

## บทที่ 2

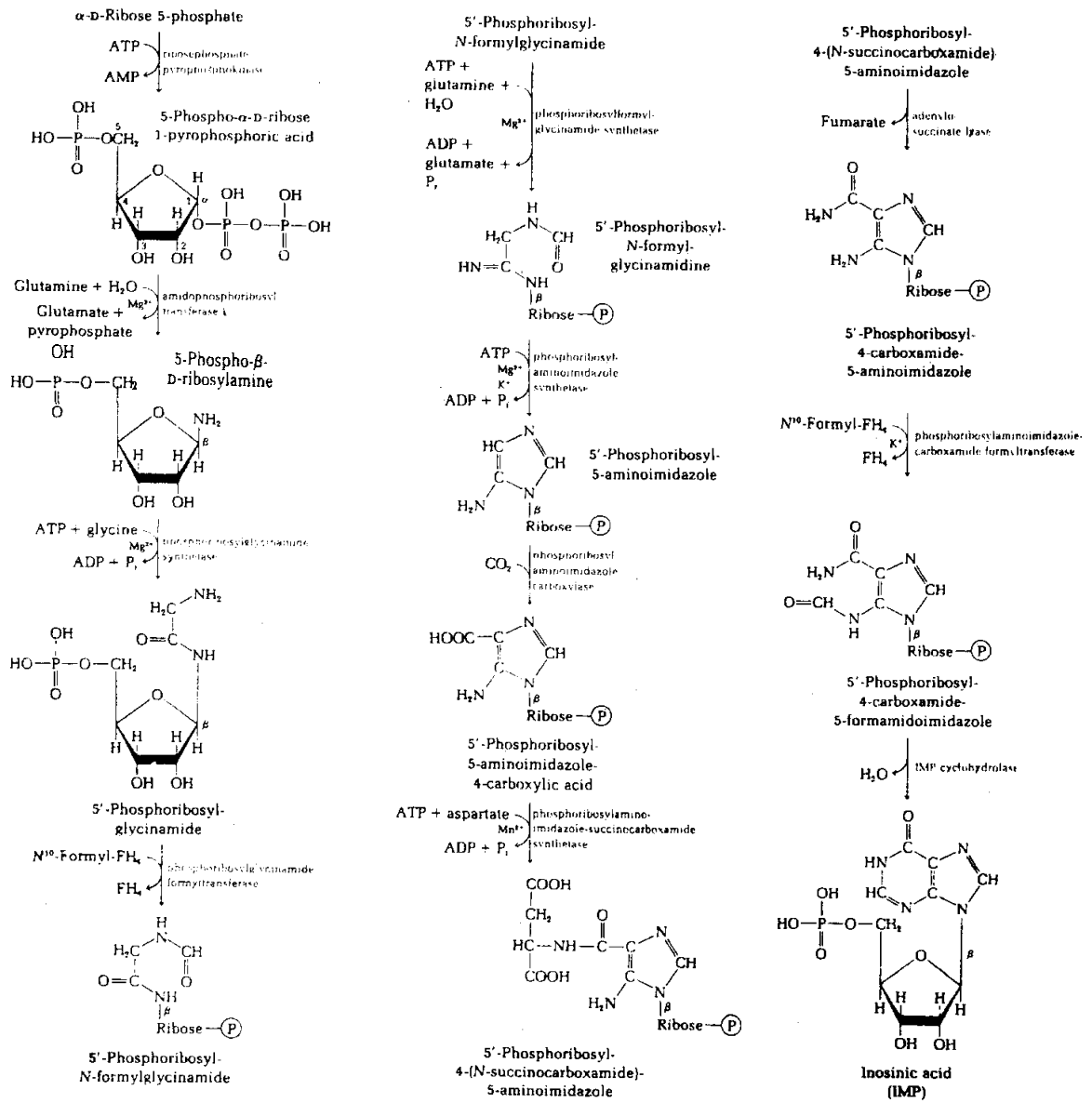
# เมตาบอลิซึมของนิวคลีโอไทด์

## (Metabolism of Nucleotides)

การสังเคราะห์เพียวรีนและไพริมิดีนในสิ่งมีชีวิตเกือบทุกชนิด จะใช้สารตั้งต้นง่ายๆ และวิธีการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์นี้จะต้องมีการควบคุมอย่างรัดกุม เนื่องจากนิวคลีโอไทด์เป็นส่วนประกอบของกรดนิวคลีอิก (nucleic acid) ซึ่งมีบทบาทในทางพันธุกรรม

### การสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

วิธีการสังเคราะห์สามารถแบ่งกล่าวได้เป็น 2 ช่วง ช่วงแรกตั้งแต่เริ่มต้นวิธีจนได้ผลิตภัณฑ์ตัวแรกของวิธีที่มีวงแหวนเพียวรีนอย่างสมบูรณ์ (รูปที่ 2-1) จากนั้นจะเป็นช่วงที่สองคือมีการสังเคราะห์ต่อจนได้เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ทั้งสองตัว (รูปที่ 2-2)



รูปที่ 2-1 วิธีการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ (ช่วงแรก)

ขั้นตอนแรกเริ่มจากการเติมไพโรฟอสเฟตให้กับ  $\alpha$ -D-ribose-5-phosphate แล้วได้เป็น PRPP สิ่งที่น่าสังเกตคือหมู่ฟอสเฟตของ ATP จะถูกเคลื่อนย้ายไปในรูปของไพโรฟอสเฟต (PP<sub>i</sub>) ขั้นตอนนี้สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยผลิตภัณฑ์สุดท้ายของวิถีคือกรดคอตินิลิก (adenylic acid หรือ AMP) และกรดกัวนิลิก (guanylic acid หรือ GMP)

ต่อไป PRPP จะทำปฏิกิริยากับกลูตามีน แล้วหมู่อมิโนจากส่วนที่เป็น amide ของกลูตามีนจะไปแทนที่หมู่ไพโรฟอสเฟตที่ตำแหน่ง 1 ของน้ำตาลไรโบส (ribose) ได้เป็น 5-phospho- $\beta$ -D-ribosyl-1-amine ในไตรเจนอะตอมจากกลูตามีนนี้เป็นอะตอมแรกที่จะทำให้เกิดวงแหวนเพียวรีน โดยเมื่อเกิดเป็นวงแหวนเพียวรีนเรียบร้อยแล้ว ในไตรเจนตัวนี้จะเป็นในไตรเจนอะตอมที่ตำแหน่ง 9 ความสำคัญอีกประการของปฏิกิริยานี้ก็คือคาร์บอนอะตอมที่ตำแหน่ง 1 ของน้ำตาลไรโบสจะเปลี่ยนการจัดตัว (configuration) จาก  $\alpha$  มาเป็น  $\beta$  ซึ่งการจัดตัวแบบ  $\beta$  ก็จะคงอยู่ตลอดไปจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย นอกจากนี้ขั้นตอนนี้เป็นจุดควบคุมจุดที่สองในการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ด้วยโดยจะถูกยับยั้งได้ด้วย AMP, GMP และยาปฏิชีวนะตัวหนึ่งคือ Azaserine

ขั้นตอนที่สาม หมู่คาร์บอกซิลของกลัยซีนจะทำปฏิกิริยากับหมู่อมิโนของ 5-phospho-ribosylamine แล้วเกิดการเชื่อมต่อระหว่างกลัยซีนกับหมู่อมิโนที่มีอยู่เดิมได้เป็น 5'-phospho- $\beta$ -D-ribosyl-1-glycinamide ซึ่งขณะนี้วงแหวนเพียวรีนก็จะมีอะตอมที่ 4, 5, 7 และ 9 แล้วส่วนอะตอมที่เหลือจะถูกเติมเข้ามาทีละตัว

ขั้นตอนต่อไป เป็นการเติมหมู่ฟอร์มิล (-CHO-) ซึ่งมีคาร์บอน 1 ตัวเข้าที่หมู่อัลฟาอมิโนซึ่งเป็นอิสระของ 5'-phosphoribosylglycinamide คาร์บอนนี้จะเป็นคาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 8 ของวงแหวนเพียวรีน สำหรับฟอร์มิลที่ได้มานั้นได้จาก N<sup>10</sup>-formyltetrahydrofolate

จากนี้กลูตามีนจะให้หมู่อมิโนได้เป็นในไตรเจนอะตอมตำแหน่งที่ 3 ของวงแหวนเพียวรีน ปฏิกิริยานี้ถูกยับยั้งได้ด้วย Azaserine เช่นกัน สำหรับผลิตภัณฑ์ของขั้นตอนนี้คือส่วนที่เป็นวงแหวนอิมิดาโซล (imidazole ring) ของเพียวรีน ซึ่งในขั้นตอนต่อไปวงแหวนอิมิดาโซลนี้จะถูกปิดโดยเอาโมเลกุลของ H<sub>2</sub>O ออก 1 โมเลกุล ได้เป็น 5'-phosphoribosyl-5-aminimidazole ขั้นตอนนี้ต้องการพลังงานจาก ATP ด้วย

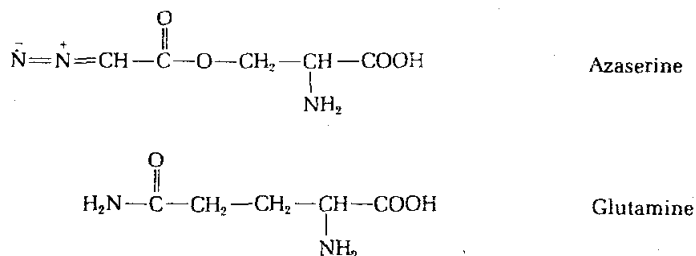
เมื่อได้วงแหวนอิมิดาโซลแล้ว ต่อไปจะเกิดปฏิกิริยาคาร์บอกซิเลชัน ได้คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 6 จากคาร์บอนไดออกไซด์ จากนั้นเพียวรีนจะได้ในไตรเจนอะตอมตำแหน่งที่ 1 โดยการเติมกรดแอสพาทิกเข้าไปแล้วตัดส่วนฟูมาเรทออกเพื่อให้เหลือแต่หมู่อมิโน

คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 ซึ่งเป็นตัวสุดท้ายของเพียวรีน จะได้มาจากการเคลื่อนย้าย

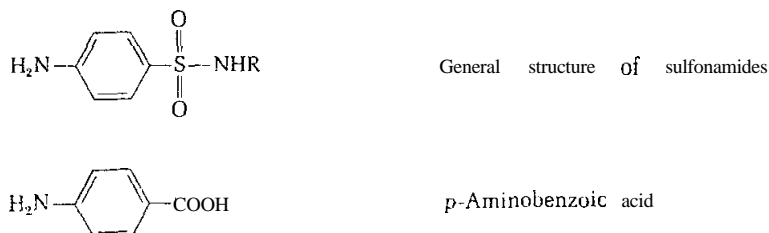
หมู่ฟอร์มิลของ N<sup>10</sup>-formyltetrahydrofolate เข้าไปในวงแหวน แล้ววงแหวนจะถูกปิดโดยการกำจัด H<sub>2</sub>O ออกมา ได้ผลิตภัณฑ์โรโบนิวคลีโอไทด์ชื่อ Inosinic acid (IMP) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ตัวแรกของวิถีที่มีวงแหวนเพียวรีนอย่างสมบูรณ์ การปิดของวงแหวนนี้ต่างจากการปิดของวงแหวนอิมิดาโซลคือไม่ต้องการพลังงานจาก ATP

ในวิถีช่วงที่กล่าวมานี้ จะมีบางขั้นตอนที่สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยยาปฏิชีวนะบางประเภท ซึ่งได้แก่

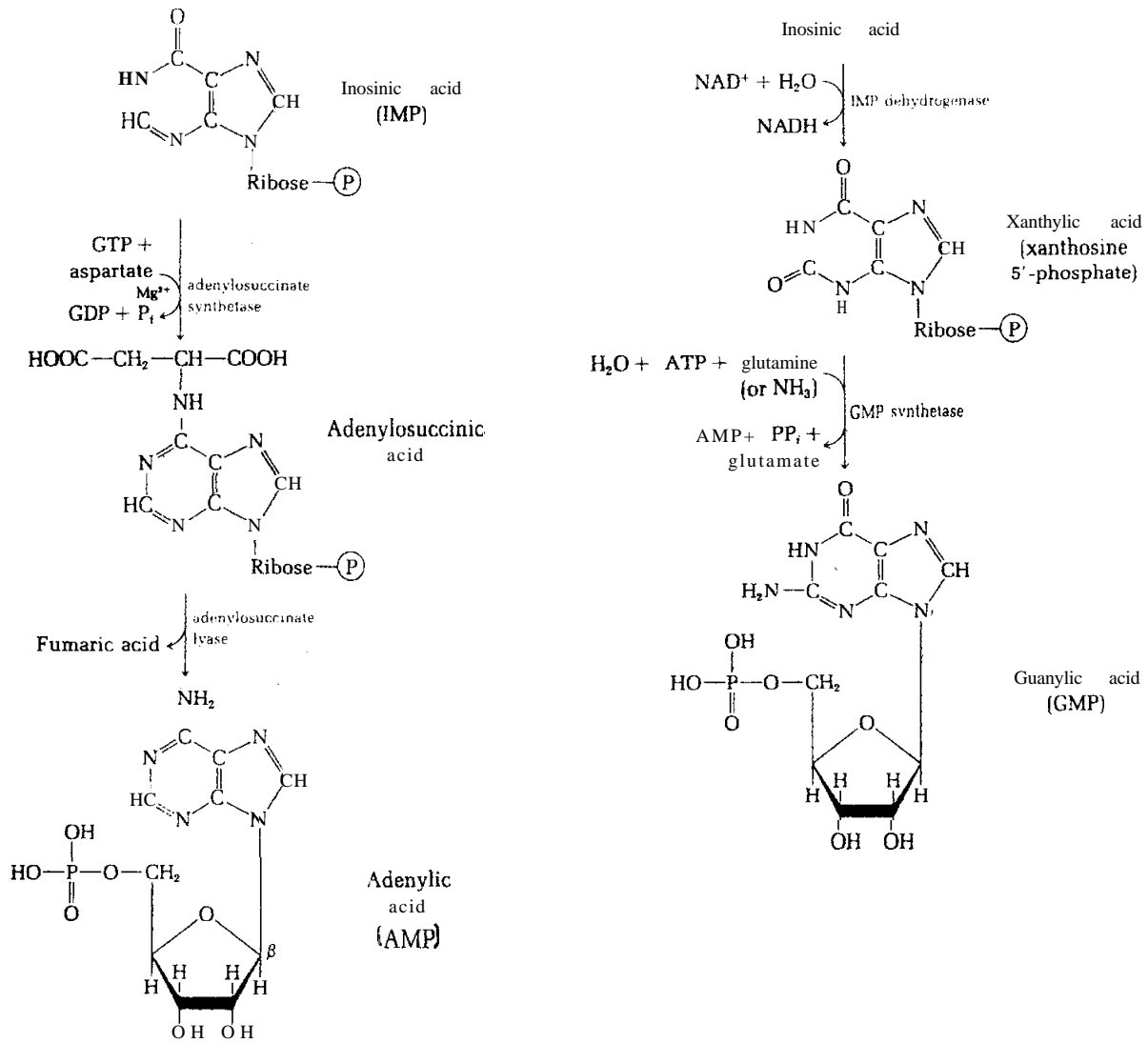
**1. Azaserine** ได้มาจาก Streptomyces สามารถยับยั้งขั้นตอนที่มีการเคลื่อนย้ายหมู่ amide ของกลูตามีน ทั้งนี้เพราะ Azaserine มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับกลูตามีน



**2. Sulfonamides** เป็นยาปฏิชีวนะที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับส่วน p-amino benzoic acid ของกรดโฟลิก (folic acid) ดังนั้นจะยับยั้งการสังเคราะห์ tetrahydrofolate ด้วย



เมื่อได้ IMP แล้ว วิธีการสังเคราะห์เพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์ก็จะแยกเป็น 2 ทางเพื่อให้ได้ AMP และ GMP ต่อไป (รูปที่ 2-2)

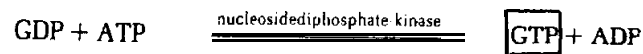
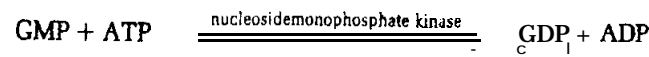


รูปที่ 2-2 วิธีการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ (ช่วงหลัง)

การสังเคราะห์ AMP จาก IMP จะมีการเปลี่ยนที่จุดเดียวคือ คาร์บอนิลออกซิเจน (carbonyl oxygen) ที่ตำแหน่ง 6 ของ IMP จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของหมู่เอมิโน โดยหมู่เอมิโนนี้จะได้มาจากการเติมกรดแอสพาทิกเข้าไปที่คาร์บอนตำแหน่ง 6 ของ IMP แล้วตัดส่วนฟูมาเรทออกก็จะเหลือแต่หมู่เอมิโนทำให้ได้ AMP เกิดขึ้น ส่วนในการสังเคราะห์ GMP นั้น IMP จะถูกดึงเอาไฮโดรเจนออกได้สารตัวกลางตัวหนึ่ง ซึ่งต่อไปจะได้หมู่เอมิโนจากกลูตามีนเข้ามาที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ทำให้เกิด GMP ขึ้น

ถ้าจะดูในแง่ของการใช้พลังงานในการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์จาก ribose-5-phosphate จะพบว่า การเกิด AMP ต้องใช้พลังงานจากการสลายพันธะฟอสเฟต (high-energy phosphate bond) ทั้งสิ้น 7 พันธะ ส่วนการเกิด GMP ใช้ทั้งสิ้น 8 พันธะ ทั้งนี้เพราะในปฏิกิริยาที่ให้ไพโรฟอสเฟตออกมานั้น ไพโรฟอสเฟตจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อทันทีเพื่อเกิดเป็นหมู่ฟอสเฟต ซึ่งในการนี้จะต้องสลายพันธะฟอสเฟตอีก 1 พันธะ

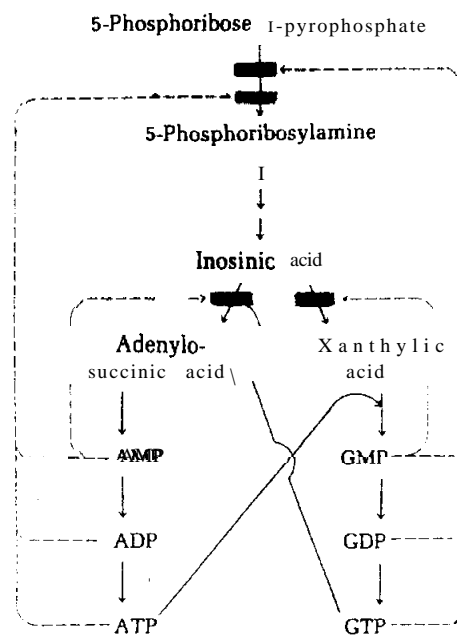
เมื่อได้ GMP แล้ว ก็จะสามารถสังเคราะห์ GDP และ GTP ต่อไปได้ โดยการรับหมู่ฟอสเฟตจาก ATP ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นคือ



### การควบคุมการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

ในแบคทีเรีย *E. coli* จะมีการควบคุมการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ (รูปที่ 2-3) แบ่งได้เป็น 2 ประเภทคือ

1. การควบคุมวิธีช่วงที่ทำให้เกิด IMP ซึ่งก็คือการควบคุมการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด
2. การควบคุมที่วิถีแยกจาก  $\text{IMP} \rightarrow \text{AMP}$  หรือ  $\text{IMP} \rightarrow \text{GMP}$  ซึ่งจะเป็นการควบคุมการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์แต่ละตัวเท่านั้น



รูปที่ 2-3 การควบคุมการสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

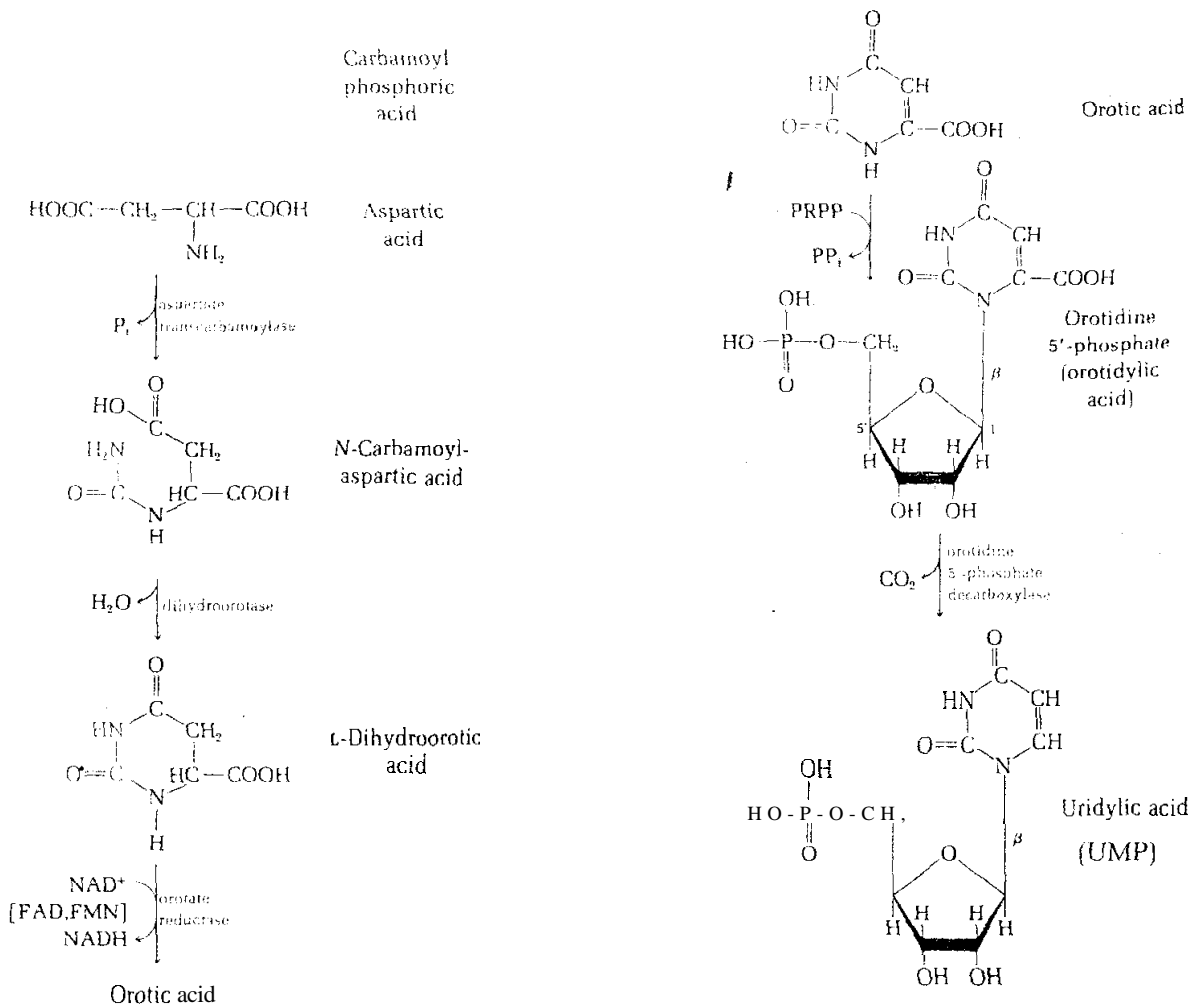
การควบคุมที่วิธีช่วงแรกเกิดที่ขั้นตอน PRPP ถูกเปลี่ยนเป็น 5-phosphoribosylamine ซึ่งจะถูกยับยั้งได้ด้วย AMP, ADP, ATP หรือ GMP, GDP, GTP โดยที่นิวคลีโอไทด์ทั้งสองชนิดนี้จะเข้าทำปฏิกิริยาที่ allosteric site ต่างกันของเอนไซม์ amidophosphoribosyl transferase การควบคุมนี้เป็นแบบ cumulative คือถ้ามีเพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์ทั้งสองชนิดอยู่เป็นจำนวนมาก เอนไซม์ก็จะถูกยับยั้งได้มากกว่าเมื่อมีเพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์อยู่ชนิดเดียว สำหรับการควบคุมที่วิธีแยกไปสู่ AMP และ GMP เกิดได้เป็น 2 แบบย่อยคือ

ก. การควบคุมแบบยับยั้ง คือ AMP จะไปยับยั้งขั้นตอน IMP → adenylosuccinic acid และ GMP จะยับยั้งขั้นตอน IMP → xanthylic acid ซึ่งการควบคุมแบบนี้ก็คือ feedback control นั่นเอง

ข. การควบคุมแบบเร่งปฏิกิริยา คือถ้ามี ATP มากเกินพอ ATP จะไปช่วยเร่งการสังเคราะห์กรดกำมะถัน โดยไปเร่งที่ขั้นตอน xanthylic acid → GMP หรือถ้ามี GTP มากเกินพอ GTP จะไปช่วยเร่งการสังเคราะห์กรดอะมิโน โดยเร่งที่ขั้นตอน IMP → adenylosuccinic acid ซึ่งการควบคุมแบบนี้จะช่วยทำให้อัตราเร็วของการผลิต AMP และ GMP อยู่ในสมดุลย์

## การสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์

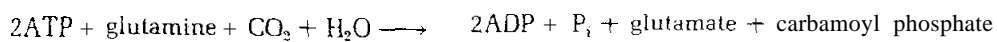
วิธีการสังเคราะห์กรดยูริดีลิก (uridylic acid, UMP) ซึ่งเป็นไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ตัวหนึ่งจะเป็นไปตามรูปที่ 2-4



### รูปที่ 2-4 วิธีการสังเคราะห์ UMP

ขั้นตอนแรกของการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ คือการรวมตัวกันของคาร์บาไมลฟอสเฟตกับกรดแอสพาทิก โดยที่คาร์บาไมลฟอสเฟตจะให้คาร์บอนและไนโตรเจนอย่างละ 1 อะตอมแก่วงแหวนไพริมิดีน ส่วนกรดแอสพาทิกจะให้คาร์บอน 3 อะตอม และไนโตรเจน 1 อะตอม

คาร์บาไมลฟอสเฟตที่ใช้ในขั้นตอนนี้ได้มาจากปฏิกิริยา



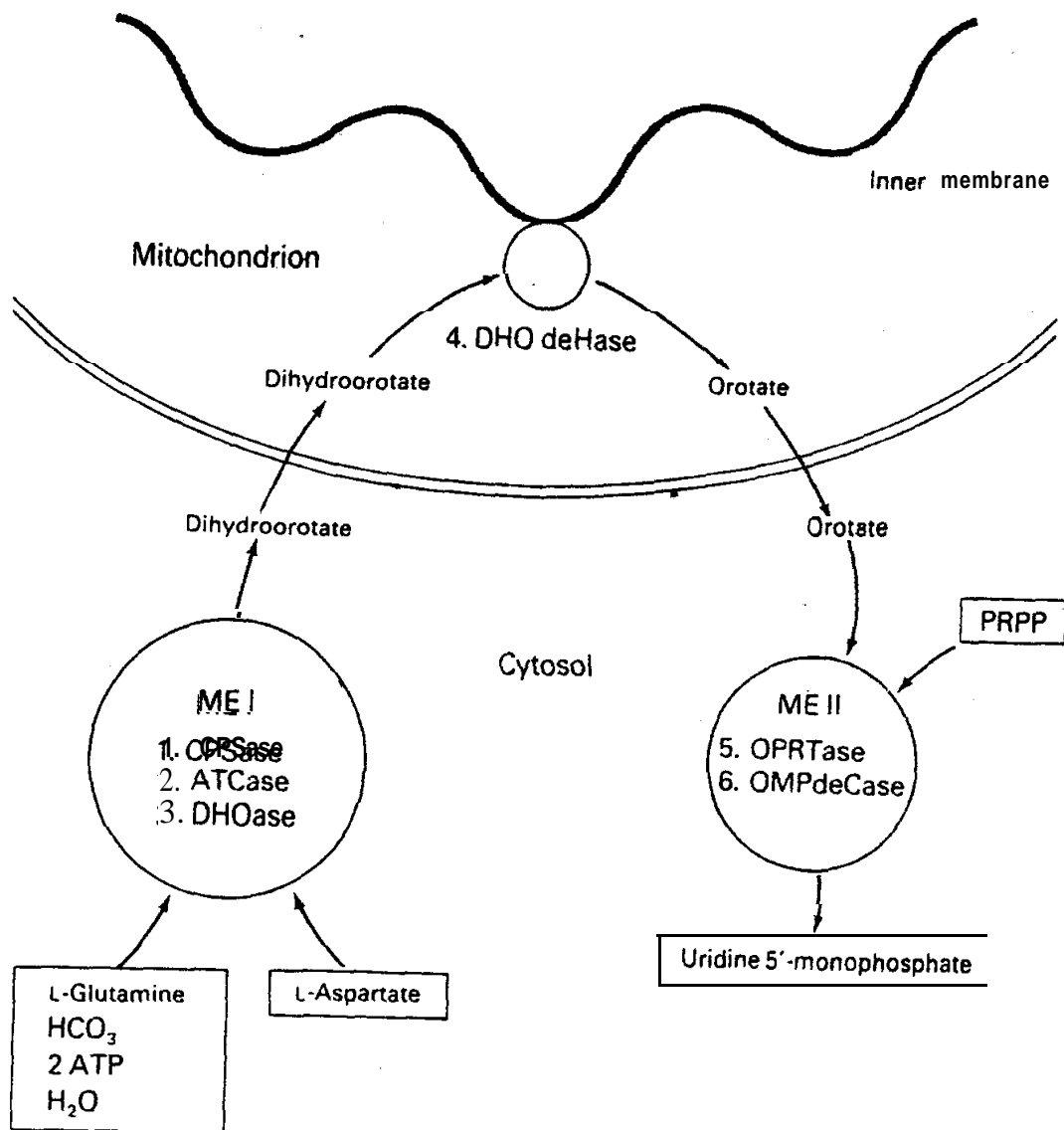
ซึ่งคะตะไลซ์โดยเอนไซม์ carbamoyl phosphate synthase (glutamine) เอนไซม์นี้จะต่าง



จากเอนไซม์ carbamoyl phosphate synthase (ammonia) ที่ใช้ในขั้นตอนการสังเคราะห์คาร์บาโมอิลฟอสเฟตของวัฏจักรยูเรีย โดยที่ carbamoyl phosphate synthase (glutamine) จะพบในไซโตซอล และทำหน้าที่สังเคราะห์คาร์บาโมอิลฟอสเฟตสำหรับใช้ในวิถีไพริมิดีน ส่วนเอนไซม์ carbamoyl phosphate synthase (ammonia) พบในไมโทคอนเดรีย และจะเกี่ยวข้องกับการผลิตยูเรีย

ขั้นตอนต่อไป เป็นการเกิดวงแหวนโดยดึงน้ำออกจากคาร์บาโมอิลแอสพาเตท ได้กรดไดไฮโดรโอโรติก (L-dihydroorotic acid) ซึ่งจะถูกรีดออกซิไดส์ต่อไปได้กรดโอโรติก โดยใช้เอนไซม์ orotate reductase ซึ่งเป็นฟลาวอโปรตีนที่ประกอบด้วย FAD, FMN และมีเหล็กกับซัลเฟอร์เป็นศูนย์กลาง (iron-sulfur center) ออกซิเดชันเกิดได้โดยมี NAD<sup>+</sup> เป็นตัวรับอิเล็กตรอน จากนั้น PRPP จะเข้ามาทำปฏิกิริยาให้ส่วนน้ำตาลไรโบสและฟอสเฟต แล้วเกิดการตั้งคาร์บอนไดออกไซด์ออกในขั้นตอนสุดท้าย ได้กรดยูริคิลิกเกิดขึ้น

เมตาบอลิซึมของการสังเคราะห์ UMP ในไซโตซอลนี้เป็นปรากฏการณ์ที่น่าสนใจเพราะปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 4 ของขบวนการ เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย (รูปที่ 2-5) โดยที่เอนไซม์ที่ใช้ใน 3 ขั้นตอนแรกนั้น จะรวมกันอยู่ในรูปของ multienzyme polypeptide (น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 200,000 ดาลตัน) ซึ่งลักษณะนี้จะพบในกรณีของเอนไซม์ palmitate synthetase ด้วย ไดไฮโดรโอโรเตทซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากโพลีเปปไทด์ จะเข้าสู่ไมโทคอนเดรีย แล้วถูกเปลี่ยนต่อไปเป็นโอโรเตท โดยเอนไซม์ dihydroorotate dehydrogenase อันเป็นเอนไซม์ที่ติดอยู่กับผิวหน้าของผนังชั้นในของไมโทคอนเดรีย เนื่องจากสถานที่ตั้งของเอนไซม์นี้ ทำให้ NADH ที่ได้จากปฏิกิริยา สามารถเข้าสู่ขบวนการหายใจ (aerobic respiration) ได้ด้วย จากนั้นโอโรเตทจะกลับออกสู่ไซโตซอล แล้วถูกเปลี่ยนไปจนเกิด UMP ขึ้นโดยใช้เอนไซม์ที่เหลืออีกสองตัวของวิถี ซึ่งอยู่รวมกันเป็น multienzyme polypeptide (น้ำหนักโมเลกุลประมาณ 55,000 ดาลตัน) อีกเช่นกัน จากการค้นพบโพลีเปปไทด์ที่มีเอนไซม์อยู่รวมกันได้ตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป ดังเช่นที่พบในการสังเคราะห์ไพริมิดีนนี้ หรือในการสังเคราะห์กรดไขมันก็ดี ทำให้คาดคิดว่า โปรตีนที่ทำได้หลายหน้าที่ (multifunctional proteins) นี้ อาจจะเป็นสิ่งธรรมดาที่พบได้เสมอ ๆ ในขบวนการสังเคราะห์สารของยูคาริโอท



รูปที่ 2-5 แผนผังแสดงที่อยู่ของเอนไซม์ทั้งหกชนิด ที่ใช้ในขบวนการสังเคราะห์ UMP ในสัตว์ โดย ME I คือ multienzyme 1 อันประกอบด้วย carbamoyl phosphate synthase (CPSase), aspartate transcarbamoylase (ATCase) และ dihydroorotase (DHOase); DHO deHase คือ dihydroorotate dehydrogenase, และ ME II คือ multienzyme II ซึ่งประกอบขึ้นจาก orotate phosphoribosyltransferase (OPRTase) และ orotidine 5'-monophosphate decarboxylase (OMPdeCase)

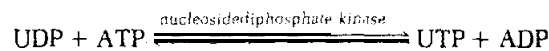
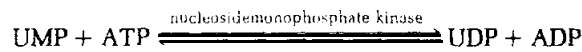
การสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์นี้ ถ้าจะเปรียบเทียบกับ การสังเคราะห์เพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์ จะมีสิ่งแตกต่างกันพอจะสรุปได้คือ

1. วิธีการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ จะง่ายและสั้นกว่าวิธีของเพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์

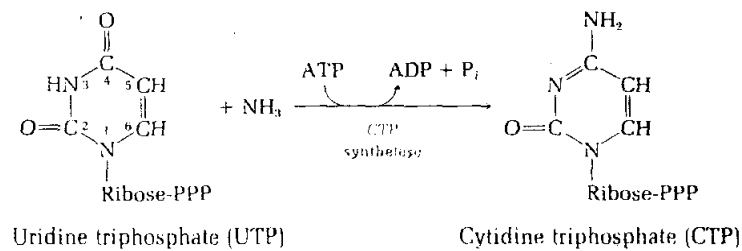
2. ในการสังเคราะห์เพียวรีนโรโบนิวคลีโอไทด์ PRPP จะเข้าสู่วิถีเพื่อให้ส่วนน้ำตาลไรโบส และฟอสเฟตตั้งแต่ขั้นตอนต้นๆ คือตั้งแต่ก่อนที่จะเริ่มมีการสร้างวงแหวนเพียวรีนขึ้น แต่ในการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ PRPP จะเข้าสู่วิถีหลังจากที่วงแหวนไพริมิดีนถูกสร้างขึ้นแล้ว

3. ในการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ NADH ที่เกิดขึ้นในขั้นตอนของการเปลี่ยนกรดไดไฮโดรโอโรติกเป็นกรดโอโรติกนั้นสามารถเข้าสู่ขบวนการ oxidative phosphorylation แล้วได้ 3 ATP ฉะนั้นถ้าจะดูในแง่ความสมดุลงของพลังงาน จะพบว่าการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์เป็นวิธีที่ได้เปรียบทางด้านพลังงาน เนื่องจากทั้งวิธีนี้ใช้ ATP ไปในปฏิบัติการการสังเคราะห์คาร์บาโมอิลฟอสเฟตเพียง 2 โมเลกุลเท่านั้น

UMP จะเป็นสารเริ่มต้นในการสังเคราะห์ไซทิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ (CTP) ต่อไป โดยที่ CTP นี้ก็เป็นไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์อีกตัวหนึ่ง ก่อนจะเริ่มต้นสังเคราะห์ CTP UMP ต้องถูกเติมหมู่ฟอสเฟตก่อนให้ได้เป็น UTP โดยปฏิกิริยา



จากนี้ UTP จะถูกเติมหมู่อมิโนที่ตำแหน่ง 4 ของวงแหวนไพริมิดีนได้เป็น CTP ซึ่งในปฏิกิริยานี้ต้องใช้พลังงานจาก ATP ด้วย



วิธีการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์นี้ อาจจะทำให้เกิดความบกพร่องทางพันธุกรรม ขึ้นได้ ซึ่งจะทำให้เกิดโรคบางชนิด ตัวอย่างเช่น โรคที่เรียกว่า Orotic aciduria อันเป็นโรคที่เป็นแต่กำเนิด สาเหตุของโรคก็คือ การที่เอนไซม์ phosphoribosyl transferase และ decarboxylase ของ multienzyme polypeptide อันที่ 2 (Me II) ทำงานได้น้อยลง ทำให้มีการดิวโรติกสะสมอยู่เป็นจำนวนมากในกระแสเลือด แล้วขับออกทางปัสสาวะ เด็กที่ป่วยเป็นโรคนี้อาจจะไม่เจริญเติบโตตามปกติ และการสร้างเซลล์เม็ดเลือดแดงก็จะผิดปกติด้วย ทำให้เกิดโรคโลหิตจางชนิด megaloblastic anemia อาการเหล่านี้จะบรรเทาลงได้โดยให้อาหารที่มียูริดีนหรือไซทิดีนสูงแก่ผู้ป่วย

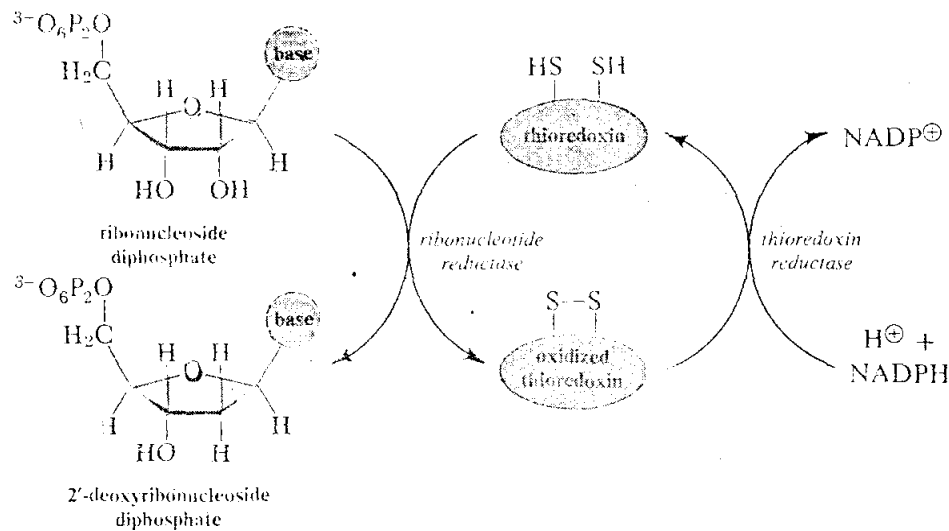
## การควบคุมการสังเคราะห์ไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์

การควบคุมจะเป็นแบบ feedback control คือผลิตภัณฑ์สุดท้ายของวิธีจะมายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ aspartate transcarbamoylase สิ่งที่น่าสังเกตก็คือ ตัวที่จะมายับยั้งเอนไซม์นี้จะแตกต่างกันไปในสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด ตัวอย่างเช่น ถ้าเป็น *E.coli* ตัวยับยั้งคือ CTP แต่ถ้าเป็น *Pseudomonas fluorescens* ตัวยับยั้งที่ใช้จะเป็น UTP ในพืชชั้นสูงบางชนิดตัวยับยั้งคือ UMP ส่วนในกรณีของ *Bacillus subtilis* ปรากฏว่าเอนไซม์นี้จะไม่ถูกยับยั้งเลย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเอนไซม์ aspartate transcarbamoylase ในแบคทีเรียนี้ไม่มีหน่วยย่อยควบคุม (regulatory subunit) ก็ได้

การควบคุมอีกระดับหนึ่งคือการยับยั้งเอนไซม์ ribose phosphate pyrophosphokinase ซึ่งตัวยับยั้งได้แก่ทั้งไพริมิดีนและเพียวรีนนิวคลีโอไทด์ ดังนั้นเมื่อสังเคราะห์ PRPP ไม่ได้ การสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ทั้งสองประเภทนี้ก็จะหยุดชะงักไปด้วย

## การสังเคราะห์ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์

ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ (deoxyribonucleotide) เกิดจากการรีดิวส์คาร์บอนอะตอมตำแหน่งที่ 2 ของน้ำตาลไรโบสของไรโบนิวคลีโอไทด์ ใน *E. coli* ไรโบนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต (ribonucleoside diphosphate) ทั้ง 4 ตัวคือ ADP, GDP, UDP และ CDP จะถูกรีดิวส์ให้อยู่ในรูปของดีออกซีอนุภาค คือ d ADP, d GDP, d UDP และ d CDP ตามลำดับ โดยอาศัยการทำงานของไทโอรีดอกซิน (thioredoxin) ดังปฏิกิริยา

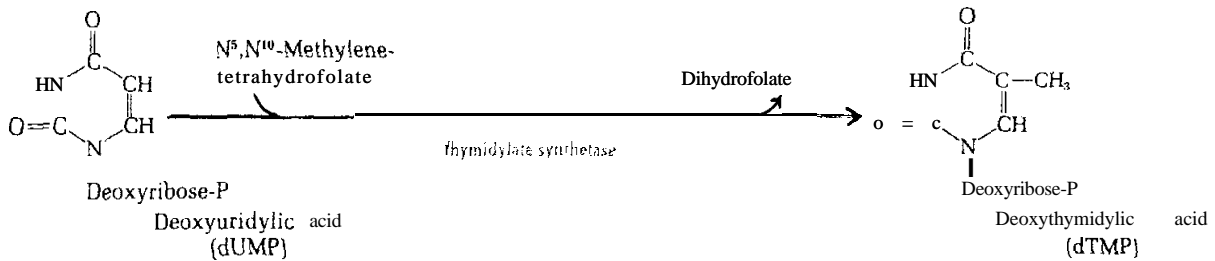


ไทโอรีดอกซินเป็นโปรตีนที่คงทนต่อความร้อน (heat-stable protein) มีขนาดเล็กคือประกอบด้วยกรดอะมิโน 108 ตัวมาต่อกัน ในสภาพออกซิไดส์จะมีพันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) ซึ่งเกิดจากซิสเตอีน 2 โมเลกุล ไทโอรีดอกซินจะถูกรีดิวส์โดย NADPH + H<sup>+</sup> ให้อยู่ในสภาพรีดิวส์คือมีหมู่ -SH สองหมู่ จากนั้นไทโอรีดอกซินในรูปรีดิวส์ก็จะส่งผ่านสมมูลย์รีดิวซ์ (reducing equivalents) ไปให้ไรโบนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟตกลายเป็นดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต

ในแบคทีเรียสปีชีส์อื่นๆ เช่น *Lactobacillus*, *Clostridium* จะมีวิธีที่ต่างไปจากนี้ และส่วนมากจะใช้ไรโบนิวคลีโอไซด์ไตรฟอสเฟต (ribonucleoside triphosphate) มากกว่าที่จะใช้ไรโบนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต นอกจากนี้ยังต้องอาศัยโคเอนไซม์ B<sub>12</sub> มาช่วยในการเกิดปฏิกิริยาด้วย

## การสังเคราะห์กรดดีออกซีไธมิดีลิก

กรดดีออกซีไธมิดีลิก (deoxythymidylic acid, dTMP) ซึ่งเป็นส่วนประกอบของ DNA นั้น จะถูกสังเคราะห์ขึ้นจาก dUMP โดยเอนไซม์ thymidylate synthetase เอนไซม์นี้จะคะตะไลซ์ให้เกิดการเติมหมู่เมทิลให้กับเบสยูราซิล (uracil)



## การควบคุมการสังเคราะห์ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์

การควบคุมการสังเคราะห์ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์ (รูปที่ 2-6) จะแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. การควบคุมแบบยับยั้ง d ATP จะเป็นตัวยับยั้งการสังเคราะห์ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟตทั้ง 4 ตัวคือ d ADP, d GDP, d UDP และ d CDP

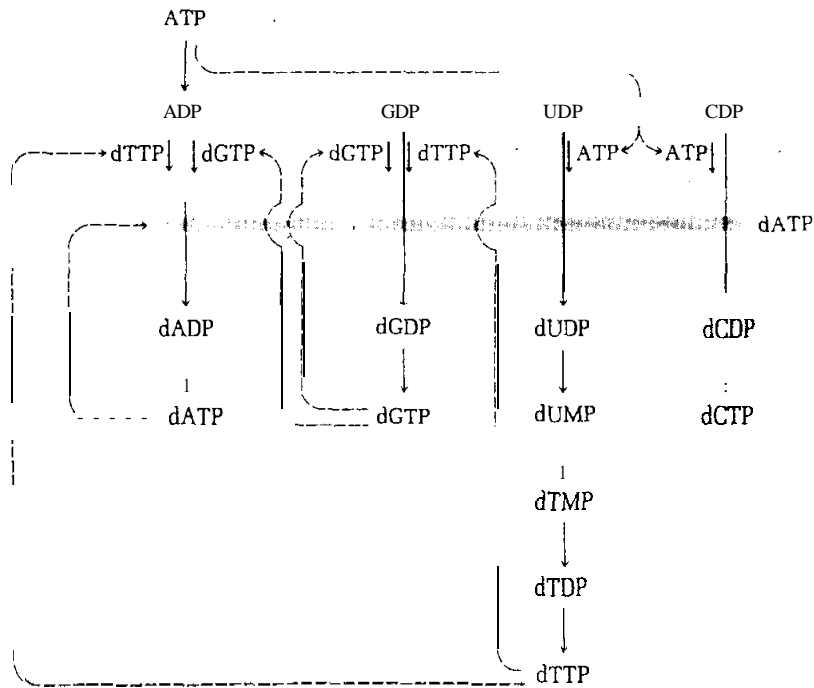
2. การควบคุมแบบเร่ง ตัวเร่งจะมีทั้งหมดด้วยกัน 3 ตัวคือ

ก. ATP จะเร่งการรีดิวส์ UDP เป็น d UDP และ CDP เป็น d CDP

ข. d GTP จะเร่งการรีดิวส์ ADP เป็น d ADP และ GDP เป็น d GDP

ค. d TTP จะเร่งการรีดิวส์ ADP เป็น d ADP และ GDP เป็น d GDP

โดยที่การควบคุมทั้งแบบยับยั้งและแบบเร่งนี้ จะเกิดที่ปฏิกิริยาระหว่างรีดิวส์ไทโอไรโดซินกับนิวคลีโอไซด์ไดฟอสเฟต ซึ่งคะตะไลซ์ด้วยเอนไซม์ ribonucleoside diphosphate reductase

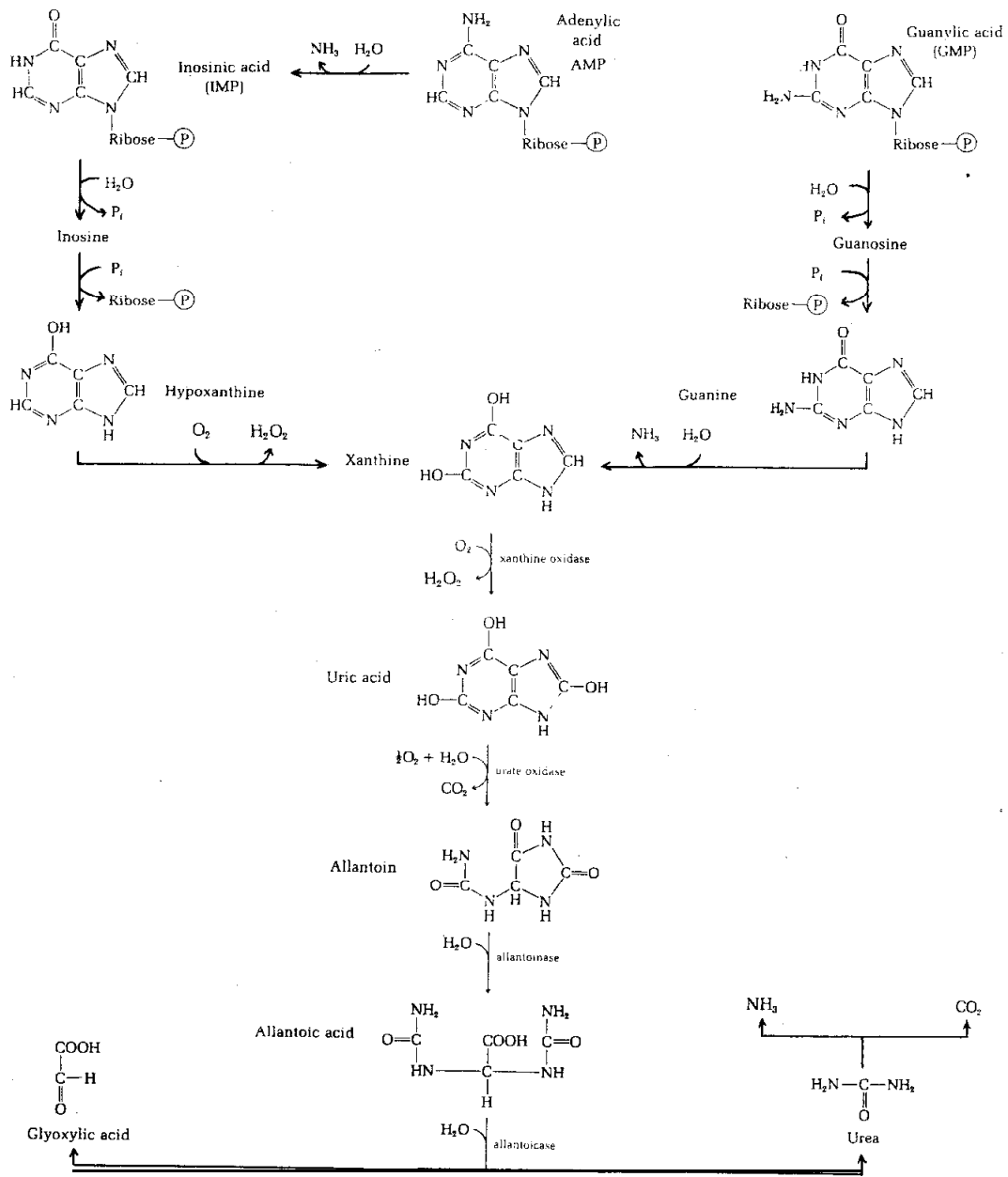


รูปที่ 2-6 การควบคุมการสังเคราะห์ดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์

การควบคุมอีกอันหนึ่งคือควบคุมเอนไซม์ ribose phosphate pyrophosphokinase ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ PRPP ดังที่ได้กล่าวมาแล้ว ทั้งนี้เพราะ PRPP เป็นตัวให้น้ำตาลไรโบส และฟอสเฟตของทั้งไรโบนิวคลีโอไทด์และดีออกซีไรโบนิวคลีโอไทด์

## การสลายเพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

ในสัตว์ชั้นสูง กรดนิวคลีอิกจะถูกย่อยโดยเอนไซม์นิวคลีเอสได้เป็นนิวคลีโอไทด์ แล้วจะถูกไฮโดรไลซ์ต่อไปได้เบสเพียวรีนหรือไพริมิดีนอิสระ เบสพวกนี้ถ้าไม่ถูกนำกลับไปใช้ใหม่ ก็จะถูกสลายต่อจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายขับออกนอกร่างกาย สำหรับการสลายเพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์นั้น ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จะต่างกันแล้วแต่ชนิดของสัตว์ เช่น สัตว์มีกระดูกสันหลัง พวกคน, ลิง, นก และสัตว์เลื้อยคลานบางชนิดจะมีผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดยูริก (รูปที่ 2-7) ในขณะที่สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมอื่นๆ, เต่า, หอย จะได้ allantoin ในปลาบางชนิดจะได้กรด allantoin แต่ปลาส่วนใหญ่และสัตว์ครึ่งบกครึ่งน้ำจะได้เป็นยูเรีย สำหรับในสัตว์น้ำอื่นๆ จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นแอมโมเนีย



รูปที่ 2-7 การสลายเพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์

เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ทั้ง AMP และ GMP จะถูกสลายจนได้ตัวกลางร่วมกันตัว



หนึ่งก่อนคือแซนทีน (xanthine) จากนั้นจึงจะมีการเปลี่ยนแปลงให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายต่อไปตามชนิดของสิ่งมีชีวิต โดยในกรณีของ AMP เริ่มต้นจะถูกดึงเอาหมู่แอมโมเนียมออก ได้เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์อีกตัวหนึ่งคือ IMP ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์เอาส่วนฟอสเฟตออก แล้วต่อไปส่วนน้ำตาลไรโบสก็จะถูกตัดออกไปในรูปของไรโบสฟอสเฟตด้วย ทำให้เกิดไฮโปแซนทีน (hypoxanthine) ขึ้น จากนั้นไฮโปแซนทีนจะถูกออกซิไดส์ต่อไปได้แซนทีน สำหรับ GMP จะมีการสลายโดยตรงจนได้แซนทีน โดยไม่มีการเกิดเป็นเพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ตัวอื่นก่อน กล่าวคือ GMP จะถูกไฮโดรไลซ์เอาส่วนฟอสเฟตออก แล้วต่อมาส่วนน้ำตาลไรโบสก็จะถูกตัดออกในรูปของไรโบสฟอสเฟตเช่นกัน ได้เบสกวานีน (guanine) เกิดขึ้น ซึ่งจะถูกไฮโดรไลซ์เอาหมู่เอมิโนออกโดยใช้เอนไซม์ xanthine oxidase ได้เป็นแซนทีน

แซนทีนจะถูกออกซิไดส์โดย xanthine oxidase อีกครั้ง ได้กรดยูริกเกิดขึ้น สำหรับสัตว์ที่มีไตมีผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดยูริก ก็จะมีการไฮโดรไลซ์ต่อไปเรื่อยๆ จนกว่าจะได้ผลิตภัณฑ์ตัวที่ต้องการ จึงหยุดวิธีการสลายเพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ลงที่ขั้นตอนนั้น

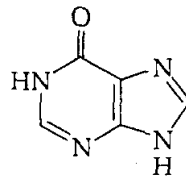
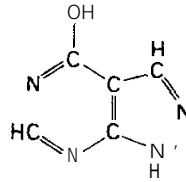
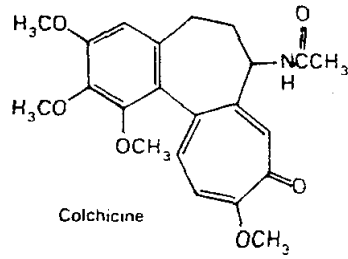
ในมนุษย์ เพียวรีนที่ถูกเปลี่ยนเป็นกรดยูริกและขับออกนอกร่างกายนี้จะเป็นเพียงส่วนน้อยเท่านั้น โดยที่ส่วนใหญ่ของเพียวรีนจะถูกร่างกายนำกลับไปใช้ใหม่ แต่ถ้าเมื่อไรก็ตามที่กรดยูริกถูกสร้างขึ้นมาก และไตไม่สามารถขับออกได้ในปริมาณที่ควร ทั้งสองสาเหตุนี้จะทำให้กรดยูริกในกระแสเลือดเพิ่มขึ้นมาก โดยที่ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของเกลือโซเดียมยูเรท (monosodium urate) ซึ่งไม่ค่อยละลายน้ำ ดังนั้นก็จะตกตะกอนเป็นผลึกในปัสสาวะทำให้เกิดนิ่วในไต นอกจากนี้กรดยูริกยังไปตกตะกอนตามข้อต่อของกระดูกด้วย ทำให้เกิดปวดข้ออย่างเฉียบพลัน อันเป็นอาการของโรคเก๊าท์ (gout) และในบางครั้ง มีอุและเท้าจะเปลี่ยนรูปไปบ้าง เนื่องจากการที่มีโซเดียมยูเรทและสารอื่นๆ ไปสะสมอยู่ ลักษณะเช่นนี้เรียกว่า “tophi” แม้ในปัจจุบันนี้จะทราบ



ว่า เก๊าท์เป็นโรคที่เป็นแต่กำเนิด (inborn error) แต่สมมุติฐานของโรค คือสาเหตุที่ทำให้กรดยูริก ถูกผลิตเป็นจำนวนมากนั้นยังไม่ทราบแน่นอนนัก เพียงแต่มีหลักฐานบางประการที่ทำให้ทราบว่าในบุคคลบางคนอาจมีความผิดปกติของเพียวรีนนิวคลีโอไทด์เมตาบอลิซึมเกิดขึ้นคือ การสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์จะไม่สามารถถูกกดคืนได้โดย feedback control โดยเฉพาะอย่างยิ่งในขั้นตอนการเปลี่ยน PRPP เป็น phosphoribosylamine ซึ่งเป็นจุดควบคุมจุดที่สองในวิถีการสังเคราะห์ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเอนไซม์ที่ใช้ในขั้นตอนนี้คือ amidophosphoribosyl transferase เกิดความบกพร่อง หรืออาจเป็นเพราะระดับของ AMP และ IMP ในเซลล์ไม่สูงพอที่จะไปยับยั้งเอนไซม์ ทั้ง ๆ ที่การสังเคราะห์เพียวรีนไรโบนิวคลีโอไทด์ก็เกิดขึ้นอยู่ตลอดเวลา ด้วยอัตราเร็วที่เพิ่มขึ้นด้วย

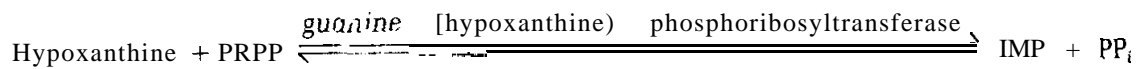
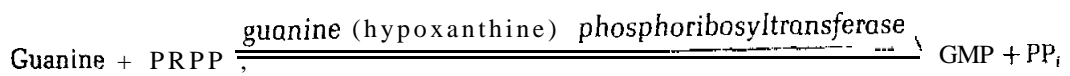
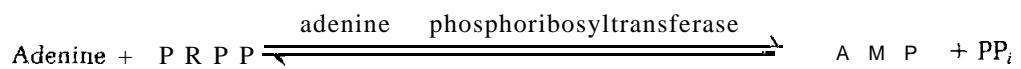
นอกจากความบกพร่องในวิถีเมตาบอลิซึมของเพียวรีนแล้ว ความผิดปกติแต่กำเนิดประการหนึ่งของคาร์โบไฮเดรตเมตาบอลิซึม คือการขาดเอนไซม์ glucose-6-phosphatase ก็สามารถทำให้ผู้ป่วยมีอาการของโรคเก๊าท์ปรากฏด้วย ทั้งนี้เพราะเมื่อไม่สามารถตัดหมู่ฟอสเฟตออกจาก glucose-6-phosphate ได้ ก็จะมีคาร์โบไฮเดรตตัวนี้สะสมอยู่มาก บางส่วนจึงลัด (shunt) ไปเข้าวิถี pentose phosphate แล้วทำให้เกิดการผลิต D-ribose-5-phosphate มากขึ้น ซึ่งสารนี้เป็นตัวตั้งต้นของวิถีการสังเคราะห์เพียวรีนโดยทำให้เกิด PRPP ขึ้น แล้ว PRPP ก็จะเป็นตัวให้ส่วนน้ำตาลไรโบสและฟอสเฟต เพื่อเกิดเป็นเพียวรีนนิวคลีโอไทด์ต่อไป เมื่ออัตราการสังเคราะห์เพียวรีนเพิ่มขึ้นเช่นนี้ ย่อมส่งผลให้เกิดกรดยูริกมากขึ้นด้วย จึงทำให้บุคคลที่ขาด glucose-6-phosphatase มีอาการของเก๊าท์เข้าแทรกด้วย

ผู้เป็นโรคเก๊าท์ จะต้องหลีกเลี่ยงอาหารที่มีกรดนิวคลีอิกสูง เพื่อลดปริมาณเพียวรีนที่เข้าสู่ร่างกาย อาหารพวกนี้ได้แก่เนื้อสัตว์ ในสมัยโบราณจึงเรียกโรคเก๊าท์ว่า “โรคคนรวย” เพราะโรคนี้มักจะเกิดกับผู้มีฐานะพอที่จะบริโภคเนื้อสัตว์เป็นอาหารหลักนั่นเอง นอกจากนี้แล้วยังพบว่า เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ก็มีผลต่อเก๊าท์ด้วย โดยจะทำให้อาการของโรคหนักขึ้นอีก สำหรับยาที่ใช้ควบคุมโรคเก๊าท์ ปัจจุบันมี 2 ชนิดคือ colchicine และ allopurinol ซึ่งตัวหลังนี้มีโครงสร้างคล้ายไฮโปแซนทีน จึงเป็น competitive inhibitor ของ xanthine oxidase จึงช่วยลดการผลิตกรดยูริก

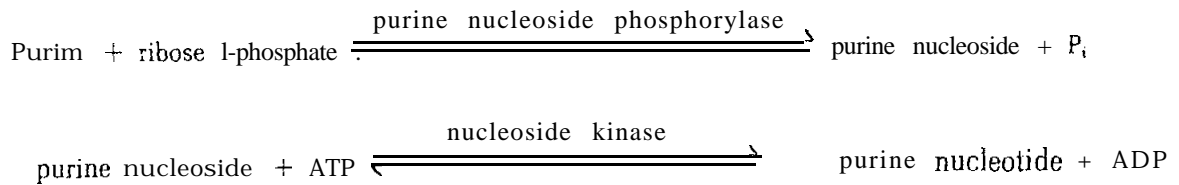


## การนำเพียวรีนกลับไปใช้ (Salvage of Purines)

ในสัตว์มีกระดูกสันหลัง เบสเพียวรีนอิสระจะถูกนำกลับไปใช้ในการสังเคราะห์นิวคลีโอไทด์ โดยปฏิกิริยา



หรืออาจจะเกิดโดยอีกวิธีหนึ่ง (แต่ไม่ใช่วิธีที่สำคัญ) คือ



เนื่องจาก 90% ของเพียวรีนอิสระในมนุษย์จะถูกนำกลับไปใช้ใหม่ ดังนั้นขบวนการนำเพียวรีนกลับไปใช้นี้ จะมีความสำคัญมากในสัตว์มีกระดูกสันหลัง โดยเฉพาะอย่างยิ่งปฏิกิริยาอันแรกที่กำลังกล่าวถึง ถ้าปฏิกิริยานั้นเกิดผิดปกติขึ้นมา จะทำให้เกิดโรค Lesch-Nyhan Syndrome สาเหตุที่ทำให้เกิดโรคนี้ก็คือ ความบกพร่องของเพียวรีนเมตาบออลิสม ที่ทำให้เกิดกรดยูริคมาก โดยผู้ป่วยจะขับกรดยูริคออกกับปัสสาวะ ในอัตราประมาณ 50 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/24 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าผู้ป่วยโรคเก๊าท์ (9 มิลลิกรัม/น้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม/24 ชั่วโมง) สำหรับเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับโรคนี้ก็คือ guanine (hypoxanthine) phosphoribosyl transferase อันเป็นตัวที่จะเคลื่อนย้ายหมู่ไรโบสและฟอสเฟต จาก PRPP ไปให้กัวนีนหรือไฮโปแซนธิน เมื่อขาดเอนไซม์กัวนีนและไฮโปแซนธินถูกนำกลับไปใช้ไม่ได้จึงถูกสลายไปเป็นกรดยูริคสะสมอยู่ในร่างกาย โรค Lesch-Nyhan Syndrome นี้เป็นแต่กำเนิด อาการคือ กล้ามเนื้อกระดูก มีการกัดริมฝีปาก, ลิ้นและปลายนิ้วมือ นอกจากนี้จะมีการชัก และทำให้สมองเสื่อมด้วย ถ้าไม่ต้องการให้ทำร้ายตัวเอง จะต้องให้เด็กพวกนี้ใส่ปลอกแขน (arm restraints) เพื่อป้องกันไม่ให้กัดนิ้วมือได้ ในรายที่เป็นมาก ต้องถอนฟันออก มิฉะนั้น จะกัดลิ้นและริมฝีปากจนผิดรูปร่างไป สำหรับอาการสมองเสื่อมนั้น ไม่ค่อยปรากฏบ่อยนัก โดยที่เด็กป่วยส่วนมากก็จะมีอาการแสดงออกที่แจ่มใสร้ายแรงเป็น

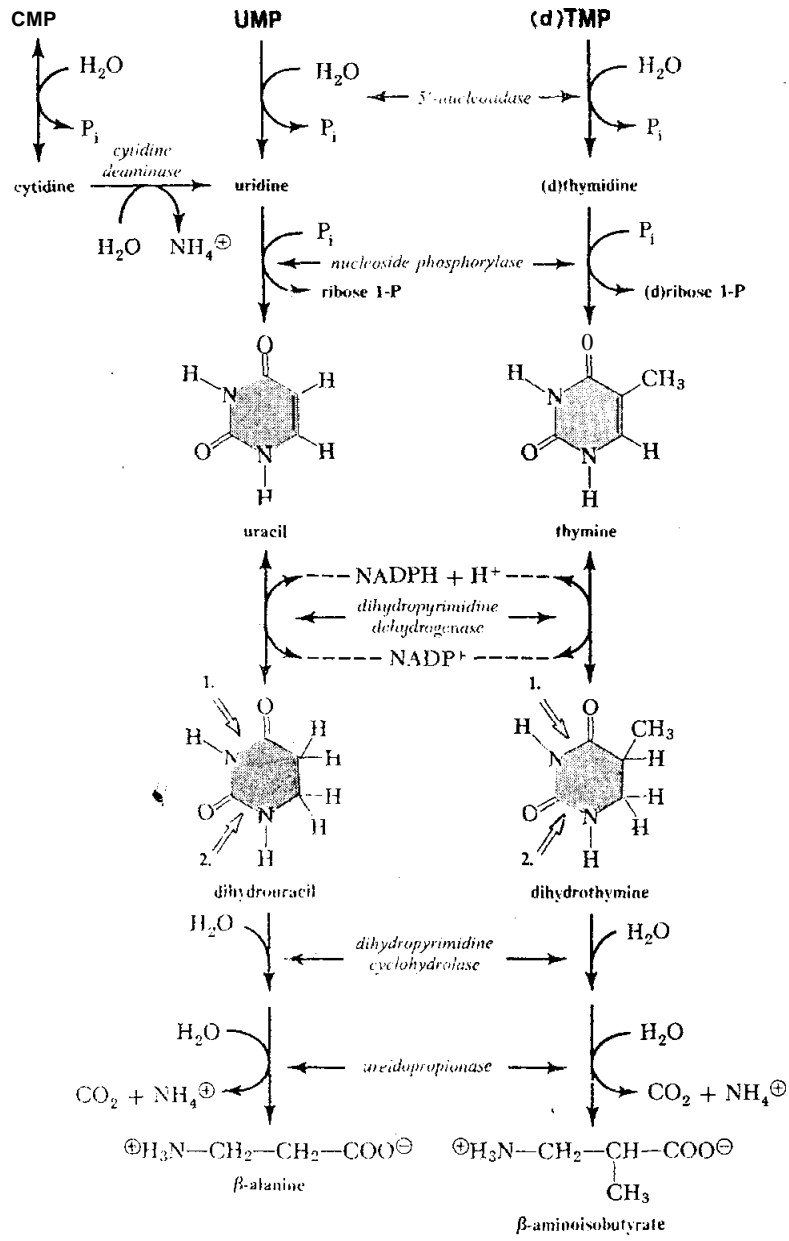


ริมฝีปากของเด็กที่เป็นโรค Lesch-Nyhan Syndrome

ปกติดี หนึ่ง เนื่องจาก Lesch-Nyhan Syndrome เกิดจากความผิดปกติบนโครโมโซม X (recessive X-linked trait) ดังนั้นจะพบอาการของโรคได้บ่อยในทารกเพศชาย ที่เกิดจากราดที่มีโครโมโซมผิดปกติแฝงอยู่

## การสลายไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์

การสลายไพริมิดีนโรโบนิวคลีโอไทด์ (รูปที่ 2-8) เริ่มจากไฮโดรไลซิสเอาส่วนฟอสเฟตออก จากนั้นไซทิดีนจะถูกไฮโดรไลซิสเอาหมู่แอมโมเนียออกกลายเป็นยูริดีน (uridine) ซึ่งจะถูกตัดส่วนน้ำตาลโรโบสออกได้เป็นเบสยูราซิล (uracil) ขึ้น สำหรับไธมีนโรโบนิวคลีโอไทด์ (thymine ribonucleotide) ก็จะถูกไฮโดรไลซิสในทำนองเดียวกันจนได้เบสไธมีนเกิดขึ้น ซึ่งต่อไปทั้งยูราซิลและไธมีนก็จะถูกสลายต่อโดยปฏิกิริยาเหมือนกัน กล่าวคือวงแหวนของเบสจะถูกรีดิวส์ จากนั้นหมู่ amide จะถูกตัดออกโดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส 2 ขั้นตอนด้วยกันได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือ แอมโมเนีย, คาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะมิโน โดยที่ CMP และ UMP จะได้  $\beta$ -alanine ส่วน TMP จะได้  $\beta$ -aminoisobutyrate ผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะถูกขับออกนอกร่างกาย หรืออาจจะถูกนำกลับไปใช้ใหม่ในเมตาบอลิซึมของสารอื่นๆ ตัวอย่างเช่น  $\beta$ -alanine สามารถที่จะถูกนำกลับไปใช้ในการสังเคราะห์โคเอนไซม์ A และ  $\beta$ -aminoisobutyrate ส่วนใหญ่จะถูกขับออกกับปัสสาวะ เป็นต้น



รูปที่ 2-8 วิธีการสลายไพริมิดีนไรโบนิวคลีโอไทด์