

Белки 4

**Обмен сложных белков.
Нуклеопротеиды**

Лекция 20

доцент Свергун В.Т.

Содержание:

1. Переваривание и всасывание нуклеопротеидов
2. Метаболизм пуринов и пиримидинов
3. Репликация ДНК, стадии.
Альтернативный сплайсинг.
4. Регуляция экспрессии генов иммуноглобулинов.
5. Патология обмена азотистых оснований и НК

**Сложные белки-
нуклеопротеиды содержат в
своем составе нуклеиновые
кислоты и белок.**

**Рибонуклеопротеидами
являются рибосомы,
содержащие в своем составе
молекулу РНК и белок.**

Дезоксирибонуклеопротеид представляет собой хроматин, в котором молекула ДНК связывает между собой гистоны

Переваривание и всасывание нуклеопротеидов

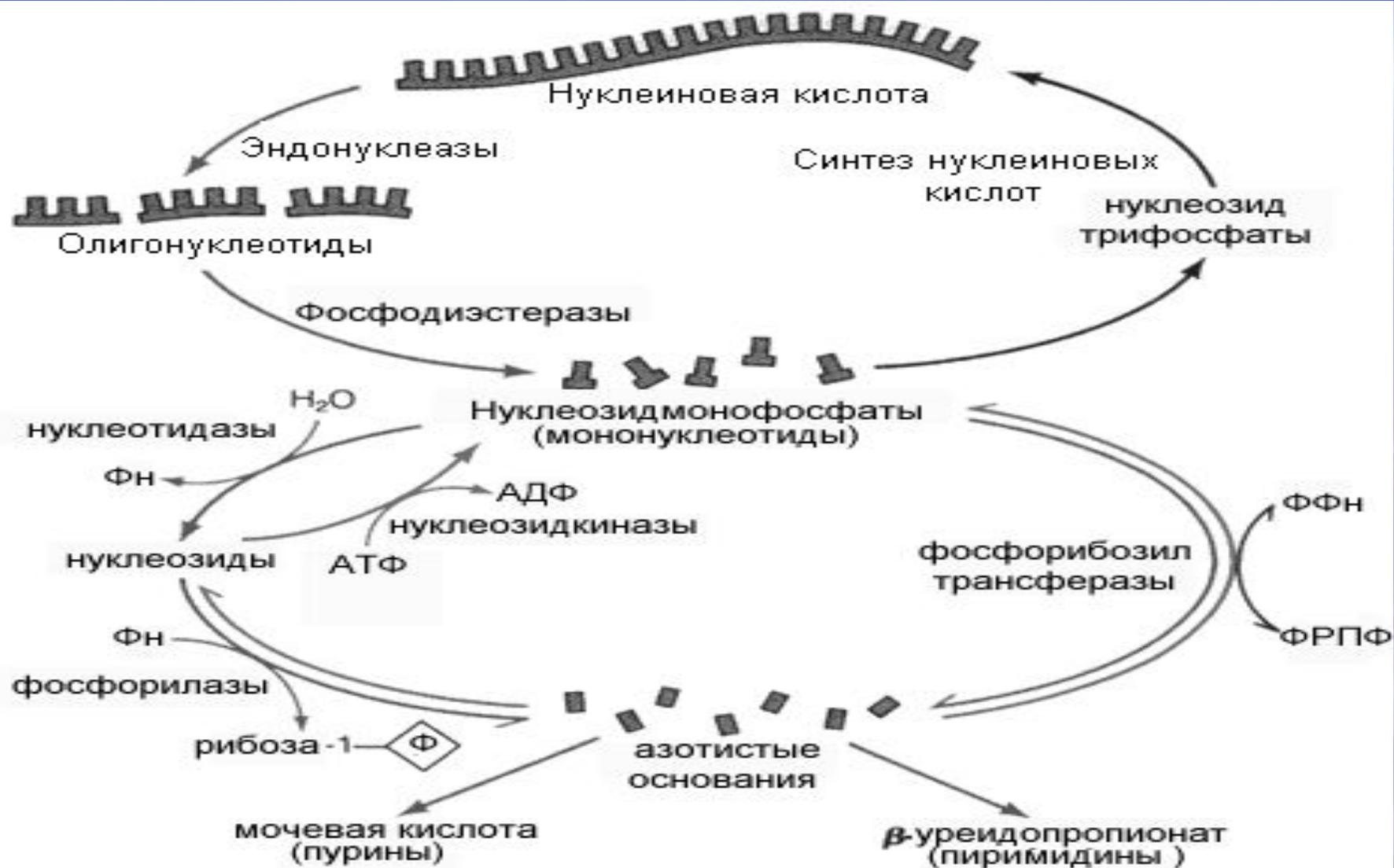
- Как известно, большая часть нуклеиновых кислот в клетке связана с белком в форме нуклеопротеиновых. КОМПОНЕНТОВ

- Поступающие с пищей нуклеопротеины разрушаются панкреатическими ферментами, а нуклеопротеины ткани - лизосомальными ферментами. Вначале происходит диссоциация компонентов нуклеопротеинов на белки и нуклеиновые кислоты.

Этому способствует кислая среда желудка. Белки затем включаются в обмен вместе с другими белками пищи, а **нуклеиновые кислоты** гидролизуются нуклеазами сока поджелудочной железы (РНКазами и ДНКазами), с образованием **смеси полинуклеотидов**. Далее в процесс включаются полинуклеотидазы и фосфодиэстеразы (**эндонуклеазы**) кишечника. Они довершают гидролиз нуклеиновых кислот до монопнуклеотидов.

- В кишечнике, как правило, образуются 3'-фосфат нуклеотиды, а под влиянием лизосомальных полинуклеотидаз образуются биологически важные 5'-фосфат нуклеотиды. **Нуклеотиды гидролизуются нуклеотидазами, с образованием нуклеозидов и ФН.**

**Нуклеозиды, которые
обычно рассматриваются
как конечный продукт
переваривания
нуклеиновых кислот в
кишечнике, всасываются.**



Рибонуклеаза (3.1.27.5) — РНК

Дезоксирибонуклеаза (3.1.21.1) — ДНК

Секрет тонкого кишечника

Суточная норма?

pH 6,5-7,8

Аминопептидазы (3.4.11.n) — пептиды - ◀

Дипептидазы (3.4.13.n) — дипептиды

α -Глюкозидаза (3.2.1.20) — олигосахариды ⬇

Олиго-1,6-глюкозидаза (3.2.1.10) — олигосахариды ⬇

β -Галактозидаза (3.2.1.23) — лактоза

Сахароза- α -глюкозидаза (3.2.1.48) — сахароза

α, α' -Трегалаза (3.2.1.28) — трегалоза

Щелочная фосфатаза (3.1.3.1) — эфиры фосфорной кислоты

Полинуклеотидазы (3.1.3.n) — нуклеиновые кислоты, нуклеотиды ⬇

Нуклеозидазы (3.2.2.n) — нуклеозиды - ◀

Фосфолипазы (3.1.n.n) — фосфолипиды



В клетках некоторых тканей, в том числе и клетках кишечника, нуклеозиды подвергаются фосфорилизу нуклеозид фосфорилазами, с образованием оснований и рибозы 1-Ф (или дезоксирибозы 1-Р).

Рибоза 1-Ф и рибоза 5-Ф в цитозоле находятся в равновесии и могут быть вновь использованы для синтеза нуклеотидов или вступают в неокислительную часть пентозофосфатного пути.

**Пуриновые и
пиримидиновые основания
также или распадаются
далее до конечных продуктов
или используются повторно
для синтеза нуклеотидов.**

**В клетке существует
интенсивно
обмениваемый пул
рибонуклеотидов и РНК.
Молекулы ДНК и пул
дезоксирибонуклеотидов
обменивается значительно
медленнее.**

Тканевые пурины и пиримидины, которые не попадают в пути повторного использования, обычно распадаются и продукты их распада выделяются.

- **Используется лишь очень небольшое количество пищевых пуринов, а основная масса поступивших с пищей пуринов распадается.**

Катаболизм пуринов и пиримидинов **не** сопровождается **значительным** высвобождением энергии **в** сравнении с обменом аминокислот, однако **некоторые** продукты распада выполняют определенные физиологические функции,

например, конечный продукт катаболизма пуринов у человека **МОЧЕВАЯ КИСЛОТА**, может служить **антиоксидантом**, продукт катаболизма пиримидина, **б– аланин** используется в

- синтезе активных пептидов мозга и мышц

Метаболизм пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов

Одно из важных направлений
использования
аминокислотного фонда
клеток - **синтез**
пиримидиновых и
пуриновых нуклеотидов.

**Нуклеотиды выполняют
ряд важных функций в
клетке.**

**Они являются источниками
энергии,**

- **АТР** - наиболее известный и обычно используемый источник энергии для многих процессов.

- **ГТФ** используется в синтезе белков, глюкозы, а также в некоторых других реакциях.

УТФ - источник энергии
для активирования
глюкозы и галактозы, а
ЦТФ - для реакций с
участием липидов.

АМФ - часть
структуры некоторых
коферментов (**НАД⁺** ,
НАДФ⁺ , кофермента
А).

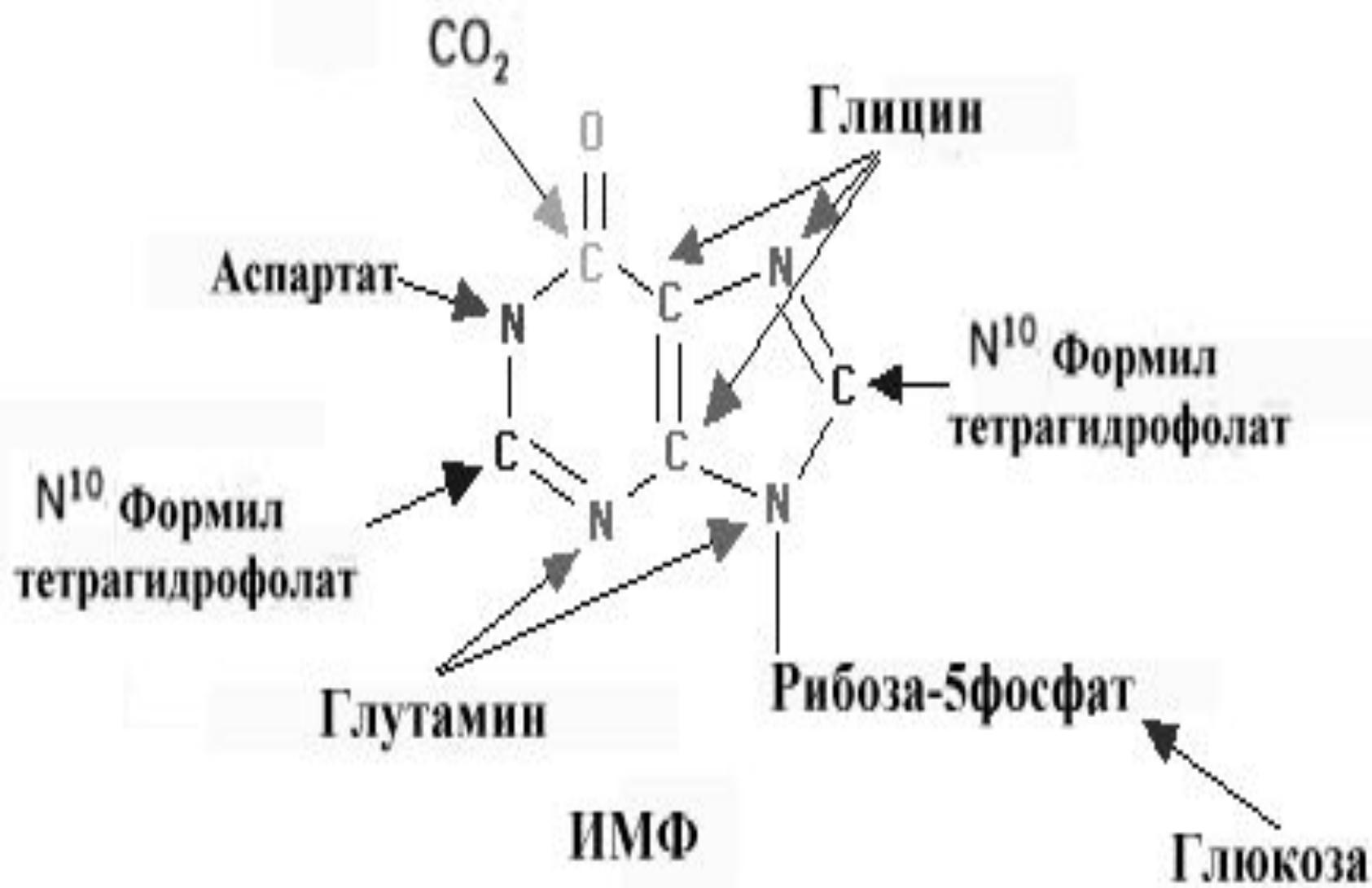
**И, конечно, нуклеотиды –
основные структурные
элементы нуклеиновых
кислот и субстраты для
синтеза.**

Большинство клеток способно синтезировать нуклеотиды для удовлетворения своей потребности в них, и поэтому поступления нуклеотидов, нуклеозидов, или азотистых оснований с пищей не требуются.

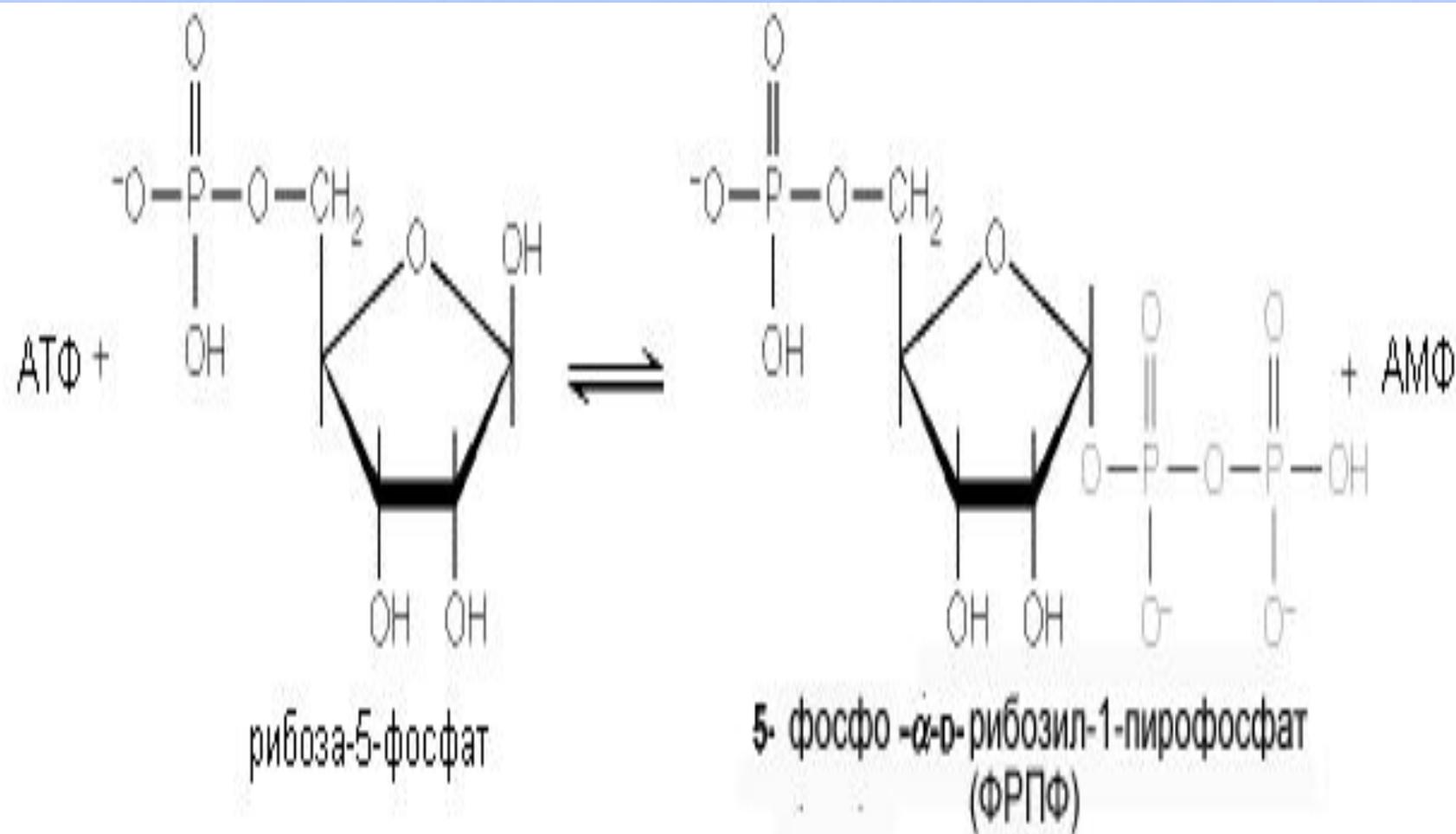
В дополнение к способности синтезировать нуклеотиды **de novo**, многие клетки обладают возможностями использования продуктов распада нуклеиновых кислот, таких как нуклеозиды или свободные основания для синтеза нуклеотидов.

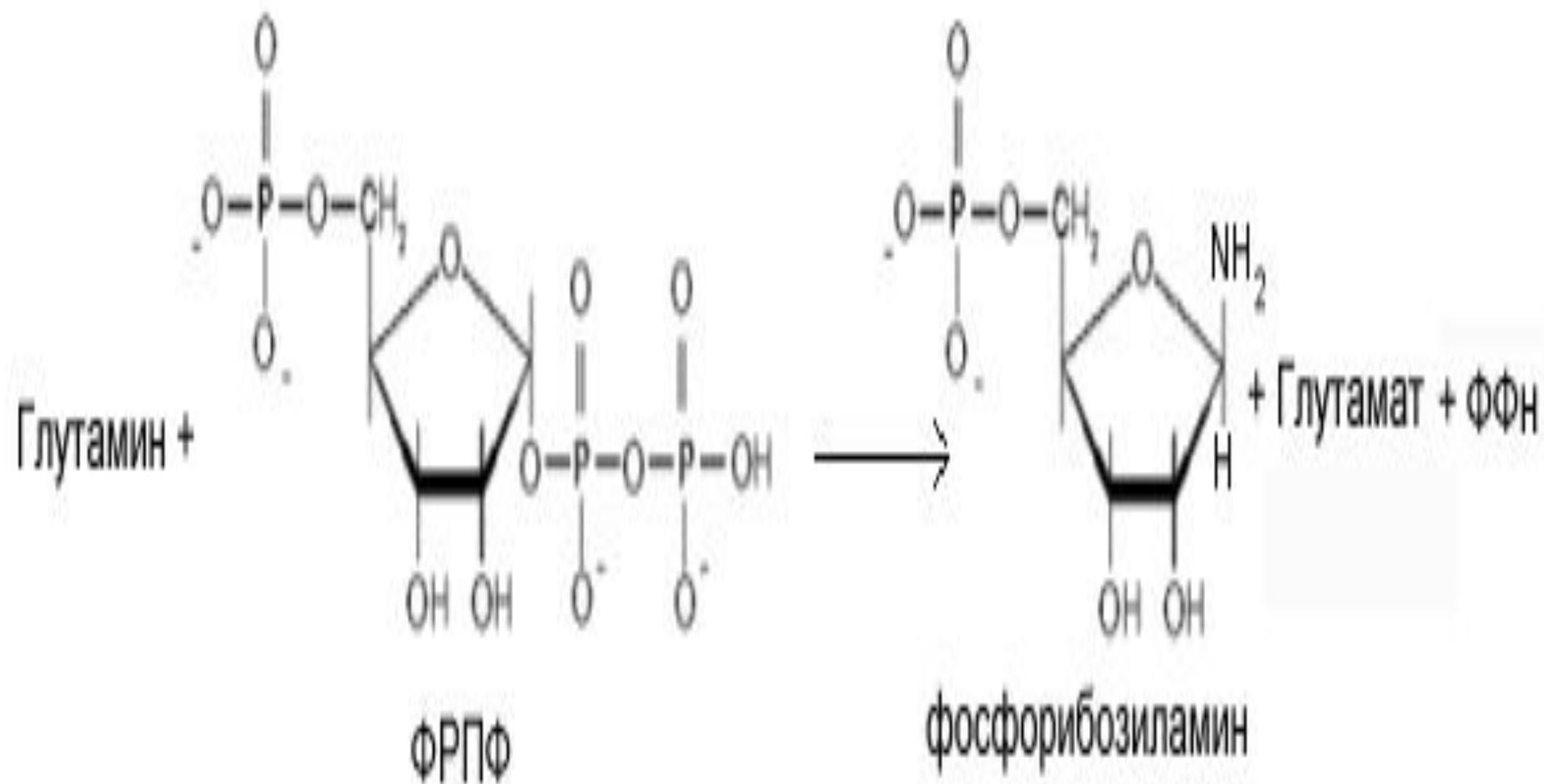
**Генетические дефекты
некоторых ферментов
этого пути проявляются в
форме заболеваний
нервной системы и
суставов.**

**Многие производные
нуклеотидов нашли
применение в
медицинской практике для
подавления роста
опухолевых клеток,
лечения СПИДа, подагры**

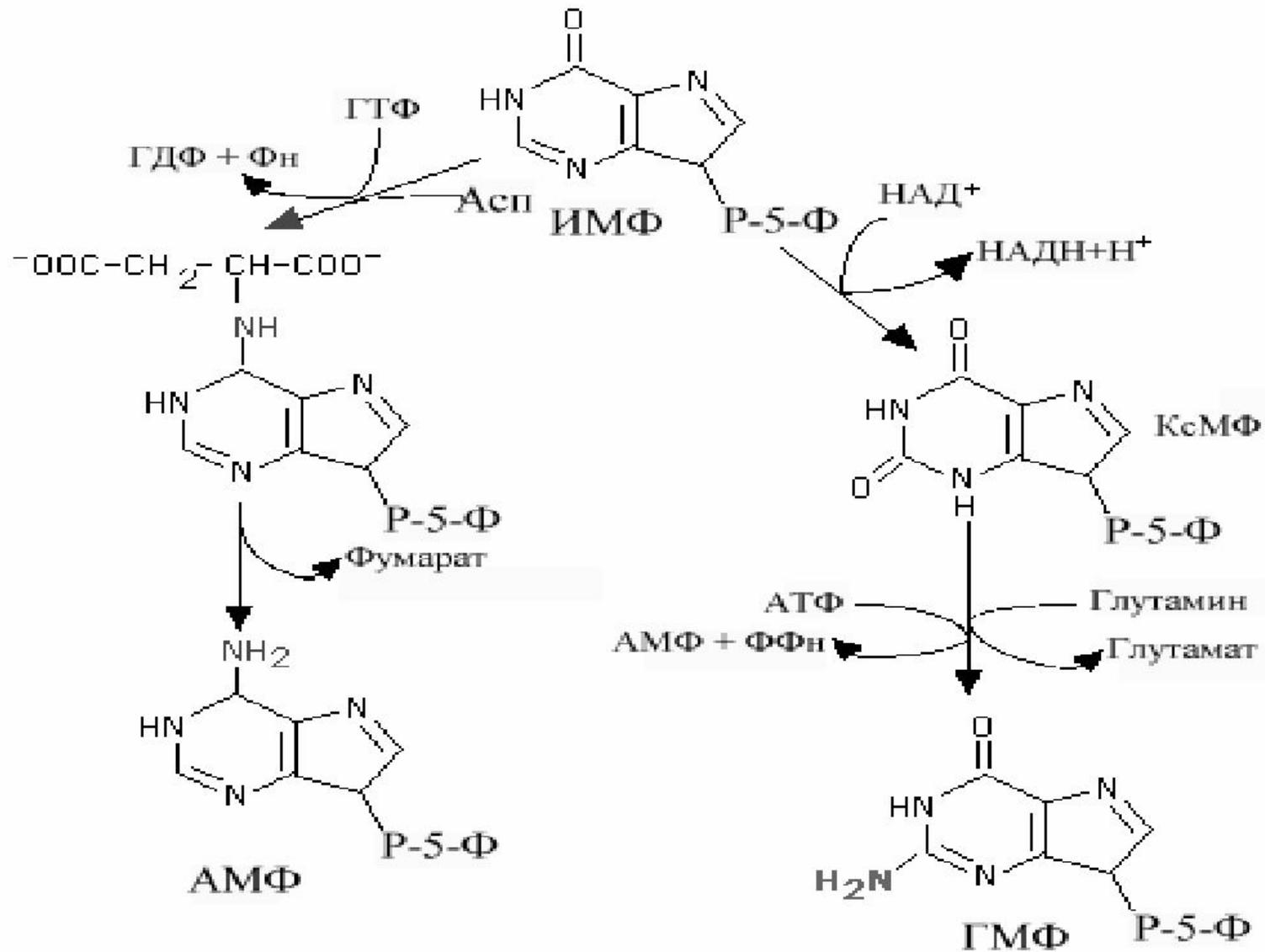


De novo синтез пуриновых
и пиримидиновых
рибонуклеотидов

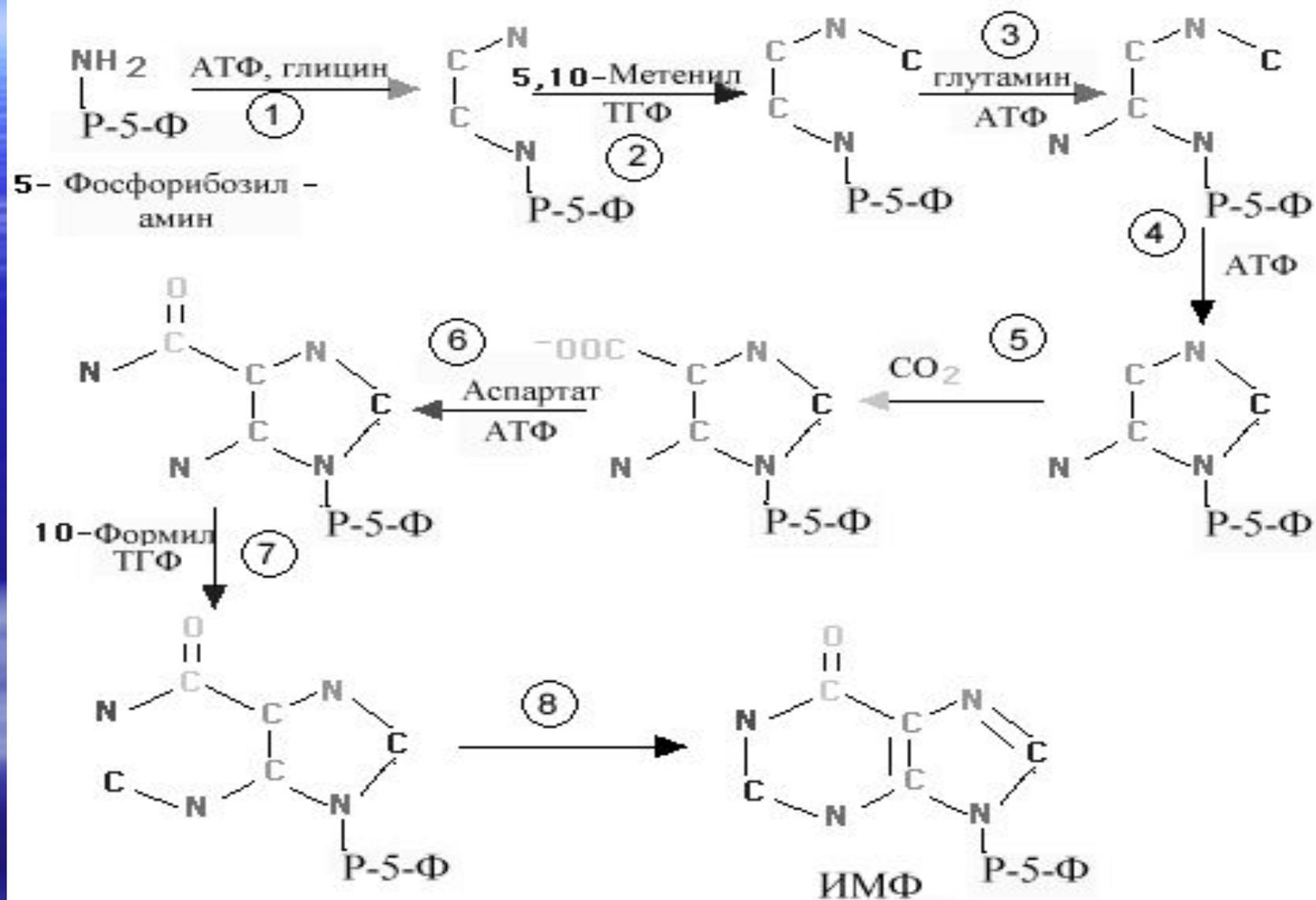




От ИМФ к АМФ или ГМФ



От фосфорибозиламина до ИМФ



- **Нуклеотиды- это наиболее сложные метаболиты. Их биосинтез требует много времени и затрат энергии. Поэтому они могут разрушаться не полностью, и в основном снова участвуют в биосинтезе. Это относится к пуриновым основаниям-аденину и гуанину.**

- В организме человека около 90 % пуриновых оснований снова превращается в нуклеозидмонофосфаты, связываясь с Фосфорибозилдифосфатом (PRPF).

Путь « спасения»- повторное включение пуринов

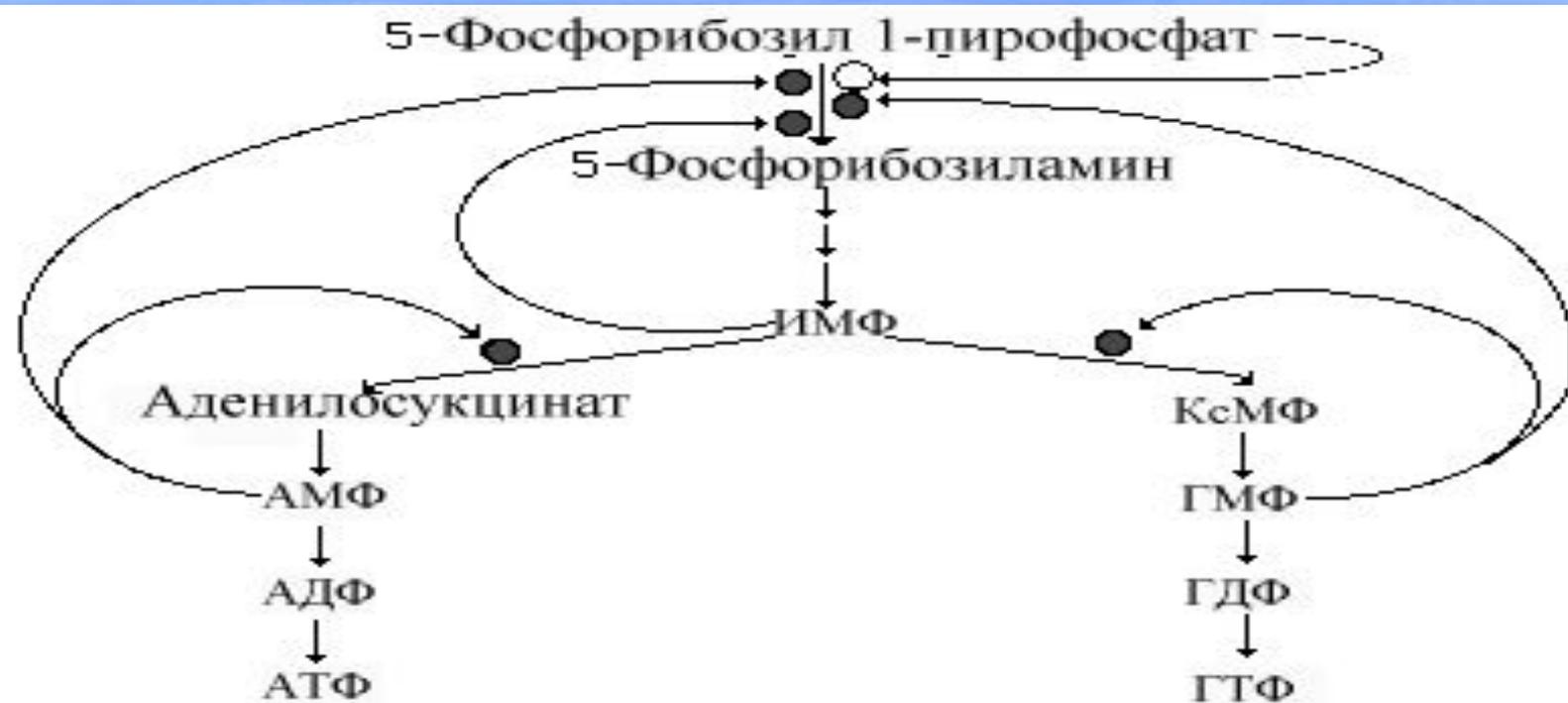
- Аденин + фосфорибозилдифосфат (ФРДФ)-----□



- Гуанин + ФРДФ--□ АМФ + $\text{H}_4\text{P}_2\text{O}_7$

Гипоксантин + ФРДФ---□





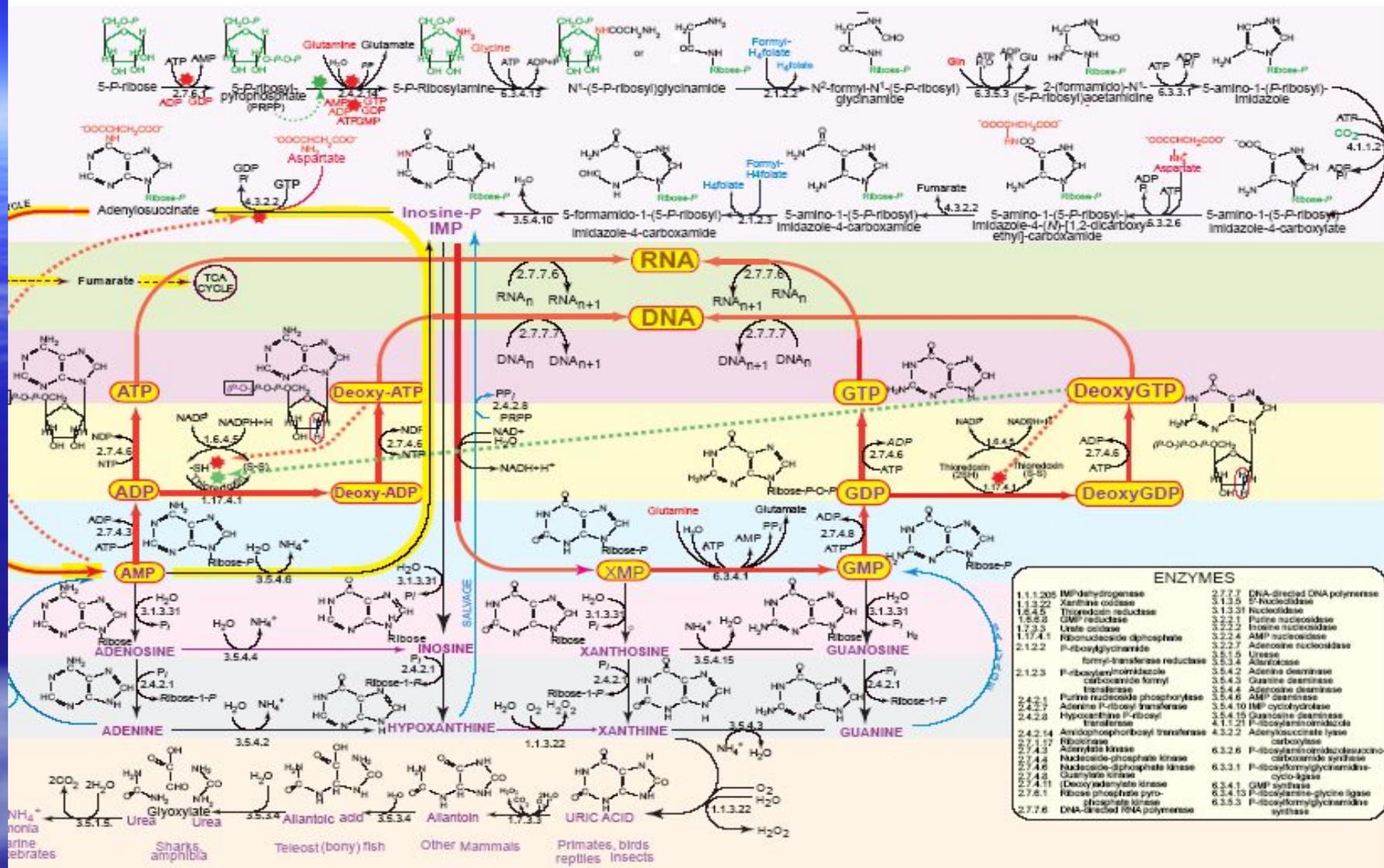
● Торможение

○ Активирование

ГТФ - источник энергии для синтеза АМФ

АТФ - источник энергии для синтеза ГМФ

PURINE METABOLISM



Деградация пуринов

В организме человека пурины распадаются до мочевой кислоты и в такой форме выводятся с мочой.

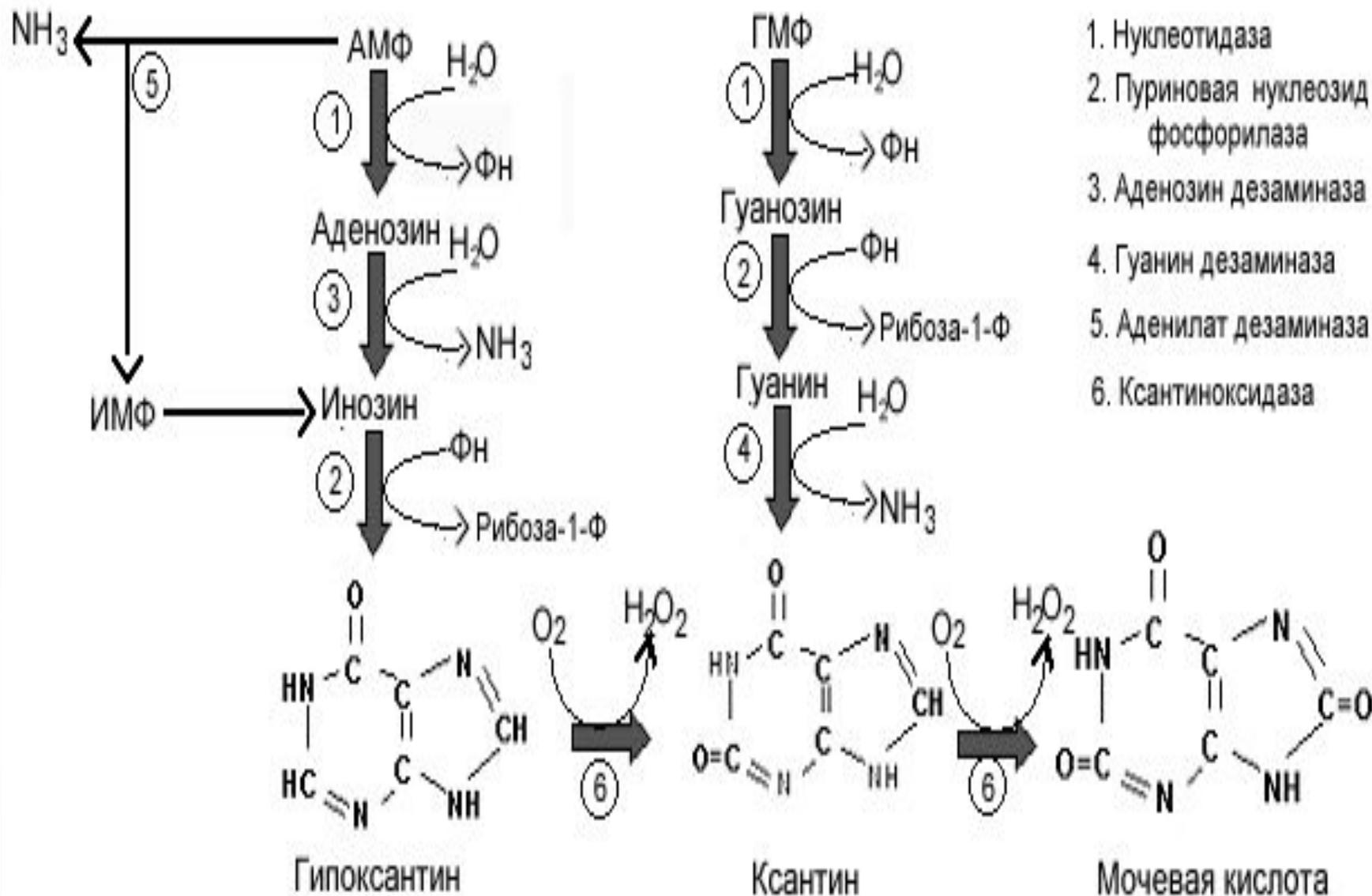
Пуриновое кольцо при этом остается незатронутым.

**ГМФ распадается в две
стадии до гуанозина, а
затем до гуанина.**

**Гуанин дезаминируется,
образуя другое
пуриновое кольцо -
ксантин**

АМФ дезаминируется, образуя ИМФ, далее гипоксантин. Один и тот же фермент- ксантинооксидаза, превращает гипоксантин в ксантин, а последний в мочевую кислоту.

На каждой стадии реакций в субстрат вводится оксогруппа окислением молекулярным кислородом. Другим продуктом реакций является токсичная перекись водорода, которая удаляется пероксидазами.



- **Расщепление пуринов у человека заканчивается на стадии образования мочевой кислоты. М.К. очень плохо растворима в воде.**

- При ее избыточных количествах или нарушении катаболизма, концентрация ее в крови увеличивается, и как следствие происходит отложение кристаллов кислоты в органах. Отложение м.к. в суставах является причиной сильных болей при подагре.

- В большинстве случаев гиперурикемия связана с нарушением **выведения** мочевой кислоты почками. Неблагоприятным фактором является **высокое** содержание пуринов в пище (мясная диета).



- Для лечения гиперурикемии применяют аллопуринол (структурный аналог м.к.) - ингибитор ксантинооксидазы.



Патохимия пуринового обмена

- Подагра-хроническое заболевание на фоне гиперурикемии и острых приступов артрита -частичная потеря активности фермента-GGFRТ-гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы.



- При синдроме Леха-Нихана - полная потеря активности GGFRТ.
- Комбинированный иммунодефицит (Т и В клетки), гипоурикемия, дезоксиаденозинурия - происходит потеря активности фермента - аденозиндезаминазы

**Дефект
аденозиндезаминазы
выявляется во многих
тканях, но
патологические
последствия
развиваются главным
образом в лимфоцитах.**

**Недоразвиты тимус и
лимфатические узлы.
Торможение р-ций
дезаминирования
увеличивает конц.
аденозина и
дезоксиаденозина**

- **Дефект аденозиндезаминазы выявляется во многих тканях, но патологические последствия развиваются главным образом в лимфоцитах.**

- Недоразвиты тимус и лимфатические узлы. Торможение р-ций дезаминирования увеличивает конц. аденозина и дезоксиаденозина.

- **Последний и особенно dATF токсичны для лимфоцитов, вызывают угнетение активности рибонуклеотидредуктазы и уменьшение синтеза dNTP и DNK**

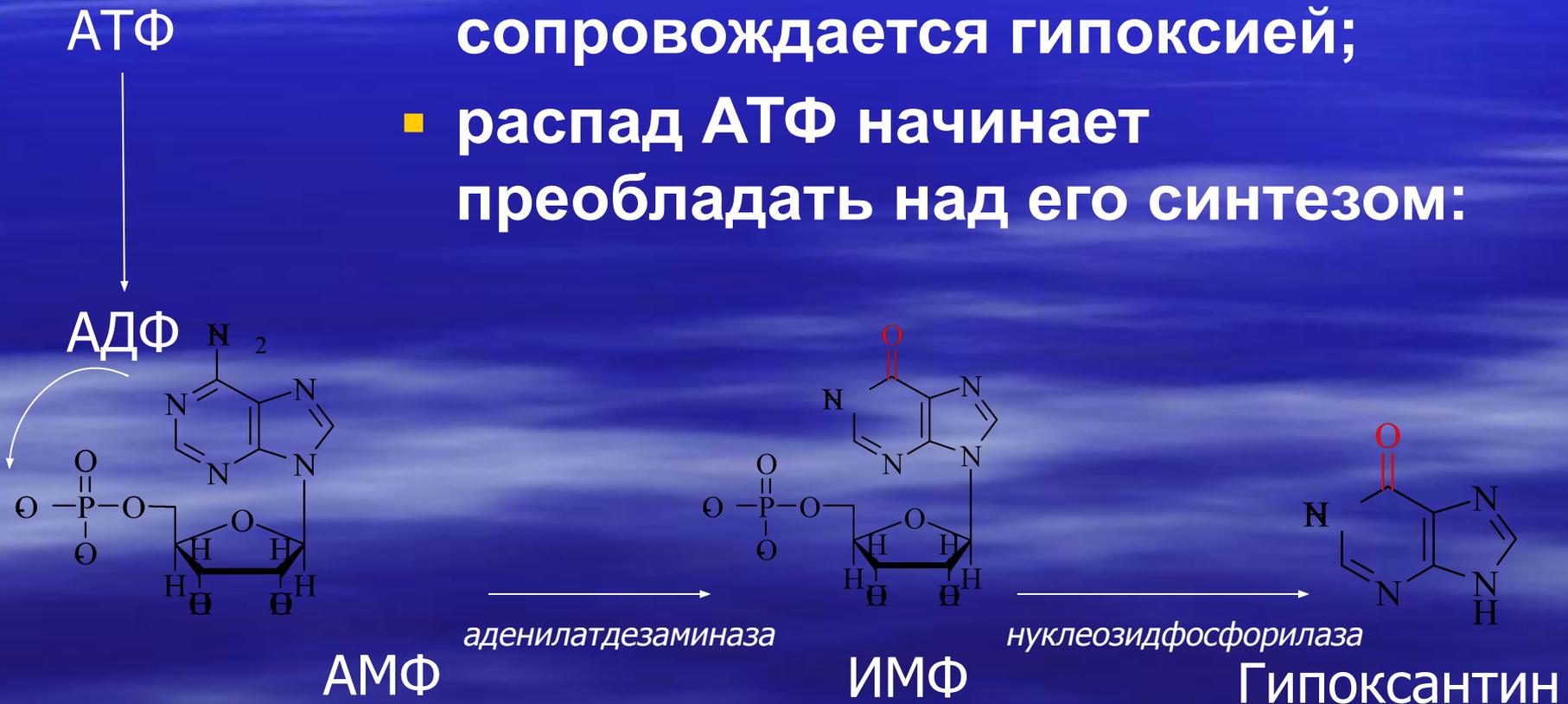
Распад пуринов и перекисные
процессы

**Генерация активных форм
кислорода при ишемии-
реперфузии**

Ишемия.

Распад АТФ до гипоксантина

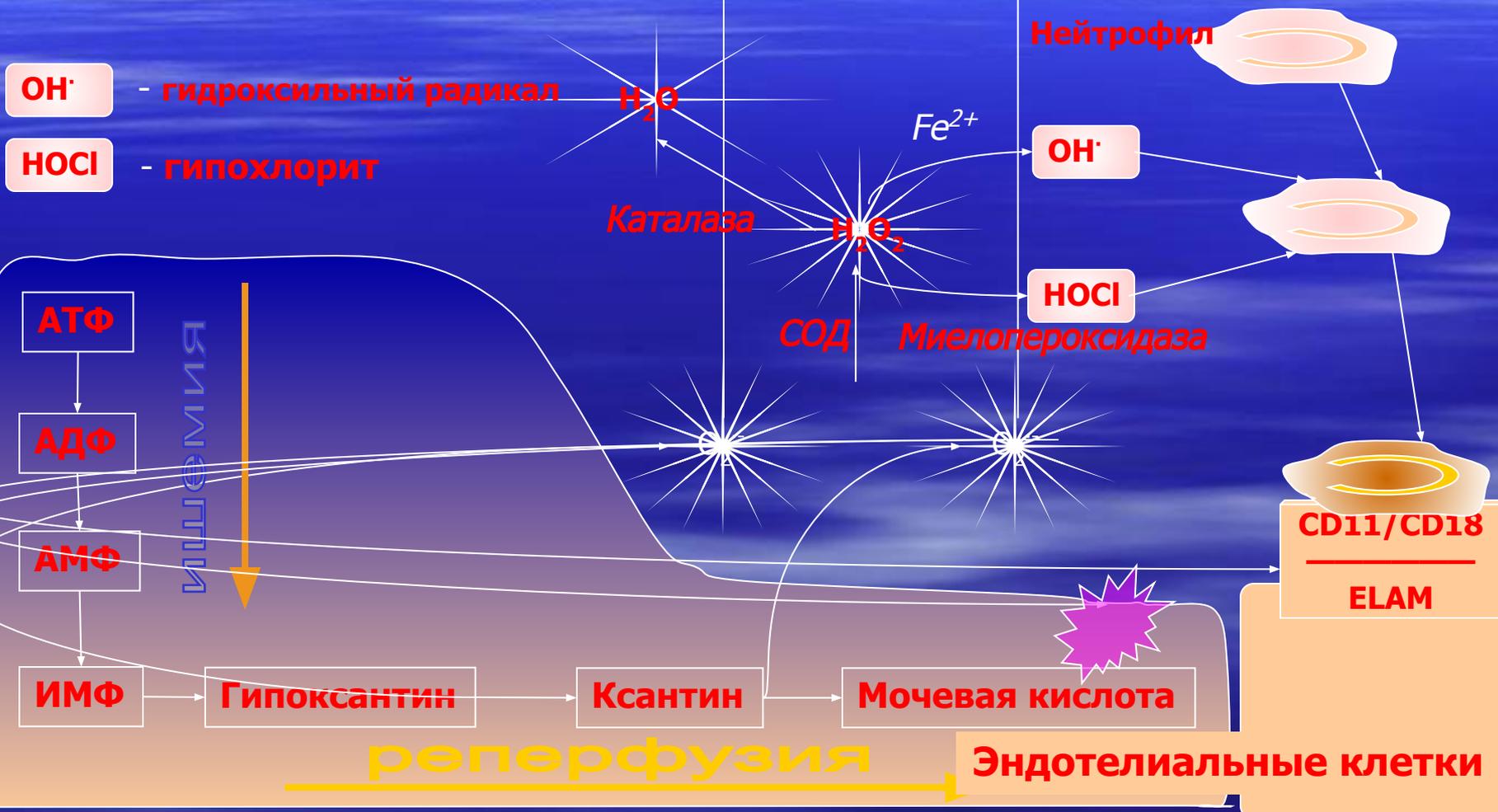
- прекращение кровотока (ишемия) сопровождается гипоксией;
- распад АТФ начинает преобладать над его синтезом:



Повреждение тканей при ишемии-реперфузии

OH[·] - гидроксильный радикал

HOCl - гипохлорит



Реперфузия. Окисление гипоксантина до мочевой кислоты

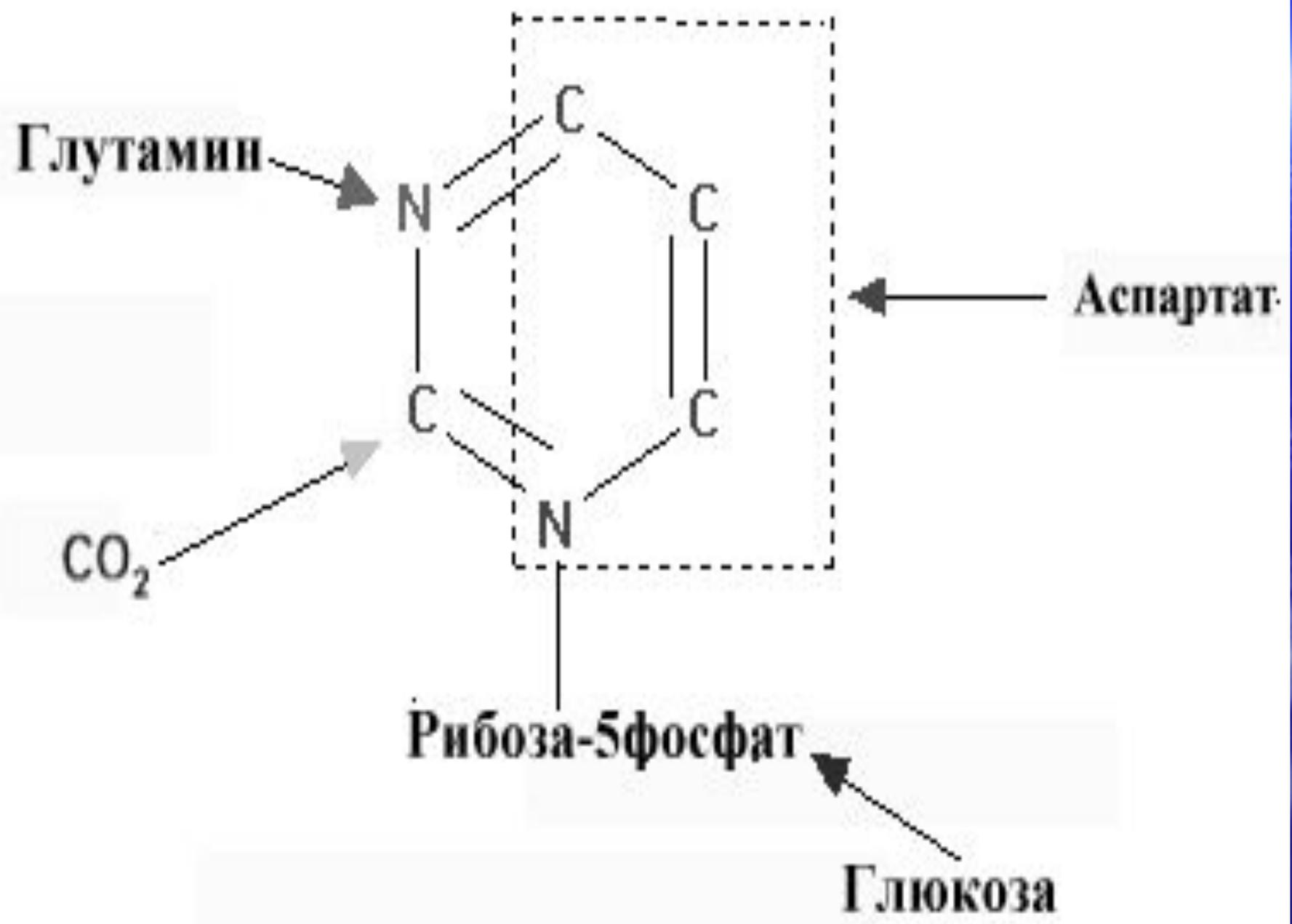
- После восстановления кровотока (реперфузия) в ткани начинает поступать кислород;
- окисление гипоксантина до мочевой кислоты сопровождается образованием активных форм кислорода:

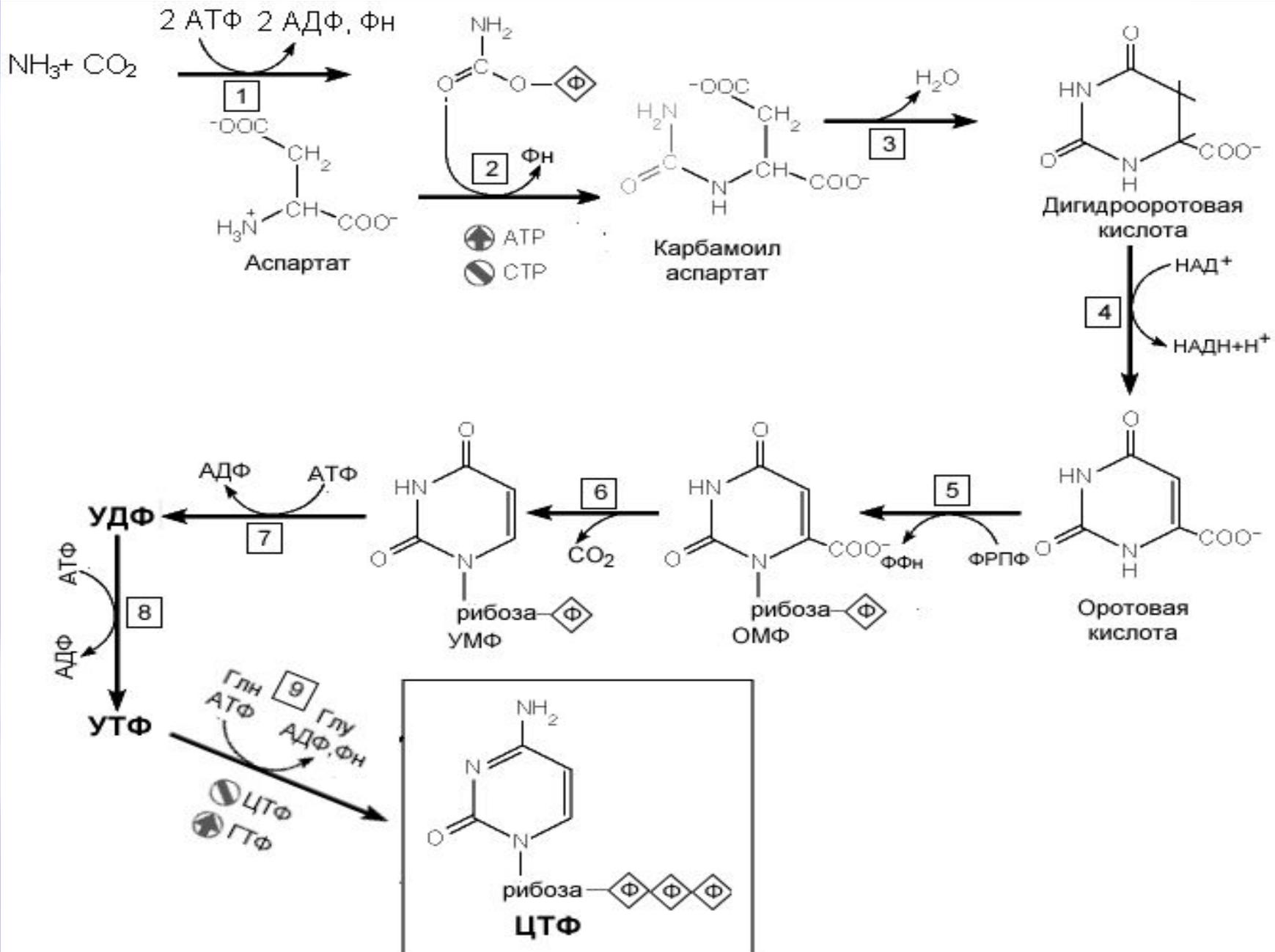


**Биосинтез
пиримидиновых
нуклеотидов**

- Центральным промежуточным продуктом биосинтеза предшественников НК является моноклеотид уридинмонофосфат- УМФ.
- Путь синтеза пиримидиновых оснований отличается от пуриновых оснований

- **Непосредственным предшественником при синтезе пиримидиновых колец является карбомоилфосфат, который образуется из Глу и HCO_3^- и аспартата.**





Реакции 1,2,3 протекают в цитоплазме и катализируются одним полифункциональным ферментом (имеющим 3 АЦ). На 4- стадии дигидрооротат окисляется FMN-зависимой дегидрогеназой в оротат, который связывается с ФРПФ (FRPF), образуя оротидиловую кислоту.

**Последняя
декарбоксилируется тем же
ферментом, образуя УМФ.**

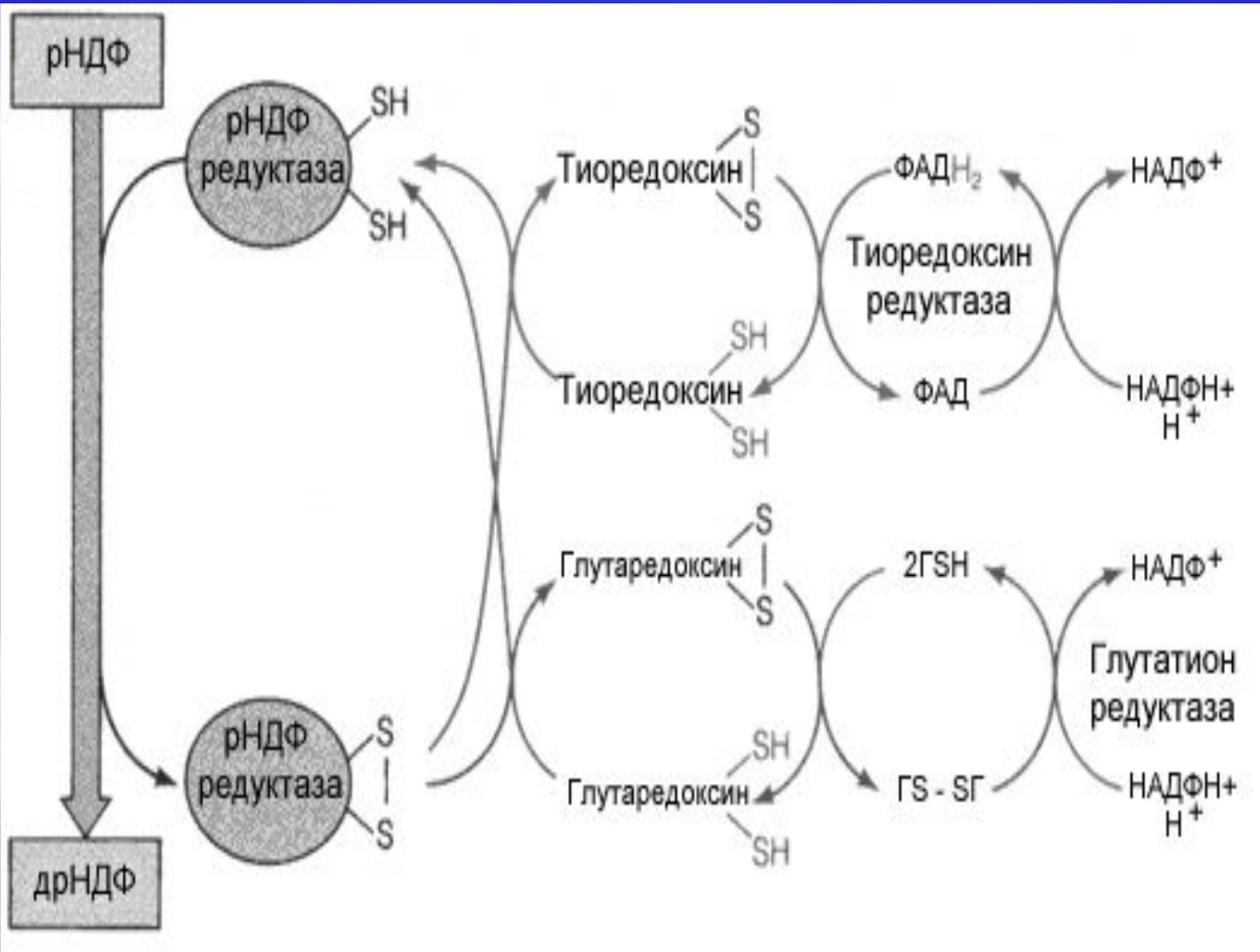
**Т.о. 6 катализирующих
активных центров
кодируются только тремя
структурными генами.**

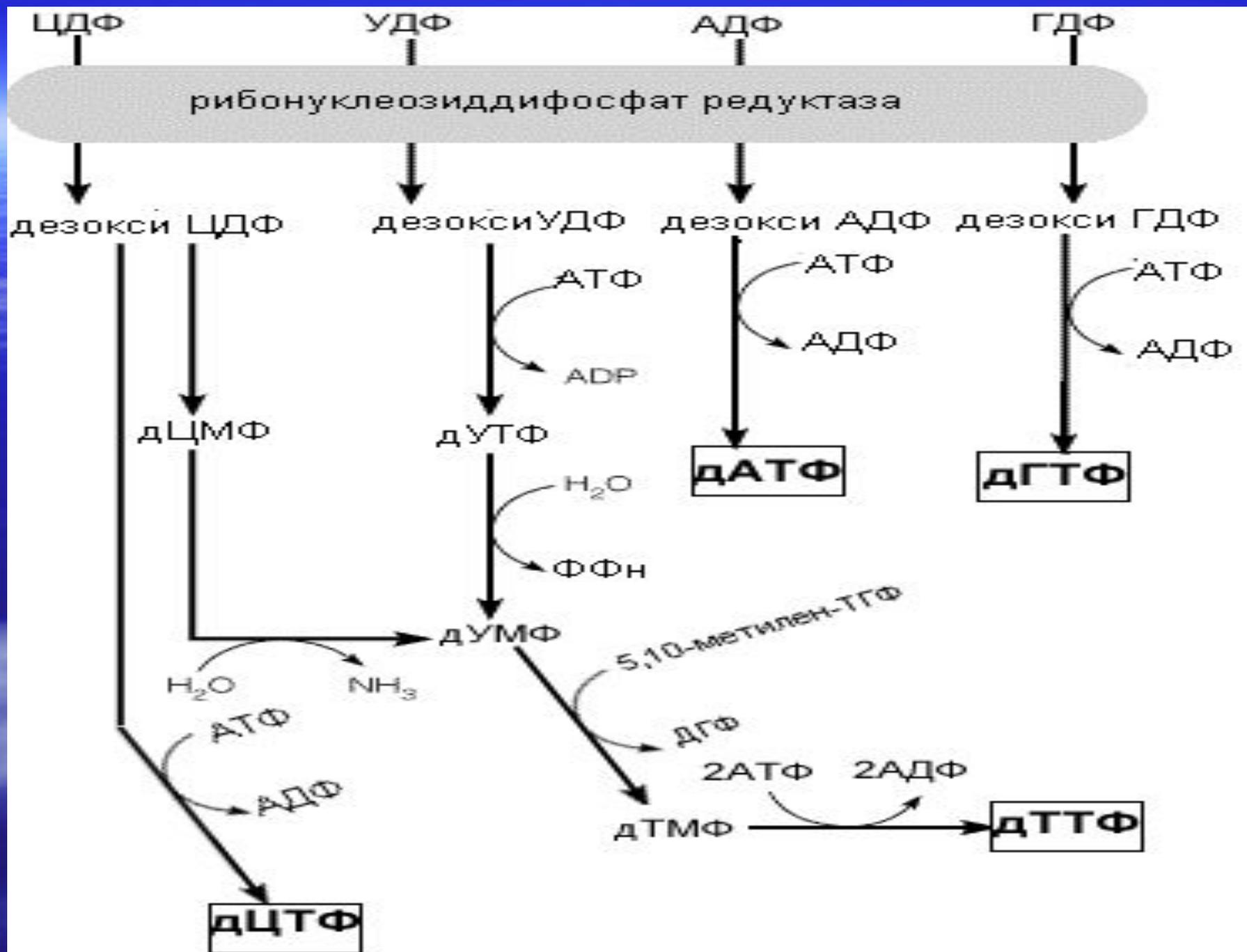
Биосинтез пиримидиновых оснований протекает сложнее, чем пуриновых оснований. На основе УМФ образуются другие пиримидиновые кольца.



Биосинтез дезоксирибонуклеотидов

- 2'- дезоксирибоза –структурный элемент ДНК, не синтезируется в виде свободного сахара., а образуется на стадии дифосфата при восстановлении рибонуклеозиддифосфатов. Это сложный процесс в котором участвует несколько белков. Восстановительные эквиваленты поставляет NADPH, они проходят через ряд О/В реакций. Основные ферменты на этом пути-рибонуклеотидредуктаза и тиреоредоксинредуктаза, восстанавливающие сульфгидрильные группы, а также тимидилатсинтетаза.





■ дУМФ+ Метилен- H_4 -фолат ----



дТМФ+ H_2 -

фолат (фермент-
тимидилатсинтетаза)

- **Синтез дезоксирибонуклеотидов в покоеющихся клетках практически не происходит и активируется на стадиях клеточного цикла, предшествующих делению.**

- Ингибиторы синтеза дезоксирибонуклеотидов делают невозможной репликацию ДНК и деление клетки: на этом основано применение ингибиторов РНК-нуклеотидредуктаза и тимидилатсинтетаза для лечения злокачественных опухолей.

- **5-фторурацил-
структурный аналог
тимидиловой кислоты,
ингибирует фермент и
блокирует биосинтез ДНК.**

- Однако на опухолевые ткани они действуют сильнее, поскольку раковые клетки отличаются значительно большей скоростью пролиферации, а значит и большей потребностью в дезоксирибонуклеотидах.

Схема синтеза рибонуклеотидов

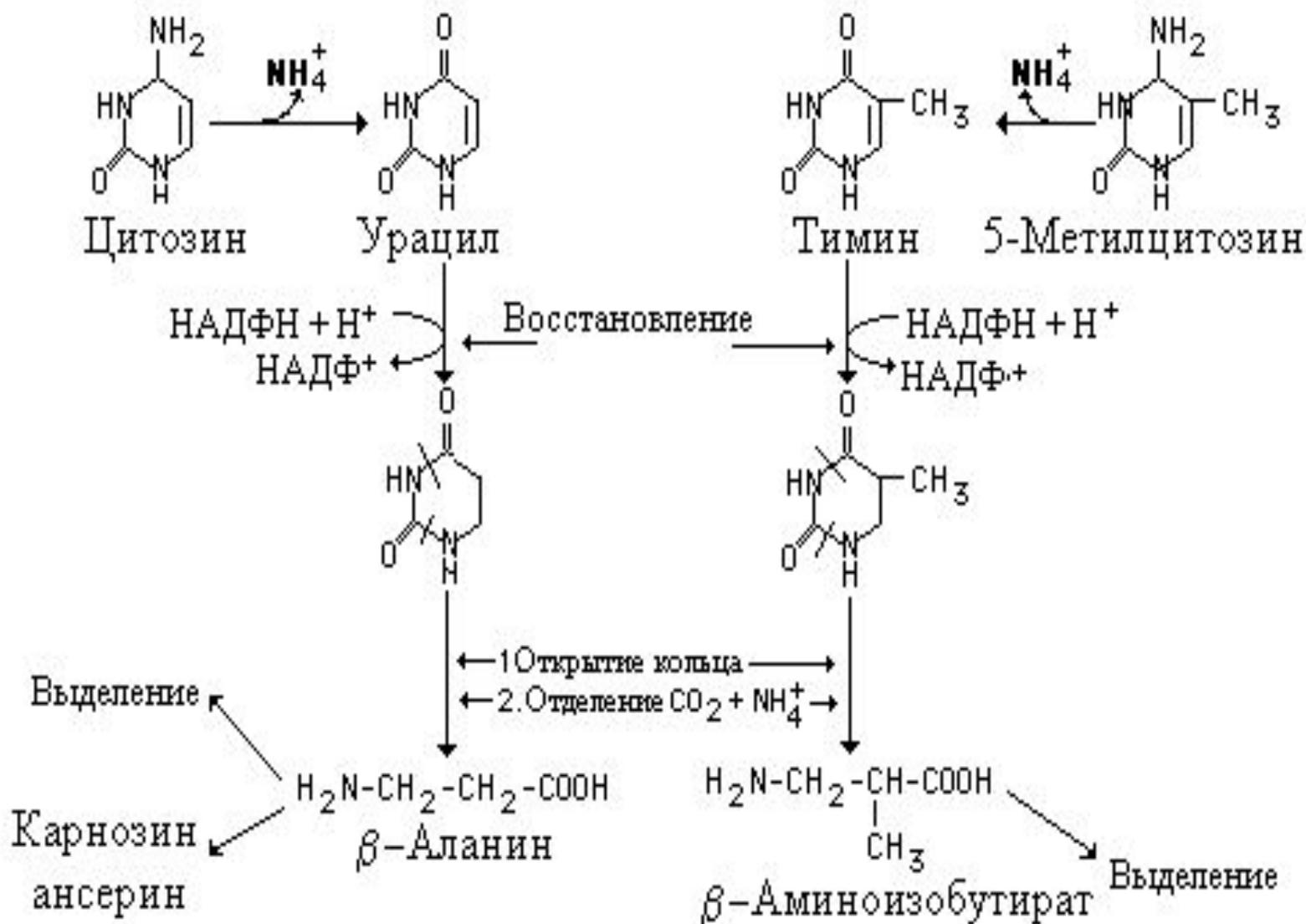
Рибоза-5-фосфат

↓ ФРПФ синтетаза

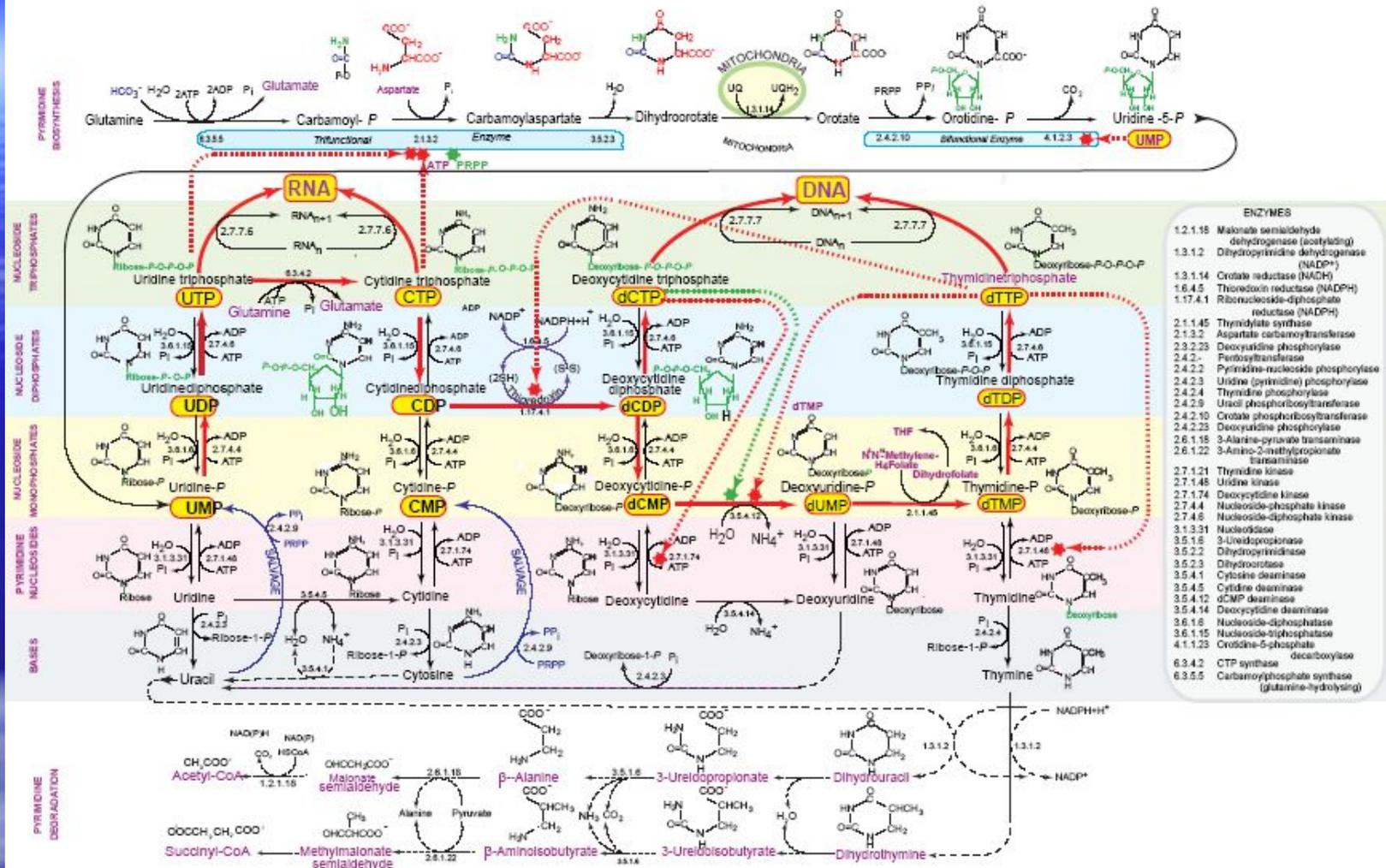
ФРПФ

5-Фосфорибозил -1-пирофосфат





PYRIMIDINE METABOLISM



- ENZYMES**
- 1.2.1.18 Malonate semialdehyde dehydrogenase (acylating)
 - 1.3.1.2 Dihydropyrimidine dehydrogenase (NADP⁺)
 - 1.3.1.14 Orotate reductase (NADH)
 - 1.6.4.5 Thioesterase reductase (NADPH)
 - 1.17.4.1 Ribonucleoside-diphosphate reductase (NADPH)
 - 2.1.1.45 Thymidylate synthase
 - 2.1.3.2 Aspartate carbonyltransferase
 - 2.3.2.23 Deoxycytidine phosphorylase
 - 2.4.2.- Pentosyltransferase
 - 2.4.2.2 Pyrimidine-nucleoside phosphorylase
 - 2.4.2.3 Uridine (pyrimidine) phosphorylase
 - 2.4.2.4 Thymidine phosphorylase
 - 2.4.2.9 Uracil phosphoribosyltransferase
 - 2.4.2.10 Orotate phosphoribosyltransferase
 - 2.4.2.23 Deoxycytidine phosphorylase
 - 2.6.1.15 3-Alanine-pyruvate transaminase
 - 2.6.1.22 3-Amino-2-methylpropanoate transaminase
 - 2.7.1.21 Thymidine kinase
 - 2.7.1.48 Uridine kinase
 - 2.7.1.74 Deoxycytidine kinase
 - 2.7.4.4 Nucleoside-phosphate kinase
 - 2.7.4.6 Nucleoside-diphosphate kinase
 - 3.1.3.31 Nucleosidase
 - 3.5.1.6 3-Ureidopropionase
 - 3.5.2.2 Dihydropyrimidinase
 - 3.5.2.3 Dihydroorotase
 - 3.5.4.1 Cytosine deaminase
 - 3.5.4.5 Cytidine deaminase
 - 3.5.4.12 dCMP deaminase
 - 3.5.4.14 Deoxycytidine deaminase
 - 3.6.1.6 Nucleoside-diphosphatase
 - 3.6.1.15 Nucleoside-triphosphatase
 - 4.1.1.23 Orotidine-5-phosphate decarboxylase
 - 6.3.4.2 CTP synthase
 - 6.3.5.5 Carbamoylphosphate synthase (glutamine-hydrolysing)