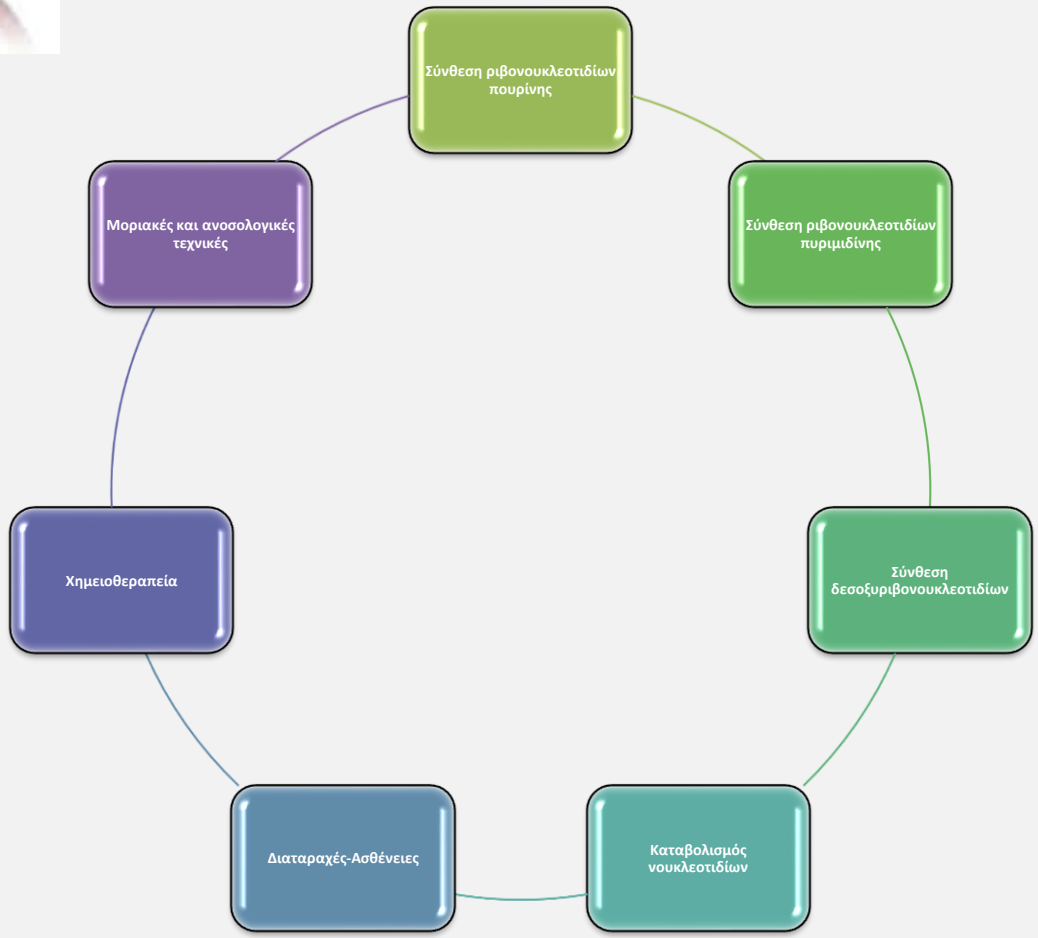


ΝΟΥΚΛΕΟΤΙΔΙΑ ΒΙΟΣΥΝΘΕΣΗ-ΚΑΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

Παναγιώτης Σαράντης
Βιολόγος, MSc, PhD

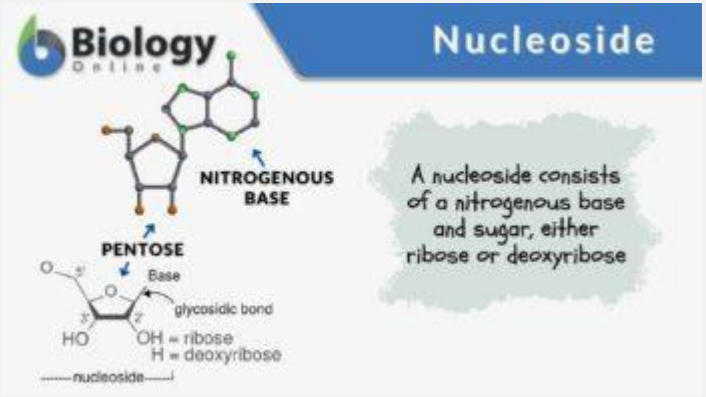


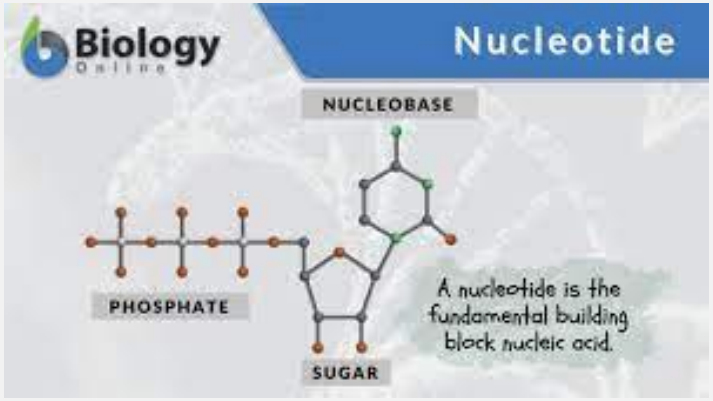
Εκπαιδευτικοί Στόχοι



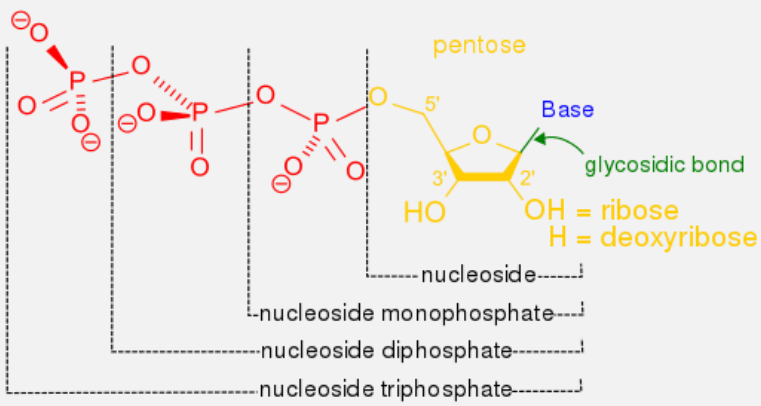
Νουκλεοσίδια vs Νουκλεοτίδια

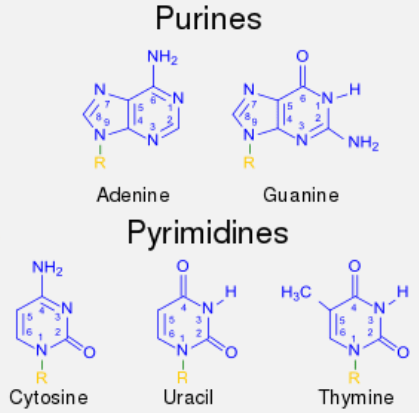
Ο συνδυασμός ενός 5μελούς δακτυλίου υδατανθράκων και μιας πουρίνης ή πυριμιδίνης ονομάζεται νουκλεοσίδιο



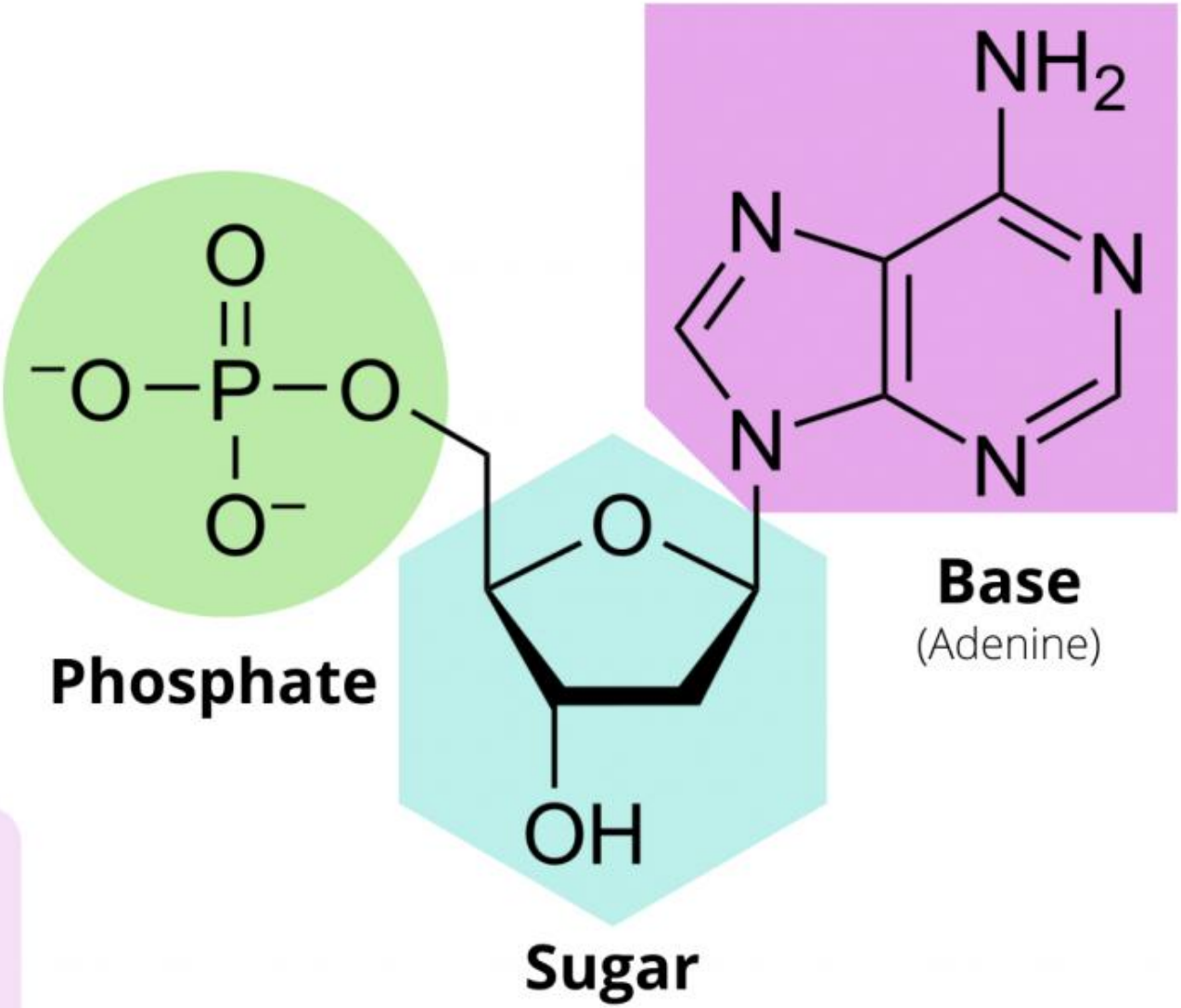


Εάν υπάρχουν ένα ή περισσότερα φωσφορικά άλατα στον υδατάνθρακα, ο συνδυασμός ονομάζεται νουκλεοτίδιο



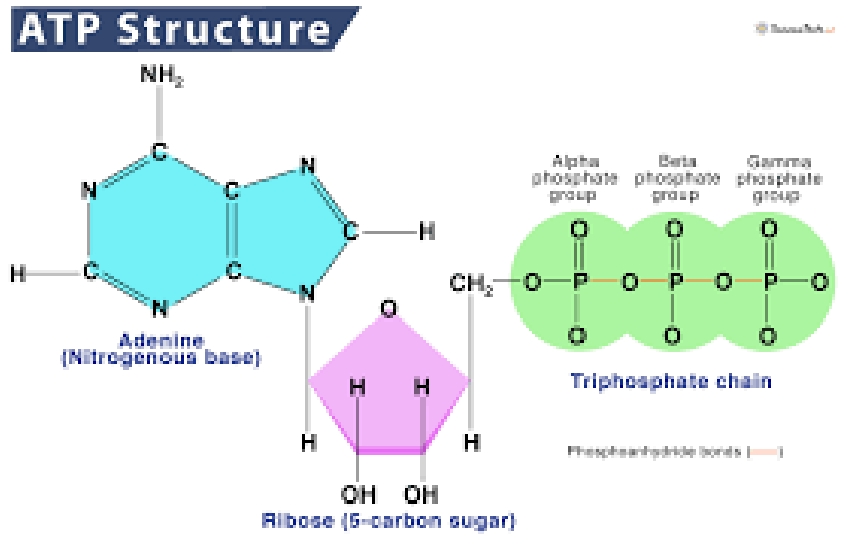


3 Parts of a Nucleotide



sciencenotes.org

Το ATP (Adenosine Triphosphate) είναι το βασικό μόριο ενεργειακής αποθήκευσης και μεταφοράς στα κύτταρα. Λειτουργεί ως "ενεργειακό νόμισμα", παρέχοντας την απαιτούμενη ενέργεια για βιοχημικές διεργασίες.



~7.3 kcal/mol

- **Δομή του ATP**
- **Αδενίνη** (αζωτούχα βάση)
- **Ριβόζη** (πεντοζικό σάκχαρο)
- **Τρεις φωσφορικές ομάδες** (α-β-γ)
- Η ενέργεια απελευθερώνεται κυρίως με την **υδρόλυση του δεσμού μεταξύ β και γ φωσφορικής ομάδας**.

Βιολογικές Λειτουργίες

Λειτουργία	Παράδειγμα
Φωσφορυλίωση	Ενεργοποίηση ενζύμων, μεταβολισμός γλυκόζης
Μηχανική ενέργεια	Σύσπαση μυών, κίνηση μορίων μέσω κυτταρικών δομών
Μεταφορά ενεργών μορίων	Αντλίες ιόντων (Na^+/K^+ ATPάση)
Σύνθεση μακρομορίων	Πρωτεϊνοσύνθεση, αντιγραφή DNA

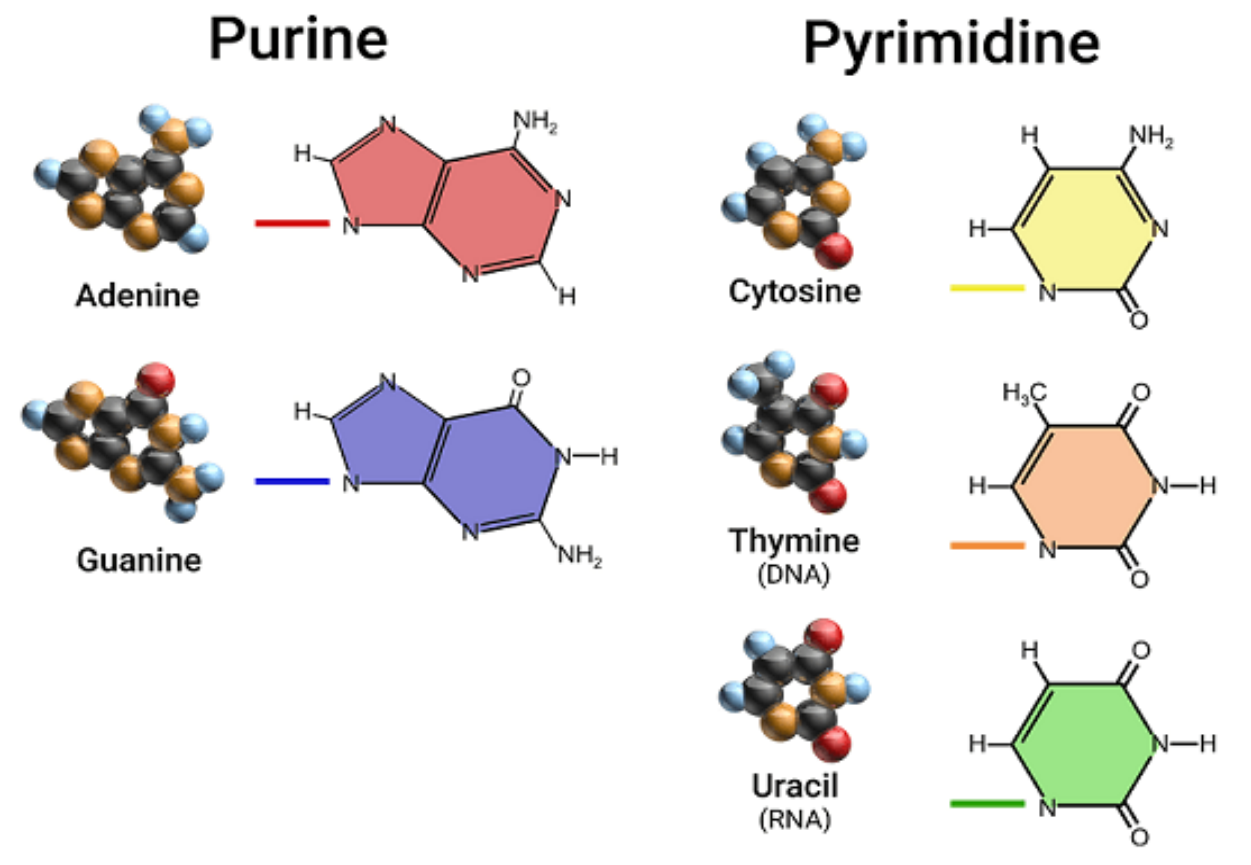
Παραγωγή ATP

Οδός	Απόδοση ATP
Γλυκόλυση	~2 ATP
Κύκλος TCA	~2 ATP (GTP)
Οξειδωτική φωσφορυλίωση	~26–28 ATP
Σύνολο ανά γλυκόζη	~30–32 ATP

Nucleotide vs Nucleoside

More Information Online WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM

	Nucleotide	Nucleoside
DEFINITION	Nucleotide is a monomer of nucleic acids like DNA and RNA.	Nucleoside is a nucleobase linked to a pentose sugar molecule.
COMPONENTS	A pentose sugar, a nitrogenous base and a phosphate group.	A nitrogenous base and a pentose sugar.
FUNCTIONS	They polymerize and form nucleic acids. As well as they act as energy-storing molecules.	Nucleosides are good anticancer compounds. As well as they have antiviral properties.
EXAMPLES	Deoxyribonucleotides, ribonucleotides, ATP, NADP, FAD, CAM, etc.	Examples of nucleosides include cytidine, uridine, adenosine, guanosine, thymidine and inosine.



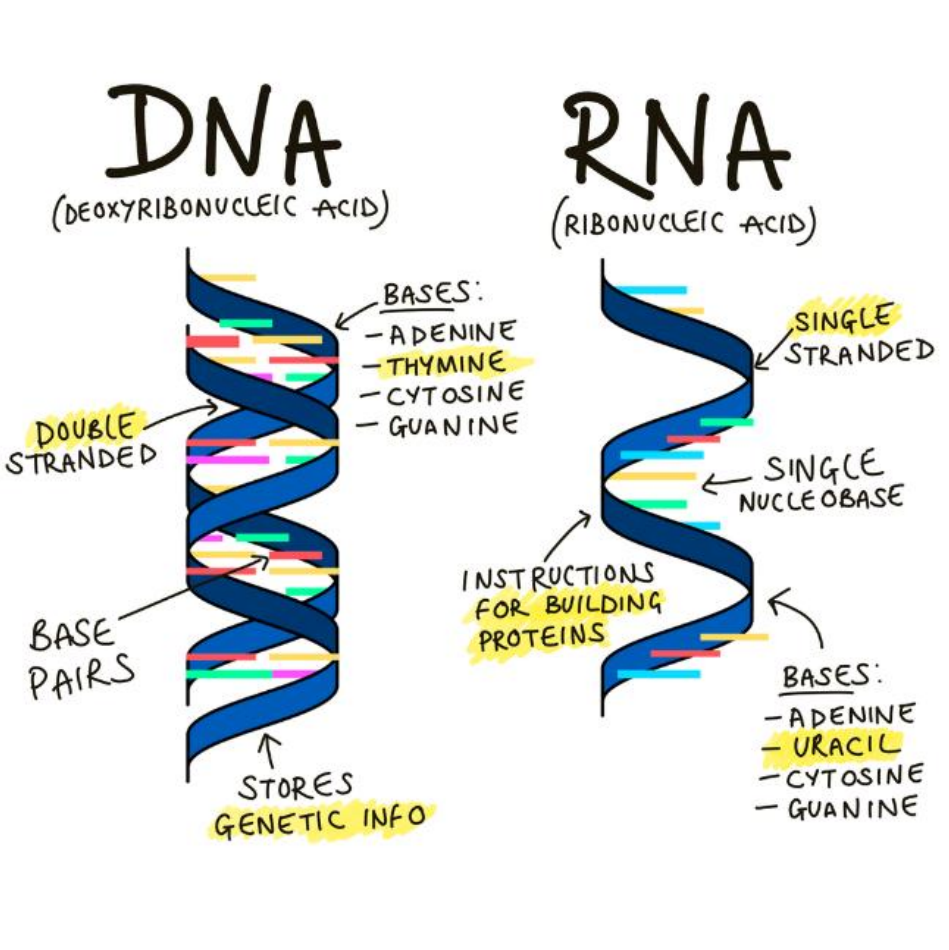
Οι βάσεις πουρίνης έχουν ένα σύστημα διπλού δακτυλίου 9 μελών με τέσσερα νιτρογόνα και πέντε άνθρακες

Οι βάσεις πυριμιδίνης έχουν 6μελή δακτύλιο με δύο νιτρογόνα και τέσσερις άνθρακες

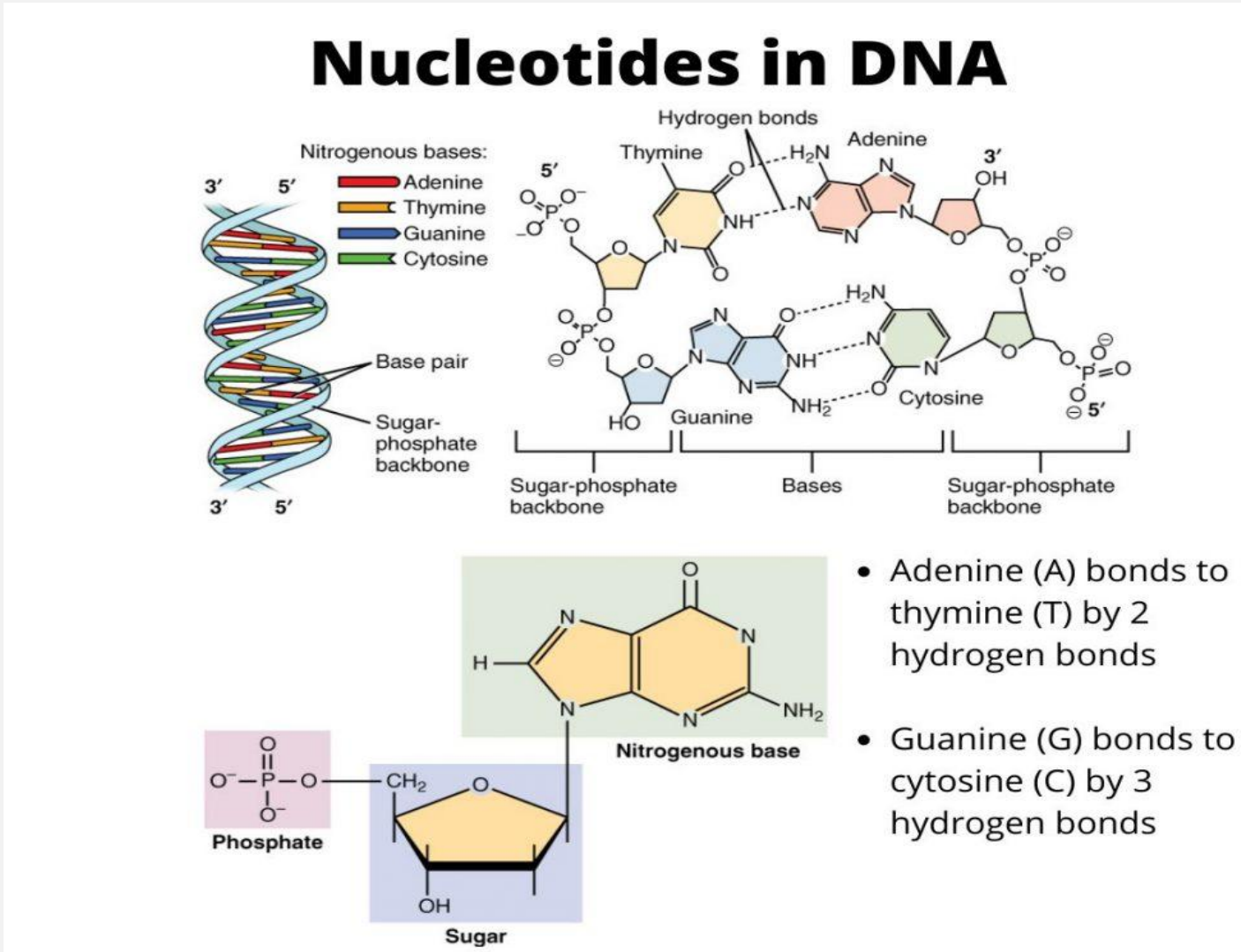
Ρόλοι των νουκλεοτιδίων

- ✓ Παρέχουν τα μονομερή για γενετικές πληροφορίες στο DNA και το RNA
- ✓ Είναι το «ενεργειακό νόμισμα» του κυττάρου
- ✓ ATP δότης φωσφορικών ομάδων σε φωσφορυλιώσεις
- ✓ Αδενινοκουκλεοτίδια συστατικά των συνενζύμων NAD, NADP, FAD, συνένζυμο A (CoA)
- ✓ ενεργοποιημένα ενδιάμεσα σε βιοσυνθέσεις (συστατικά συμπαραγόντων S-αδενοσυλομεθειονίνη και UDP-γλυκόζη, CPD-διακυλογλυκερόλη), π.χ. Σύνθεση γλυκογόνου
- ✓ Δεύτεροι αγγελιοφόροι των κυττάρων : cAMP, cGMP
- ✓ Απαραίτητα συστατικά σε οδούς μεταγωγής σήματος

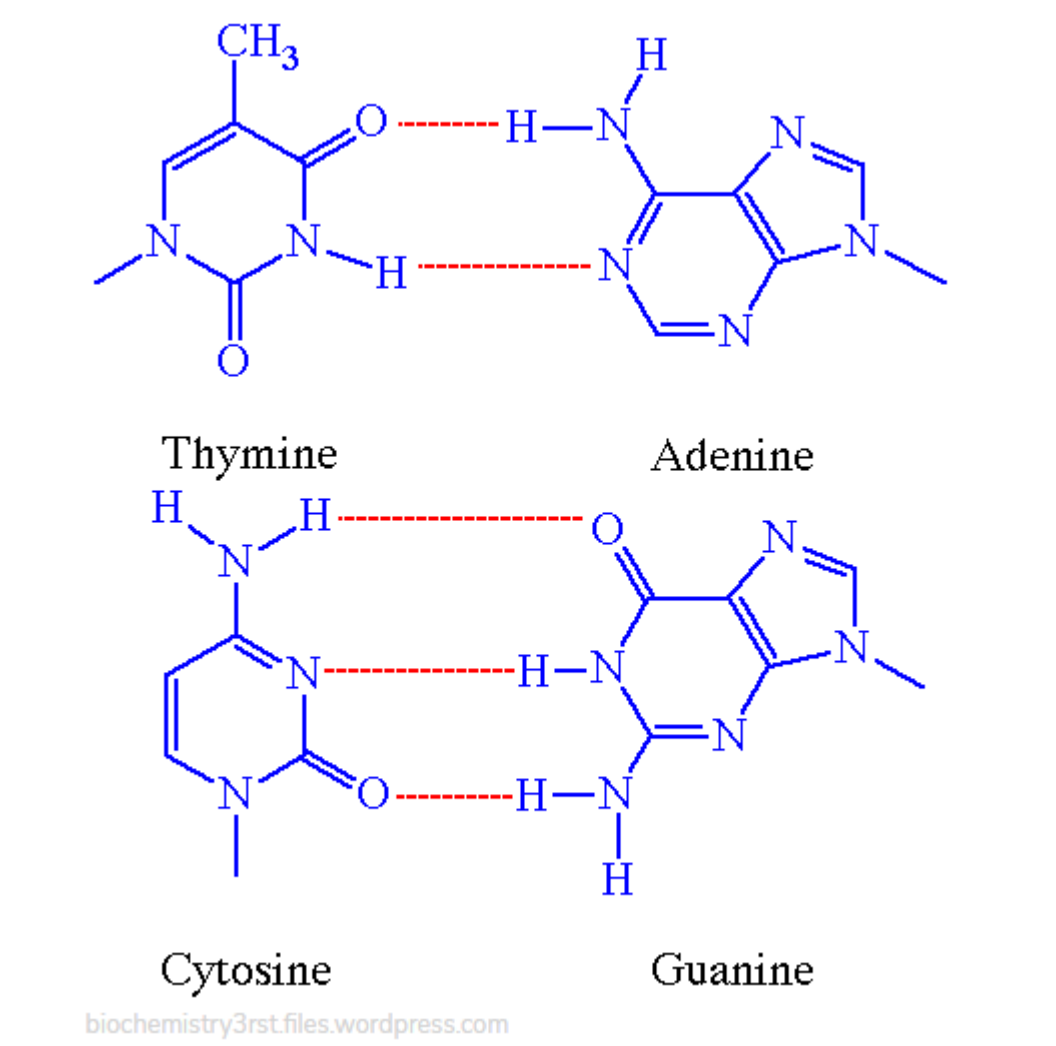
Νουκλεϊνικά οξέα



Δομή DNA


Nucleotides in DNA
Nitrogenous bases:
Adenine
Thymine
Guanine
Cytosine
3′
5′
Base pair
Sugar-phosphate backbone
Hydrogen bonds
Thymine
Adenine
Guanine
Cytosine
Sugar-phosphate backbone
Bases
Sugar-phosphate backbone
Nitrogenous base
Phosphate
Sugar
• Adenine (A) bonds to thymine (T) by 2 hydrogen bonds
• Guanine (G) bonds to cytosine (C) by 3 hydrogen bonds

Γιατί οι πουρίνες συνδυάζονται με πυριμιδίνες;



- ✓ Οι πουρίνες συνδυάζονται με πυριμιδίνες επειδή το μέγεθος και το σχήμα τους τις καθιστούν ιδανικές για δεσμούς υδρογόνου
- ✓ Οι πουρίνες και οι πυριμιδίνες είναι ζεύγη βάσεων.
  Τα δύο πιο κοινά ζεύγη βάσεων είναι τα A-T και C-G.
  Αυτά τα νουκλεοτίδια είναι συμπληρωματικά, το σχήμα τους τους επιτρέπει να συνδέονται μαζί με δεσμούς υδρογόνου.
  Στο ζεύγος A-T, η πουρίνη (αδενίνη) έχει δύο θέσεις σύνδεσης, όπως και η πυριμιδίνη (θυμίνη)
  Στο ζεύγος C-G, η πουρίνη (γουανίνη) έχει τρεις θέσεις σύνδεσης, όπως και η πυριμιδίνη (κυτοσίνη).
- ✓ Ο δεσμός υδρογόνου μεταξύ συμπληρωματικών βάσεων είναι αυτό που συγκρατεί τους δύο κλώνους του DNA μαζί.

Περίσωση και de novo σύνθεση

Τα νουκλεοτίδια και τα νουκλεοσίδια μπορούν να τροφοδοτηθούν σε έναν οργανισμό είτε με αντίδραση Περίσωσης είτε με σύνθεση από μικρότερες πρόδρομες ουσίες

Η οδός Περίσωσης είναι μια οδός χρήσης προηγουμένως κατασκευασμένων ενώσεων για τη σύνθεση σύνθετων ενώσεων

Οι πουρίνες και οι πυριμιδίνες μπορούν να συντεθούν από μικρότερες πρόδρομες ουσίες (de novo σύνθεση)

Οι οδοί Περίσωσης είναι σημαντικά πιο ενεργειακά αποδοτικές από τις de novo οδούς

Οι οδοί της de novo σύνθεσης είναι οι ίδιες στα ζώα και τους μικροοργανισμούς

De Novo vs Salvage Pathway

More Information Online WWW.DIFFERENCEBETWEEN.COM

	De Novo Pathway	Salvage Pathway
DEFINITION	De novo pathway of purine nucleotide synthesis refers to the process that utilizes small molecules such as ribose sugar, CO_2, amino acids, etc. to produce purine nucleotides	Salvage pathway refers to the process that utilizes nucleosides and bases available through the diet or from the polynucleotide degradation to produce purine nucleotides
CATEGORY	Major pathway	Minor pathway
RAW MATERIALS	Simple compounds are utilized	Free bases and nucleosides are utilized
IMPORTANCE	Important since it is the major pathway of producing purine nucleotides	Important in certain tissues such as brain and erythrocytes in which de novo pathway is not possible
CELLS AND TISSUES	All cell types have the ability to carry out de non pathway	Salvage pathway occurs in certain tissues such as bone marrow, brain, and erythrocytes
PREFORMED BASES AND NUCLEOSIDES	Not used	Used

Γιατί η de novo σύνθεση είναι η κύρια οδός:

Απαραίτητη για κυτταρική ανάπτυξη και διαίρεση Τα κύτταρα που διαιρούνται γρήγορα (π.χ. εμβρυϊκά, καρκινικά, ανοσοκύτταρα) χρειάζονται μεγάλες ποσότητες πουρινών για DNA/RNA. Η salvage pathway δεν επαρκεί για να καλύψει αυτές τις ανάγκες.

Η salvage pathway εξαρτάται από την ύπαρξη ελεύθερων βάσεων Η salvage χρησιμοποιεί πουρινικές βάσεις (όπως η αδενίνη και η γουανίνη) που προέρχονται από την αποδόμηση νουκλεοτιδίων. Αν δεν υπάρχουν αρκετές, δεν μπορεί να λειτουργήσει αποτελεσματικά.

Η de novo είναι πιο ευέλικτη και ανεξάρτητη Μπορεί να συνθέσει πουρίνες από απλά μόρια (όπως αμινοξέα, CO_2, φορμυλοτετραϋδροφολικό), χωρίς να εξαρτάται από την ανακύκλωση.

Ρύθμιση μέσω αναγκών του κυττάρου Η de novo σύνθεση ρυθμίζεται ανάλογα με τις ανάγκες του κυττάρου, ενώ η salvage είναι περισσότερο παθητική διαδικασία.

Κλινική σημασία Ελλείψεις σε ένζυμα της salvage pathway (π.χ. HGPRT) οδηγούν σε ασθένειες όπως το σύνδρομο Lesch-Nyhan, δείχνοντας ότι η salvage δεν είναι πάντα επαρκής.

Πού υπερέχει η salvage pathway;

Είναι **ενεργειακά πιο οικονομική** (δεν απαιτεί τόση ATP).

Είναι σημαντική σε **ιστούς με χαμηλή κυτταρική διαίρεση**, όπως ο εγκέφαλος.

Βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων

- *De novo* σύνθεση με: αμινοξέα, 5-φωσφορική ριβόζη, CO_2, NH_3

ΑΝΤΙΔΡΑΣΗ de novo ΣΥΝΘΕΣΗΣ

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + αμινοξέα +ATP +CO_2+.....

↓

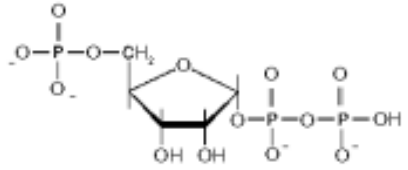
Νουκλεοτίδιο

- Οδοί περίσωσης: ανακυκλώνουν τις ελεύθερες βάσεις και τα νουκλεοτίδια που απελευθερώνονται από την αποδόμηση των νουκλεϊνικών οξέων

Ενεργοποιημένη ριβόζη (PRPP) + βάση

↓

Νουκλεοτίδιο



PRPP

Και τα δυο βιοσυνθετικά μονοπάτια οδηγούν στη βιοσύνθεση ριβονουκλεοτιδίων.

Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια προκύπτουν με αναγωγή των αντίστοιχων ριβονουκλεοτιδίων.

Επιπρόσθετα, η θυμίνη προκύπτει από την ουρακίλη με μεθυλίωση.

Κατά τη *de novo* βιοσύνθεση των νουκλεοτιδίων τα αμινοξέα γλυκίνη και σερίνη είναι τα καλούπια για τη βιοσύνθεση των δακτυλίων των νουκλεοτιδίων ενώ το ασπαρτικό και η γλουταμίνη χρησιμοποιούνται σαν δότες αμινομάδων

Οι *de novo* οδοί βιοσύνθεσης των πουρινών και πυριμιδινών φαίνονται σχεδόν ταυτόσημες σε όλους τους ζωντανούς οργανισμούς. Οι ελεύθερες βάσεις γουανίνη, αδενίνη, θυμίνη, κυτοσίνη, ουρακίλη *δεν* είναι ενδιάμεσα σε αυτές τις οδούς

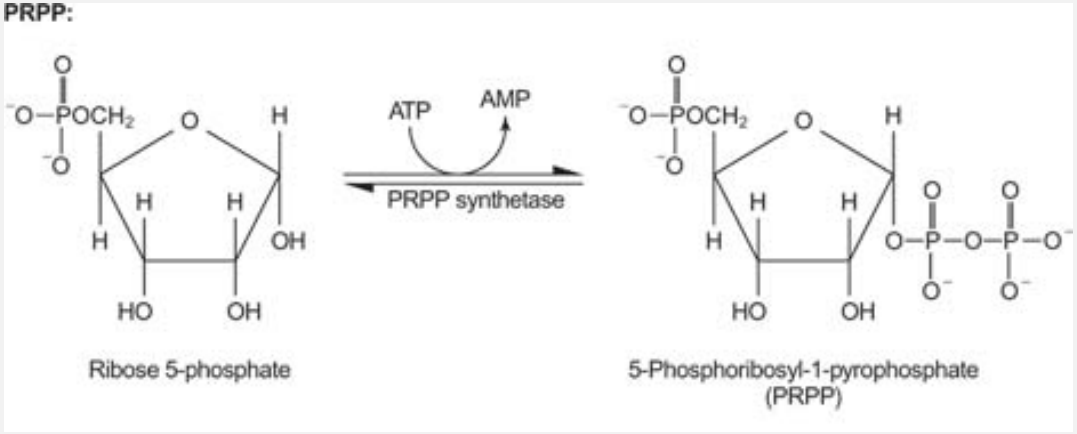
Ο δακτύλιος πουρίνης δομείται σταδιακά και ταυτόχρονα συνδέεται με τη ριβόζη

Ο δακτύλιος πυριμιδίνης δομείται ως οροτικό οξύ, συνδέεται με τη φωσφορική ριβόζη και έπειτα μετατρέπεται στα κοινά νουκλεοτίδια πυριμιδίνης που είναι απαραίτητα για τη σύνθεση των νουκλεϊνικών οξέων

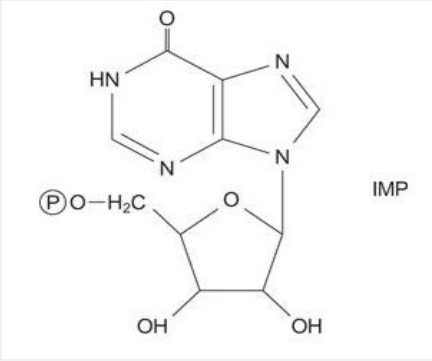
Βιοσύνθεση πουρινών

De novo μονοπάτι

- Το PRPP είναι ένας γενικός ενεργοποιητής των ενώσεων δακτυλίων αζώτου



- Η σύνθεση πουρίνης χρησιμοποιεί μια "λαβή" PRPP όπου ο δακτύλιος συναρμολογείται για να δημιουργηθεί η μονοφωσφορική ινοσίνη (IMP). Το IMP είναι το κοινό ενδιάμεσο στη βιοσύνθεση πουρίνης και μπορεί να μετατραπεί σε GMP ή AMP ανάλογα με τις ανάγκες

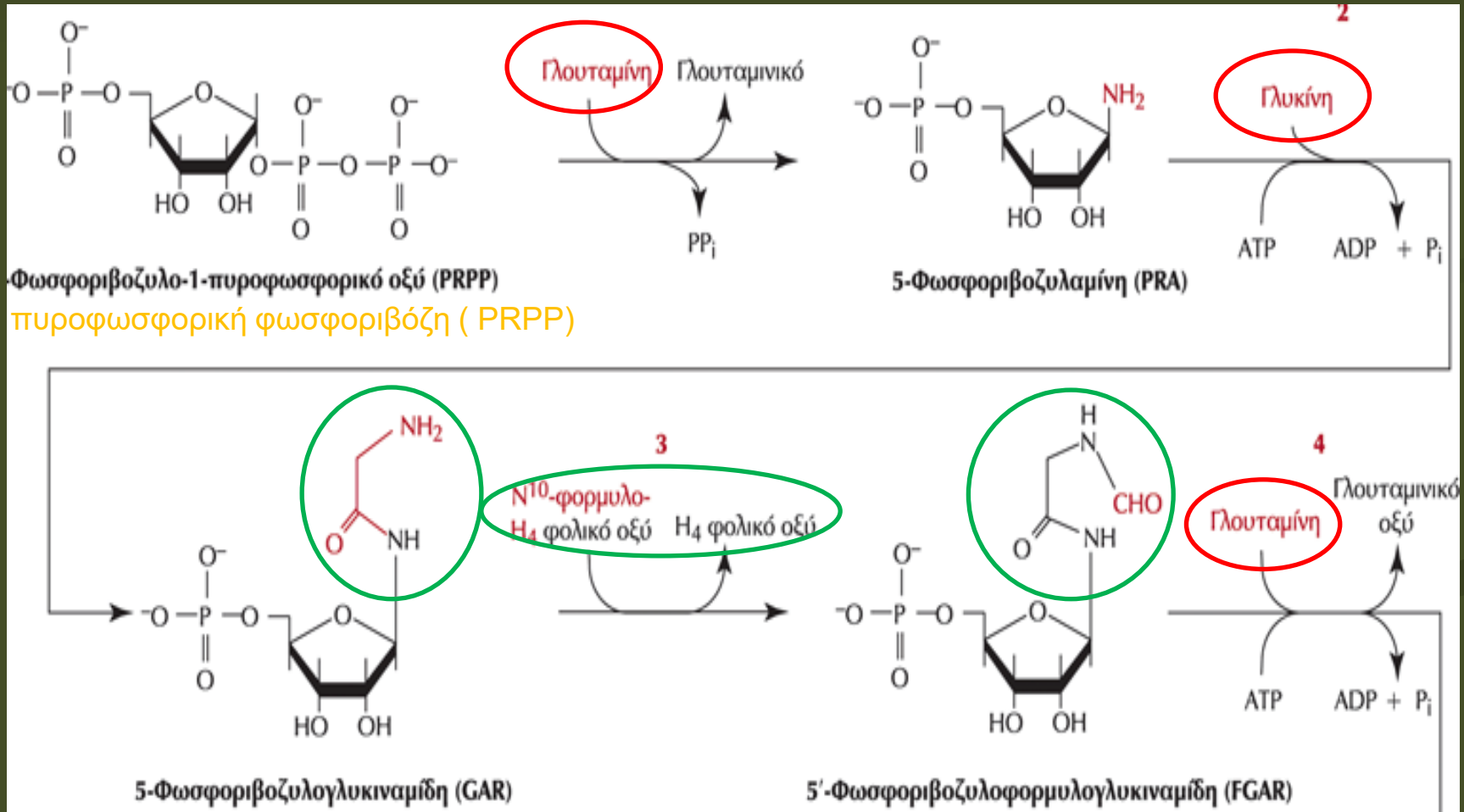


De novo βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων

- Σημαντικό πρόδρομο μόριο και στις δύο οδούς είναι η **πυροφωσφορική φωσφοριβόζη (PRPP)**
- Ένα αμινοξύ είναι σημαντικό πρόδρομο μόριο σε κάθε τύπο οδού: η γλυκίνη για τις πουρίνες και
  το ασπαρτικό για τις πυριμιδίνες
- Στη *de novo* σύνθεση των πουρινών όλα τα ένζυμα βρίσκονται στο κύτταρο υπό μορφή μεγάλων πολυενζυμικών συμπλόκων. Η *de novo* σύνθεση γίνεται στο κυτταρόπλασμα των ηπατικών κυττάρων
- Με εξαίρεση το ATP, τα αποθέματα των νουκλεοτιδίων στο κύτταρο είναι πολύ μικρά (1% από την αναγκαία ποσότητα, ⟹ το κύτταρο καλείται να συνθέτει συνέχεια νουκλεοτίδια)

De novo βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων πουρίνης

- 1ο βήμα: μια αμινομάδα που προέρχεται από τη γλουταμίνη συνδέεται με τα C1 της PRPP
- 2ο βήμα: προσθήκη 3C από τη γλυκίνη
- 3ο βήμα: φορμυλίωση από το N^{10}-φορμυλοτετραϋδροφυλλικό
- 4ο βήμα: συνεισφορά ενός ατόμου αζώτου από τη γλουταμίνη



5-Φωσφοριβοζυλο-1-πυροφωσφορικό οξύ (PRPP)

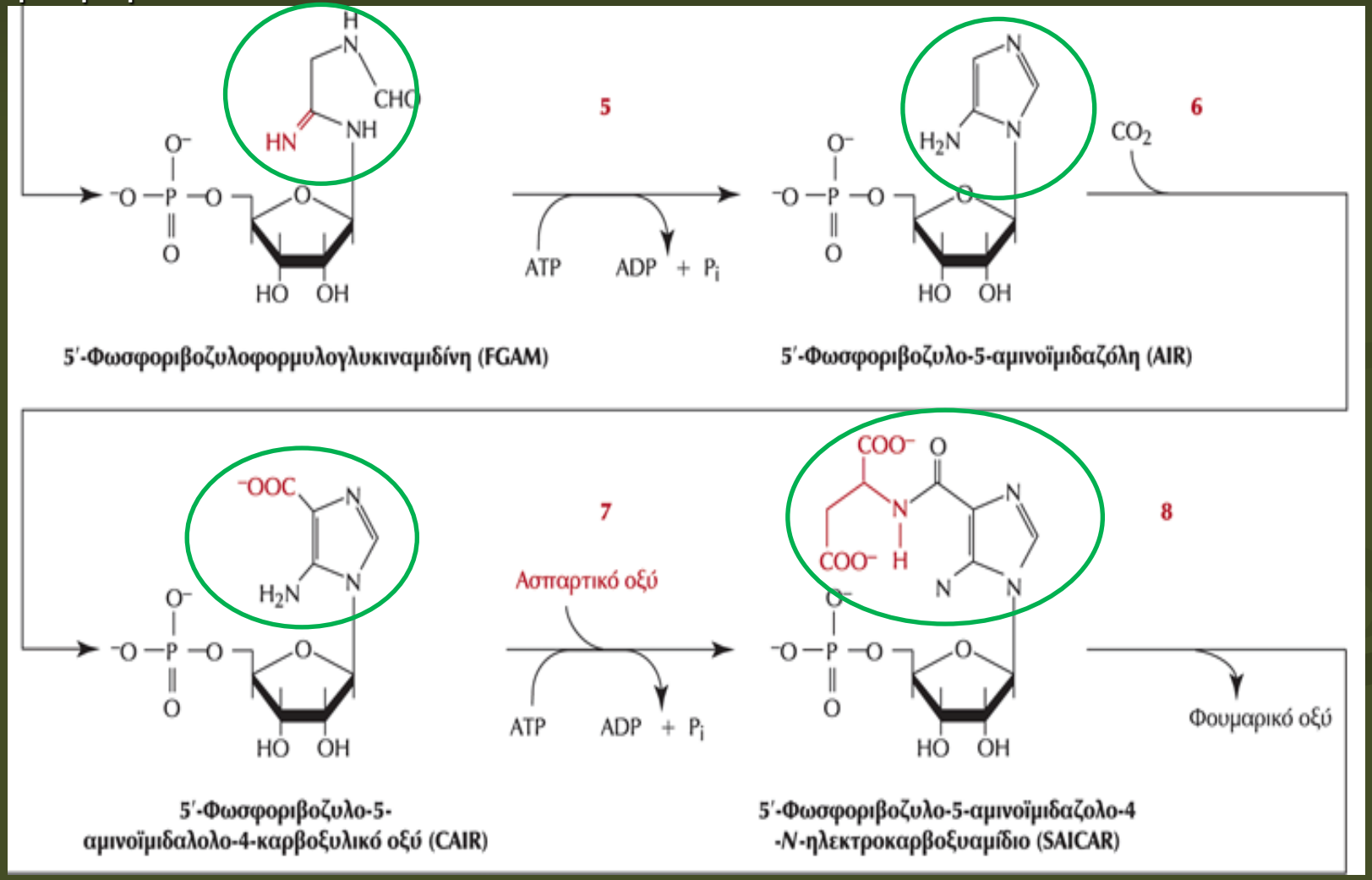
πυροφωσφορική φωσφοριβόζη (PRPP)

5-Φωσφοριβοζυλαμίνη (PRA)

5-Φωσφοριβοζυλογλυκιναμίδη (GAR)

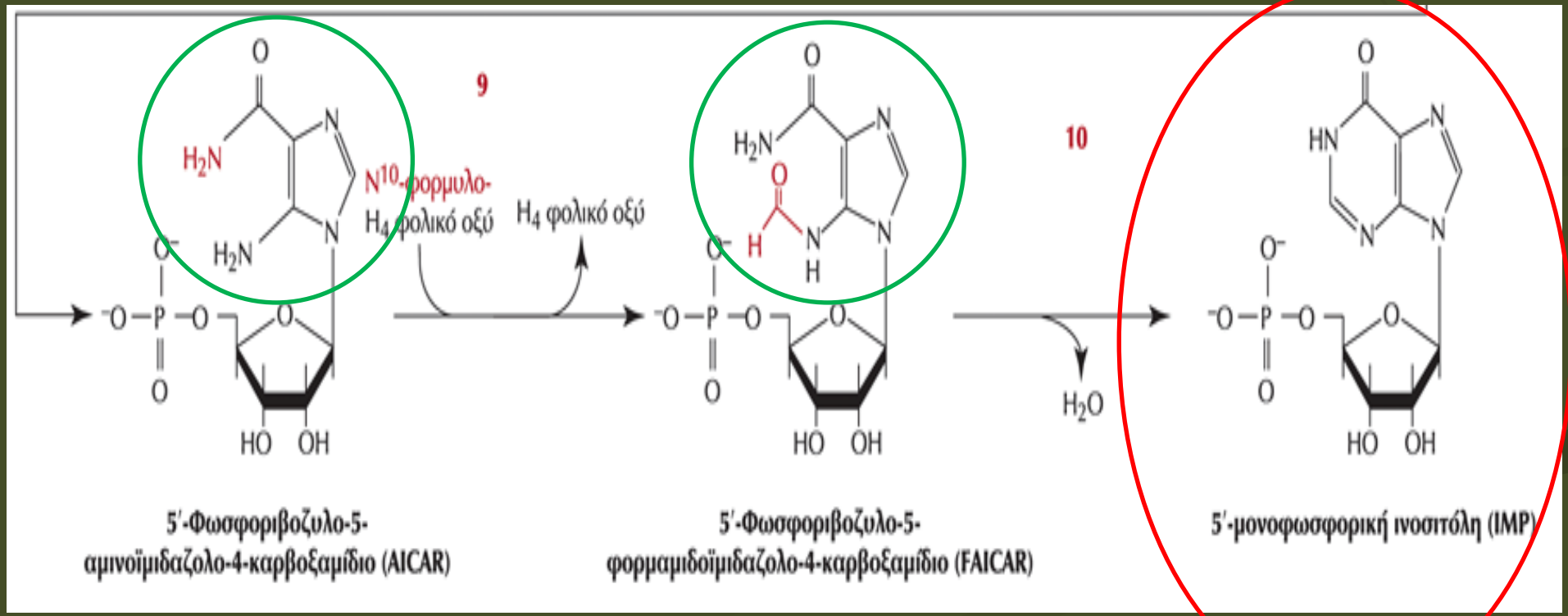
5′-Φωσφοριβοζυλοφορμυλογλυκιναμίδη (FGAR)

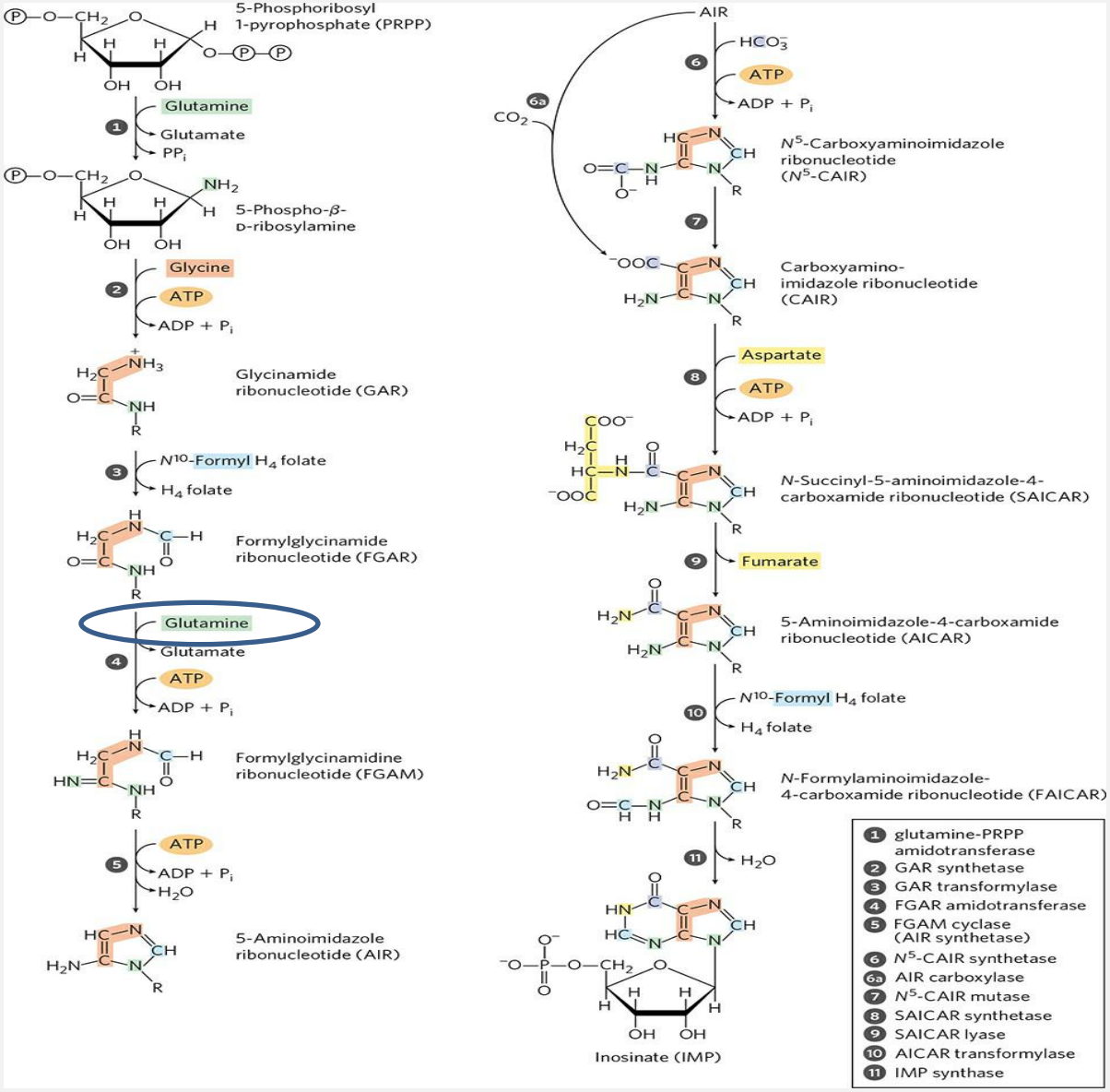
- 5ο βήμα: αφυδάτωση και κλείσιμο δακτυλίου, παράγεται ο πενταμελής ιμιδαζολικός δακτύλιος του πυρήνα της πουρίνης
- 6ο βήμα: προσθήκη καρβοξυλομάδας
- 7ο βήμα: προσφορά αμινομάδας από το ασπαρτικό
- 8ο βήμα: απομάκρυνση ανθρακικού σκελετού του ασπαρτικού υπό μορφή φουμαρικού



- 9ο βήμα: το τελευταίο άτομο άνθρακα προσφέρεται από το N^{10}-φορμυλο-τετραϋδροφυλλικό
- 10ο βήμα: κλείσιμο του δευτέρου δακτυλίου και παραγωγή του δευτέρου συντηγμένου δακτυλίου του πυρήνα των πουρινών

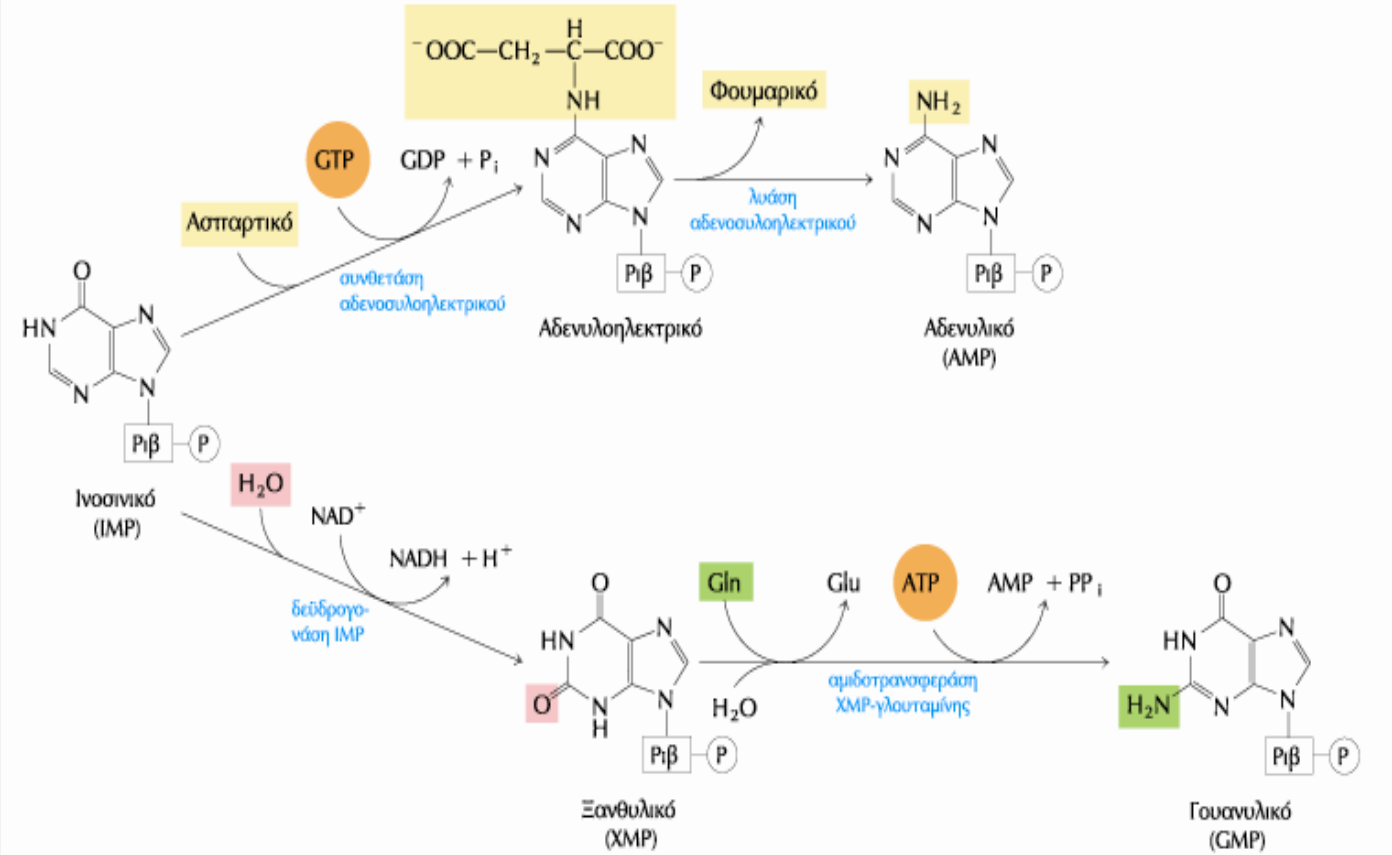
- Το πρώτο ενδιάμεσο με πλήρη δακτύλιο πουρίνης είναι η **μονοφωσφορική ινοσιτόλη (IMP)**




5-Phosphoribosyl 1-pyrophosphate (PRPP)
Glutamine
Glutamate
PPi
5-Phospho-β-D-ribosylamine
Glycine
ATP
ADP + Pi
Glycinamide ribonucleotide (GAR)
N10-Formyl H4 folate
H4 folate
Formylglycinamide ribonucleotide (FGAR)
Glutamine
Glutamate
ATP
ADP + Pi
Formylglycinamidine ribonucleotide (FGAM)
ATP
ADP + Pi
H2O
5-Aminoimidazole ribonucleotide (AIR)
AIR
HCO3−
ATP
ADP + Pi
CO2
N5-Carboxyaminoimidazole ribonucleotide (N5-CAIR)
Carboxyamino-imidazole ribonucleotide (CAIR)
Aspartate
ATP
ADP + Pi
N-Succinyl-5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (SAICAR)
Fumarate
5-Aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (AICAR)
N10-Formyl H4 folate
H4 folate
N-Formylaminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide (FAICAR)
H2O
Inosinate (IMP)
1 glutamine-PRPP amidotransferase
2 GAR synthetase
3 GAR transformylase
4 FGAM amidotransferase
5 FGAM cyclase (AIR synthetase)
6 N5-CAIR synthetase
6a AIR carboxylase
7 N5-CAIR mutase
8 SAICAR synthetase
9 SAICAR lyase
10 AICAR transformylase
11 IMP synthase

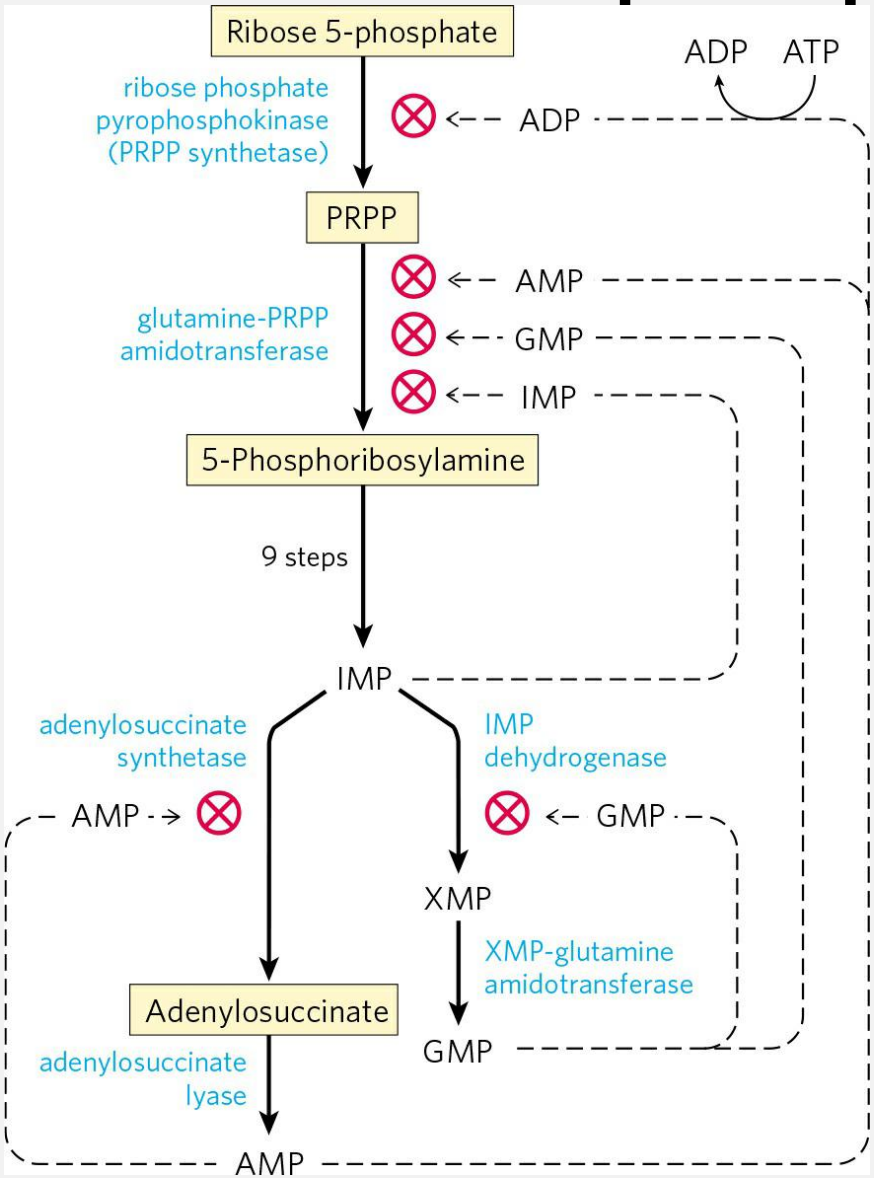
Βιοσύνθεση AMP και GMP από IMP

Η α-αμινομάδα ασπαρτικού μπορεί να αντικαταστήσει το οξυγόνο δακτυλίου του IMP για να δημιουργήσει AMP

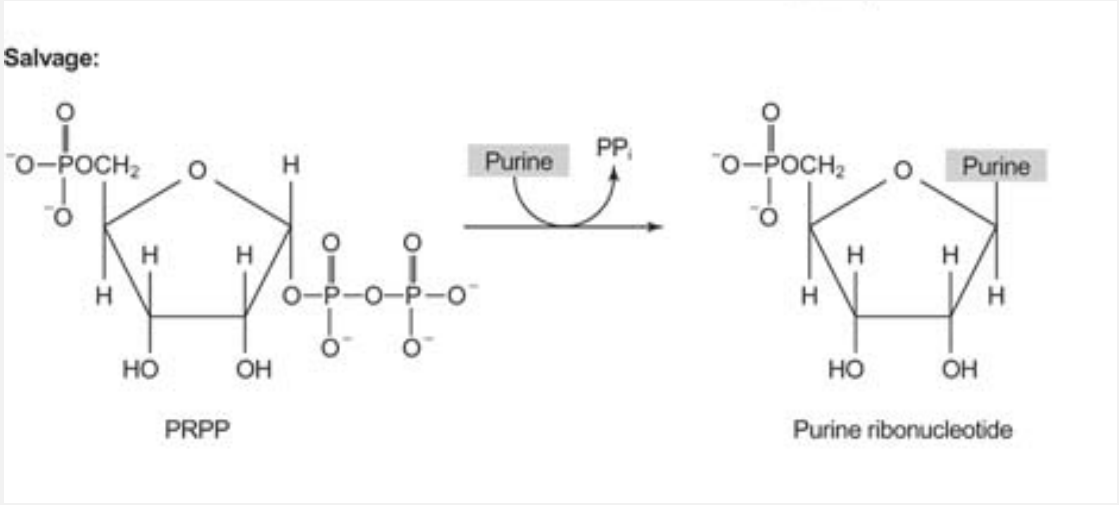


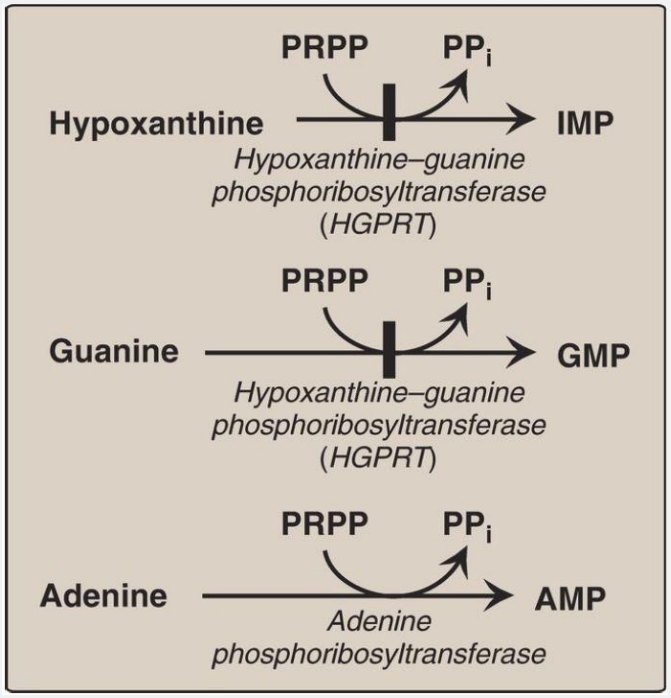
Η οξείδωση της θέσης 2 δημιουργεί μονοφωσφορική ξανθίνη, η οποία μετατρέπεται σε GMP

Η βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων πουρίνης ρυθμίζεται από αναστολή ανάδρασης



Μονοπάτι Περίσωσης

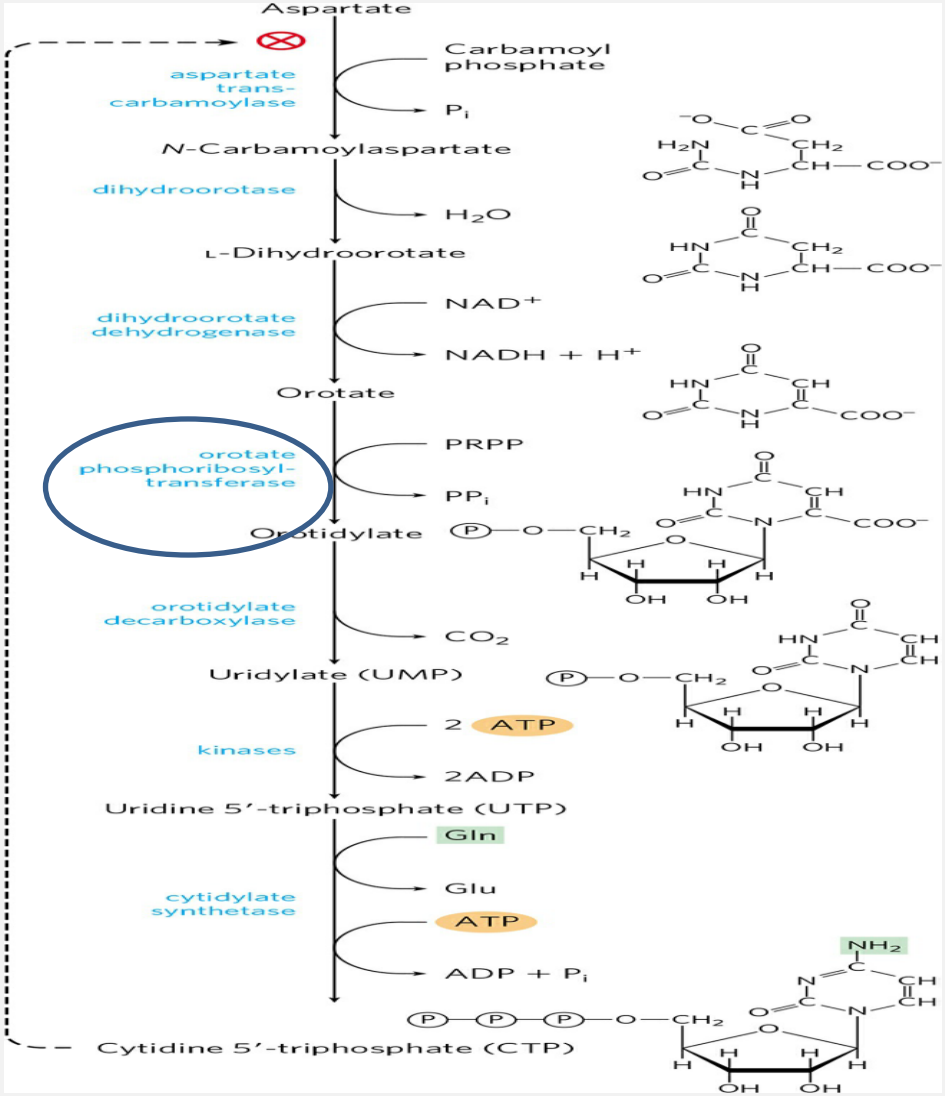




1. **Ένα ένζυμο (φωσφοριβοσυλτρανσφεράση υποξανθίνης-γουανίνης) χρησιμοποιεί είτε γουανίνη είτε υποξανθίνη (αδενίνη με την αμινομάδα να αντικαθίσταται από ένα ΟΗ)**
2. **Ένα δεύτερο ένζυμο χρησιμοποιεί ελεύθερη αδενίνη (φωσφοριβοσυλτρανσφεράση αδενοσίνης)**

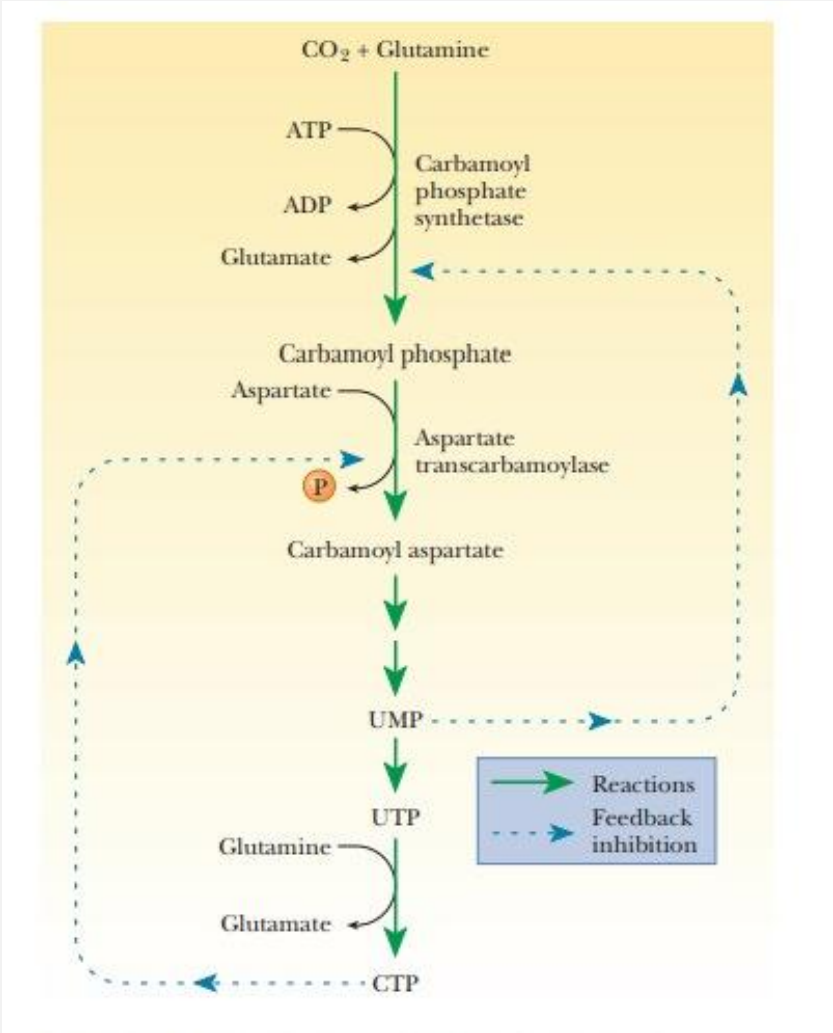
✓ Όλα τα ένζυμα εκτελούν την ίδια αντίδραση: μεταφορά της ελεύθερης βάσης στη ριβόζη-5’-μονοφωσφορική του PRPP, σχηματίζοντας ένα νουκλεοσιδικό 5’-μονοφωσφορικό (NMP)

Βιοσύνθεση πυριμιδινών de novo

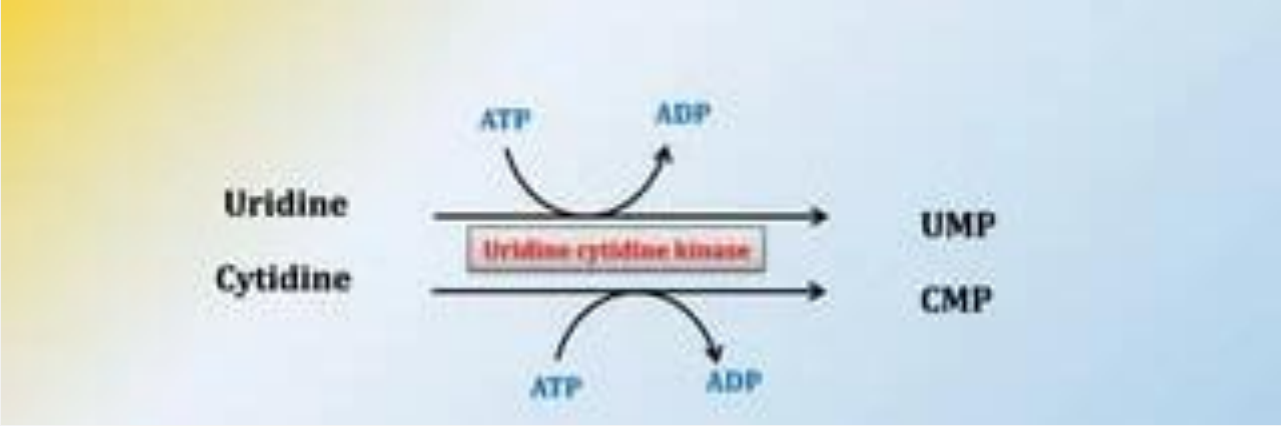


Η πυριμιδίνη κατασκευάζεται από φωσφορικό καρβαμύλιο και ασπαρτικό. Η 5-φωσφορική ριβόζη προστίθεται στη συνέχεια στο ολοκληρωμένο δακτύλιο πυριμιδίνης με την οροτική φωσφοριβοσυλτρανσφεράση.

Η βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων πυριμιδίνης ρυθμίζεται από αναστολή ανάδρασης



Μονοπάτι Περίσωσης



Αλληλομετατροπή μονο-, δι-, τριφωσφορικών νουκλεοτιδίων

- Τα διφωσφορικά και τριφωσφορικά νουκλεοτίδια είναι οι ενεργές μορφές των νουκλεοτιδίων
- Τα μονοφωσφορικά νουκλεοτίδια μετατρέπονται σε τριφωσφορικά σε στάδια:
  - **Κινάσες μονοφωσφορικών νουκλεοτιδίων** (μεγάλη εξειδίκευση)

    UMP + ATP ⇌ UDP + ADP
  - **Κινάσες διφωσφορικών νουκλεοτιδίων** (μικρή εξειδίκευση)

    XDP + YTP ⇌ XTP + YDP

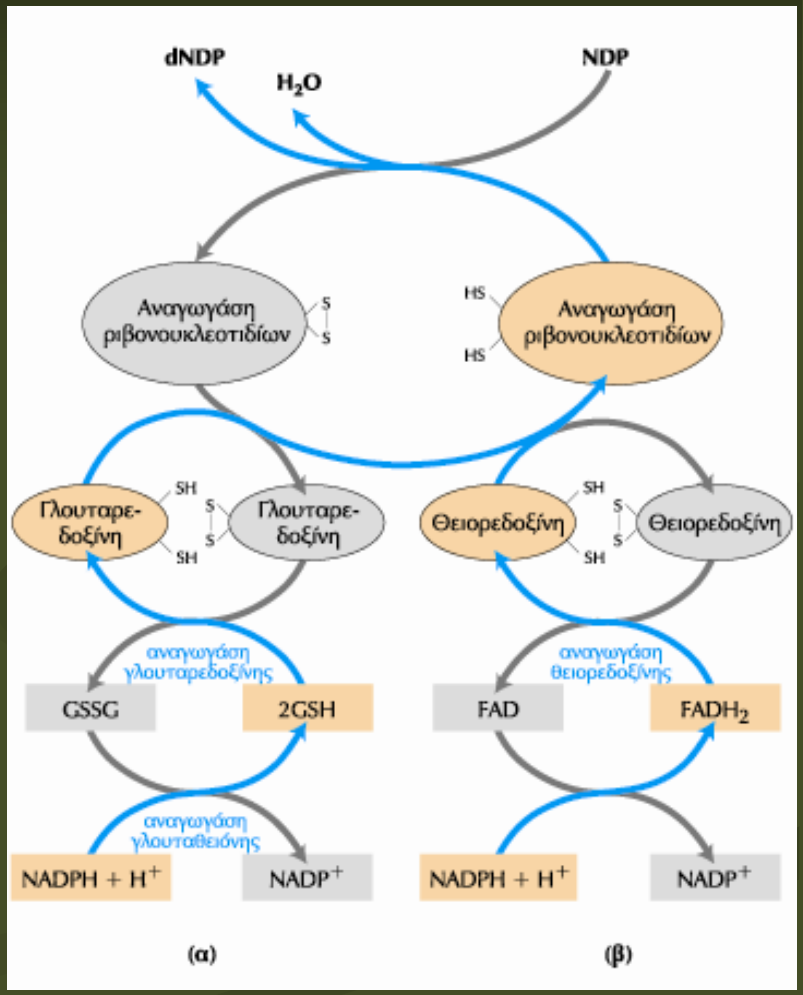
Biosynthesis: Purine vs Pyrimidine



Purine	*Pyrimidine*
• Synthesized on PRPP	• Synthesized then added to PRPP
• Regulated by GTP/ATP	• Regulated by UTP
• Generates IMP	• Generates UMP/CMP
• Requires Energy	• Requires Energy

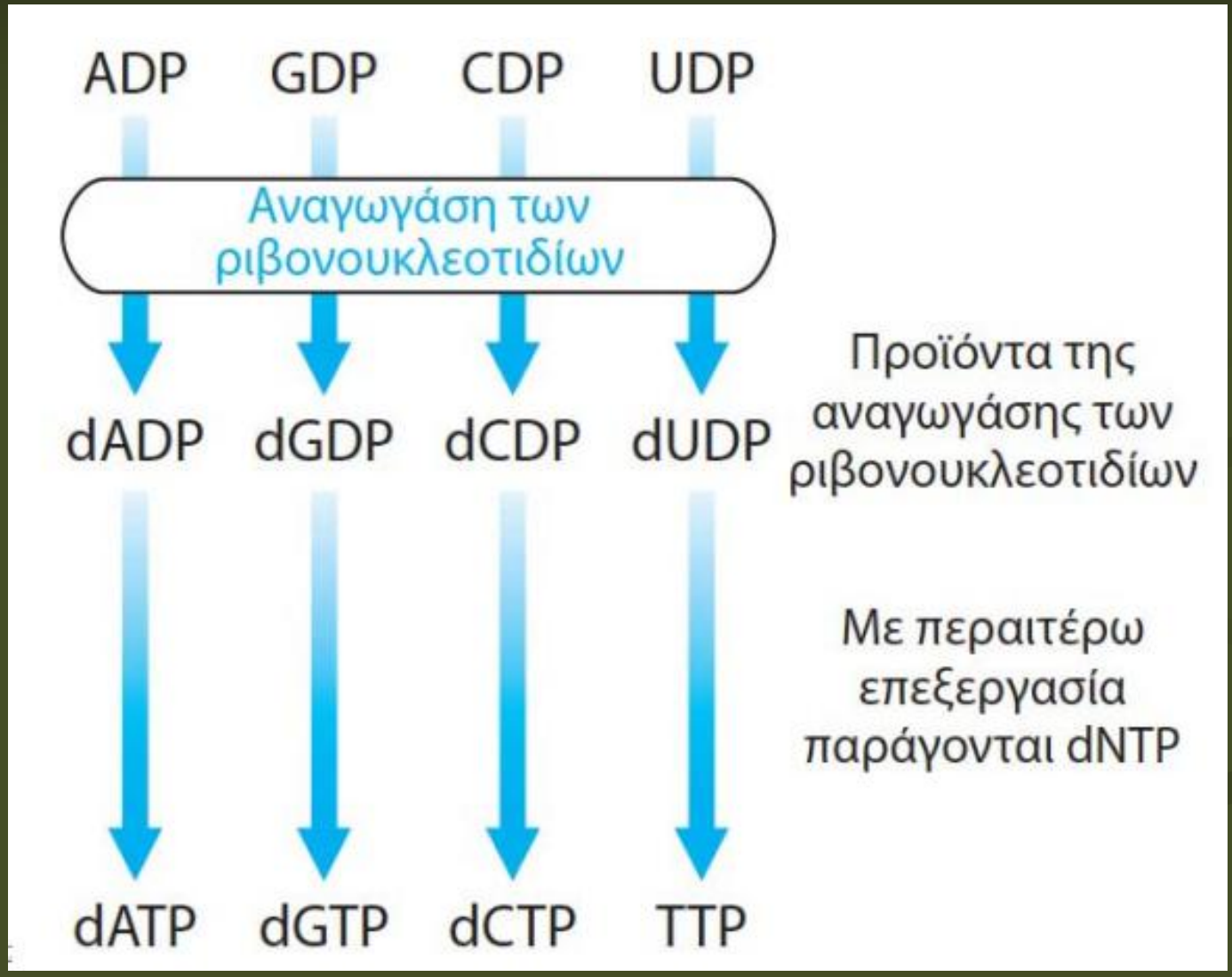
Βιοσύνθεση των δεοξυριβουνουκλεοτιδίων

- Τα ριβονουκλεοτίδια είναι οι πρόδρομοι των δεοξυριβονουκλεοτιδίων
- Τα δεοξυριβονουκλεοτίδια προέρχονται από τα νουκλεοτίδια με άμεση αναγωγή στο 2΄-άτομο άνθρακα της D-ριβόζης (καταλύεται από την αναγωγάση των ριβονουκλεοτιδίων)
- Φαινομενικά απλή αντίδραση αλλά πολύπλοκη χημικά
- Η αναγωγή απαιτεί ένα ζεύγος ατόμων υδρογόνου τα οποία προέρχονται από το NADPH μέσω της θειοredοξίνης, μιας ενδιάμεσης πρωτεΐνης που μεταφέρει υδρογόνο



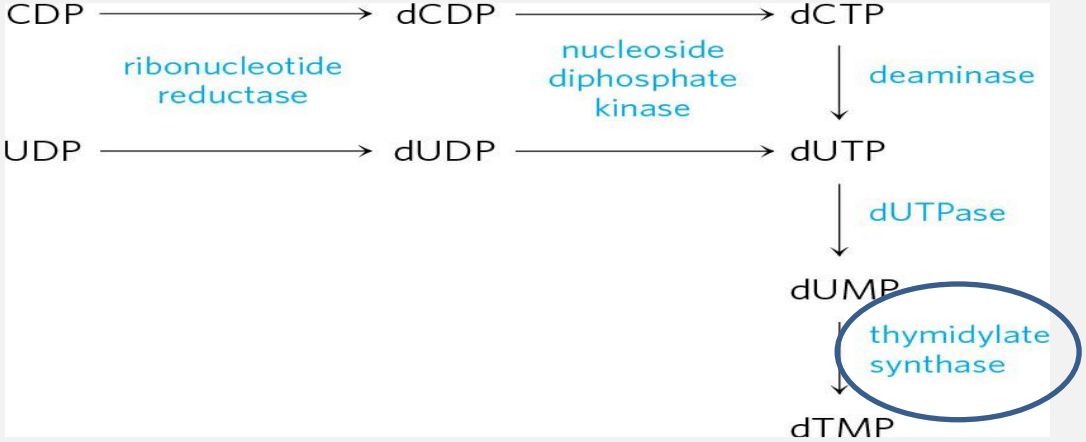
- Η θειοredοξίνη έχει ζεύγη ομάδων –SH που μεταφέρουν άτομα υδρογόνου από το NADPH στο διφωσφορικό ριβονουκλεοτίδιο

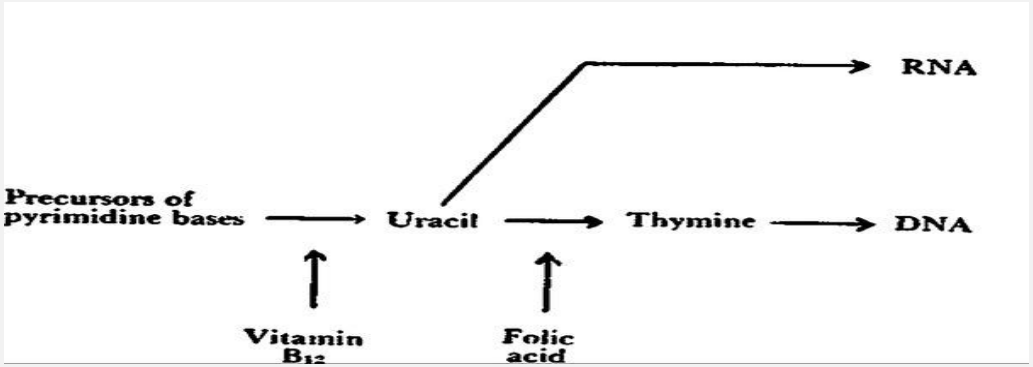
Βιοσύνθεση των δεοξυριβουνουκλεοτιδίων



Το θυμιδυλικό προέρχεται από dCDP και dUMP

- ✓ Η de novo οδός προς τη θυμίνη περιλαμβάνει μόνο δεσοξυριβονουκλεοτίδια. Ο άμεσος πρόδρομος του θυμιδυλικού (dTMP) είναι το dUMP
- ✓ Η μετατροπή του dUMP σε dTMP καταλύεται από θυμιδυλική συνθάση

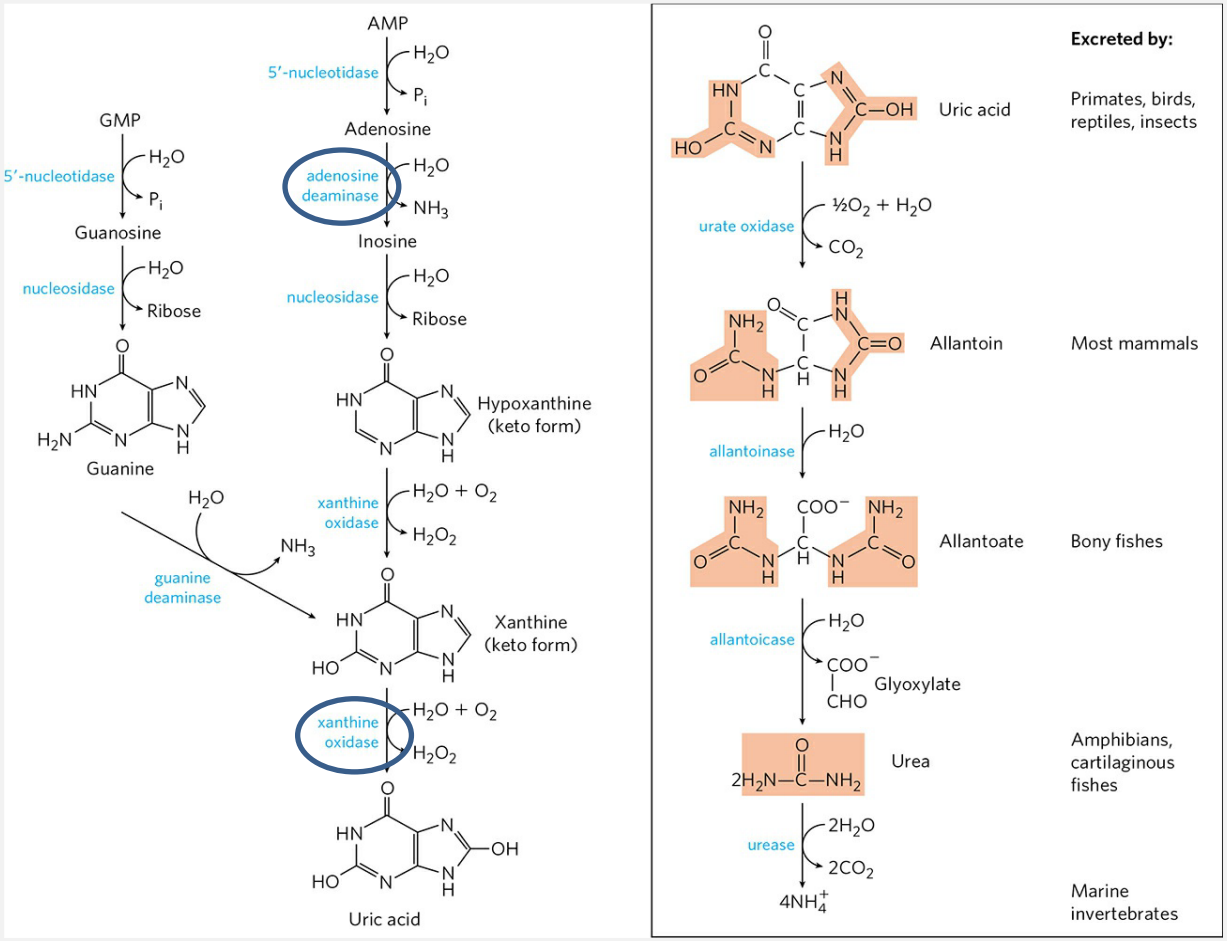




- ❖ **Περίπου το 10% του ανθρώπινου πληθυσμού (και έως το 50% των ανθρώπων σε φτωχές κοινότητες) πάσχει από ανεπάρκεια φυλλικού οξέος. Όταν η ανεπάρκεια είναι σοβαρή, τα συμπτώματα μπορεί να περιλαμβάνουν καρδιακές παθήσεις, καρκίνο και ορισμένους τύπους εγκεφαλικής δυσλειτουργίας.**

- ❖ **Η ουρακίλη αναγνωρίζεται από τις οδούς επιδιόρθωσης του DNA και διασπάται από το DNA. Η παρουσία υψηλών επιπέδων ουρακίλης στο DNA οδηγεί σε σπασίματα κλώνων που μπορούν να επηρεάσουν σημαντικά τη λειτουργία και τη ρύθμιση του πυρηνικού DNA, προκαλώντας τελικά τις παρατηρούμενες επιδράσεις στην καρδιά και τον εγκέφαλο, καθώς και αυξημένη μεταλλαξιογένεση που οδηγεί σε καρκίνο**

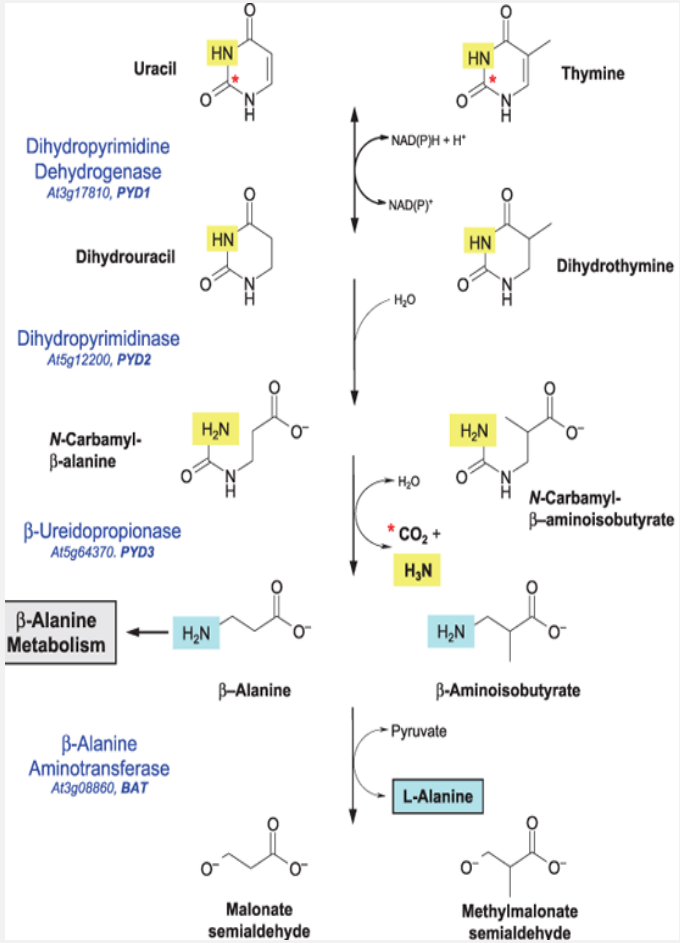
Καταβολισμός νουκλεοτιδίων πουρίνης



Τα νουκλεοτίδια πουρίνης αποικοδομούνται από μια οδό στην οποία χάνουν τα φωσφορικά τους μέσω της δράσης της 5′-νουκλεοτιδάσης. Κοινό μόριο είναι η ξανθίνη η οποία μετατρέπεται σε ουρικό οξύ από την οξειδάση της ξανθίνης. Το ουρικό οξύ είναι το απεκκρινόμενο τελικό προϊόν του καταβολισμού πουρίνης σε πρωτεύοντα, πτηνά και ορισμένα άλλα ζώα. Ένας υγιής ενήλικος άνθρωπος εκκρίνει ουρικό οξύ με ρυθμό περίπου 0,6 g / 24 h. Το απεκκρινόμενο προϊόν προκύπτει εν μέρει από την κατάποση πουρινών και εν μέρει από τον κύκλο εργασιών των νουκλεοτιδίων πουρίνης των νουκλεϊνικών οξέων. Στα περισσότερα θηλαστικά και σε πολλά άλλα σπονδυλωτά, το ουρικό οξύ αποικοδομείται σε αλλαντοΐνη με τη δράση της οξειδάσης του ουρικού οξέος.

Καταβολισμός πυριμιδινών

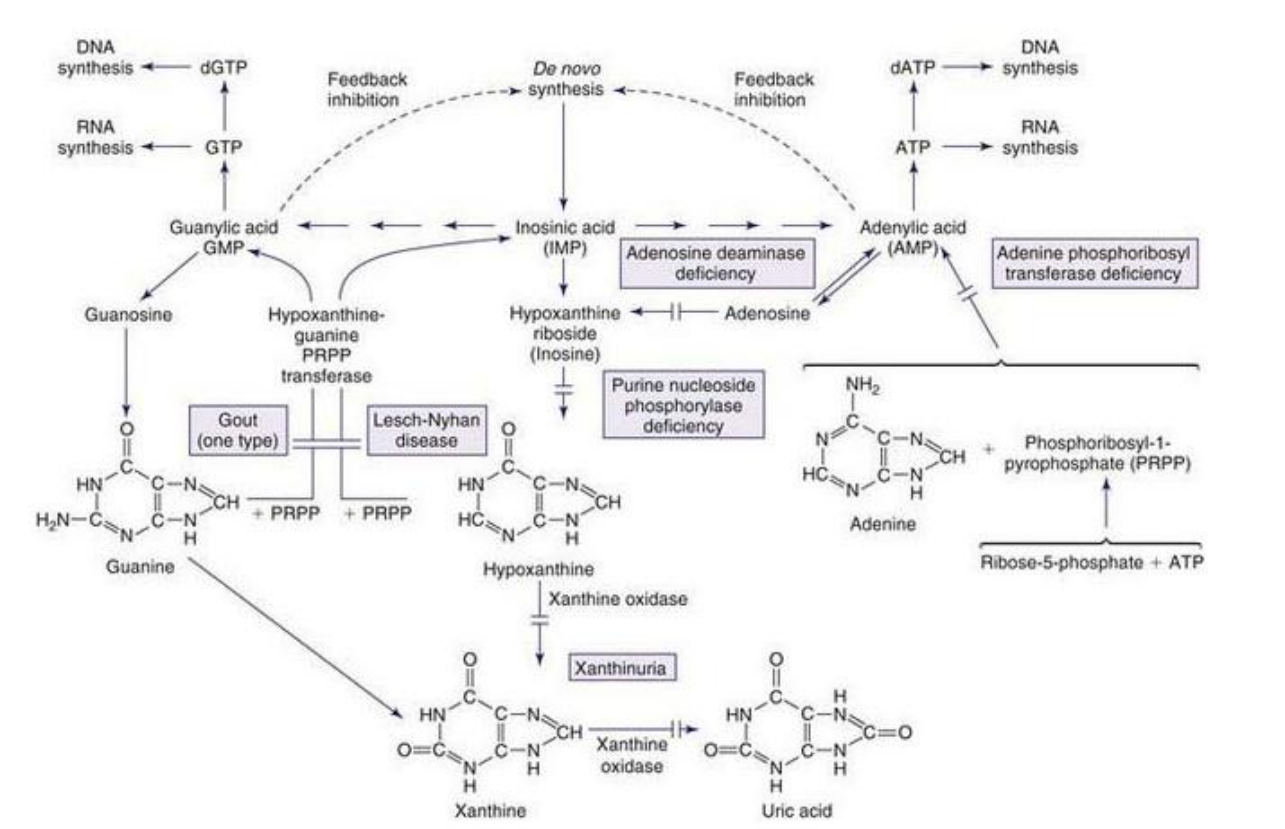
Η **ουρακίλη** μετατρέπεται τελικά σε **β-αλανίνη**, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για τη σύνθεση CoA ή να οξειδωθεί.



Η **θυμίνη** αποικοδομείται σε **β-αμινοϊσοβουτυρικό οξύ** και τελικά σε **μεθυλμαλονυλοσεμιαλδεϋδη**,, που είναι ενδιάμεσος του καταβολισμού της **βαλίνης**.

- **Αμμώνιο (NH_4^+)**: Παράγεται κατά τη διάσπαση των πυριμιδινών και ενσωματώνεται στον κύκλο της ουρίας για αποβολή.
- **CO_2** και **H_2O**: Απλά προϊόντα της πλήρους οξείδωσης.
- **Ενδιάμεσα του κύκλου του κιτρικού οξέος**: Όπως η σουκινυλο-CoA, μέσω της μεθυλμαλονυλοσεμιαλδεΰδης.

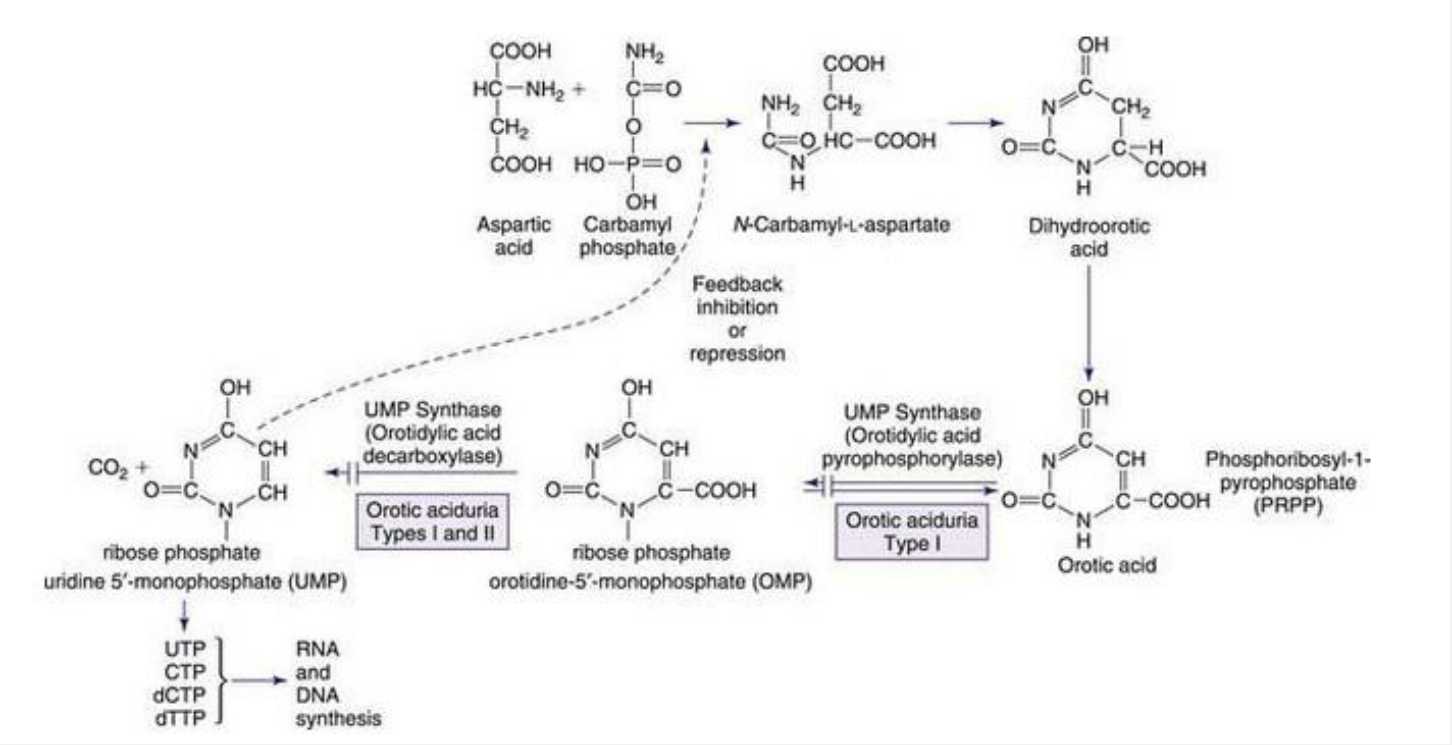
Διαταραχές του μεταβολισμού της πουρίνης



Μεταλλάξεις DNA Ανεπαρκή ένζυμα Διαταραχές/Ασθένειες

Enzyme number (▪ Fig. 32.1)	Disorder/enzyme defect	Alternative name	Gene Inheritance	Specific biochemical markers	Clinical signs	Age of onset
1	Phosphoribosylpyrophosphate synthetase (PRPS) deficiency	Arts syndrome Charcot-Marie-Tooth disease-X5 CMTX5 X-linked non-syndromic hearing loss DFNX1	*PRPS1* XL	↓ PRPS activity (RBC, F, L) n↓Hypoxanthine (U); n↓ uric acid (P)	Developmental delay Peripheral neuropathy Optic atrophy, deafness	Infancy, childhood
1	Phosphoribosylpyrophosphate synthetase (PRPS1) overactivity	PRPP synthetase superactivity	*PRPS1* XL	↑ Uric acid (U, P) ↑ Hypoxanthine (U)	Gout – Nephrolithiasis and progressive renal failure Developmental delay Deafness	Childhood to adulthood
2	Bifunctional enzyme phosphoribosylaminoimidazole carboxylase/phosphoribosylaminoimidazole succinocarboxamide synthetase (PAICS) deficiency		*PAICS* AR	↑ AIriboside (expected in body fluids, to be confirmed)	Polymalformative syndrome	Antenatal period
3	Adenylosuccinate lyase (ADSL) deficiency	Adenylosuccinase deficiency	ADSL AR	↑ S-Adenosine (U, CSF) ↑ SAICAriboside (U, CSF)	Developmental delay Autism Seizures	Infancy, childhood
4	AICAR transformylase/IMP cyclohydrolase (ATIC) deficiency	AICA-ribosiduria	*ATIC* AR	↑↑ AICAriboside (U) ↑ SAICAriboside, S-Adenosine (U)	Psychomotor retardation Chorioretinal atrophy Scoliosis	Antenatal period to infancy
5	Purine nucleoside phosphorylase (PNP) deficiency	PNP deficiency	*PNP* AR	n ↓ Uric acid (U, P), ↑ Inosine/d-Inosine (U) ↑ Guanosine/d-Guanosine (U) ↓ PNP activity in RBC	Progressive SCID Ataxia, intellectual deficiency	Infancy to childhood
6	Xanthine oxidase (XO) deficiency	Xanthinuria type I Xanthine dehydrogenase deficiency	*XDH* AR	↑ Hypoxanthine (U), Xanthine (U, P) ↓ Uric acid (U, P)	Nephrolithiasis and progressive renal failure Muscular pain	Any age
6	Combined XO and aldehyde oxidase (AO) deficiencies	Xanthinuria type II Molybdenum cofactor sulfurase deficiency (MOCOS)	*MOCOS* AR	↑ Hypoxanthine (U), Xanthine (U, P) ↓ Uric acid (U, P)	Nephrolithiasis and progressive renal failure Muscular pain	Any age
6	Combined XO, AO and sulfite oxidase (SO) deficiencies	Xanthinuria type III Molybdenum cofactor deficiency (MOCOD)	*MOCS1, MOCS2 GPHN* AR	↑ Hypoxanthine (U), Xanthine (U, P) ↓ Uric acid (U, P) ↑ Sulfocysteine (U), ↓ Homocysteine (P)	Nephrolithiasis and progressive renal failure Severe neonatal epileptic encephalopathy	Neonatal period
7	Adenylosuccinate synthase like 1 (ADSSL1) deficiency	Distal myopathy-5	*ADSSL1* AR		Distal myopathy	Adolescence
8	Adenosine monophosphate (AMPD1) deaminase 1	Myoadenylate deaminase deficiency	*AMPD1* AR	↓ AMPD1 activity (M)	Cramps Hypotonia Exercice intolerence	Childhood to adulthood
8	Adenosine monophosphate deaminase 2 (AMPD2) deficiency	Pontocerebellar hypoplasia type 9 (PCH9) Spastic paraplegia 63 (SPG63)	*AMPD2* AR		Severe developmental delay, microcephaly, epilepsy Hereditary spastic paraplegia	Infancy to adulthood
9	Adenosine deaminase 1 (ADA1) deficiency	Severe combine immunodeficiency (SCID) ADA-SCID	*ADA1* AR	↑ Adenosine, 2'-deoxyadenosine (U) ↓ ADA1 activity (RBC)	SCID skeletal dysplasia developmental delay, deafness	Infancy to adulthood
9	Adenosine deaminase (ADA) superactivity		*?* AD	↑ ADA1 activity (RBC)	*Non-spherotic hemolytic anemia*	Childhood to adulthood
9	Adenosine deaminase 2 (ADA2) deficiency		*ADA2* AR	↓ ADA2 activity (P)	Systemic vasculitis involving skin Recurrent strokes Anemia, bone marrow failure	Infancy to adolescence
10	Adenine phosphoribosyltransferase (APRT) deficiency	APRT deficiency	*APRT* AR	↑ 2,8-dihydroxyadenine (U) ↑ Adenine (U) ↓ APRT activity (RBC)	Nephrolithiasis and progressive renal failure	Any age
11	Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase deficiency (HPRT)	Lesch-Nyhan syndrome	*HPRT1* XL	↑ Uric acid (U, P) ↑ Hypoxanthine, Xanthine (U) ↓ HPRT activity (RBC)	Severe developmental delay - behavioural disorder Nephrolithiasis and progressive renal failure Gout	Infancy to adolescence
12	Adenosine kinase (ADK) deficiency		*ADK* AR	↑ Methionine, AdoMet and AdoHcy (P, C) ↑Adenosine (U), n↑Hcy (P) ↑ AICAriboside, SAICAriboside (U)	Liver dysfunction Progressive developmental delay	Infancy
13	Adenylate kinase 1 (AK1) deficiency	Myokinase deficiency	*AK1* AR	↓ AK1 activity (RBC)	Non-spherocytic hemolytic anemia Hepatosplenomegaly Developmental delay	Infancy to adulthood
13	Adenylate kinase 2 (AK2) deficiency	Reticular dysgenesis	*AK2* AR		SCID Sensorineural deafness	Infancy
13	Adenylate kinase 7 (AK7) deficiency	Spermatogenic failure 27 / SPGF27	*AK7* AR		Male infertility	Adulthood
14	ADCY5-related dyskinesia		*ADCY5* AD (AR)		Paroxystic dyskinesia Facial myokimia Alternating hemiplegia childhood-onset chorea	Childhood or early adolescence
15	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase1 (IMPDH1) deficiency	Retinitis pigmentosa-10 (RP10) Leber congenital amaurosis 11 (LCA11)	*IMPDH1* AD		Retinis pigmentosa Leber amaurosis	Infancy to adolescence
15	Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2 (IMPDH2) deficiency		*IMPDH2* AD		Dystonia-tremor disorder	Childhood to adulthood
16	Inosine triphosphatase (ITPase) deficiency		*ITPA* AR	↑ ITP[a] (RBC) ↓ ITPase activity[a]	Severe developmental delay Cataract Cardiomyopathy	Infancy
17	Deoxyguanosine kinase (DGUOK) deficiency	Mitochondrial DNA depletion syndrome-3 (MTDPS3) Autosomal recessive progressive external ophthalmoplegia with mitochondrial DNA deletions-4 (PEOB4)	*DGUOK* AR		Cholestasis and progressive liver failure Severe hypotonia, psychomotor regression Juvenile onset mitochondrial myopathy	Infancy to adulthood
19	Ecto-5'-nucleotidase (CD73) deficiency		*NT5E* AR		Arterial and joint calcifications, aortic stenosis	Adulthood
	Autosomal-dominant tubulointerstitial kidney diseases (ADTKD)	Juvenile hyperuricemic nephropathy (FJHN), medullary cystic kidney disease (MCKD), Uromodulin-associated kidney disease	*UMOD* AD	↑ Uric acid (P) ↓ Uric acid (U)	Gout Nephrolithiasis and progressive renal failure	Adulthood

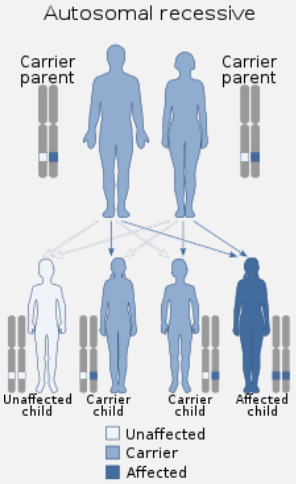
Διαταραχές του μεταβολισμού πυριμιδίνης

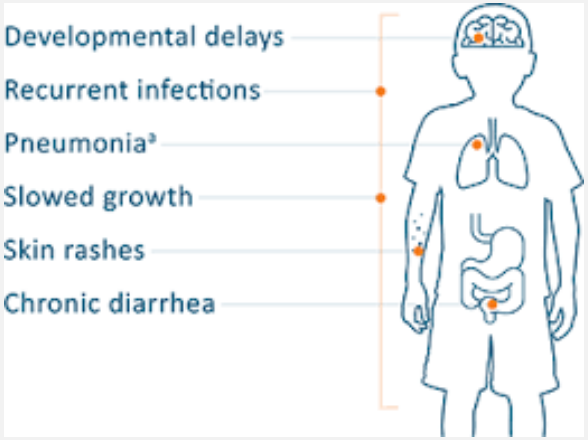


Enzyme number (▪ Fig. 32.2)	Disorder / enzyme defect	Alternative names	Gene Inheritance	Biochemical markers	Clinical signs	Age of onset
1	Carbamoyl phosphate synthetase, Aspartate transcarbamylase, Dihydroorotase (CAD) deficiency	CAD trifunctional protein deficiency Early infantile epileptic encephalopathy-50	*CAD* AR		Developmental delay Drug-resistant epilepsy Anemia with anisopoikilocytosis	Infancy and childhood
2	Dihydroorotate dehydrogenase (DHOD) deficiency	Postaxial acrofacial dysostosis POADS Miller syndrome Genee-Wiedemann syndrome	*DHODH* AR	↑ orotic acid (U) ↑ DHO (P, U)	Postaxial acrofacial dysostosis Severe micrognathia, Cleft lip and/or palate Hypoplasia or aplasia of the postaxial elements of the limbs	Infancy
3	Uridine monophosphate synthase (UMPS) deficiency	Hereditary orotic aciduria	*UMPS* AR	↑ orotic acid, ↑ orotidine (P, U)	Megaloblastic anemia unresponsive to vitamin B_{12} and folic acid Developmental delay Failure to thrive	Infancy and childhood
4	Cytosolic 5′-nucleotidase 3A deficiency	Pyrimidine 5′nucleotidase 1(P5′N-1) deficiency Uridine 5′-monophosphate hydrolase 1 (UMPH1) deficiency	*NT5CA3* AR		Non spherocytic hemolytic anemia	Childhood
4	Cytosolic 5′-Nucleotidase superactivity			↓ uric acid (U)	Developmental delay, autistic features Growth retardation Seizures, ataxia	
5	Thymidine phosphorylase (TP) deficiency	MTDPS1 (MNGIE type)	*TYMP* AR	↑(deoxy)thymidine, deoxyuridine, uracil, thymine (P, U) ↓ TP activity	Severe gastrointestinal dysmotility, cachexia Peripheral neuropathy, ocular symptoms Asymptomatic diffuse leukoencephalopathy	Adulthood
6	Dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) deficiency	DPD deficiency Hereditary thymine-uraciluria	*DPYD* AR	↑ uracil, thymine (P, U) ↑ 5-OH-methyluracil (U)	Developmental delay Seizures Drug toxicity	Infancy Adulthood
7	Dihydropyrimidinase (DHP) deficiency	Dihydropyrimidinuria	*DPYS* AR	↑↑ dihydrouracil, dihydrothymine (P, U) ↑ uracil, thymine (P, U)	Dysmorphic features, Feeding problems Intellectual disability Drug toxicity	Infancy and childhood Adulthood
8	β-ureidopropionase (UP) deficiency	β-alanine synthase	*UPB1* AR	↑↑ ureidopropionic acid, ureidoisobutyric acid (P, U) ↑ dihydrouracil, dihydrothymine (P, U)	Developmental delay Seizures Asymptomatic	Infancy
9	Thymidine kinase 2 (TK2) deficiency	MTDPS2 (myopathic type) PEOB3	*TK2* AR		Myopathy Progressive external ophthalmoplegia, ptosis	Infancy to adulthood
10	Ribonucleoside-diphosphate reductase subunit M2 B (RRM2B) deficiency	MTDPS8A (encephalomyopathic type with renal tubulopathy) MTDPS8B (MNGIE type) PEOA5	*RRM2B* AR (AD)		Psychomotor delay, failure to thrive, tubulopathy, microcephaly, sensorineural hearing loss Progressive external ophthalmoplegia	Infancy to adulthood
11	Cytidine deaminase deficiency		*CDA* AR		Drug toxicity	Adulthood
	Activation induced Cytidine deaminase (AICDA) deficiency	Hyper IgM syndrome type 2	*AICDA* AR (AD)		Recurrent upper and lower respiratory tract bacterial infections Enlarged lymph nodes	Childhood to adulthood
	Uracil-DNA glycosylase deficiency	Hyper-IgM syndrome type 5	*UNG* AR		Recurrent upper and lower respiratory tract bacterial infections	Childhood to adulthood

Ανεπάρκεια αδενοσίνης απαμινάσης (ADA)

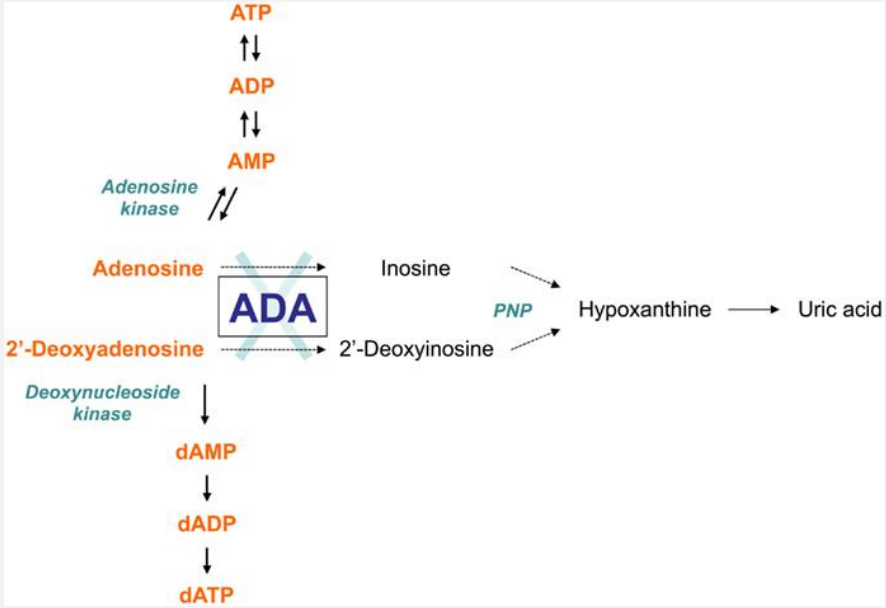
- ✓ Η ανεπάρκεια ADA είναι μια κληρονομική διαταραχή που βλάπτει το ανοσοποιητικό σύστημα και προκαλεί σοβαρή συνδυασμένη ανοσοανεπάρκεια (SCID). Αυτή η κατάσταση κληρονομείται σε ένα αυτοσωματικό υπολειπόμενο μοτίβο, πράγμα που σημαίνει ότι και τα δύο αντίγραφα του γονιδίου σε κάθε κύτταρο έχουν μεταλλάξεις.
- ✓ Η ανεπάρκεια απαμινάσης αδενοσίνης είναι πολύ σπάνια και εκτιμάται ότι εμφανίζεται σε περίπου 1 στα 200.000 έως 1.000.000 νεογνά παγκοσμίως. Αυτή η διαταραχή είναι υπεύθυνη για περίπου το 15% των περιπτώσεων SCID





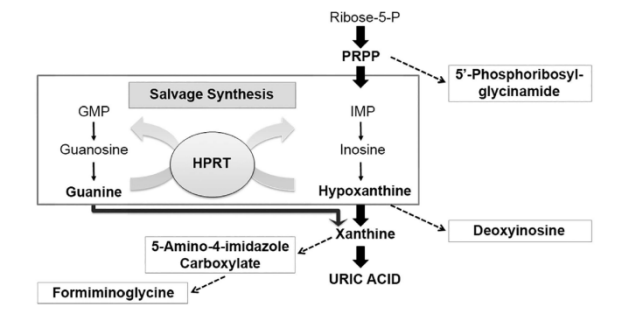
- ✓ Τα κύρια συμπτώματα της ανεπάρκειας ADA είναι πνευμονία, χρόνια διάρροια και εκτεταμένα δερματικά εξανθήματα. Τα προσβεβλημένα παιδιά αναπτύσσονται επίσης πολύ πιο αργά από τα υγιή παιδιά και μερικά έχουν αναπτυξιακή καθυστέρηση.
- ✓ Τα περισσότερα άτομα με ανεπάρκεια ADA διαγιγνώσκονται με SCID κατά τους πρώτους 6 μήνες της ζωής. Χωρίς θεραπεία, αυτά τα μωρά συνήθως δεν επιβιώνουν μετά την ηλικία των 2 ετών. Σε περίπου 10% έως 15% των περιπτώσεων, η έναρξη της ανοσολογικής ανεπάρκειας καθυστερεί μεταξύ 6 και 24 μηνών (καθυστερημένη έναρξη) ή ακόμα και μέχρι την ενηλικίωση (καθυστερημένη έναρξη)

- ✓ Η έλλειψη ADA οδηγεί σε 100πλάσια αύξηση της κυτταρικής συγκέντρωσης του dATP, ενός ισχυρού αναστολέα της ριβονουκλεοτιδικής αναγωγάσης
- ✓ Τα υψηλά επίπεδα dATP προκαλούν γενική ανεπάρκεια άλλων dNTP στα Τ λεμφοκύτταρα
- ✓ Οι τρέχουσες θεραπείες περιλαμβάνουν μεταμοσχεύσεις μυελού των οστών από συμβατό δότη για την αντικατάσταση των αιμοποιητικών βλαστοκυττάρων που ωριμάζουν σε Β και Τ λεμφοκύτταρα
- ✓ Η θεραπεία ενζυμικής υποκατάστασης, που απαιτεί μία ή δύο φορές την εβδομάδα ενδομυϊκή ένεση ενεργού ADA, είναι αποτελεσματική, αλλά το θεραπευτικό όφελος συχνά μειώνεται μετά από 8 έως 10 χρόνια και προκύπτουν επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένων κακοηθειών. Η ανεπάρκεια ADA ήταν ένας από τους πρώτους στόχους των δοκιμών γονιδιακής θεραπείας σε ανθρώπους (το 1990)

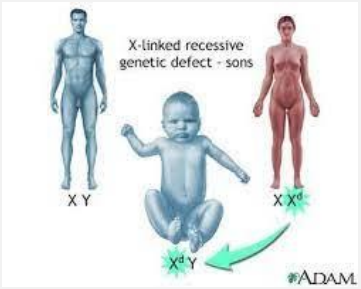


Σύνδρομο Lesch-Nyhan

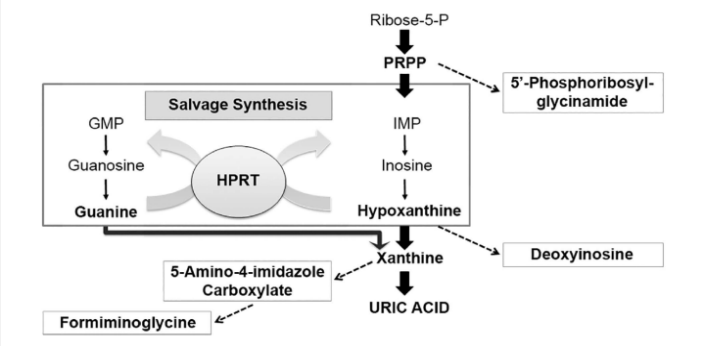
- Το σύνδρομο Lesch-Nyhan είναι ένα σπάνιο εγγενές σφάλμα του μεταβολισμού της πουρίνης που χαρακτηρίζεται από την απουσία ή ανεπάρκεια της δραστηριότητας του ενζύμου φωσφοριβοσυλτρανσφεράση υποξανθίνης-γουανίνης (HPRT). Η διαταραχή εμφανίζεται με ρυθμό περίπου μία στις 380.000 γεννήσεις στις Ηνωμένες Πολιτείες.



- Το LNS είναι μια φυλοσύνδετη υπολειπόμενη ασθένεια - το γονίδιο μεταφέρεται από τη μητέρα και μεταβιβάζεται στο γιο της



- Ελλείψει HPRT, οι πουρίνες υποξανθίνη και γουανίνη δεν είναι ενσωματωμένες σε νουκλεοτίδια



- Ελλείψει φωσφοριβοσυλτρανσφεράσης υποξανθίνης-γουανίνης, τα επίπεδα PRPP αυξάνονται και οι πουρίνες υπερπαράγονται από την de novo οδό, με αποτέλεσμα υψηλά επίπεδα παραγωγής ουρικού οξέος και ουρική αρθρίτιδα στους ιστούς
- Ο εγκέφαλος εξαρτάται ιδιαίτερα από τις οδούς Περίσωσης και αυτό μπορεί να ευθύνεται για τη βλάβη του κεντρικού νευρικού συστήματος σε παιδιά με σύνδρομο Lesch-Nyhan
- Τα συμπτώματα του συνδρόμου Lesch-Nyhan περιλαμβάνουν μειωμένη νεφρική λειτουργία, οξεία ουρική αρθρίτιδα και αυτοακρωτηριαστικές συμπεριφορές όπως δάγκωμα χειλιών και δακτύλων ή / και χτύπημα στο κεφάλι. Πρόσθετα συμπτώματα περιλαμβάνουν ακούσιες κινήσεις των μυών και νευρολογική δυσλειτουργία

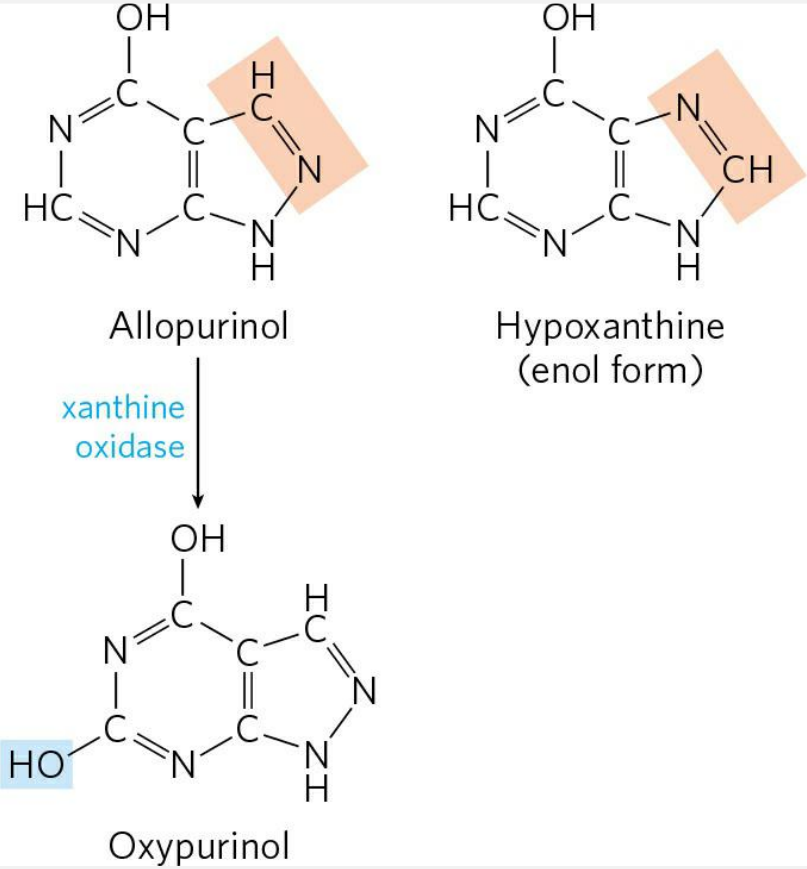


ΟΥΡΙΚΗ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

- ✓ Η ουρική αρθρίτιδα προκαλείται από μια κατάσταση γνωστή ως υπερουριχαιμία, όπου υπάρχει πάρα πολύ ουρικό οξύ στο σώμα. Το σώμα παράγει ουρικό οξύ όταν διασπά τις πουρίνες, οι οποίες βρίσκονται στο σώμα μας και στις τροφές
- ✓ Ένας υγιής ενήλικος άνθρωπος εκκρίνει ουρικό οξύ με ρυθμό περίπου 0,6 g / 24 h. το απεκκρινόμενο προϊόν προκύπτει εν μέρει από την κατάποση πουρινών και εν μέρει από τον κύκλο των νουκλεοτιδίων πουρίνης
- ✓ Σχηματισμός ουρικού οξέος μπορεί να συμβεί όταν το επίπεδο ουρικού οξέος στο αίμα αυξηθεί πάνω από 7 mg / dL
- ✓ Το επιπλέον ουρικό οξύ στο σώμα σας δημιουργεί αιχμηρούς κρυστάλλους στις αρθρώσεις, οδηγώντας σε οίδημα και υπερβολική ευαισθησία. Η ουρική αρθρίτιδα συνήθως ξεκινά στο μεγάλο δάκτυλο του ποδιού, αλλά μπορεί να επηρεάσει άλλες αρθρώσεις





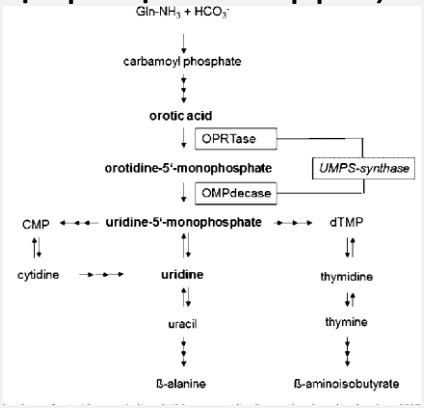


- ✓ Όταν αναστέλλεται η οξειδάση της ξανθίνης, τα απεκκρινόμενα προϊόντα του μεταβολισμού της πουρίνης είναι η ξανθίνη και η υποξανθίνη, οι οποίες είναι πιο υδατοδιαλυτές από το ουρικό οξύ και λιγότερο πιθανό να σχηματίσουν κρυσταλλικές εναποθέσεις

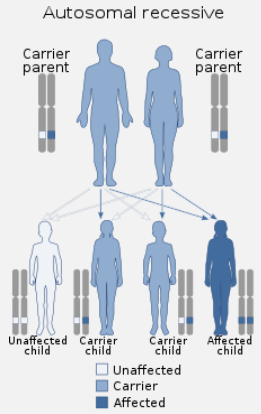
Αλλοπουρινόλη, ένας αναστολέας της οξειδάσης της ξανθίνης. Η υποξανθίνη είναι το φυσιολογικό υπόστρωμα της οξειδάσης της ξανθίνης. Μια ελαφρά μεταβολή στη δομή της υποξανθίνης (σκιασμένο ανοιχτό κόκκινο) αποδίδει τον ιατρικά αποτελεσματικό αναστολέα ενζύμου αλλοπουρινόλη. Στη δραστική θέση, η αλλοπουρινόλη μετατρέπεται σε οξυπουρινόλη, έναν ισχυρό ανταγωνιστικό αναστολέα που παραμένει στενά συνδεδεμένος με τη μειωμένη μορφή του ενζύμου.

Οροτική οξυουρία

- Η οροτική οξυουρία προκαλείται από την ανεπάρκεια της μονοφωσφορικής συνθάσης ουριδίνης (UMPS). Το UMPS είναι ένα διλειτουργικό ένζυμο που αποτελείται από οροτική φωσφοριβοσυλτρανσφεράση και ροτιδίνη-5-μονοφωσφορική αποκαρβοξυλάση



- Ήταν η πρώτη περιγραφείσα ανεπάρκεια ενζύμου της de novo οδού σύνθεσης πυριμιδίνης και είναι μια αυτοσωματική υπολειπόμενη διαταραχή



- Οι ασθενείς συνήθως παρουσιάζουν υπερβολικό οροτικό οξύ στα ούρα, αποτυχία ανάπτυξης, αναπτυξιακή καθυστέρηση και μεγαλοβλαστική αναιμία που δεν μπορεί να θεραπευτεί με τη χορήγηση βιταμίνης B12 ή φολικού οξέος
- Ο επιπολασμός των γεννήσεων, ο οποίος είναι ο αριθμός των βρεφών που γεννιούνται με μια διαταραχή σε σύγκριση με τον συνολικό αριθμό των γεννήσεων ζώντων, εκτιμάται ότι είναι μικρότερος από 1 στις 1.000.000 γεννήσεις.

https://rarediseases.info.nih.gov

https://rarediseases.org/

Χημειοθεραπεία

- ✓ Τα καρκινικά κύτταρα έχουν μεγαλύτερες απαιτήσεις για νουκλεοτίδια ως πρόδρομες ουσίες του DNA και του RNA

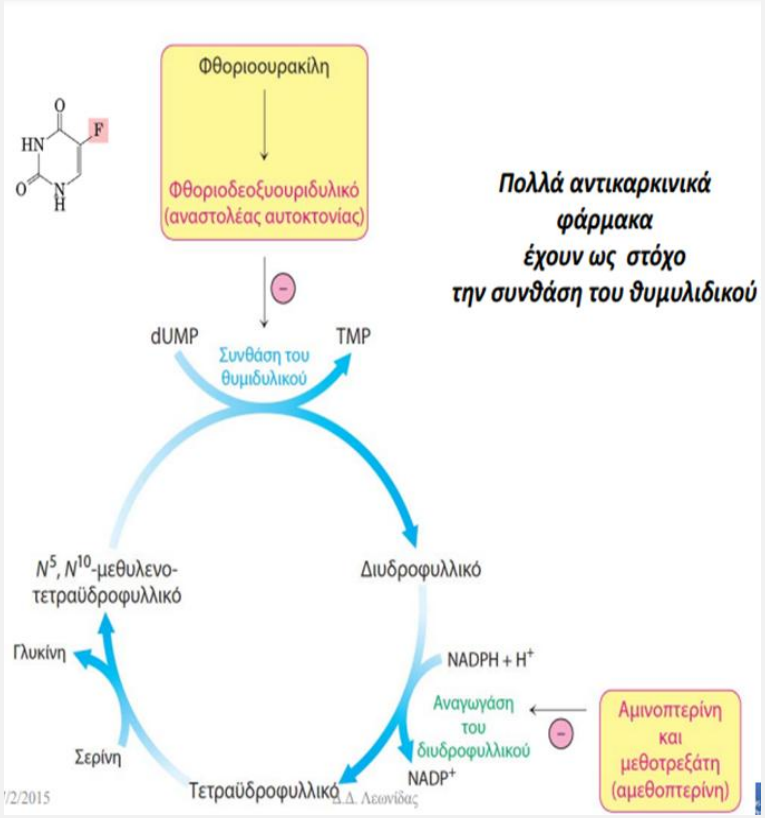


Γενικά, πιο ευαίσθητα από τα φυσιολογικά κύτταρα στους αναστολείς της βιοσύνθεσης νουκλεοτιδίων

- ➢ Αυξανόμενη σειρά σημαντικών χημειοθεραπευτικών παραγόντων δρουν αναστέλλοντας ένα ή περισσότερα ένζυμα σε αυτές τις οδούς

Στόχευση της θυμιδυλικής συνθάσης

- ✓ Η θυμιδυλική συνθάση και η αναγωγάση του διυδροφυλλικού οξέος είναι ένζυμα που παρέχουν τη μόνη κυτταρική οδό για τη σύνθεση θυμίνης
- ✓ Η φθοριοουρακίλη δρα στη θυμιδυλική συνθάση. Η ίδια η φθοριοουρακίλη δεν είναι ο αναστολέας του ενζύμου. Στο κύτταρο, οι οδοί Περίσωσης το μετατρέπουν στο μονοφωσφορικό δεοξυνουκλεοσίδιο FdUMP, το οποίο συνδέεται και αδρανοποιεί το ένζυμο
- ✓ Η αναστολή από το FdUMP είναι ένα κλασικό παράδειγμα αδρανοποίησης ενζύμων που βασίζεται σε μηχανισμούς

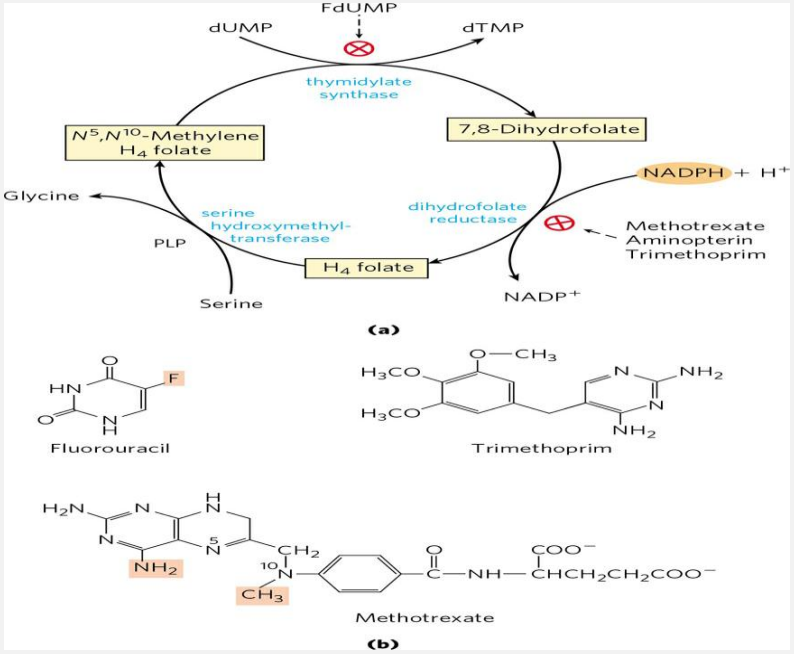


- fatigue
- diarrhea
- nausea or vomiting
- reduced appetite
- mouth sores
- a metallic taste in your mouth
- hair loss
- photosensitivity: always wear sunblock when undergoing 5FU chemotherapy treatment
- redness, soreness, and peeling of the palms of your hands and the soles of your feet (hand-foot syndrome)
- irregular or absent periods
- low blood counts, which can lead to:
  - anemia
  - increased risk of infections
  - easy bleeding or bruising

Sometimes, 5FU can negatively affect the heart, causing symptoms that may include chest pain, shortness of breath, or irregular heartbeat. Because of this, your doctor may want to monitor your heart function while you're on 5FU.

Στόχευση της αναγωγάσης του διυδροφυλλικού οξέος

- Η μεθοτρεξάτη είναι αναστολέας της αναγωγάσης του διυδροφυλλικού οξέος
- Η αναστολή του DHFR από ανταγωνιστές φυλλικού οξέος (μεθοτρεξάτη) έχει ως αποτέλεσμα ανεπάρκεια στις κυτταρικές δεξαμενές θυμιδυλικού και πουρινών και συνεπώς μείωση της σύνθεσης νουκλεϊνικών οξέων
- Αυτό το ανάλογο φυλλικού οξέος δρα ως ανταγωνιστικός αναστολέας. Το ένζυμο δεσμεύει τη μεθοτρεξάτη με περίπου 100 φορές υψηλότερη συγγένεια από το διυδροφυλλικό οξύ
- Αμινοπτερίνη είναι μια σχετική ένωση που δρα παρόμοια

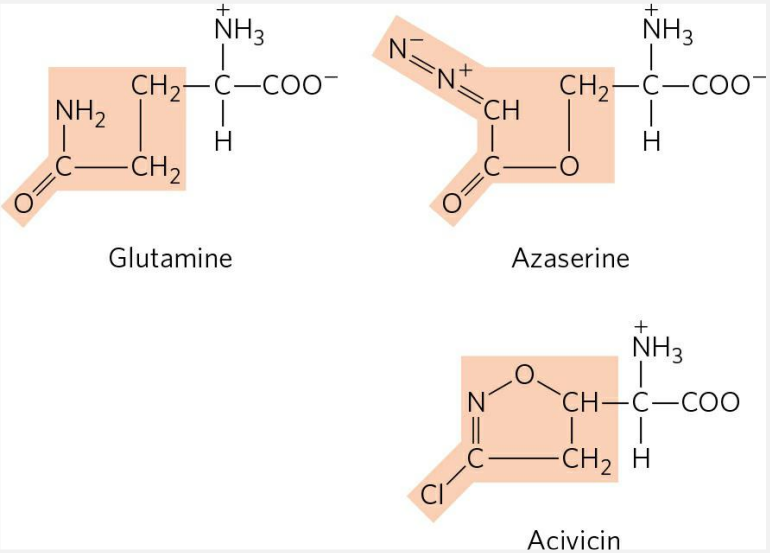


Η μεθοτρεξάτη μπορεί μερικές φορές να προκαλέσει ανεπιθύμητες ενέργειες, οι οποίες μπορεί να περιλαμβάνουν:

αίσθημα αδιαθεσίας
Πονοκεφάλους
εμετός
διάρροια
Δυσκολία στην αναπνοή
στοματικά έλκη
μικρή τριχόπτωση και εξανθήματα αραίωσης

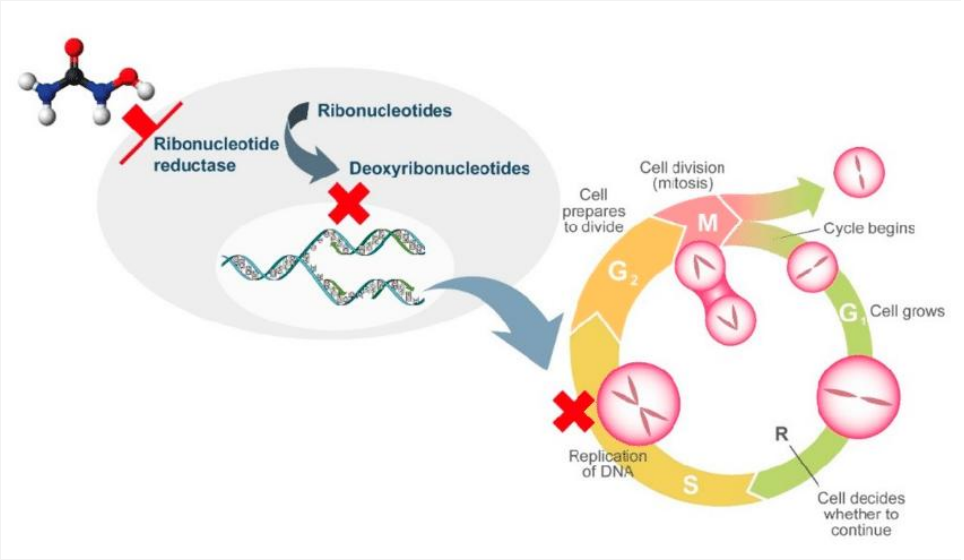
Αναστολή των αμιδοτρανσφερασών γλουταμίνης

- ✓ Η γλουταμίνη είναι δότης αζώτου σε πολλές ξεχωριστές αντιδράσεις στη βιοσύνθεση νουκλεοτιδίων
- ✓ Τα περισσότερα από τα ένζυμα αναστέλλονται έντονα από ανάλογα γλουταμίνης όπως η αζασερίνη και acivicin
- ✓ Η αζασερίνη, που χαρακτηρίστηκε από τον John Buchanan στη δεκαετία του 1950, ήταν μία από τα πρώτα παραδείγματα αδρανοποίησης ενζύμων που βασίζονται σε μηχανισμούς
- ✓ Acivicin δείχνει υποσχόμενο ως χημειοθεραπευτικό παράγοντα του καρκίνου



Υδροξυουρία/υδροξυκαρβαμίδιο

- Η υδροξυουρία αναστέλλει τη σύνθεση του DNA στοχεύοντας τη ριβονουκλεοτιδική αναγωγάση, το ένζυμο που είναι υπεύθυνο για τη μετατροπή των διφωσφορικών ριβονουκλεοτιδίων στις αντίστοιχες μορφές δεοξυριβόζης



Hydroxyurea may cause side effects. Tell your doctor if any of these symptoms are severe or do not go away:

- nausea
- vomiting
- diarrhea
- loss of appetite
- weight gain
- sores in the mouth and throat
- constipation
- rash
- pale skin
- dizziness
- headache
- hair loss
- changes in skin and nails

Some side effects can be serious. If you experience any of these symptoms or those listed in the IMPORTANT WARNING section, call your doctor immediately or get emergency medical treatment:

- fast heartbeat
- ongoing pain that begins in the stomach area but may spread to the back
- leg wounds or ulcers
- pain, itching, redness, swelling, or blisters on the skin
- pain in the upper right part of the stomach
- blood in the urine
- yellowing of the skin or eyes
- numbness, burning, or tingling in the hands or feet
- fever, cough, shortness of breath, and other breathing problems

Μαθησιακοί Στόχοι



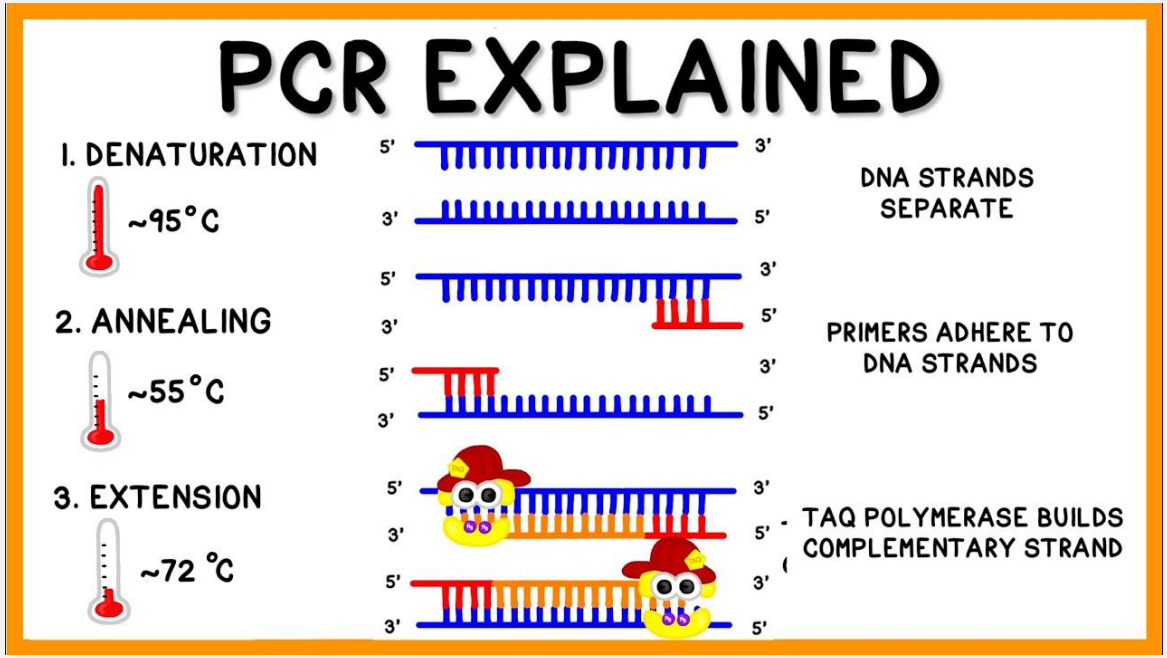
- Δομή βάσεων πυριμιδίνης και πουρίνης
- Περιγραφή νουκλεοσιδίων και νουκλεοτιδίων
- Περιγράψτε και εξηγήστε τη βιοσύνθεση και το μεταβολισμό της πουρίνης
- Διαφορές μεταξύ της βιοσύνθεσης και του μεταβολισμού των πυριμιδινών και των σημείων διακλάδωσης Purines-Key
- Περιγραφή της βιοσύνθεσης δεσοξυριβονουκλεοτιδίων
- Περιγραφή του καταβολισμού των νουκλεοτιδίων – κοινές οδοί και αλλοιώσεις
- Διαταραχές-Ενοχοποιημένα ένζυμα-Βασικά χαρακτηριστικά
- Χημειοθεραπεία-φάρμακα/μόρια-Στοχευμένα ένζυμα
- Βασικά χαρακτηριστικά της PCR
- Βασικά χαρακτηριστικά των ανοσολογικών τεχνικών

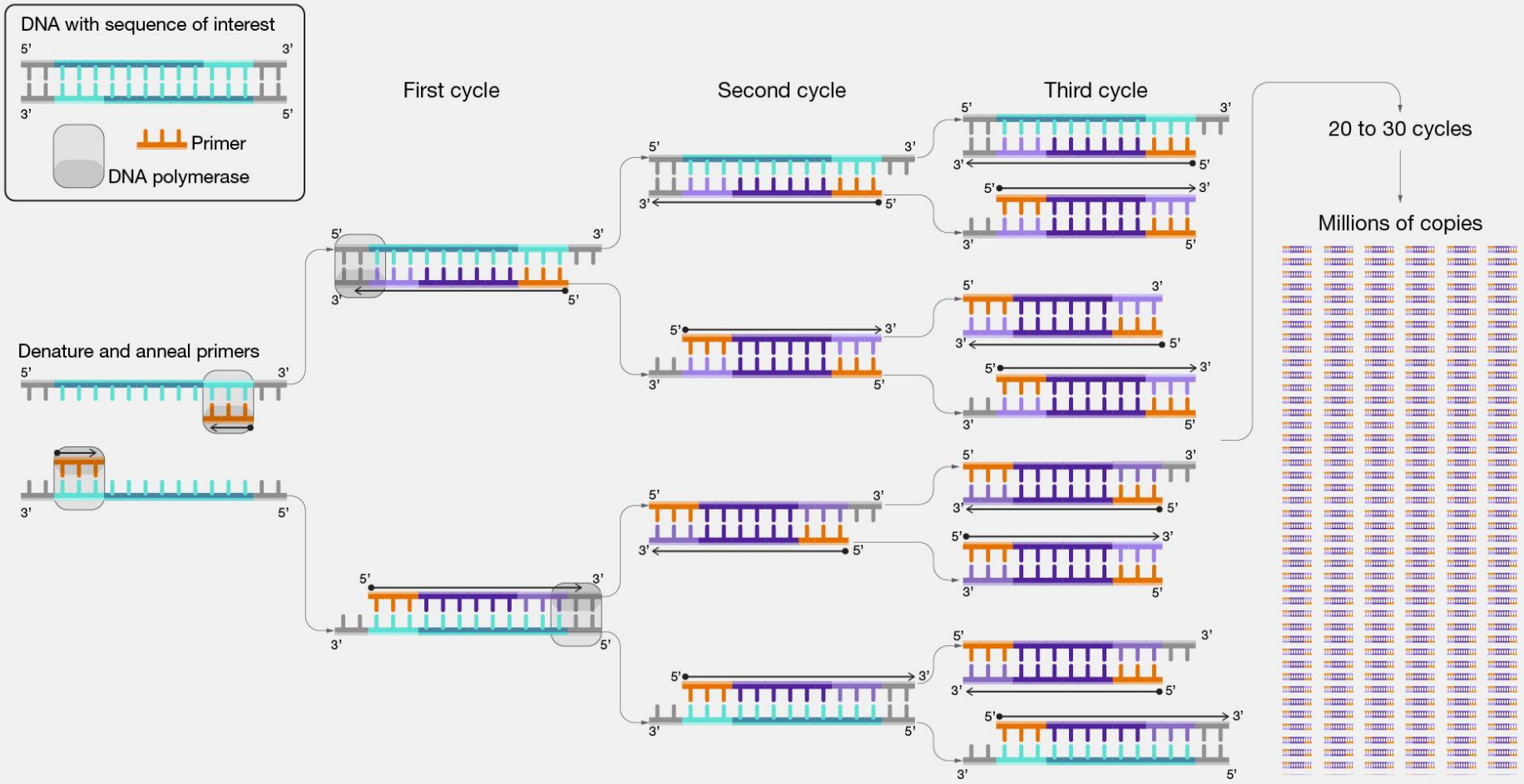
Προτεινόμενη βιβλιογραφία

- **Harper's**
  Κεφ. 32, 33, 34
- **Lehninger, Τόμος II,**
  Κεφ. 22.4
- **Devlin: Τόμος II**
  Κεφ. 20

Προσδιορισμός γενετικών μεταλλάξεων

- ✓ Οι δοκιμές PCR (αλυσιδωτή αντίδραση πολυμεράσης) είναι ένας γρήγορος, εξαιρετικά ακριβής τρόπος για τη διάγνωση γενετικών αλλαγών
- ✓ Λήψη δείγματος αίματος, σάλιου, βλέννας ή ιστού




DNA with sequence of interest
5'
3'
3'
5'
Primer
DNA polymerase
First cycle
Second cycle
Third cycle
20 to 30 cycles
Millions of copies
Denature and anneal primers

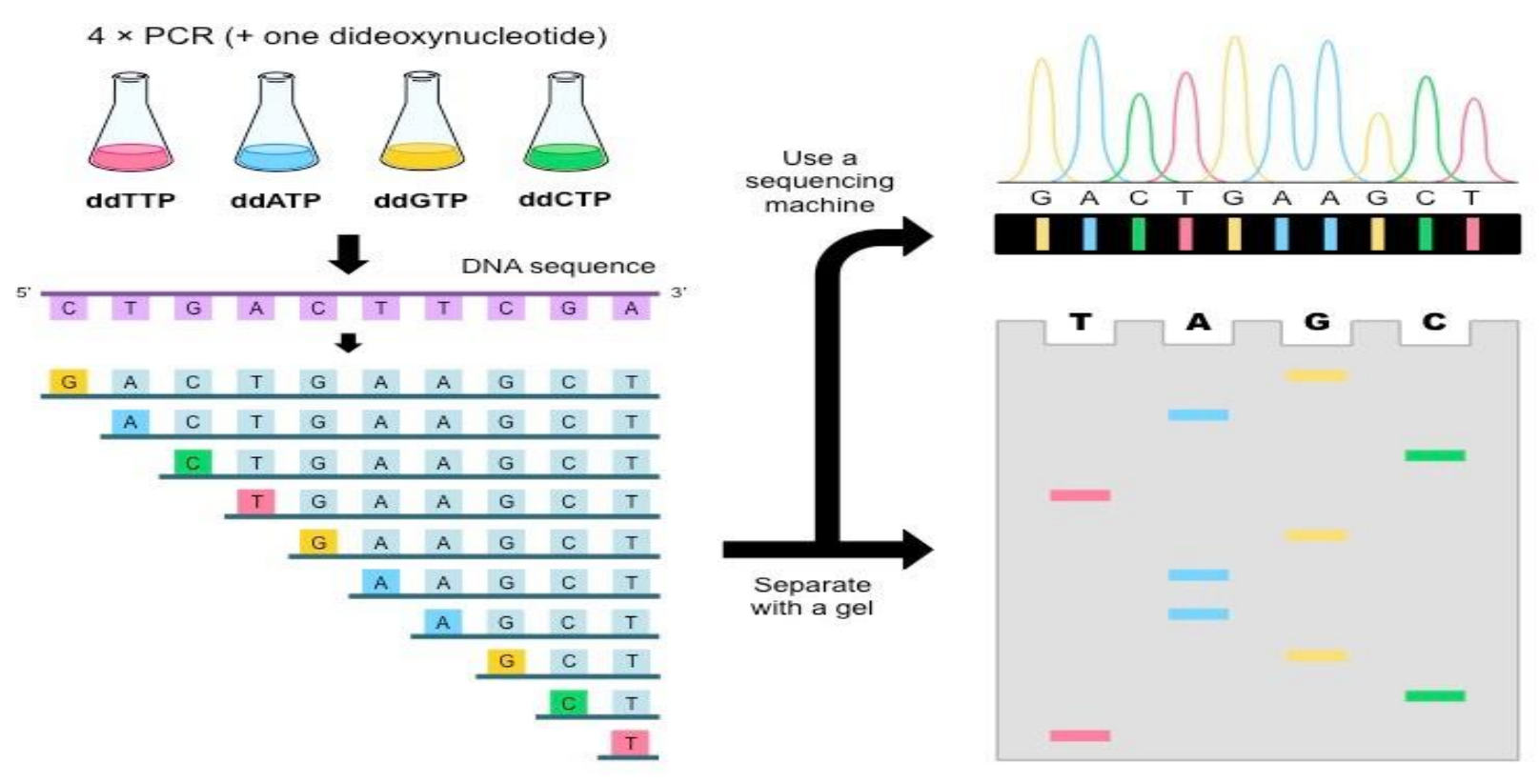
PCR Master Mix for 50 µl Reactions

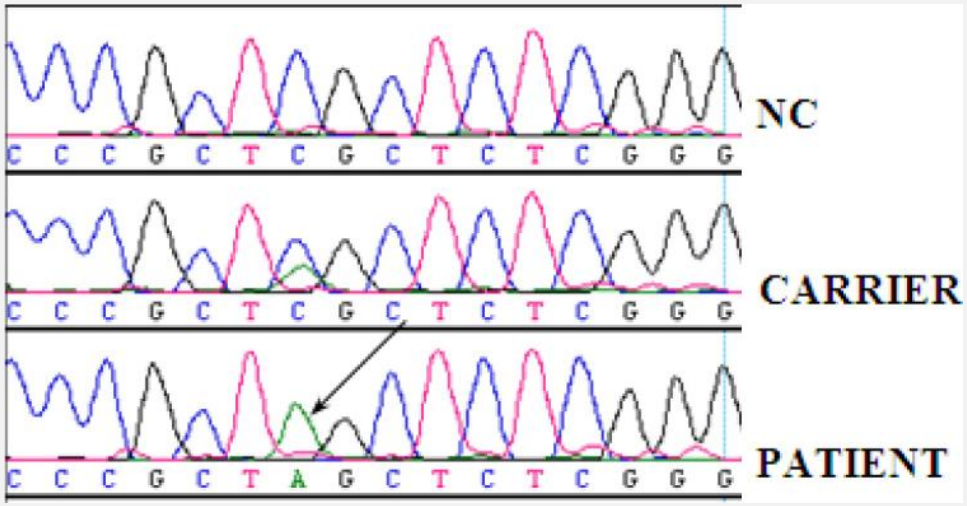
Components	*Volume*	*Final Concentration*
Buffer 10X	5 µl	1X
dNTP's (10mM)	1 µl	200 µM
$MgCl_2$	3 µl	1.5 mM
Forward Primer	2.5 µl	150 pmol
Reverse Primer	2.5 µl	150 pmol
Taq DNA Polymerase (5U/µl)	.5 µl	2.5 Units
Nuclease-free H_20	Up to 50 µl	up to 50 µl
Template DNA	~1-50 ng	~1-50 ng
Total Volume	**50 µl**	

!!! Η PCR επιτρέπει την ανίχνευση μετάλλαξης, ωστόσο, η ίδια η PCR δεν ανιχνεύει την πραγματική μετάλλαξη. Η PCR δημιουργεί ένα αμπλικόνιο το οποίο στη συνέχεια αναλύεται με κάποια άλλη μέθοδο για να βρεθούν πιθανές παραλλαγές εντός του αμπλικονίου

DNA Sequencing

- ✓ Ως ισχυρή τεχνική στη μοριακή γενετική, η αλληλουχία DNA παρέχει ανάλυση γονιδίων σε επίπεδο νουκλεοτιδίων. Ο κύριος στόχος της αλληλουχίας DNA είναι ο προσδιορισμός της αλληλουχίας μικρών περιοχών ενδιαφέροντος (~1 κιλοβάση) χρησιμοποιώντας ένα προϊόν PCR ως πρότυπο
- ✓ Η αλληλουχία διδεοξυνουκλεοτιδίων ή η αλληλουχία Sanger αντιπροσωπεύει την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη τεχνική για τον προσδιορισμό της αλληλουχίας του DNA


4 × PCR (+ one dideoxynucleotide)
ddTTP
ddATP
ddGTP
ddCTP
DNA sequence
5'
3'
C T G A C T T C G A
Use a sequencing machine
Separate with a gel
G A C T G A A G C T
T A G C


NC
CARRIER
PATIENT
C C C G C T C G C T C T C G G G
C C C G C T C G C T C T C G G G
C C C G C T A G C T C T C G G G

Reverse transcriptase (RT)-PCR

- **Τύποι RT-PCR**
- **Μονοσταδιακή (One-step)**: Η αντίστροφη μεταγραφή και η PCR γίνονται στον ίδιο σωλήνα—γρήγορη και απλή.
- **Δισταδιακή (Two-step)**: Πρώτα γίνεται η αντίστροφη μεταγραφή και μετά η PCR—πιο ευέλικτη και ευαίσθητη.

- Η RT-PCR (Αντίστροφη Μεταγραφή και Αλυσιδωτή Αντίδραση Πολυμεράσης) είναι μια μοριακή τεχνική που χρησιμοποιείται για την **ανίχνευση και ποσοτικοποίηση RNA**.
- Αποτελείται από δύο βασικά στάδια:
- **Αντίστροφη μεταγραφή (Reverse Transcription)**: Το RNA μετατρέπεται σε συμπληρωματικό DNA (cDNA) με τη βοήθεια του ενζύμου αντίστροφη μεταγραφάση.
- **PCR (Polymerase Chain Reaction)**: Το cDNA πολλαπλασιάζεται μέσω της κλασικής PCR για να ανιχνευθεί ή να ποσοτικοποιηθεί.

- **Εφαρμογές**
- **Διαγνωστική**: Ανίχνευση ιών όπως SARS-CoV-2, HIV, HCV
- **Ανάλυση γονιδιακής έκφρασης**: Ποσοτικοποίηση mRNA
- **Ογκολογία**: Ανίχνευση ογκογονιδίων
- **Ασφάλεια τροφίμων και εγκληματολογία**: Ανίχνευση παθογόνων

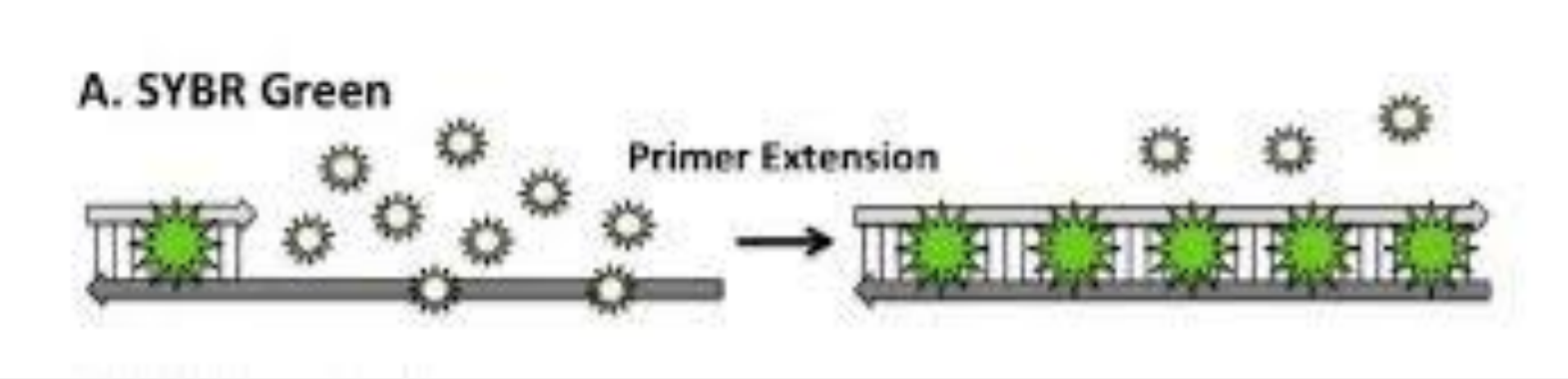
Βασικά Συστατικά
RNA δείγμα
Αντίστροφη μεταγραφάση
DNA πολυμεράση
Εκκινητές (primers)
dNTPs (νουκλεοτίδια)
Ρυθμιστικό διάλυμα και ιόντα μαγνησίου (Mg^{2+})

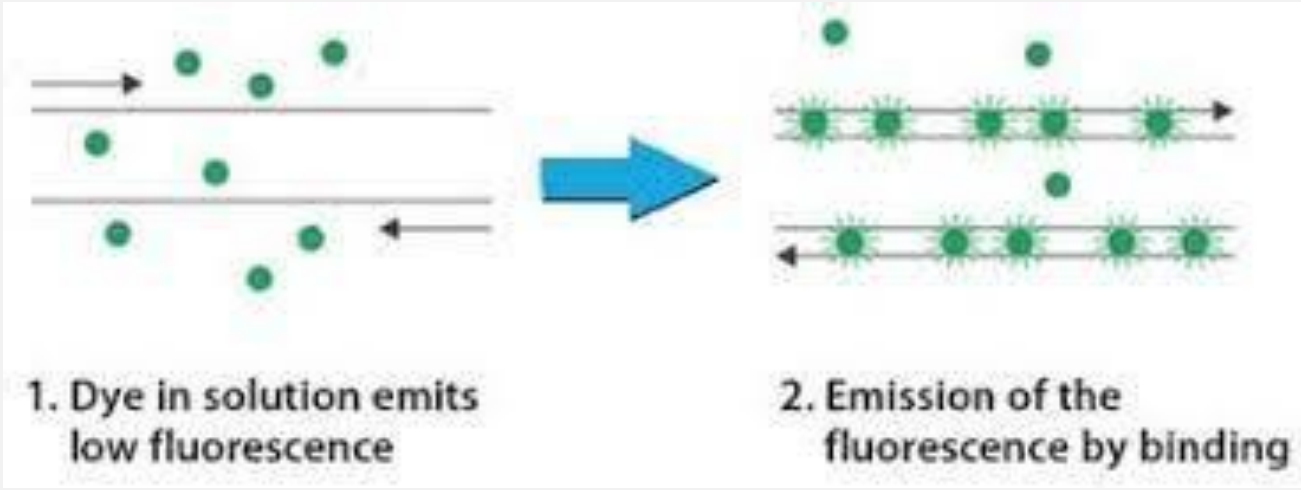
Ποσοτική RT-PCR (qRT-PCR)
Η ποσοτική RT-PCR παρακολουθεί την ενίσχυση του DNA σε πραγματικό χρόνο μέσω φθοριζόντων χρωμάτων ή ανιχνευτών (π.χ. SYBR Green, TaqMan). Είναι ιδανική για **ακριβή μέτρηση της έκφρασης γονιδίων**.

Το SYBR Green **προστίθεται στο μείγμα αντίδρασης** της RT-qPCR πριν ξεκινήσει η ενίσχυση. Δηλαδή:
•Βρίσκεται **διαλυμένο στο αντιδραστήριο** (reaction mix).
•Συνδέεται **ειδικά με δίκλωνο DNA (dsDNA)** καθώς αυτό σχηματίζεται κατά την PCR.
•Δεν ενσωματώνεται στο DNA, αλλά **προσκολλάται εξωτερικά** στις δίκλωνες περιοχές.

•Όταν το DNA ενισχύεται, το SYBR Green **δεσμεύεται στο δίκλωνο DNA**.
•Η δέσμευση προκαλεί **αύξηση της φθορισμότητας**, η οποία **μετριέται σε κάθε κύκλο** από τον θερμοκυκλωτή.
•Η **ένταση του σήματος** είναι ανάλογη με την ποσότητα του DNA → άρα και του αρχικού RNA.

Το SYBR Green είναι **γενικός δείκτης** και μπορεί να δεσμευτεί σε **μη ειδικά προϊόντα PCR** (π.χ. primer dimers). Γι' αυτό απαιτείται **ανάλυση καμπύλης τήξης (melting curve)** για να επιβεβαιωθεί η ειδικότητα.


A. SYBR Green
Primer Extension


1. Dye in solution emits low fluorescence
2. Emission of the fluorescence by binding

Μετά την ολοκλήρωση της RT-qPCR, ο θερμοκυκλωτής αυξάνει **σταδιακά τη θερμοκρασία** και παρακολουθεί τη **φθορισμότητα** του SYBR Green καθώς το δίκλωνο DNA **αποδιατάσσεται (λιώνει)**.

- **Πώς λειτουργεί;**
- **Κατά την αύξηση της θερμοκρασίας**, το δίκλωνο DNA αρχίζει να διαχωρίζεται σε μονόκλωνα.
- Το **SYBR Green αποδεσμεύεται**, με αποτέλεσμα **μείωση της φθορισμότητας**.
- Ο θερμοκυκλωτής καταγράφει αυτή τη μεταβολή και δημιουργεί την **καμπύλη τήξης**.

