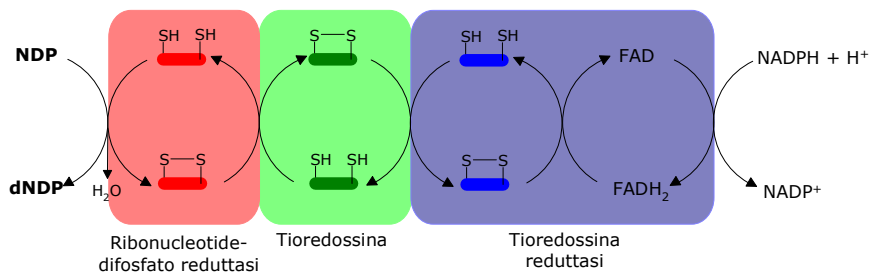
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 7

Deossiribonucleotidi

- Meccanismo:



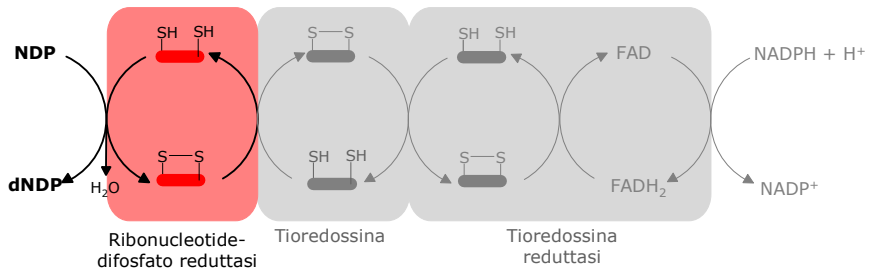
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 8

Ribonucleotide-difosfato reduttasi (EC 1.17.4.1)

- Meccanismo:

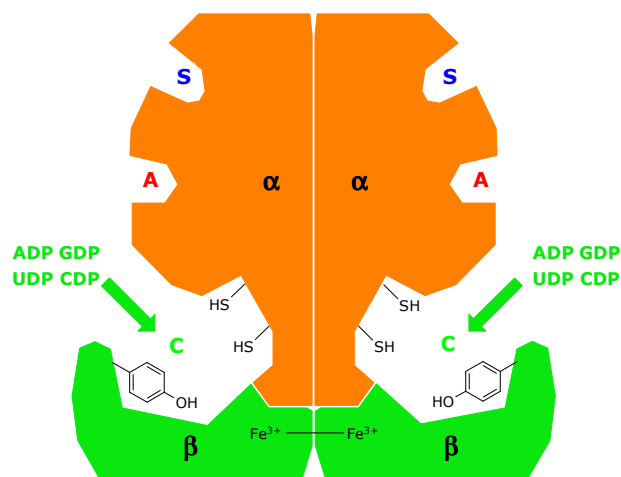


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 9

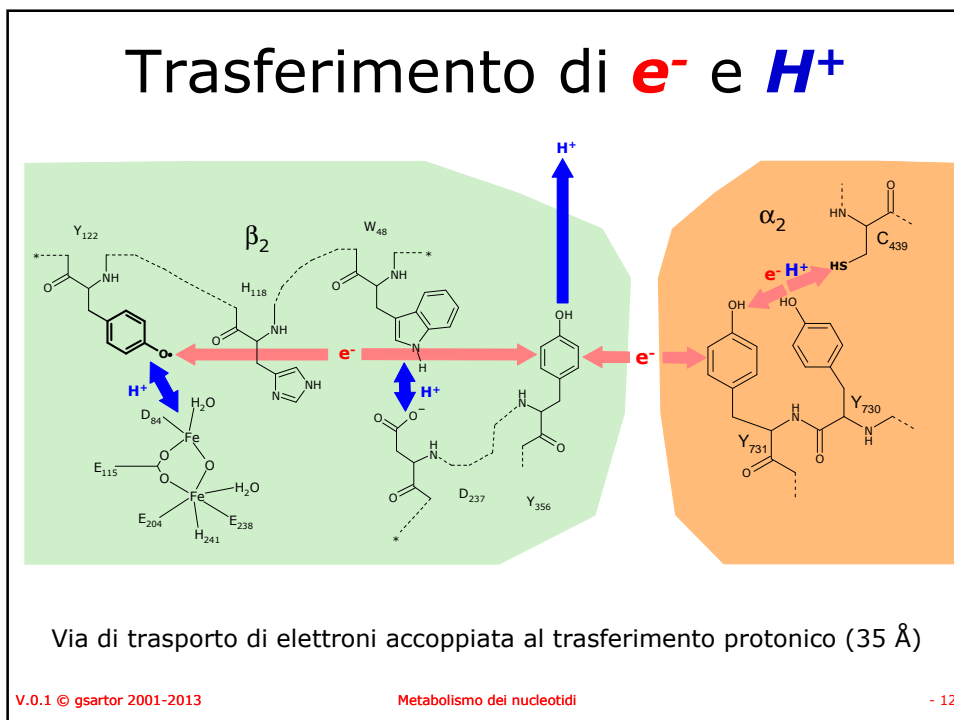
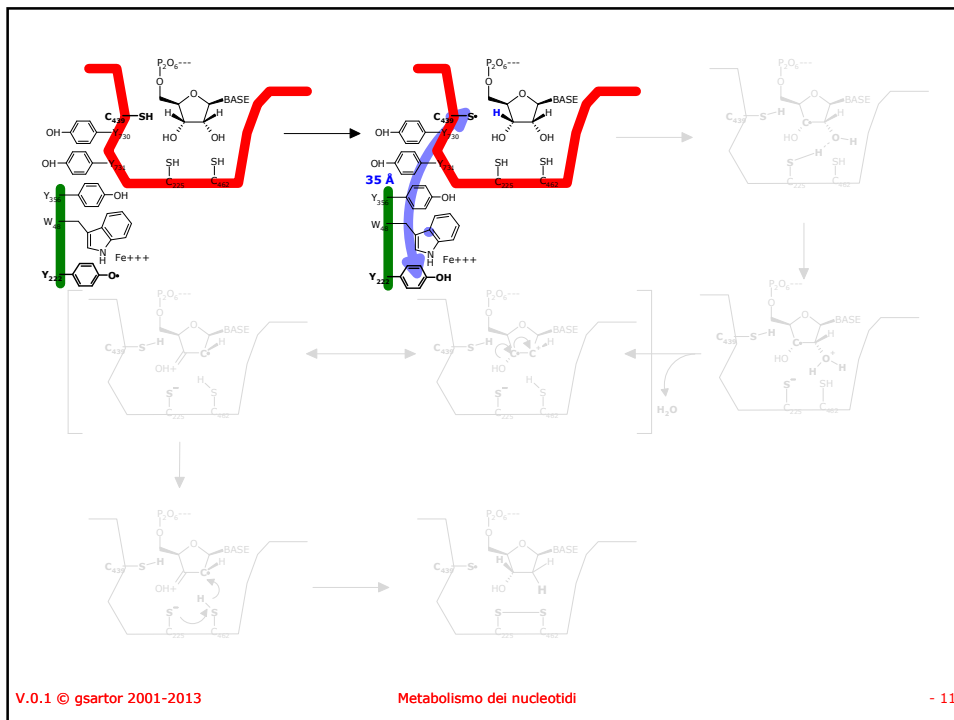
Ribonucleotide-difosfato reduttasi (EC 1.17.4.1)

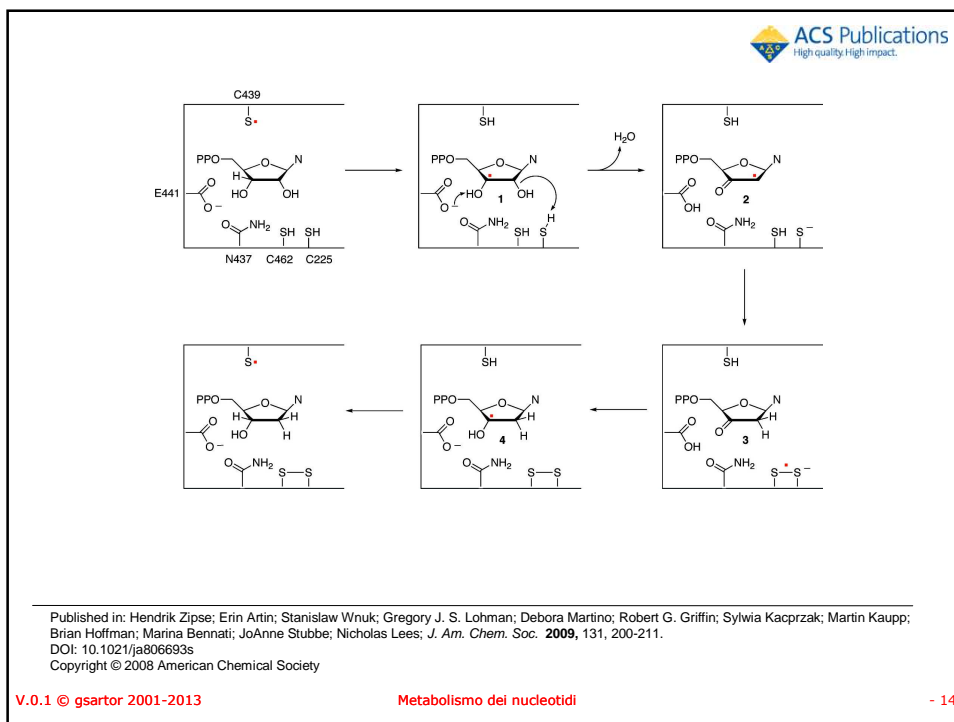
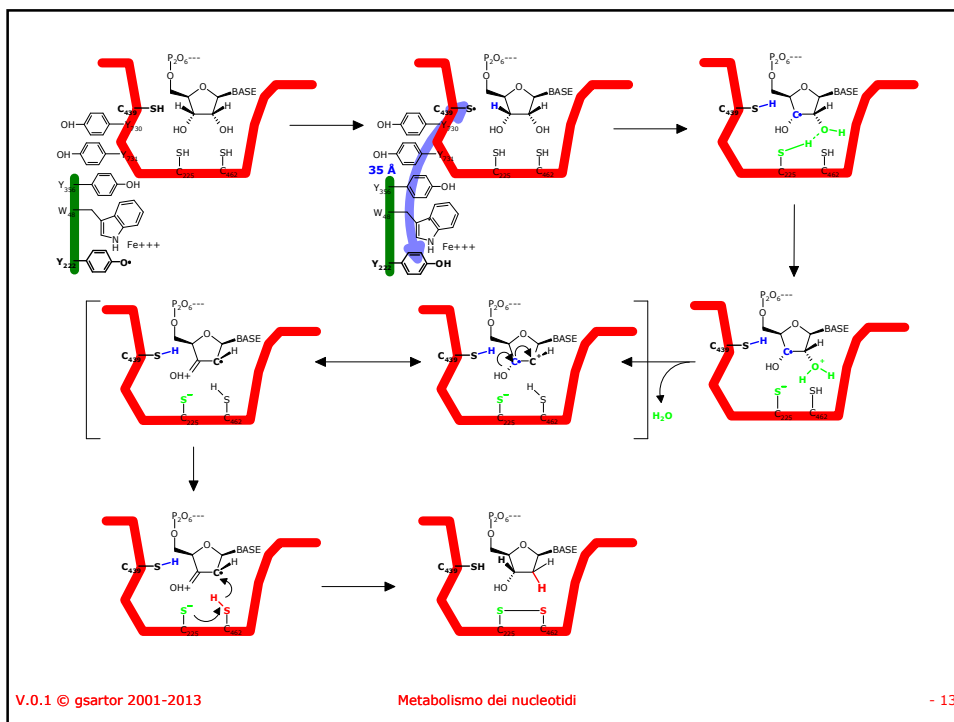


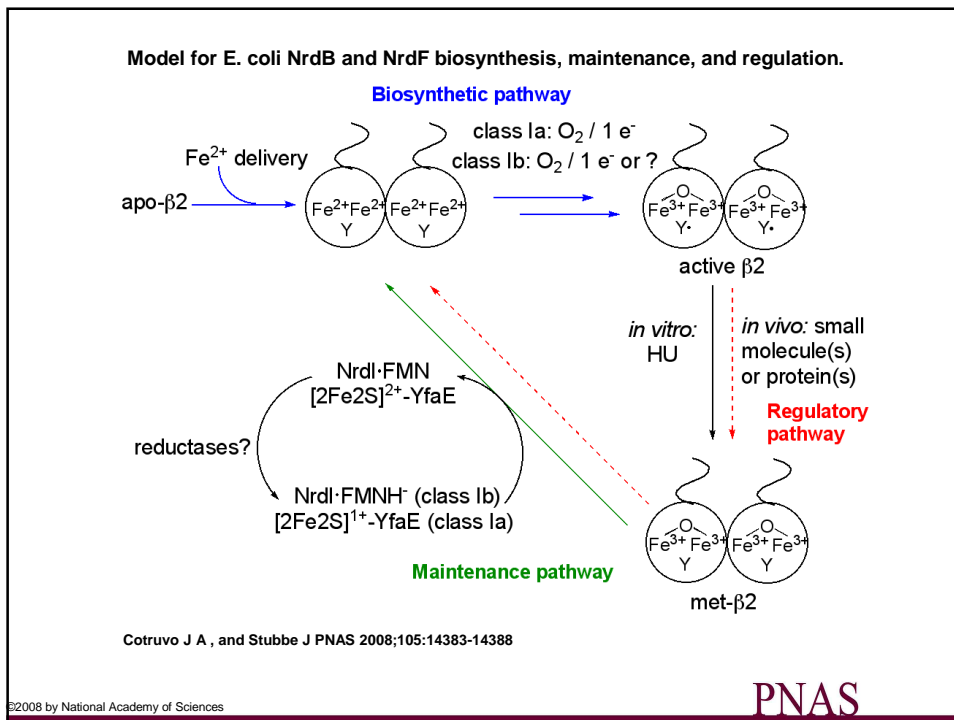
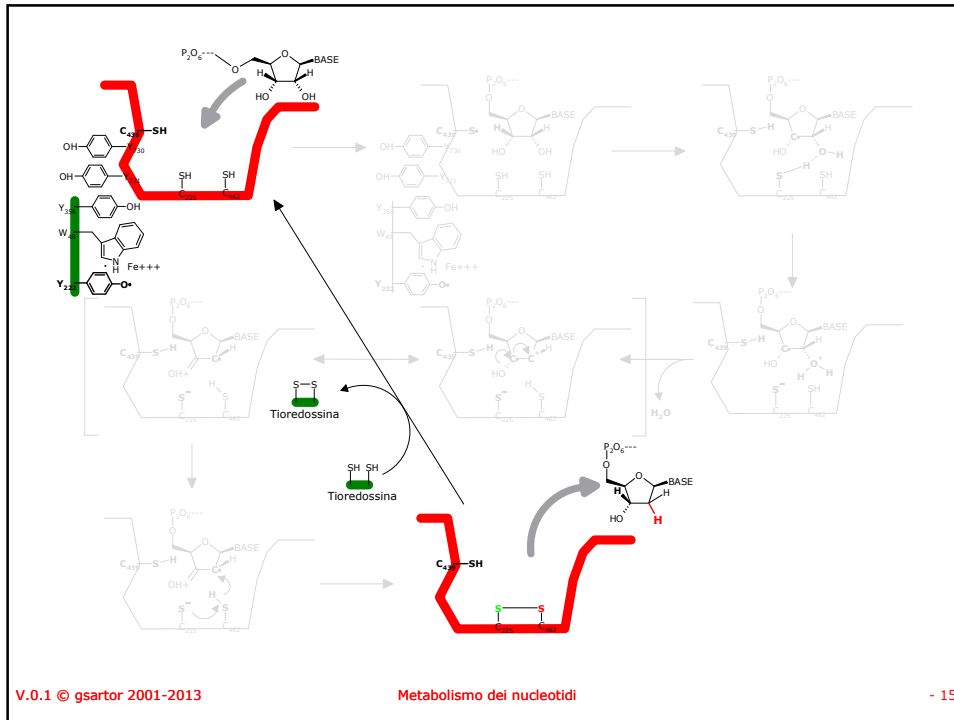
V.0.1 © gsartor 2001-2013

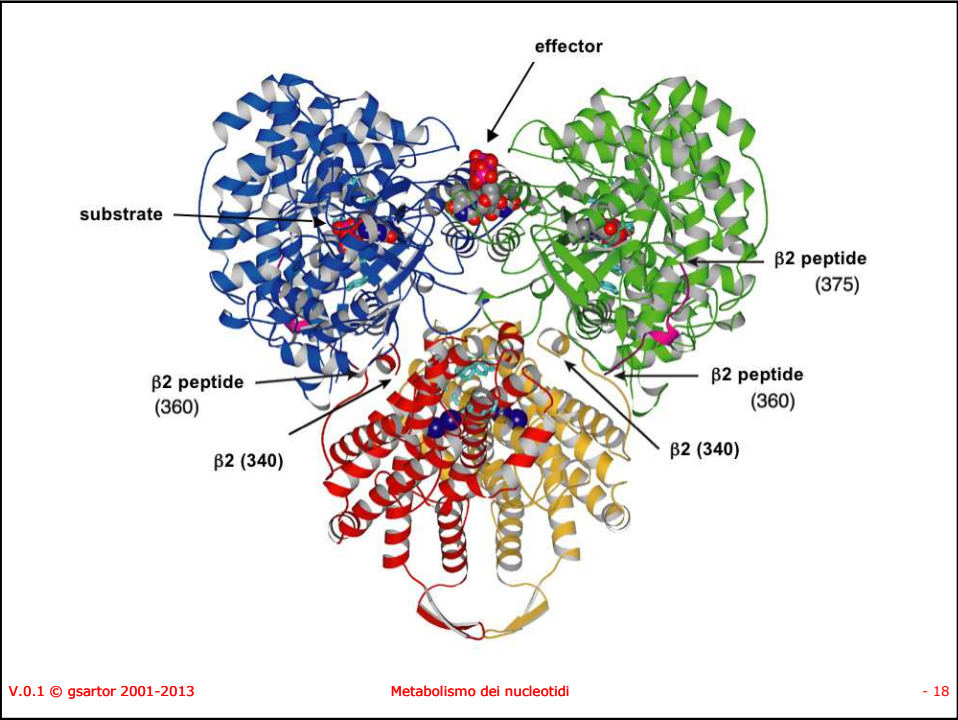
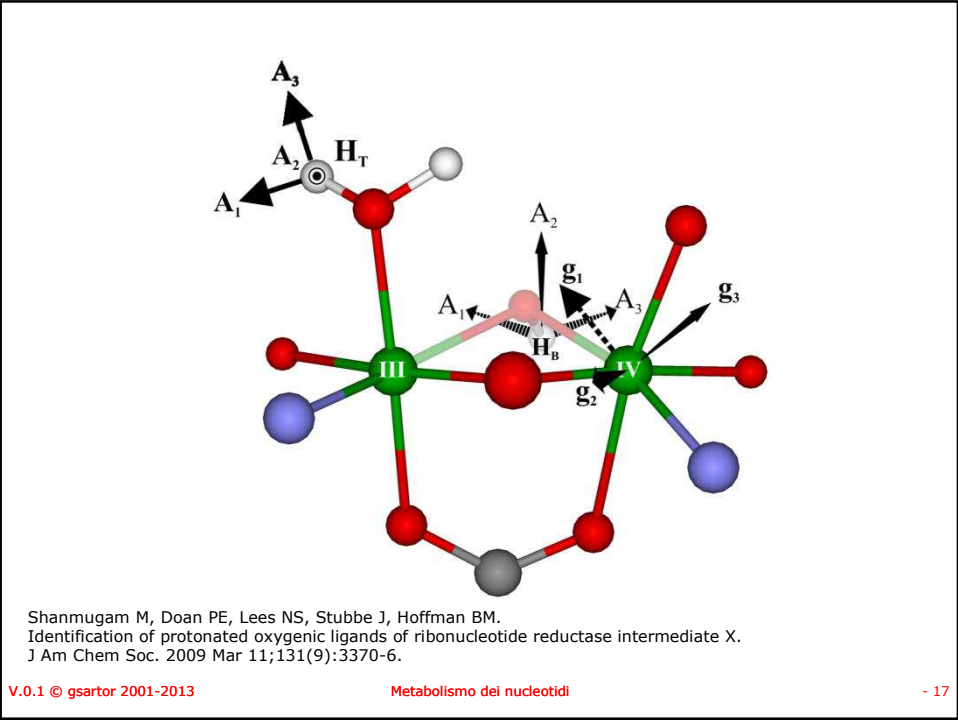
Metabolismo dei nucleotidi

- 10

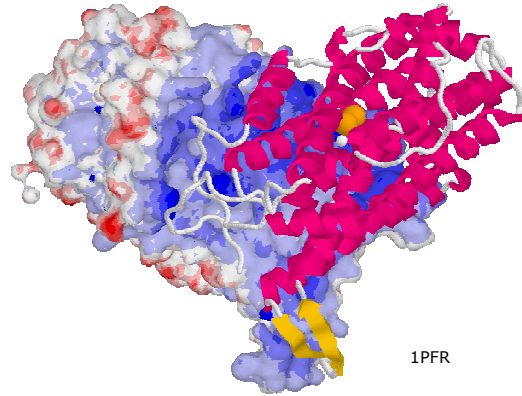
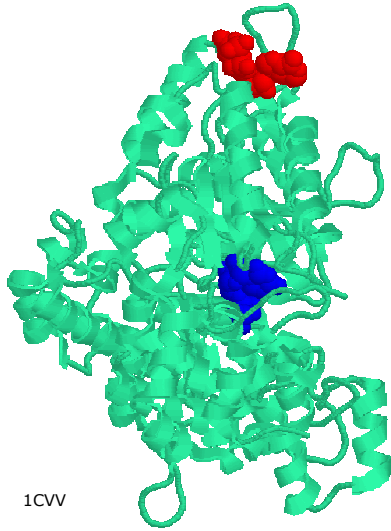








Ribonucleotide-difosfato reduttasi (EC 1.17.4.1)



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 19

Prof. Giorgio Sartor

Metabolismo dei nucleotidi

7: regolazione della sintesi deossiribonucleotidi

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 20

Regolazione

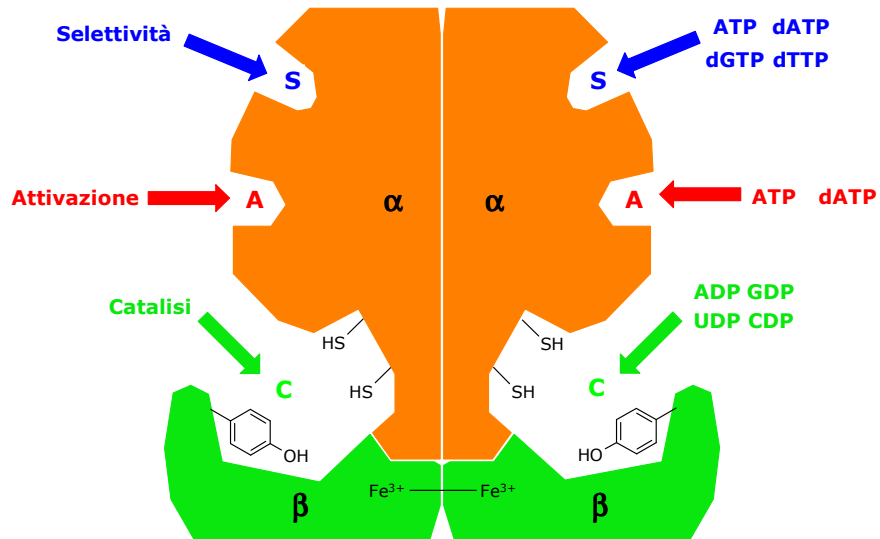
- Per mantenere costante il pool di deossinucleotidi necessari per la formazione del DNA l'enzima è estremamente regolato;
- Il meccanismo è allosterico e coinvolge:
 - **ATP** e **dATP** come segnali di attivazione e disattivazione dell'enzima;
 - ATP, dATP, dTTP e dGTP come segnali per la selezione dei substrati.

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 21

Regolazione



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 22

ON/OFF

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	CDP/UDP → dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 23

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	CDP/UDP → dCDP/dUDP → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 24

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 25

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 26

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 27

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 28

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 29

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 30

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP → dADP → dATP	
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 31

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	CDP/UDP → dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 32

Regolazione

Stato dell'enzima	Siti su ribonucleotide reduttasi			Eventi e prodotti
	A ttivazione	S elezione	C atalisi	
ON	ATP	-	-	
ON	ATP	ATP	CDP/UDP	→ dCDP/dUDP → → dUMP → dTMP → dTTP
ON	ATP	dTTP	GDP/ADP	→ dGDP → dGTP
ON	ATP	dGTP	ADP	→ dADP → dATP
OFF	dATP	-	-	-

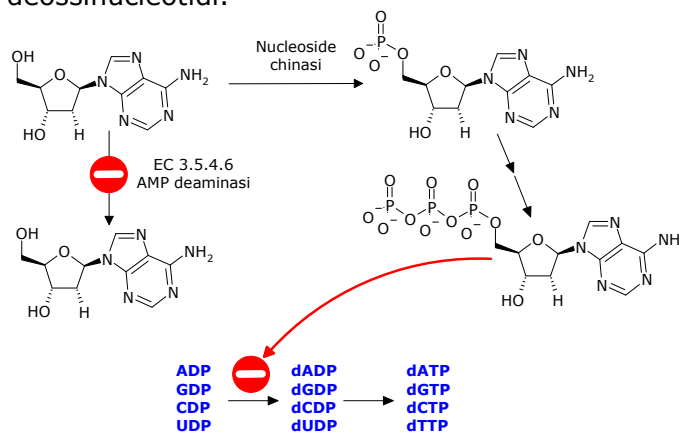
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 33

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.



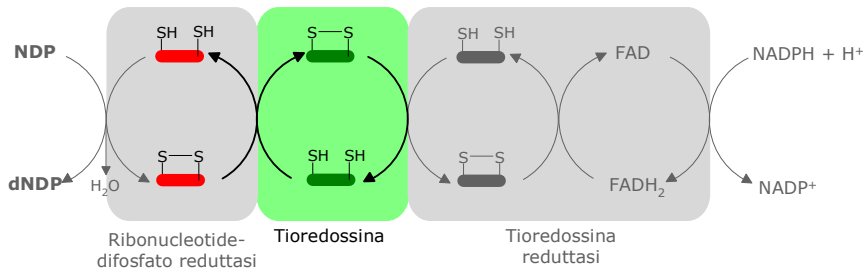
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 34

Tioredoxina

- Meccanismo:



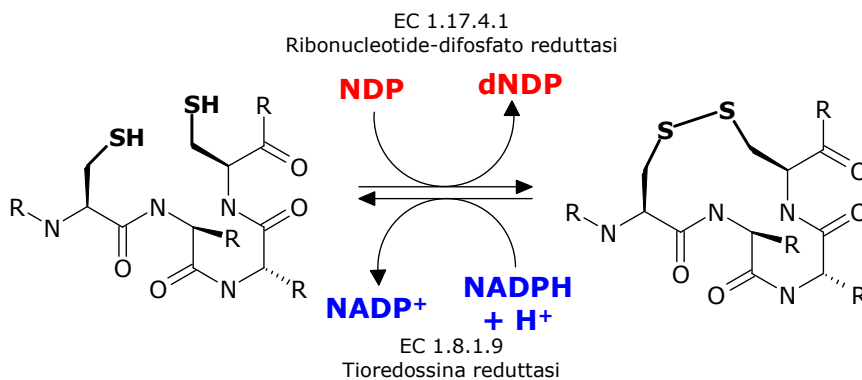
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 35

Tioredoxina

- Proteina redox che contiene il motivo **CXXC**



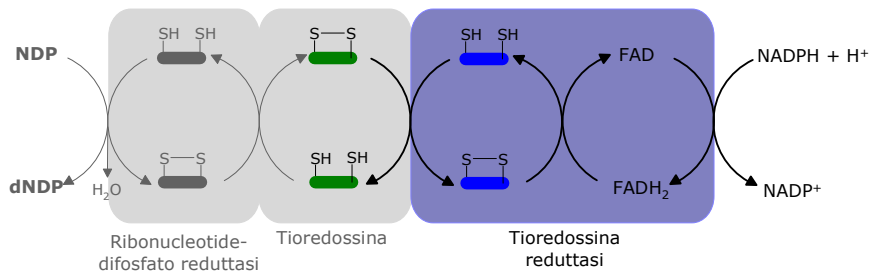
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 36

Tioredoxina reduttasi (EC 1.8.1.9)

- Meccanismo:

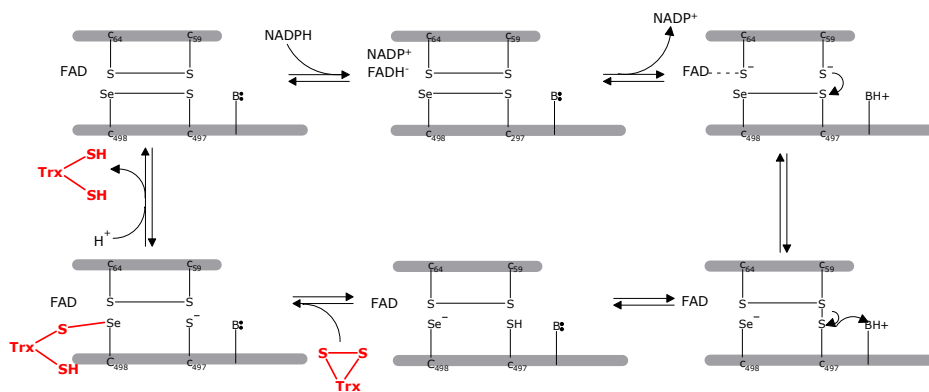


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 37

Tioredoxina reduttasi (EC 1.8.1.9)



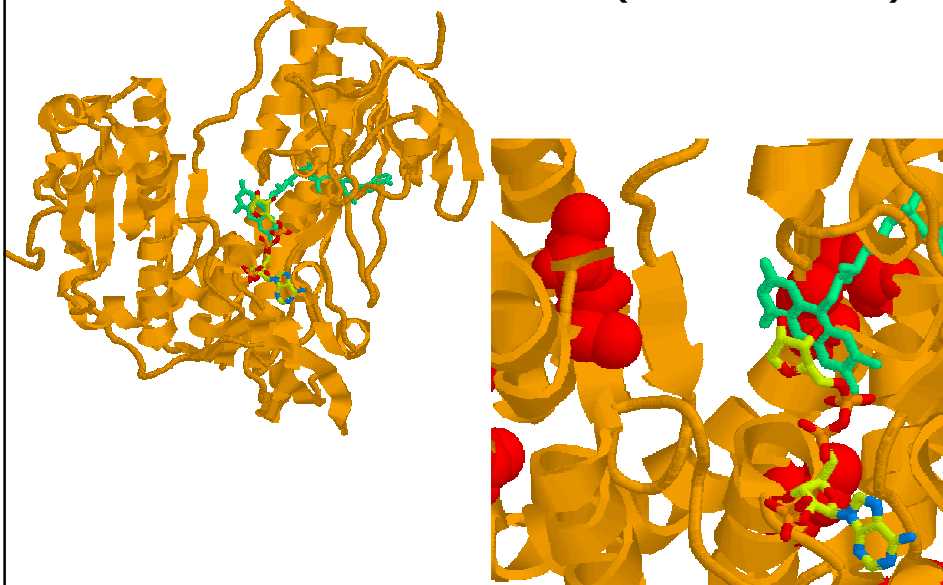
Ridisegnato da:
 T.Sandalova, L.Zhong, Y.Lindqvist, A.Holmgren, G.Schneider.
 Three-dimensional structure of a mammalian thioredoxin reductase: implications for mechanism and evolution of a selenocysteine-dependent enzyme.
Proc Natl Acad Sci U S A **98**:9533-9538 (2001)

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 38

Tioredoxina reduttasi (EC 1.8.1.9)



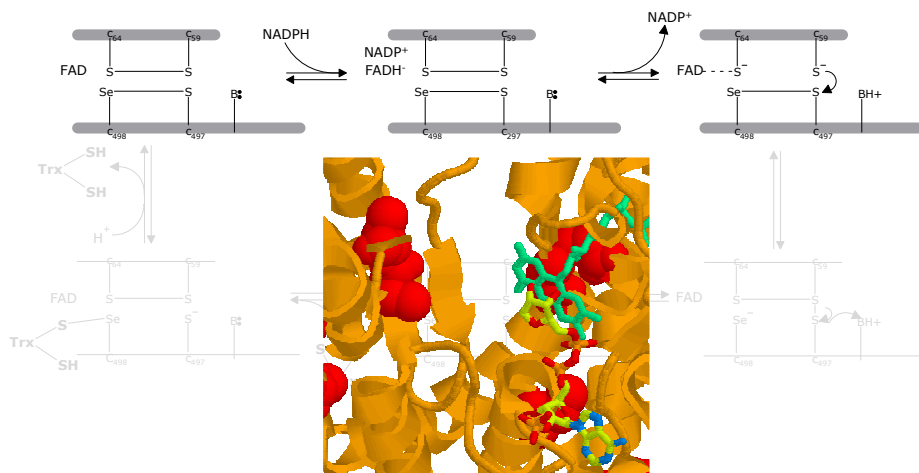
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

1H6V

- 39

Tioredoxina reduttasi (EC 1.8.1.9)



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 40

dNTP per la replicazione del DNA

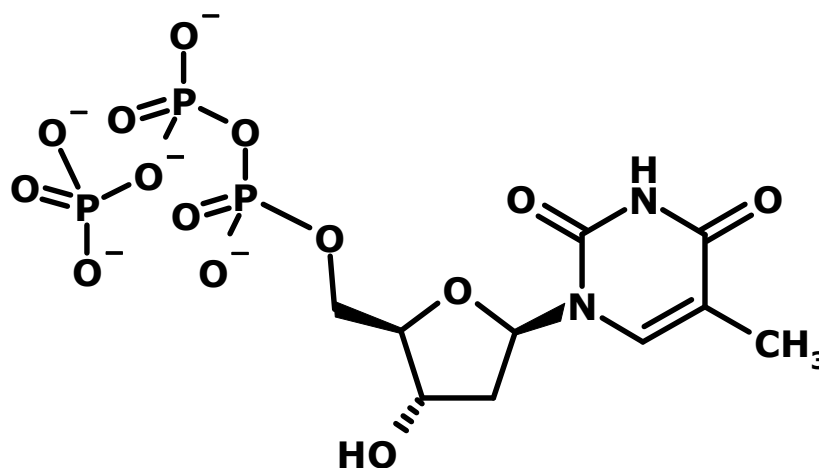
- I deossinucleotidi difosfati
 - Purinici: **dADP**, **dGDP**
 - Pirimidinici: **dUDP**, **dCDP**
- vengono convertiti nei rispettivi deossinucleotidi trifosfati usati per la replicazione del DNA:
 - Purinici: **dATP**, **dGTP**
 - Pirimidinici: **dUTP**, **dCTP**
- Il **dTTP** viene prodotto da **dTMP** a sua volta proveniente da **dUTP** (**dCTP**).

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 41

dTTP



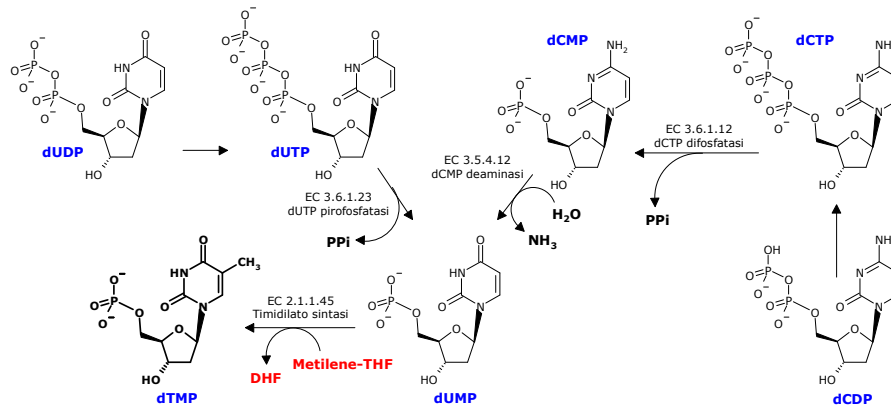
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 42

Sintesi di dTTP

- I nucleotidi della timina sono i meno abbondanti, servono solo per la sintesi del DNA (dTTP)



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 43

Sintesi di dTTP

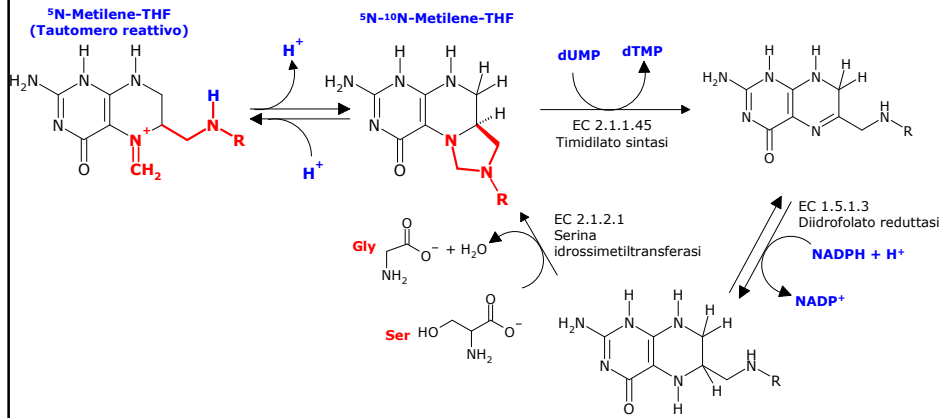
- La formazione di dTMP da dUMP avviene attraverso la metilazione assistita da $^5\text{N}-^{10}\text{N}$ -metilene-THF
- La sintesi di $^5\text{N}-^{10}\text{N}$ -metilene-THF è un bersaglio degli inibitori della duplicazione del DNA attraverso analoghi del folato (metotrexato) che analoghi inattivi dei nucleotidi (5-fluoro-uracile).

V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 44

^5N - ^{10}N -metilene-THF

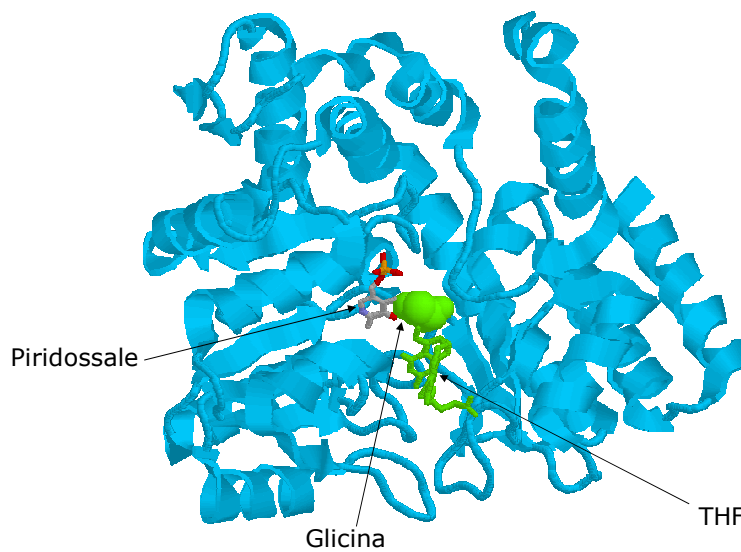


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 45

Serina idrossimetiltransferasi (EC 2.1.2.1)

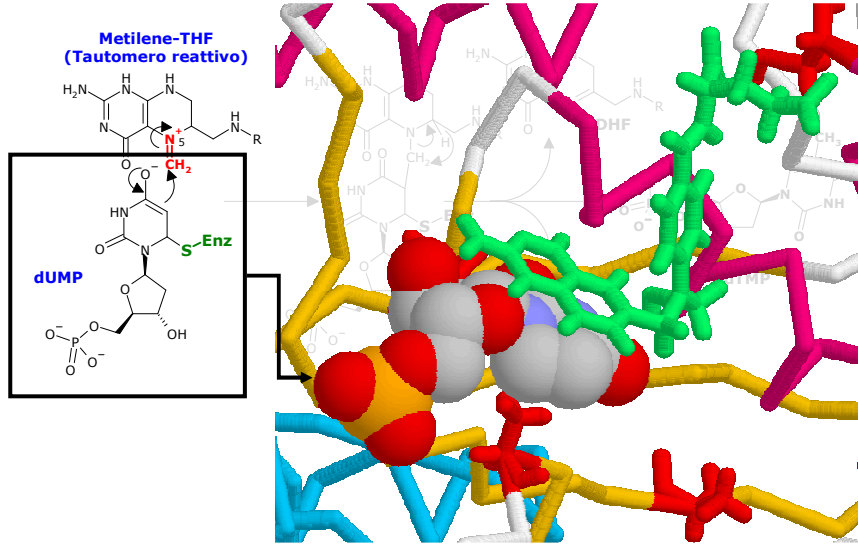


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 46

Timidilato sintasi (EC 2.1.1.45)



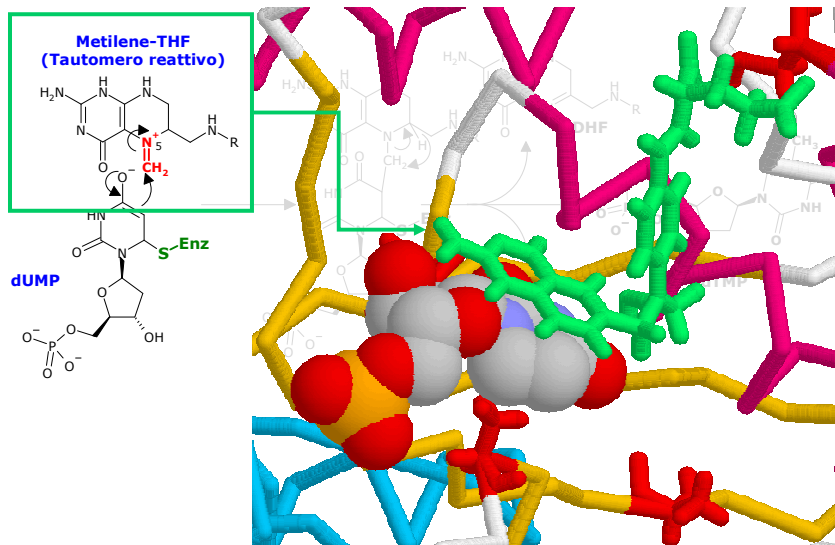
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

4IW5

- 49

Timidilato sintasi (EC 2.1.1.45)



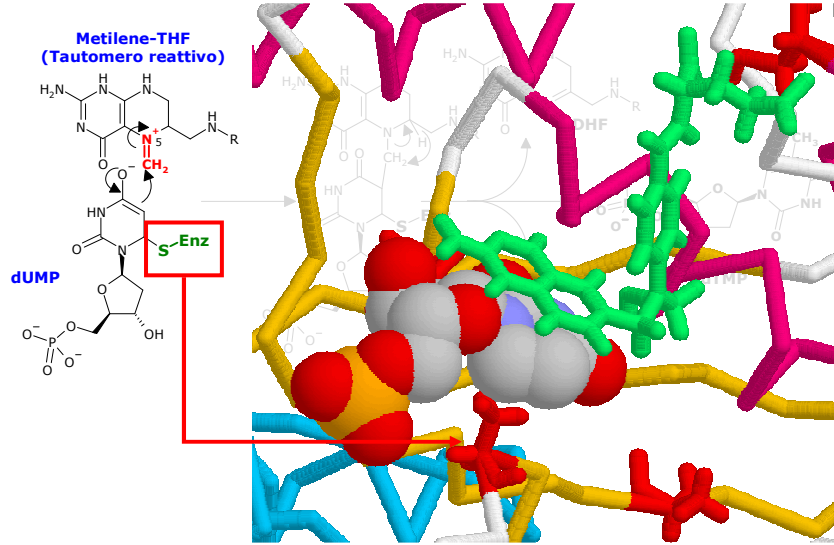
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

4IW5

- 50

Timidilato sintasi (EC 2.1.1.45)

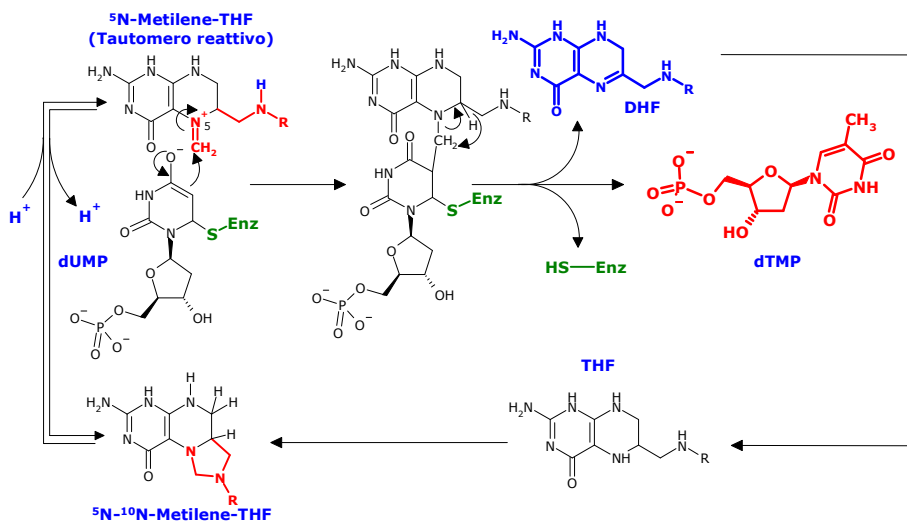


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 51

Timidilato sintasi (EC 2.1.1.45)



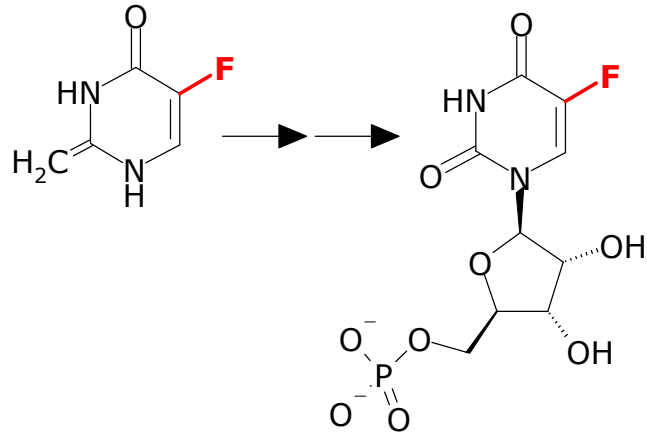
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 52

Inibizione

- Un inibitore della timidilato sintasi è il 5-fluorouracile:

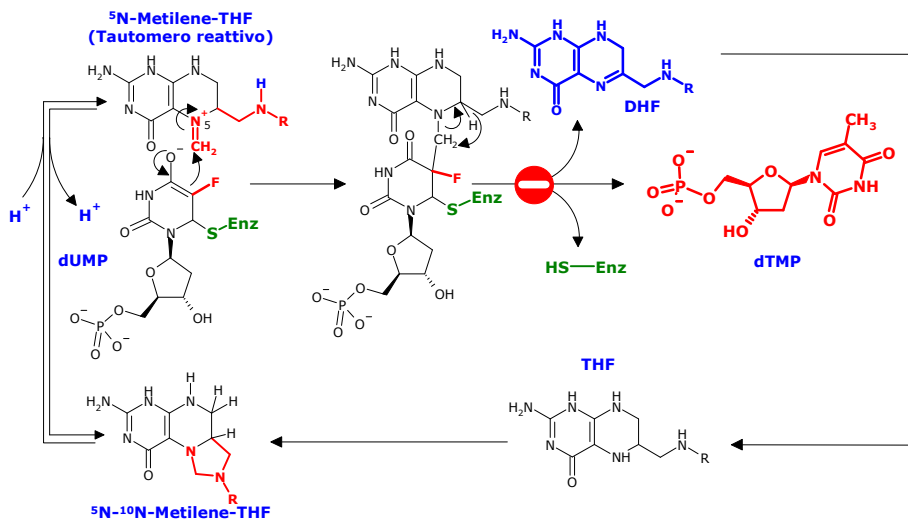


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 53

Timidilato sintasi (EC 2.1.1.45)

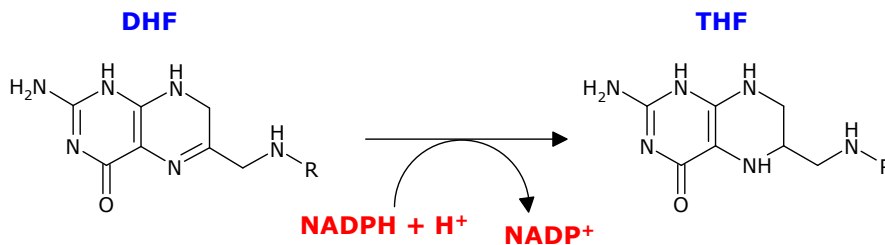


V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 54

DHF reduttasi (EC 1.5.1.3)



- Il diidrofolato viene ridotto a tetraidrofolato dalla diidrofolato reduttasi (EC 1.5.1.3).
- DHF reduttasi è un enzima chiave nella sintesi del DNA e quindi bersaglio di farmaci e altri inibitori della duplicazione cellulare.

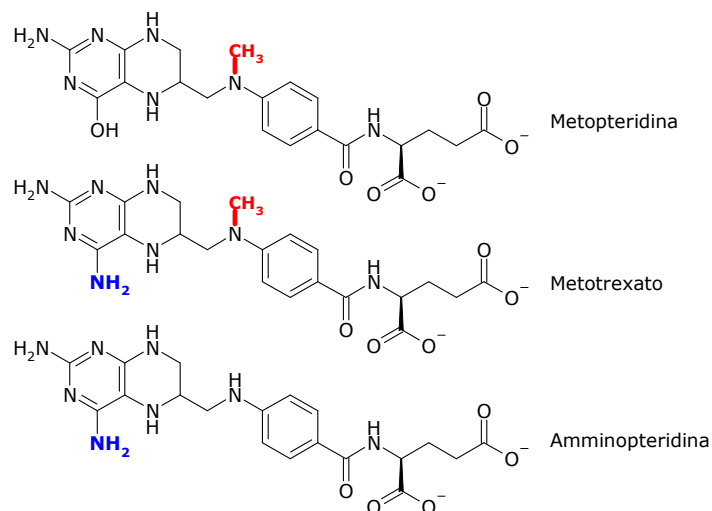
V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 55

Inibizione DHFR

- Antagonisti dell'acido folico



V.0.1 © gsartor 2001-2013

Metabolismo dei nucleotidi

- 56

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.qsartor.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