

# Nukleotidmetabolism

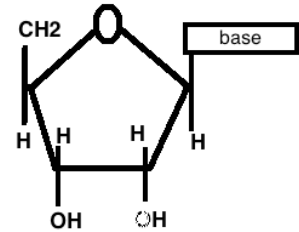
## Nomenklatur & grundläggande struktur

**Vad är skillnaden mellan 2-klorodeoxyadenosin och 2'-kloro-2',3'-dideoxyadenosin? 1p**

I första fallet sitter det en kloratom på atom nr 2 i purinskelettet (som i övrigt är en adenin) och sockret är en deoxyribos. I det andra fallet är adenin intakt och sockret är "deoxy" i både 2' och 3' position och en kloratom sitter dessutom på 2'-kolet.

**Beskriv med ord och en enkel skiss hur sockerdelen i nukleosider ser ut samt varifrån den kommer i samband med nysyntes av nukleotider. 2p.**

Ribos eller deoxyribos, som kommer från HMP-shunten i form av ribos-5-fosfat. För rätt svar krävs även godkänd skiss.



**Vilken av nedanstående molekyler bidrar genom metabolismen EJ till en eller flera av de atomära komponenter som ingår i någon av de vanliga nukleosiderna. 1p. Motivera kortfattat ditt svar.**

- a) glukos
- b) glycin
- c) glutamin
- d) fosfatjonen
- e) aspartat
- f) N10-formyl-tetrahydrofolsyra
- g) Koldioxid

D eftersom nukleosiderna bara består av en kolhydratdel och en bas medan de olika nukleotiderna däremot innehåller fosfatgrupper.

**Vid snabb tillväxt av en tumör hinner kärlnybildningen inte med, varför glukosförbrukningen blir avsevärt högre i celler i snabbt växande tumörer jämfört med celler med god blodförsörjning. Ge en metabol förklaring till detta fenomen (varför glukosförbrukningen blir relativt högre hos celler med dålig blodförsörjning). Hur skulle man kunna utnyttja detta metabola förhållande för att detektera tumörceller eller hämma metabolismen? 2p**

Tumörceller som växer snabbt får förlita sig på substratfosforyleringar under anaeroba betingelser för att bilda ATP, vilket kräver avsevärt mycket mera glukos än om cellen jobbar under aeroba betingelser. Detta kan man utnyttja genom att man tillför celler en glukosanalog (e.g. 2-deoxyglukos) som tas upp av celler på normalt sätt men som ansamlas i vävnanden då den inte kan metaboliseras vidare i glykolysen då den saknar OH-grupp i position 2 som möjliggör omvandling av glukos-6-fosfat till ketosockret fruktos-6-fosfat.

**(1p) Ett patent från "ISIS Pharmaceuticals" med titeln "Antisense inhibition of telomeric repeat binding factor 2 expression" (nr. WO2001043752A1) använder experimentella metoder som utnyttjar 5-metylruridin. Hur skiljer sig 5-metylruridin från tymidin?**

Tymidin skulle också kunna kallas 2'-deoxy-5-metylruridin. Skillnaden är att 5-metylruridin (även kallad ribotymidin) är ribosformen av tymidin. (Ribosformen av tymidin återfinns inte normalt i vare sig mRNA eller DNA och därmed är deoxyribosformen underförstådd vid användning av namnet "tymidin", men ribotymidin ingår faktiskt även som en normal byggsten i vissa tRNA-former.)

**(3p) Telomererna består av deoxyribonukleotider och förlängs på samma principiella sätt som övrigt DNA. Vad krävs av en byggsten till DNA för att den ska inkorporeras i en växande DNA kedja? För full poäng krävs angivande av principiell struktur av byggstenen samt angivande av förutsättningar och kemisk reaktion som katalyseras av DNA-polymeras.**

DNA-polymeras accepterar dNTP som substrat och reaktionen kräver att en dNTP som ska inkorporeras i en växande DNA-kedja basparar med "template strand" (A basparar med T, C basparar med G). Vid reaktionen spjälkas de två yttersta fosfaterna beta och gamma-fosfaten) hos den inkorporerade dNTP byggstenen bort och den kvarvarande alfa-fosfatgruppen på 5'-kolet bildar en fosfodiesterbindning med den fria hydroxylgruppen som finns på 3'-kolet hos sista nukleotiden i den del av DNA-kedjan som ska förlängas.

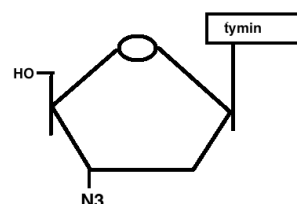
## Läkemedel & sjukdomar

Det bildas över en miljon röda blodkroppar per sekund. Bildningen av dessa celler är mycket känslig för störningar i DNA-syntesen. Många cytostatika ger därför som biverkan anemi (blodbrist). Metotextrat är ett cytostatikum som bland annat används för att förhindra spridning av leukemiceller till CNS. Förklara verkningsmekanismen för metotextrat och förklara varför det hämmar hemprocessen (bildningen av röda blodkroppar). 2p

Hämmar dihydrofolatreduktas. Folsyraderivat behövs vid syntesen av både puriner och pyrimidiner (som behövs för DNA-syntes).

AZT (3'-azido-2'-dideoxytymidin, Zidovudine) är den nukleosidanalogue som var det första antivirala medlet som lanserades mot HIV. Rita principiell struktur för AZT och beskriv hur det kan hämma HIV's replikation. 2p

AZT är en dideoxynukleosid med azidogrupp på 3'-kolet och tymin som bas. Efter cellulärt upptag omvandlas AZT till AZTTP som hämmar HIVs omvända transkriptas via inkorporering i en växande DNA-sträng och fungerar då som en "chain terminator" eftersom 3'-OH-gruppen saknas och nästa nukleotid därmed ej kan inkorporeras.



Lech-Nyhans syndrom beror på en mutation i en gen som kodar för ett av de enzymer som är involverade i "salvage" av puriner. Redogör för en av de reaktioner som katalyseras av det aktuella enzymet med angivande av s + p + e. Redogör dessutom på ett överbryggande sätt för hur den aktuella enzymförändringen kan leda till gikt i samband med Lech-Nyhans syndrom. 2p.

Det enzym som är muterat är HGPRT. Detta enzym katalyserar "salvage"-reaktionerna:  
 $\text{hypoxantin/guanin} + \text{PRPP} \rightarrow \text{IMP/GMP} + \text{PPi}$ .

Vid Lech-Nyhans syndrom är dessutom syntesen av puriner ökad beroende på minskad feedback-inhibering av det huvudreglerande enzymet i purinbiosyntesen.

Sammantaget leder detta till en ökad mängd av IMP och GMP som vid nedbrytning genererar en ökad bildning av urinsyra och därmed ökad risk för gikt till följd av utfällning av urinsyra i njurar och leder.

Vid cancerbehandling med cellgifter kan man ibland få smärtsamma förändringar kring leder framförallt vid stortån (så kallad sekundär gikt). Gikt kan behandlas med läkemedlet allupurinol. Ange s + p + e i den reaktion som hämmas av allupurinol och som ger upphov till bildning av den substans som leder till denna form av gikt. 1p

$\text{Xantin} + \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2 \rightarrow \text{urinsyra} + \text{H}_2\text{O}_2$ .

Enzym: xantinoxidas

[även reaktionen som bildar xantin från hypoxantin katalyseras av xantinoxidas under bildning av väteperoxid].

Redogör för hur dessa två läkemedel (5-flourouracil & metotextrat) verkar hämmande på nukleotidmetabolismen (s+p+e+coe). 2p.

Båda läkemedlen hämmar med olika verkningsmekanismer omvandlingen av dUMP  $\rightarrow$  dTMP, som katalyseras av enzymet tymidylatsyntas. Denna reaktion kräver N5,N10-metylentetrahydrofolat, som metyldonator, varvid det bildas DHF.

Denna reaktion hämmas av 5-flourouracil som omvandlas till 5-FdUMP vilket binder irreversibelt till tymidylatsyntas.

Metotextrat å andra sidan hämmar enzymet THF-reduktas som katalyserar reaktionen  $\text{DHF} + \text{NADPH} + \text{H}^+ \rightarrow \text{N5,N10metylentetrahydrofolat} + \text{NADP}^+$ .

# Syntes av puriner (inkl salvage), pyrimidiner, DNA

## Redogör för *de novo* syntesen av deoxyribonukleotider och hur denna syntes regleras? 3p

Ribonukleotidreduktas reducerar ADP, GDP, CDP och UDP till motsvarande dNDP's m.h.a. tioredoxin eller glutaredoxin. Reglering sker allosteriskt vad gäller såväl aktivitet (dATP hämmar) och substratspecificitet (regleras via en andra alloster yta i ribonukleotidreduktas). dUDP fosforyleras till dUTP, vilket genast bryts ner till dUMP, som är substrat för tymidylsyntas som syntetiserar dTMP m.h.a. folsyraderivat.

## Många cytostatika verkar genom att hämma bildningen av nukleotider. Redogör för det hastighetsreglerande steget vid nysyntesen av purinnukleotider genom att ange s+p+e. 1p.

PRPP + glutamin  $\rightarrow$  5-fosforibosyl-1-amin + glutamat + P<sub>Pi</sub>.

Enzymet *glutamin-PRPP-amidotransferas* är ett transferas som överför en aminogrupp från glutamin till position 1 på 5-fosforibos varvid det avgår pyrofosfat.

## En av intermediärerna/produkterna som bildas i HMP-shunten deltar i aktiverad form i syntesen och "salvage" av puriner och pyrimidiner. Redogör för den reaktion som leder till aktiveringen av intermediären/produkten (s+p+e eller vad som är ändamålet m reaktionen). 1p

Ribos-5-fosfat + ATP  $\rightarrow$  PRPP + AMP

Enzymnamn PRPP-syntetas

Cofaktor Mg<sup>2+</sup>

Det sker en aktivering av ribos-5-fosfat genom att en energirik bindning skapas.

## Vilken reaktion katalyserar ribonukleotidreduktas? 1p

Reduktion av alla fyra vanliga ribonukleotider i difosfatform (CDP, UDP, ADP och GDP) till motsvarande deoxyribonukleotid (dCDP, dUDP, dADP och dGDP).

## Vilken reaktion katalyserar HGPRT (hypoxantin guanin fosforibosyl transferas) och vad kan brist på detta enzym ge upphov till? 1,5p

Återvinning (salvage) av fria purinbaser, genom att hypoxantin eller guanin + PRPP blir IMP eller GMP samt P<sub>Pi</sub>. Brist kan ge upphov till för höga uratkoncentrationer pga ökad purinkatabolism och kan därmed ge risk för gikt. Total avsaknad av HGPRT ger Lesch-Nyhans syndrom.

Det aktiverade sockret PRPP används i flera reaktioner i nukleotidmetabolismen. Beskriv PRPP:s uppbyggnad med ord och en principiell skiss samt ange två principiellt olika reaktionssteg där denna molekyl används inom nukleotidmetabolismen. 3p.

Korrekt ritad struktur på PRPP – fosfat på ribos-5-kol samt pyrofosfat på kol1.

PRPP deltar i syntes av 5-fosforibosyl-1-amin (purinbiosyntesen) och OMP

(pyrimidinbiosyntesen).

Dessutom deltar PRPP i "salvage pathway" i HGPRT-katalyserade steg samt i steget katalyserat av adeninfosforibosyltransferas (adenin till AMP).

