11. A nukleotidok anyagcseréje

A nukleotidok szerepe az élő szervezetekben igen sokrétű. Szerepet játszanak az energiatárolásban (például ATP, GTP), a regulációban (például cAMP), vannak köztük koenzimek, prosztetikus csoportok (NAD, NADP, FAD, FMN, KoA), lehetnek fontos anyagcsere intermedierek (például UDP-glukóz), és természetesen belőlük épülnek fel a **nukleinsavak** (DNS, RNS).

**11.1 A nukleinsavak emésztése**

A nukleotidok többségét az ember a táplálékból szerzi be, de ez nem elegendő, ezért szintetizálni is tudjuk őket, elsősorban a máj sejtjeiben. Kész nukleotidokat leginkább nukleinsavak emésztésével nyerhetünk. A **dezoxiribonukleáz** enzimek DNS, a **ribonukleáz** enzimek RNS hidrolízisét katalizálják. Az enzimek lehetnek **exogének** (például a tápcsatornában működnek) és **endogének** (a szervezeten belül, elsősorban a sejteken belül működnek). Attól függően, hogy a lánc vége felől vagy középen történik az emésztés, megkülönböztetünk **exo- és endonukleázokat**. A nukleinsavak lebontása és az újonnan történő (*de novo*) szintézis mellett még egy fontos nukleotidforrás van: A nukleotidok különálló részei (pentóz, foszfát, szerves bázis) úgynevezett **mentő reakciók** során kapcsolódhatnak (újra) egymáshoz.

A nukleotidok emésztését követő további átalakulások és a felszívódás részleteivel itt nem kívánunk foglalkozni. Kezdjük a nukleotidok szintézisével, amely meglehetősen eltérő úton történik, ha a pirimidin és a purin nukleotidok szintézisét hasonlítjuk össze.

**11.2. Nukleotidok *de novo* szintézise**

**11.2.1. Purin nukleotidok szintézise**

A purin nukleotidok szintézise hosszú és bonyolult folyamat, amelynek csak néhány fontosabb részletét érdemes megtanulnunk. Első lépésben a **pentóz-foszfát út** (szénhidrát anyagcsere) során keletkezett **ribóz-5-foszfátnak** kell az első szénatomon aktiválódnia. Ez egy ATP pirofoszfátjának átvitelét jelenti a **foszforibozil-pirofoszfát(PRPP)-szintetáz** enzim segítségével. A reakció során **PRPP** és AMP keletkezik. Az aktivált első szénatomra fog majd ráépülni a purin-bázis. Először **glutamin** aminocsoportja kerül a pirofoszfát helyére, keletkezik glutamát és **foszforibozil-1-amin**. A reakciót a **PRPP-amidotranszferáz** enzim katalizálja.

A purin-bázis felépülése a foszforibozil-1-amin nitrogénjéről indul. A folyamat jó néhány energiaigényes lépést tartalmaz, az energia legtöbbször közvetlenül ATP bomlásából származik. Az egyes lépéseket nem fogjuk minden részletében ismertetni. Először egy **glicin** kapcsolódik, létrehozva újabb három atomot a purin ötös gyűrűjében (az első atom maga az előbb említett nitrogén volt). A gyűrű utolsó szénatomját egy **formil-THF-ból** kapja. Ezután kezdődik a másik, a hatos gyűrű szintézise; a következő **nitrogénatomot** szintén egy **glutaminbó**l kapjuk. Most következik csak az **ötös gyűrű záródása**, majd folytatódik a hatos gyűrűtovább épülése egy **CO2** kapcsolódásával. Még két atomra van szükség a gyűrűhöz; a következő **N atom egy aszpartátból**, az utolsó **C atom** pedig ismét egy **formil-THF-ból** származik. Eztán a hatos gyűrű is **záródik**, **inozin-monofoszfát** (IMP) nukleotidot kapunk, mely mind az AMP, mind a GMP kiindulási terméke (11-1. ábra).



11-1. ábra

Ha **AMP** szintetizálódik az IMP-ből, akkor egy kétlépéses reakcióban kap egy aminocsoportot az **aszpartáttól**, amelyből **fumarát** keletkezik. A reakciókat az **adeniloszukcinát-szintetáz** és az **adeniloszukciinát-liáz** enzimek katalizálják, az első reakcióban egy GTP energiája is elhasználódik. A **GMP** keletkezése szintén kétlépéses folyamat: Az elsőben egy NAD-kofaktorral működő enzim (**IMP-dehidrogenáz**) segítségével vízből származó **oxigént** kapcsolunk az IMP-hez; **xantozin-monofoszfát** és NADH keletkezik. A második lépésben ezt az újonnan keletkező oxocsoportot cseréljük ki **glutaminból** származó **aminocsoportra**, miközben glutamát és GMP keletkezik. A reakciót a **GMP-szintáz** enzim katalizálja, energiáját az ATP-nek AMP-vé alakulása biztosítja (11-2. ábra).



11-2. ábra

Hogyan szabályozódik a purin nukleotidok szintézise? Az elkötelező lépések gátlásával. Az **IMP, AMP, GMP gátolja a PRPP-szintetáz** működését (bár ezzel a pirimidin nukleotidok képződését is akadályozzák) és a **PRPP-amidotranszferáz** működését. Az **AMP** gátolja az **adeniloszukciát-szintetáz**, a **GMP** pedig az **IMP-dehidrogenáz** működését. Mindegyik nukleotid a saját képződését akadályozza (feedback gátlások).

**11.2.2. Pirimidin nukleotidok szintézise**

A pirimidin nukleotidok kisebbek, és szintézisük is egyszerűbb, mint a purin nukleotidoké. Minden pirimidin nukleotid „ősanyja” az uridin-monofoszfát (**UMP**), belőle alakul majd ki a többi nukleotid. (Purin nukleotidoknál ez az „ősanya” az IMP.) Szintézise eltér az IMP szintézisétől: a PRPP csak a folyamat végén csatlakozik a már majdnem kész bázishoz. Az első lépésben a citoszolban keletkezik **karbamil-foszfát** CO2-ból, **glutamin aminocsoportjából** és egy ATP-ből. Még egy másik ATP energiája is kell a reakcióhoz; karbamil-foszfát mellett glutamát, két ADP és egy inorganikus foszfát is keletkezik. A reakciót a **karbamil-foszfát-szintetáz II** katalizálja. (A karbamil-foszfát-szintetáz I enzim a mitokondriumban található, és az ornitinciklus működéséhez állít elő karbamil-foszfátot, ráadásul ott ammónia a nitrogénforrás, nem glutamin.) A karbamil-foszfát-szintetáz II enzimet **PRPP aktiválja**, UTP gátolja (11-3 ábra).



11-3. ábra

A keletkezett karbamil-foszfát az **aszpartát transzkarbamiláz** enzim segítségével reagálni képes egy **aszpartáttal**, miközben inorganikus foszfát szabadul fel. A **karbamil-aszpartát** víz kilépésével hatos gyűrűvé záródik, **dihidroorotát** keletkezik. Ez azután NAD-nak adja át két elektronját, és telítetlen **orotát** (orotsav) keletkezik. Ez az orotát egy orotát-foszforibozil-transzferáz enzim segítségével képes **PRPP-hez kapcsolódni**. Ez után már csak egy **dekarboxilációs** reakció van hátra ahhoz, hogy megkapjuk az **uridin-monofoszfátot (UMP)** (11-4. ábra).

Mind az IMP, mind az UMP szintézise soklépéses folyamat, melyben látszólag minden lépést más és más enzim katalizál. Baktériumokban ez így is van. Azonban eukariótákban egy-egy polipeptidlánc több különböző specificitású enzimrendszert alkothat, így a szintézis különböző lépéseit **ugyanazon enzim különböző aktív centrumainak** a működése katalizálhatja.

Az UMP-nek aztán át kell alakulnia más nukleotidokká. Az első két lépés a foszforilálódás: ATP terhére az **UMP-kináz** és nukleozid-difoszfát-kináz enzimek segítségével előbb **UDP-vé**, majd UTP-vé foszforilálódik.

 Az UTP aztán egy **glutamin aminocsoportjának** transzferével alakul át **CTP**-vé. A reakcióhoz egy ATP energiája szükséges, és a **CTP-szintetáz** enzim katalizálja.

**11.2.3. Dezoxiribonukleotidok keletkezése**

A dezoxiribonukleotidok keletkezéséhz mindig a **nukleozid-difoszfát** formára van szükségünk. Osztódni képes sejtekben van **ribonukleotid-reduktáz** enzim; ennek két tiol-csoportjáról leszakadnak a H-atomok, és magukkal viszik a ribonukleotid második szénatomjának oxigénjét víz formájában. Visszamarad egy **dezoxiribonukleozid-difoszfát** és egy oxidált tiolcsoportot tartalmazó enzim. Az enzimet **redukálni** kell, hogy újra működni tudjon, ez végeredményben **NADPH elektronjainak a terhére** történik.

Külön kell foglalkoznunk a **dezoxi-timidin-monofoszfát** képződésével. A keletkezett dezoxi-uridin-difoszfát (**dUDP)** előbb elveszít egy foszfátot, majd **metilén-tetrahidrofolátról** a **timidilát-szintáz** enzim segítségével kap egy **metiléncsoportot**. A reakció végén dihidrofolát és dezoxi-timidin-monofoszfát (**dTMP)** keletkezik (11-4. ábra). A dTMP azután **timidilát-kináz**, majd **nukleotid-difoszfát-kináz** segítségével kap két foszfátot egy-egy ATP terhére.

A dezoxiribonukleotidok szintézisének **szabályozása a ribonukleotid-reduktáz** enzimen történik. A különböző dezoxinukleotid-trifoszfátok szabályozzák az enzim működését úgy, hogy az mindig azokat a reakciókat katalizálja, amelyek majd a **dezoxiribonukleotidok megfelelő arányának** beállításához kellenek.



11-4. ábra

**11.3. Nukleotidok lebomlása**

**11.3.1. Purin nukleotidok lebomlása**

A különféle nukleotidok lebomlásának kezdeti lépései hasonló sémát követnek. **Nukleotidázok** segítségével **defoszforilálódnak** (**nukleozidok** keletkeznek), majd **dezaminázok** cserélik oxocsoportokra a gyűrűről leágazó aminocsoportokat. Néha (például az AMP esetében) a két folyamat **felcserélődhet.**

Az **adenilátból** (AMP) így keletkezik **inozin**. Az inozin egy **purin-nukleozid-foszforiláz** enzim segítségével, **inorganikus foszfát** felvételével **ribóz-1-P-tá és hipoxantinná** hasad. A hipoxantin molekuláris oxigén és víz felhasználódásával **xantinná** oxidálódik, miközben hidrogén-peroxid keletkezik. A reakciót a **xantin-oxidáz** enzim katalizálja (11-5. ábra).

 A **guanozin** esetében a nukleozid foszforolízise megelőzi a dezaminációt. A dezamináció eredménye a **xantin**. A kétféle purin nukleotid lebontása most már közös mederben halad. A hipoxantin oxidációjához hasonlóan oxidálódik a xantin is, itt is a **xantin oxidáz** katalizál. A végtermék **húgysav (urát)**, amely tautomerizációval **laktimformává** alakulhat és **deprotonálódhat** (11-5. ábra). A deprotonált laktim a vízben (vérben) sokkal **jobban oldódik**, mint az oxoforma, ki tud választódni a vesében. Ha valamilyen oknál fogva a vizelet pH-ja csökken, az enolforma nem tud megfelelő mértékben deprotonálódni, visszaalakulhat laktámformává, és a húgysav **kristályok formájában** kiválhat a szervezet különböző részein. Ez a betegség a **köszvény**, amely súlyos ízületi fájdalmakat okozhat. Ha a vesében válik ki az urát, akkor vesekő is kialakulhat.



11-5. ábra

**11.3.2. A pirimidin nukleotidok lebomlása**

A nukleotidázok defoszforilálják a nukleotidokat, a **citidin uridinné**, a dezoxi-citidin dezoxi- uridinné **dezaminálódik**. Az uridin a **pirimidin-nukleotid-foszforiláz** enzim és inorganikus foszfát segítségével **uracilra** és **ribóz-1-P-ra** hasadhat. Ugyanez történik a dezoxi-uridinnel is, csak ott dezoxi-ribóz-1-P a másik termék. Az uracil a pirimidin-dehidrogenáz és NADPH segítségével **dihidro-uracillá** alakul, majd dihidro-pirimidináz segítségével felhasad a gyűrűje. Az ureido-proprionáz enzim egyszerre katalizálja a dezaminációt és a dekarboxilációt. Végül **β-alanin** képződik, melyből azután ecetsavon keresztül **acetil-KoA** keletkezhet. Az **uracil és a citozin** tehát **ketoplasztikus** bázisok.

A **dTMP** ugyancsak defoszforilálódik, de az extra metilcsoportját nem veszíti el. Ennek ellenére az imént ismertetett enzimeknek szubsztrátjai a dezoxi-timidin lebomlásiintermedierek is. A folyamat során tehát foszforolízissel dezoxiribóz és timin, redukcióval **dihidro-timin** keletkezik. A lánc-felszakadás, dezamináció és dekarboxiláció után pedig **β-amino-izobutirát** keletkezik. A β-amino-izobutirát át tud alakulni **metilmalonil-KoA-vá**, amely továbbalakul **szukcinil-KoA-vá**. A szukcinil-KoA citrátköri intermedier, a **timin** tehát **glukoplasztikus** bázis (11-6. ábra).



11-6. ábra

**11.4. Mentő utak**

A nukleotidok *de novo* szintézise drága mulatság, ezért kiépült a szervezetben egy olyan mechanizmus, amely a lebomlás kezdeti lépései után még képes a lebontást megállítani, és az intermediereket újra nukleotidokká szintetizálni. Vannak olyan sejtek, amelyekben csak ezek a mechanizmusok működnek, *de novo* szintézis nem, ezeknek létszükséglet, hogy a bomlófélben lévő intermedierekből szintetizálják újra a nukleotidokat.

Alapvetően kétfajta mechanizmus ismert. Az egyik, amelyik a **nukleozidokat foszforilálja vissza** nukleotid-monofoszfátokká. Ezek egylépéses reakciók: A különböző **nukleozid-kinázok** ATP-terhére képesek foszforilcsoportot transzferálni a ribóz vagy dezoxiribóz ötös szénatomjára (11-7. ábra). Hasonló folyamatokban **nukleozid-monofoszfát-kinázok** és **nukleozid-difoszfát-kinázok** segítségével foszforilálódnak tovább **nukleozid-di- és nukleozid-tri-foszfátokká**, szintén ATP-terhére (11-8 ábra).



11-7. ábra



11-8. ábra

A másik fontos mentő út, amikor a már **leszakadt**, sokszor már dezaminálódott **bázist** kerül vissza egy **PRPP-ra**. Ezekben a reakciókban a foszforibozil-transzferáz enzimek vesznek részt, például az **uracil-foszforibozil-transzferáz** **(UPRT)**, az **adenin- foszforibozil-transzferáz (APRT)** és a **hipoxantin-guanin-foszforibozil-transzferáz (HGPRT)**. Mindegyik enzim neve mutatja, mely szerves bázisokat helyez át a PRPP-ra. A reakció végén **nukleozid-monofoszfátok** és pirofoszfát keletkezik. A purin nukleotidok legfontosabb mentő útjait a 11-9. ábrán foglaljuk össze:



11-9. ábra

A nukleotidok metabolizmusa a most ismertetettnél jóval összetettebb. De ez a kissé leegyszerűsített hálózat is talán segít megérteni, hogyan keletkeznek, és mivé bomlanak le a nukleotidok, hogyan alakulhatnak szükség szerint egymásba, és milyen elvek szerint történik ezeknek a folyamatoknak a szabályozása. Fontos látnunk azt is, hogy a nukleotidok anyagcseréje számos ponton kapcsolódik a szénhidrátok, a lipidek, és az aminosavak anyagcseréjéhez.