D-aminokiseline

Maslać, Matea

Undergraduate thesis / Završni rad

2016

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:819270

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**



Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb







MATEA MASLAĆ
Student 3. godine Preddiplomskog studija kemije na Kemijskom odsjeku
Prirodoslovno-matematički fakultet
Sveučilište u Zagrebu

D-AMINOKISELINE

Završni rad

Rad je izrađen u Zavodu za Biokemiju Kemijskog odsjeka PMF-a

Mentor rada: dr.sc. Boris Mildner, docent

Zagreb, 2016.

Predložak za pisanje Završnog rada na Kemijskom odsjeku PMF-a *Autor predloška: T. Hrenar, datum zadnje promjene: 2010-03-25*
Ovaj dokument je isključivo vlasništvo Kemijskog odsjeka PMF-a u Zagrebu i mogu ga koristiti samo studenti i nastavnici Kemijskog odsjeka za izradu Završnog rada. Dokument se ne smije koristiti u druge svrhe ili distribuirati bez pismene suglasnosti Kemijskog odsjeka PMF-a u Zagrebu.

DATUM POLAGANJA I OCJENA ZAVRŠNOG ISPITA: .....

Mentor rada: dr.sc. Boris Mildner, docent Potpis:

Predstojnik zavoda: dr.sc. Ita Gruić Sovulj, izvanredni profesor Potpis:

Sadržaj

§ Sažetak **7**
POPIS KRATICA 8
§ 1. Uvod **10**
§ 2. Prikaz odabrane teme **11**
2.1. Bakterijska sinteza D-aminokiselina **11**
2.1.1. Mehanizmi sinteze D-aminokiselina *12*
2.1.2. Sinteza D-alanina *15*
2.1.3. Sinteza D-glutamata *15*
2.1.4. D-enentiomeri lizina, arginina i ornitina *16*
2.1.5. Sinteza D-aspartata *16*
2.1.6. Sinteza D-serina *17*
2.1.7. Sinetza D-prolina i cis-D-hidroksiprolina *17*
2.1.8. Sinteza D-enantiomera aminokiselina s razgranatim bočnim ograncima *17*
2.2. D-aminokiseline u mozgu sisavaca **17**
2.2.1. D-Serin *17*
2.2.2. D-Aspartat *18*
2.2.3. D-alanin *19*
2.2.4. D-leucin, D-prolin, D-glutamat *19*
2.3. D-aminokiselinska oksidaza (DAO) **19**
2.3.1. Uloga DAO u mozgu sisavaca *19*
2.3.2. Uloga D-serina i DAO u malom mozgu *20*
2.3.3. Bol i DAO *21*
2.3.4. Uloga DAO u amiotrofičnoj lateralnoj sklerozi (ALS) *21*
2.4. NMDA receptori i šizofrenija **22**
2.5. D-aminokiseline u biotehnologiji **23**
2.6. Daljnji koraci **24**
§ 3. Literaturna vrela **25**

§ Sažetak

D-aminokiseline su stereoizomeri L-aminokiselina. Često se nazivaju neprirodnim aminokiselinama, zbog toga što se dugo vremena smatralo da se D-aminokiseline nalaze samo u nižim organizmima te se njihova prisutnost u tkivima eukariota smatrala neprirodnom. Međutim nekoliko D-aminokiselina nađeno je u mozgu sisavaca. Prednji dio mozga obiluje D-serinom, koji je kofaktor N-metil-D-aspartatnih receptora (NMDA) i potiče neurotransmisiju. D-aminokiselinska oksidaza (DAO), čija je uloga kataliza oksidacijske deaminacije neutralnih i bazičnih aminokiselina, u najvećem dijelu se nalazi u prednjem dijelu mozga. DAO katabolizira D-serin i zbog toga regulira neurotransmisiju. U mozgu mutiranih miševa koji nemaju DAO gen, došlo je do povećanja koncentracije D-serina i ostalih D-aminokiselina. Povećanje koncentracije D-serina utječe na funkcioniranje NMDA receptora, pa dolazi do promjena u mozgu mutiranih miševa. DAO i D-serin imaju važnu ulogu u razvoju mozga i sinaptičkoj plastičnosti. DAO je također povezan i s odgovorom na bol i šizofrenijom. [1]

D-aminokiseline su nužne komponente peptidoglikana (PG) bakterija i problemi u njihovoj sintezi dovode do smrti stanice. Peptidoglikan se sastoji od šećera i oligopeptida. Transpeptidaze povezuju oligopeptidne lance peptidogilkana i tako omogućuju stjenci čvrstoću i oblik. Transpeptidaze su zadužene i za ugradnju D-aminokiselina u peptidoglikan. D-aminokiseline se sintetiziraju racemizacijom ili epimerizacijom α-ugljikova atoma pripadajuće L-aminokiseline pomoću D-aminokiselinskih racemaza ili D-aminokiselinskih epimeraza. Reakcija sinteze (racemizacija) D-aminokiselina zasniva se na otpuštanju protona sa α-ugljikova atoma pri čemu nastaje karbanionski međuprodukt, koji se zatim protonira. Smjer iz kojeg se proton dodaje karbanionskom međuproduktu određuje kiralnost nastale aminokiseline. Aminokiselinske racemaze i epimeraze se dijele na dva razreda, ovisno o tome sadrže li prostetičku skupinu (piridoksal-5-fosfat, PLP) ili ne. Aminokiseline se mogu sintetizirati i stereospecifičnom aminacijom odgovarajuće α-ketokiseline pomoću enzima transaminaza. Transaminaze poput racemaza i epimeraza kataliziraju reverzibilne reakcije i imaju prostetičku skupinu PLP, ali se razlikuju u mehanizmu reakcije. [2]

POPIS KRATICA :

ACTH	Adrenokortikotropni hormon
ALS	Amiotrofična lateralna skleroza
BAR	Aminokiselinska racemaza širokog spektra djelovanja
DAO	D-aminokiselinska oksidaza
DAOX	D-aspartat oksidaza
FAD	Flavin adenin dinukleotid
LTD	Dugotrajno smanjenje sinaptičke aktivnosti
LTP	Dugotrajno pojačanje sinaptičke aktivnosti
NAG	N-acetilglukozamin
NAM	N-acetilmuraminska kiselina
NMDA	N-metil-D-aspartatni receptori
NP	Bioaktivni prirodni produkti
NRP	Neribosomski peptidi
NRPS	Neribosomska peptid sintetaza
PCP	Fenciklidin
PG	Peptidoglikan
PGP	Poli-γ-glutamat
PLP	Piridoksal-5-fosfat
PMP	Piridoksamin-5-fosfat
TA	Teihoična kiselina

§ 1. Uvod

Aminokiseline su gradivni blokovi proteina. Svaka α-aminokiselina sastoji se od središnjeg ugljikova atoma, zvanog α-ugljikov atom, na koji su vezani amino-skupina, karboksilna skupina, vodikov atom, te specifična skupina R. Skupina R obično se naziva i bočnim ogrankom. Zbog četiriju različitih skupina vezanih na α-ugljikov atom, α-aminokiseline su kiralne molekule. One mogu postojati u dvama zrcalno simetričnim oblicima, kao L-izomeri i D-izomeri. Stanični proteini većine organizama sadržavaju samo L-aminokiseline. Kod gotovo svih aminokiselina L-izomer ima apsolutnu konfiguraciju S,a ne R. Ne zna se zašto aminokiseline u proteinima imaju relativnu konfiguraciju L. Čini se da je izbor između L i D bio slučajan, no kad je jednom bio učinjen izbor je zadržan tijekom evolucijske povijesti.[3] Zbog toga su se D-aminokiseline smatrale neprirodnim aminokiselinama i mislilo da se da se one ne nalaze u višim organizmima. D-aminokiseline se nalaze u tlu, fermentiranoj hrani i piću. Njihova prisutnost u okolišu povezana je s mikroorganizmima i bakterijama. Zbog toga su mikrobi bogat izvor D-aminokiselina, a područja bogata D-aminokiselinama bogata mikrobima. Izvori D-aminokiselina u bakterijama su peptidoglikan, teihoična kiselina (TAs) i poli-γ-glutamat (PGA). [2]

Međutim, razvojem i napretkom analitičkih metoda i instrumenata dokazana je prisutnost D-aminokiselina u mozgu sisavaca. Kako se znalo da D-alanin i derivati D-glutamina izgrađuju peptidoglikan (PG), komponentu stanične stjenke bakterija koje žive u flori sisavaca, i da D-serin kontrolira razvoj i rast ovih bakterija, prvobitna ideja je bila da D-aminokiseline dospijevaju u sisavce putem metabolizma endogene mikrobne flore. - Međutim, nekoliko flavoproteina u višim organizama koji provode oksidacijsku deaminaciju neutralnih i bazičnih kiselina, sugeriralo je da sisavci, uključujući ljude, imaju specifične metaboličke putove kojima se metaboliziraju D-aminokiseline. Kasnije su u višim eukariotima otkriveni i enzimi koji sintetiziraju i razgrađuju D-aminokiseline. D-aminokiseline se sintetiziraju pomoću D-aminokiselinskih epimeraza, racemaza ili transaminaza. Važnost ovih aminokiselina i enzima postepeno se rasvjetljuje.[1]

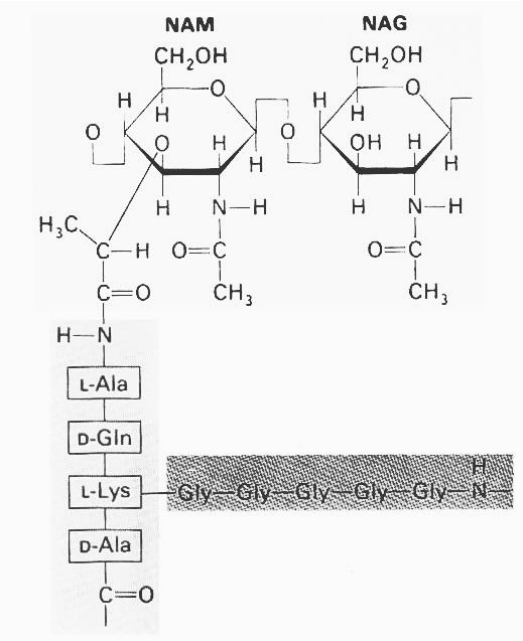
D-aminokiseline koje su nađene u mozgu sisavaca su D-serin, D-aspartat, D-leucin, D-alanin, D-prolin i D-glutamat.

§ 2. Prikaz odabrane teme

2.1. Bakterijska sinteza D-aminokiselina

Veliki izvori D-aminokiselina u bakterijama su peptidoglikan (PG), teihoična kiselina (TA) i poli-γ-glutamat (PGA). PG je komponenta stanične stjenke bakterija i najbogatiji je izvor D-aminokiselina u bakterijama. PG se sastoji od dugih lanaca, u kojima se neprestano izmjenjuju N-acetilglukozamin (NAG) i N-acetilmuraminska kiselina (NAM), međusobno povezani kratkim peptidima. PG daje staničnoj stjenci čvrstoću i oblik, a ima i zaštitnu ulogu. Ovisno kakva je struktura i udio drugih tvari u bakterijskoj staničnoj stjenci, bakterije dijelimo na dva razreda: gram-pozitivne bakterije i gram-negativne bakterije. Prvoj je skupini zbog više slojeva PG-a stanična stijenka otpornija i krutija, a drugoj skupini je zbog tankog sloja PG-a, stanična stijenka osjetljivija na mehanička oštećenja.

Peptidni lanci u PG-u na drugom mjestu većinom imaju D-glutaminski ostatak, a na četvrtom i petom mjestu D-alanin. Na petom mjestu opaženo je još osam različitih D-aminokiselina, glutamin, prolin, fenilalanin, tirozin, valin, leucin, izoleucin i metionin, međutim na petom mjestu najčešće se ipak nalazi D-alanin. Ostale D-aminokiseline za koje se zna da se nalaze u sastavu PG-a su D-serin, D-aspartat, D-asparagin, D-lizin i D-ornitin. Budući da se nalaze u sastavu PG-a D-aminokiseline sudjeluju u staničnoj komunikaciji, prijenosu signala i regulaciji aktivnosti periplazmatskih transpeptidaza.



SLIKA 1. Osnovna strukturna jedinica peptidoglikana vrste *Staphyococcus* [5]

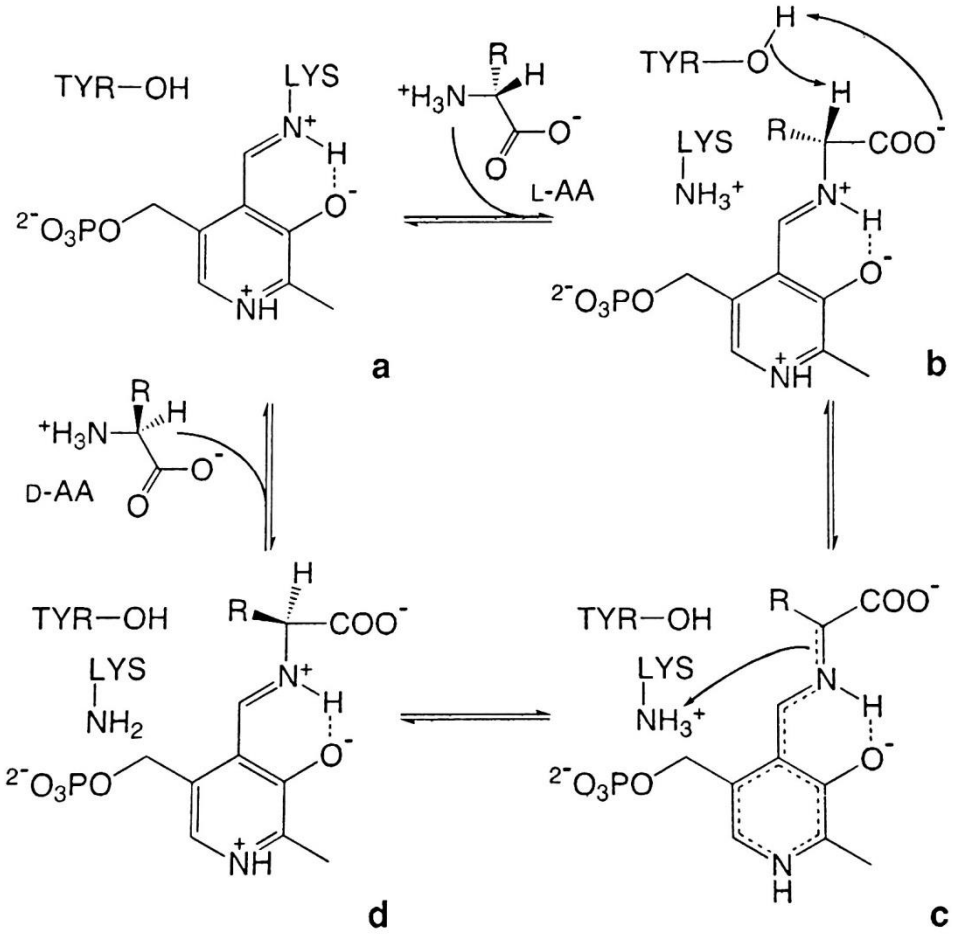
PGA je polimer γ-povezanih glutamatskih ostataka, koji je čest u bakterijama roda *Bacillales*. Ovisno o vrsti, -glutamatski ostaci mogu bili u L-konfiguraciji, D-konfiguraciji ili u obje.

D-aminokiseline su komponente i peptidnih antibiotika sintetiziranih pomoću bakterijske neribosomske peptid sintetaze (NRPS). Aminokiseline čine 40% građe neribosomskih peptida (NRPs). U građu neribosomskih peptida ulaze i lipidi, poliketoni i ugljikohidrati. [2]

2.1.1 Mehanizmi sinteze D-aminokiselina

Bakterije sintetiziraju D-aminokiseline služeći se jednim od dva mehanizma: inverzijom stereokemije oko α-ugljikovog atoma pripadajuće L-aminokiseline ili stereospecifičnom aminacijom pripadajuće α-ketokiseline. Racemaza i epimeraza kataliziraju inverziju stereokemije na α-ugljikovom atomu aminokiselina, a taj proces se, često krivo, naziva aminokiselinska racemizacija. Na aminokiseline koje imaju više kiralnih centara djeluju enzimi epimeraze, npr. Ile-2-epimeraza mijenja stereokemiju na drugom ugljikovom atomu. Isti je reakcijski mehanizam za sintezu D-aminokiselina sa jednim ili sa više kiralnih centara . Reakcija sinteze D-aminokiselina zasniva se na otpuštanju protona sa α-ugljikova atoma pa nastaje karbanionski međuprodukt, koji se zatim protonira. Smjer iz kojeg se proton dodaje karbanionskom međuproduktu određuje kiralnost nastale aminokiseline. Aminokiselinske racemaze i epimeraze se dijele na dva razreda ovisno o tome sadrže li prostetičku skupinu ili ne. [2]

Prostetička skupina aminokiselinske racemaze/epimeraze je piridoksal-5-fosfat (PLP), derivat piridoksina (vitamina B_6). PLP sadržava piridinski prsten, koji je slabo bazičan, na koji je vezana OH-skupina, koja je slabo kisela. Stoga, derivati PLP-a mogu tvoriti stabilne tautomerne oblike u kojima je pirimidinski dušikov atom protoniran i stoga pozitivno nabijen, dok OH-skupina gubi proton, negativno je nabijena i stvara fenolat. Najvažnija funkcijska skupina PLP-a jest aldehidna skupina. Ta skupina tvori sa svojim aminokiselinskim supstratima kovalentne međuprodukte tipa Schiffovih baza. [3] PLP onemogućuje smanjenje pKa protona na α-ugljikovom atomu tako što stabilizira prateći karbanionski međuprodukt stvarajući vezu sa supstratom. Kao što je prikazano na slici 2. reakcijski mehanizam započinje s PLP-om povezanim u obliku Schiffove baze s lizinom u aktivnome mjestu, koji tvore unutranji aldimin. L-aminokiselina se veže na mjesto lizina i zamjenjuje ga pa nastaje vanjski L-aminokiselinski aldimin. Zatim baza iz aktivnog mjesta uzima proton s α-ugljikovog atoma i nastaje karbanionski međuprodukt koji se rezonancijski stabilizira. Slijedi protonacija planarnog karbanionskog međuprodukta s gornje strane tako da nastane vanjski D-aminokiselinski aldimin. D-aminokiselina se otpušta tijekom regeneracije unutarnjeg aldimina. Enzimi sadrže dvije baze u aktivnom mjestu zadužene za deprotonaciju i protonaciju supstrata. Jedna baza deprotonira pa protonira L-aminokiseline, a druga je zadužena za deprotonaciju i protonaciju D-aminokiselina.

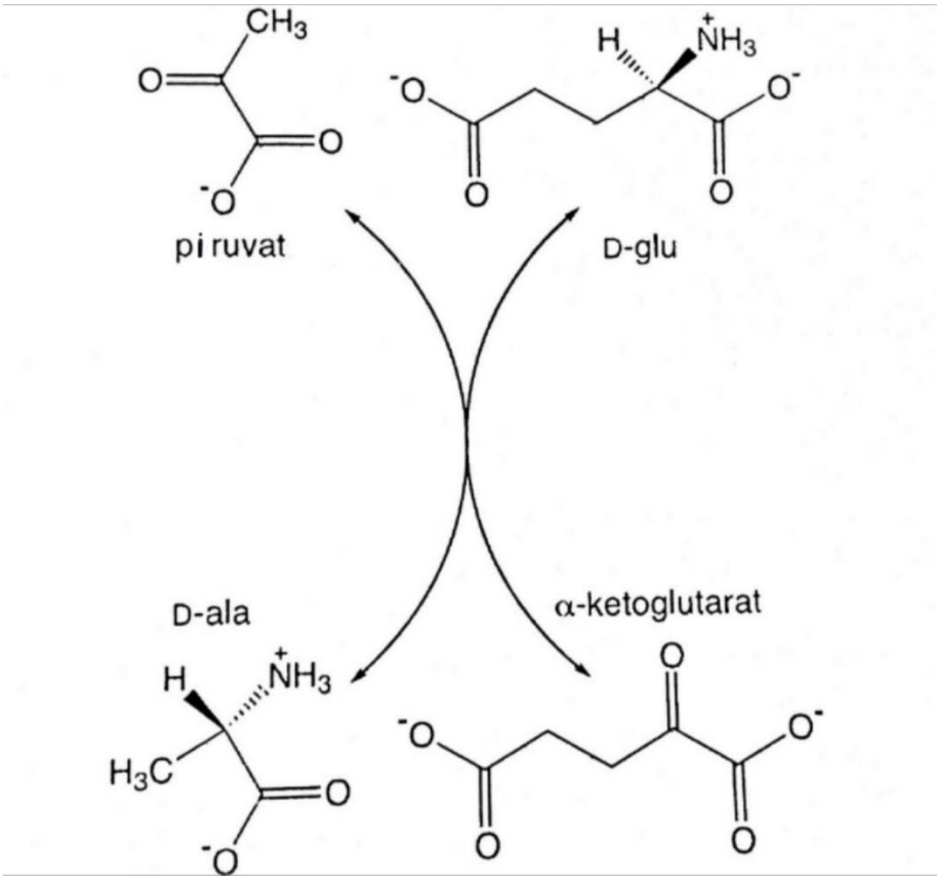


SLIKA 2. Mehanizam sinteze D-aminokiselina pomoću racemaze s prostetičkom skupinom PLP. **a** Unutarnji aldimin, **b** adicija L-aminokiselinskog supstrata koji zamjenjuje unutarnji Lys (Lys u aktivnom središtu enzima) i nastaje vanjski L-aminokiselinski aldimin, **c** otpuštanje protona s α-ugljikovog atoma, nastaje karbanionski međuprodukt, **d** protonacija planarnog karbanionskog međuprodukta s gornje strane tako da nastane vanjski D-aminokiselinski aldimin. [2]

Aminokiselinske racemaze i epimeraze koje nemaju prostetičku skupinu isto koriste dvije baze za deprotonaciju i protonaciju supstrata, ali kod tih enzima nema stabilizacije karbanionskog međuprodukta. Obje baze u aktivnom mjestu ovih enzima su cisteinski ostaci. Jedan cisteinski ostatak deprotonira α-ugljikov atom, a zatim ga drugi cisteinski ostatak protonira.

D-aminokiseline koje se nalaze u sastavu neribosomskih peptida obično se epimeriziraju tijekom sinteze peptida. U većini slučajeva aminokiselinska racemaza, koja je odgovorna za sintezu D-aminokiselina, ugrađena je u biosintetski operon. **NRPS** (neribomska peptid sintetaza) enzimi sadrže epimerizacijsku domenu (E domena) koja je neophodna za prijelaz L-aminokiselina u D-aminokiseline.

Treći način sinteze D-aminokiselina je pomoću transaminaza. Opisano je mnogo bakterijskih L-aminokiselinskih transaminaza koje transaminacijom α-ketokiselina daju L-aminokiseline. Isto tako postoje i D-aminokiselinske transaminaze koje koriste isti mehanizam kao i L-aminokiselinske transaminaze. One imaju dva supstrata, jednu aminokiselinu i jednu ketokiselinu, i daju dva produkta, drugu aminokiselinu i ketokiselinu. Aminoskupina se s aminokiseline prenosi na keto skupinu α-ketokiseline na stereospecifičan način, rezultat toga je nastanak nove α-ketokiseline (npr. piruvat nastaje iz D-alanina) i D-aminokiseline (npr. D-glutamat iz α-ketoglutarata). Transaminaze poput racemaza i epimeraza kataliziraju reverzibilne reakcije i imaju prostetičku skupinu PLP. Međutim razlike u mehanizmu reakcije su jako velike.



SLIKA 3. Sinteza D-aminokiselina transaminacijom. Ovisno o smjeru reverzibine reakcije, α-ketoglutarat može primiti amino skupinu od D-alanina ili piruvat od D-glutamata. [2]

Kod transaminaza na unutarnji aldimin se prvo veže aminokiselina, koja je donor amino skupine, pa se aminoskupina prenosi na PLP, i nastaje piridoksamin-5- fosfat (PMP) i α-ketokiselina. Zatim se na PMP veže α-ketokiselina i na nju se prenosi aminoskupina s PMP-a te nastaje D-aminokiselina. O α-ketokiselini koja se veža na PMP ovisi koja D-aminokiselina će nastati. [2]

2.1.2. Sinteza D-alanina

Sve poznate alanin racemaze imaju PLP kao prostetičku skupinu. Budući da je D-alanin neophodan u peptidoglikanu, alanin racemaze su česta meta lijekova i zbog toga spadaju u dobro proučene enzime. Prisutnost dva gena koji kodiraju različite alanin racemaze, prvo je uočeno u organizmu *Salmonella typhimurium*. Istraživanja su pokazala da jedna alanin racamaza pretvara L-alanin u D-alanin kao dio L-alaninskog metaboličkog puta, jer onda D-alanin transaminacijom prelazi u piruvat, dok druga alanin racemaza osigurava D-alanin za sintezu peptidoglikana. Nakon ovog otkrića u *S. typhimurium* provedena su brojna istraživanja koja su pokazala sličnu organizaciju i funkcioniranje alanin racemaza u brojnim organizmima, uključujući *Escherchia coli* i *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Posljedično, postavljena je tvrdnja da Gram-negativne bakterije kodiraju dva tipa alanin racemaza.

Za Gram-pozitivne bakterije nekoliko različitih istraživanja su pokazala da posjeduju samo jedan tip alanin racemaze (kodirane *dal* genom). Prestanak rada alanin racemaze dovodi do ozbiljnih problema u rastu bakterija. Druge vrste Gram-pozitivnih bakterija imaju gene za dvije različite alaninske racemaze. Tako, *B.subtilis* kodira i drugi tip alanin racemaze (kodirana je *ync*D genom). Fiziološka uloga ove racemaze nije jasna, zbog toga što *B.subtilis* ne može rasti bez egzogenog D-alanina. Dodatna istraživanja su pokazala da više vrsta Gram-pozitivnih bakterija kodira dva tipa alanin racemaza uključujući *Lactobacillus reuteri i Bacillus licheniformis.*

Iako D-aminokiselinske transaminaze većinom sintetiziraju D-glutamat, važno je uočiti da će u nekim slučajevima prije sintetizirati D-alanin. Ova aktivnost je uočena u staničnim kulturama *B. licheniformis,* a nedugo nakon toga, sinteza D-alanina uočena je i kod *Bacillus sphaericus* i *Lactobacillus salivarius*. Iako nije istražena fiziološka uloga ove aktivnosti D-aminokiselina transaminaza, važno je spomenuti da purificirani enzimi imaju jednak afinitet prema piruvatu i α-ketoglutaratu kao akceptorima aminoskupina. [2]

2.1.3. Sinteza D-glutamata

Bakterije mogu koristiti dva različita tipa enzima za sintezu D-glutamata, racemazu ili D-aminokiselina aminotransferazu. Sve poznate D-glutamat racemaze imaju PLP kao prostetičku skupinu. Neke bakterije kodiraju samo jedan tip D-glutamat racemaze, neke kodiraju dva tipa, dok neke kodiraju i D-glutamat racemazu i D-aminokiselina aminotransferazu. Genomska istraživanja su pokazala da sve bakterije koje sintetiziraju peptidoglikan imaju bar jedan tip glutamat racemaze.

Aktivnost glutamat racemaze prvi put je detektirana u laktobacilima, a kasnije je dokazana njezina prisutnost u brojnim Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama. Glutamat racemazni gen *E.coli* (*mur*I) se pokazao kao neophodan, ali i dovoljan za sintezu D-glutamata u *E.coli*. Isti rezultati dobiveni su proučavanjem vrsta *Lactobacillus* kao i vrsta *Pediococcus*, tj. i ove vrste bakterija posjeduju samo jedan gen koji kodira glutamat racemazu.

Nasuprot njima, *B.subtilis* kodira dva tipa glutamat racemaze. Dva tipa glutamat racemaze, racE i yrpC, imaju različite fiziološke uloge. Provedena istraživanja pokazala su da je samo racE neophodan i dovoljan za rast u bogatom mediju, dok ili racE ili yrpC omogućuju dovoljnu količinu D-glutamata tijekom rasta u siromašnom mediju. Prisutnost bilo kojeg od dva tipa glutamat racemaze je dovoljna za sintezu poli-γ-glutamata (PGA) tijekom rane stacionarne faze. U kasnijoj eksponencijalnoj fazi dolazi do razgradnje i D-glutamata za koju su potrebna oba gena, i racE i yrpC. [2]

2.1.4. D-enantiomeri lizina, arginina i ornitna

Sinteza D-lizina, D-arginina i D-ornitina događa se pomoću racemaza, s PLP prostetičkom skupinom, koja se često naziva BAR (eng. broad-spectrum amino acid racemase). Ovi enzimi pokazuju najveći afinitet prema argininu i lizinu, ali mogu racemizirati i ostale aminokiseline, poput ornitina, treonina, metionina, alanina, leucina, serina i glutamina. Iako je Arg/Lys recemizacija detektira u *Oenococcus oeni*, kao i u sojevima *Proteus*, većina istraživanja sinteze D-lizina, D-arginina i D-ornitina rađena je na pseudomondama. Periplazmatska Arg/Lys racemaza je detektirana u *P. putida* i *Pseudomonas taetrolens*. Fiziološka uloga Arg/Lys racemaza u pseudomondama nije poznata, ali se pretpostavlja da sudjeluju u katabolizmu D-lizina te da postoje nezavisni kataborički putevi D- i L-lizina. Uzimajući u obzir lokalizaciju Arg/Lys racemaza u periplazmi i nedavna otkrića D-lizina u sastavu peptidoglikana *Thermotoga maritima*, moguće je da Arg/Lys racemaze sudjeluju u modifikaciji peptidoglikana ili sintezi D-lizina potrebnog u signalnim putovima (ali to nije eksperimentalno dokazano).

Također je moguće da ti enzimi sudjeluju u katabolizmu D-arginina. *P. putida alr* gen se nalazi između dva gena, aruI i aruH, koji su uključeni u katabolizam D- i L-arginina. [2]

2.1.5. Sinteza D-aspartata

D-aspartat se može dobiti racemazama koje nemaju prostetičku skupinu ili D-aminokiselinskim aminotransferazama. Prva bakterijska aspartat racemaza detektirana je u *Enterococcus faecalis*. Daljnja istraživanja dokazala su prisutnost aspartat racemaze u *Pyrococcus horikoshii, Bifidobacterium* i *Enterococcus faeciu,* te homologe aspartat racemaze u *Lactobacillus* spp., *Lactococcus* spp., i u *P. pentosaceus.* Aspartat racemaza i aspartat ligaza zajedno olakšavaju ugradnju D-aspartata u peptodoglikan u *E. faeciu*. D-aminokiselinske aminotrasferaze prvi put su uočene kod *Bacillus* vrsta kao što je *B.licheniformis*. Provedeno je istraživanje na D-alaninu, koji je služio kao donor amino skupine, i tri ketokiseline, α-ketoglutaratu, oksaloacetatu i piruvatu, da bi se dokazalo da se D-glutamat, D-aspartat i veliki dio ostalih D-aminokiselina može dobiti transaminacijom. [2]

2.1.6. Sinteza D-serina

Sve serin racemaze imaju PLP kao prostetičku skupinu, i povezane su s otpornošću enterokoka na antibiotik vankomicin. Vankomicin se veže na terminalni dipeptid D-Ala-D-Ala, a u VanC fenotipu gdje je zamijenjen D-Ala-D-Ala dipeptid sa D-Ala-D-Ser dipeptidom, otežano je vezanje vankomicina. VanT racemaza je enzim koji prolazi kroz staničnu stjenku i jednina je poznata racemaza koja ima transmembransku regiju.VanT racemaza racemizira D-serin, i u manjoj mjeri alanin, a njegova transmembranska regija je povezana sa transportom L-serina iz vanjskog medija. [2]

2.1.7. Sinteza D-prolina i cis-D-hidroksiprolina

Prolin racemaza i hidroksiprolin racemaza su slične u mnogo pogleda, objema nisu potrebni kofaktori za aktivnost i jako su specifične za svoje supstrate. Detaljna istraživanja prolin racemaze iz eukariotskog patogena *Trypanosoma cruzi* omogućila su dovoljno podataka za identifikaciju prokariotske prolin racemaze. Međutim, istraživanja sinteze D-prolina u bakterijama su malobrojna. Jedina aktivnost prolin racemaze u bakterijama zabilježena je kod *Clostridium sticklandii* , gdje se D-prolin sintetizira kao međuprodukt u katabolizmu L-prolina. Unatoč tome što su bakterijski genomi bogati genima koji kodiraju prolin racemazu, mala je vjerojatnost da upravo ti geni kodiraju prolin racemazu. U istraživanjima gena prolin racemaza u *B. anthracis*, te u vrstama *Pseudomonas , Brucella* i *Burkholderia* dokazano je da ti geni zapravo kodiraju hidroksiprolin epimerazu. Mogući uzrok toga da se puno više zna o bakterijskoj hidroksiprolin epimerazi i njezinoj fiziološkoj ulozi, može se objasniti činjenicom da je hidroksiprolin visoko zastupljen u kolagenu i u staničnoj stjenci biljaka. Slično kao u katabolizmu prolina, i u katabolizmu L-hidroksiprolina, u sojevima *Pseudomonas* i u *Sinorhizobium melilot* , i nužan je korak pretvorbe u D-epimer. Hidroksiprolin epimeraze pokazuju jako visoku specifičnost prema supstratu, i ne vežu prolin ili bilo koji stereoizomer neke druge aminokiseline, već vežu samo hidroksiprolin. [2]

2.1.8. Sinteza D-enantiomera aminokiselina sa razgranatim bočnim ograncima

Izoleucin epimeraza otkrivena je u bakteriji, *Lactobacillus otakiensis,* koja provodi mliječno kiselo vrenje. Taj enzim ima prostetičku skupinu PLP i epimerizira oba stereoizomera izoleucina, i L- i D-izoleucin. Ali izoleucin epimeraza djeluje i na valin i leucin stvarajući oba njihova stereoizomera. Mali afinitet ima i prema fenilalaninu i metioninu, te također epimerizira oba stereoizomera. [2]

2.2. D-aminokiseline u mozgu sisavaca

2.2.1. D-Serin

Prije dvadeset godina koristeći visoko djelotvornu tekućinsku kromatografiju, koja omogućuje odjeljivanje L- i D-enantiomera, pronađene su velike količine D-serina u mozgu

štakora, nekoliko godina kasnije i u ljudskom mozgu. Ovom D-aminokiselinom obiluje kora velikog mozga, hipotalamus i vanjski dio središta za njuh. D-serin je prisutan i u malom mozgu, ali samo tijekom njegova razvoja. D-serin se sintetizira iz L-serina djelovanjem serin racemaza.[1]

Raspodjela D-serina u mozgu podsjeća na raspodjelu moždanih N-metil-D-aspartatnih (NMDA) receptora, koji su podvrsta ionotropnih glutamatskih receptora. Sastoje se od GluN1 podjedinice i četiri GluN2 podjedinice. Aktivnost NMDA receptora ovisi o rasporedu podjedinica. D-serin se veže na alosteričko mjesto NMDA receptora i omogućuje neurotransmisiju i procese povezane s njom. Dokaz koji ukazuje na to da je D-serin aktivirajući kofaktor NMDA receptora dobiven je pomoću D-aminokiselinske oksidaze (DAO). Uočeno je da dolazi do smanjenja aktivnosti NMDA receptora ako se u mozgu poveća koncentracija DAO. NMDA receptori sudjeluju u mnogim psihološkim i patološkim procesima. Povezani su s učenjem, pamćenjem, bolestima živčanog sustava i sinaptičkom plastičnošću – sposobnost sinapse da oslabi ili ojača tijekom vremena kao odgovor na povećanje (LTP) ili smanjenje (LTD) njezine aktivnosti. Istraživanje arhitekture NMDA receptora uznapredovalo je otkrićem treće vrste podjedinica, GluN3 podjedinice, koja se proteže kroz središnji živčani sustav. GluN3 se dijeli na GluN3A i GluN3B i posjeduje specifična farmakološka i funkcionalna obilježja, budući da GluN1-GluN3 heterodimeri za svoju aktivaciju trebaju samo glicin, ne i glutamat. D-serin inducira vrlo slabu ili nikakvu aktivnost kada su GluN1-GluN3A ili GluN1-GluN3B podjedinice izražene, ali inhibira aktivnost ovih receptora kad se ovi heteromerni receptori aktiviraju glicinom. Iako još nije određeno kako na funkcioniranje mozga utječu efekti koji djeluju na receptore koji sadržavaju GluN3 podjedinicu i ovisni su o D-serinu, istraživanja su ukazala na veliku složenost u regulaciji djelovanja glutamatske sinapse pomoću D-aminokiselina. [4]

2.2.2. D-Aspartat

Sisavci posjeduju jako velike koncentracije D-aspartata, vjerojatno je zbog toga upravo ona prva D-aminokiselina pronađena u mozgu sisavaca. D-aspartat je raspodijeljen po cijelom mozgu, međutim njegova koncentracija se mijenja tijekom razvoja mozga. Najveće koncentracije D-aspartata su prisutne u mozgu embrija i tijekom razvoja koncentracija se smanjuje. Potpuno razvijeni mozak posjeduje velike koncentracije D-aspartata u hipofizi i epifizi, a male u hipokampusu (sljepoočni režanj mozga), hipotalamusu, malom mozgu i produženoj moždini. D-aspartat se sintetizira iz L-aspartata djelovanjem aspartat racemaze. [1] U epifizi D-aspartat potiskuje sintezu i lučenje melatonina. U prednjem režnju hipofize D-aspartat potiče sintezu i lučenje prolaktina i hormona rasta. U srednjem režnju hipofize D-aspartat smanjuje količinu hormona koji stimulira α-melanocite da proizvode melanin. U stražnjem režnju hipofize i u hipotalamusu D-aspartat regulira proizvodnju oksitocina.

Budući da je D-aspartat strukturno sličan NMDA, veže se za NMDA receptore koji reguliraju neurotransmisiju i potiče ju. Zbog toga D-aspartat svrstavamo i u neuromodulatore u mozgu. Njegova uloga kao regulatora moždane aktivnosti nije jasna, zbog njegove male koncentracije u razvijenom mozgu. Nakon rođenja, tj. u razvijenom mozgu, povećava se koncentracija D-aspartat oksidaze (DAOX) koja katalizira oksidacijsku deaminaciju D-aspartata i tako smanjuje njegovu koncentraciju. Usprkos maloj koncentraciji, mogućnost da se D-aspartat otpusti u okolišu sinapse između neurona i astrocita, sugerira da

D-aspartat ima važnu ulogu u sinaptičkoj komunikaciji. Također je povezan s neurogenezom i sudjeluje u razvoji mozga.

2.2.3. D-alanin

D-alanin se nalazi u svim regijama mozga, a najveće koncentracije su u gušterači i prednjem režnju hipofize. Koncentracija D-alanina u gušterači i hipofizi varira s cirkadijskim ritmom. Tijekom dana koncentracije su oko četiri puta veće nego tijekom noći. Budući da je D-alanin prisutan u stanicama koje sadržavaju adrenokortikotropni hormon (ACTH) u prednjem režnju hipofize i u β-stanicama gušterače koje proizvode inzulin, smatra se da sudjeluje u regulaciji razine glukoze u krvi.

Podrijetlo D-alanina u sisavcima nije jasno jer u njima ne postoji racemaza koja bi racemizirala L-alanin u D-alanin. [1]

2.2.4. D-leucin, D-prolin, D-glutamat

U usporedbi s koncentracijama ostalih D-aminokiselina, koncentracija D-leucina u mozgu je jako mala. Hipofiza i epifiza, kao i hipotalamus, sadržavaju značajno veće količine D-leucina od ostalih regija mozga. Slično D-leucinu, D-prolin se nalazi u jako malim koncentracijama u mozgu i najveće koncentracije su u hipofizi i epifizi. Male količine D-glutamata su također pronađene u mozgu. Nisu poznate funkcije ni jedne od ove tri D-aminokiseline. [1]

2.3. D-aminokiselinska oksidaza (DAO)

DAO je flavoprotein, što znači da sadržava flavin adenin dinukleotid (FAD) kao prostetičku skupinu. Katalizira oksidativnu deaminaciju D-aminokiselina, reakciju u kojoj nastaju α-ketokiselina, vodikov peroksid i amonijak. DAO katalizira oksidaciju neutralnih i bazičnih aminokiselina, međutim neće oksidirati D_aspartat i D-glutamat.

U sisavcima DAO je prisutan u bubrezima, jetri i mozgu, i to u glia stanicama malog mozga, produženoj moždini i dijelu mozga koji povezuje produženu moždinu sa talamusom, nije prisutan u prednjem dijelu mozga. Uloga DAO u mozgu dugo nije bila poznata, jer se smatralo da se D-aminokiseline ne nalaze u mozgu sisavaca. Do napretka u tom polju je došlo kada su otkrivene velike količine D-serina u mozgu, za kojeg se zna da je supstrat DAO. [1]

2.3.1. Uloga DAO u mozgu sisavaca

Da bi se odredila uloga DAO u mozgu, proveden je eksperiment s miševima bez DAO aktivnosti. Ddy/DAO⁻ miševi su miševi s mutacijom koja uzrokuje potpuni gubitak aktivnosti DAO enzima. Mutirani miš se nije razlikovao u izgledu od nemutiranog

ddy/DAO $^{+}$ miša. Također nije bilo razlike u sposobnosti razmnožavanja, ekspresiji Asc-1 transportera (primarni transporter D-serina) i GlyT1 transportera (transporter glicina koji može prenositi i D-serin) ili serin racemaze između ddy/DAO $^{-}$ i ddy/DAO $^{+}$ miševa. Ekspresija **GluN1** podjedinice NMDA receptora jednaka je kod ddy/DAO $^{-}$ i ddy/DAO $^{+}$ miševa,što je u skladu s tvrdnjom da nedostatak DAO aktivnosti u malom mozgu ne utječe na ekspresiju **GluN1** i **GluN2C** podjedinica NMDA receptora, ali se smanjuje ekspresija **GluN2A** podjedinice. Ti rezultati se podudaraju s rezultatima dobivenim eksperimentom provedenim na miševima s mutacijom koja je u potpunosti inhibirala serin racemazu. U miševima bez aktivne serin racemaze koncentracija D-serina u prednjim dijelu mozga je dramatično smanjena, međutim nije bilo veće razlike u ekspresiji DAO, podjedinica NMDA receptora ili transportera D-serina između mutiranih i nemutiranih miševa. Na temelju tih rezultata došlo se do zaključka da je DAO aktivnost prisutna u malom mozgu, produženoj moždini, dijelu koji spaja produženu moždinu i talamus, ali ne i u velikom mozgu.

Za razliku od D-serina, koncentracija D-alanina se kod ddY/DAO^{-} miševa znatno povećala u svakom dijelu mozga. To je vjerojatno zbog povećanja koncentracije D-alanina u krvi. Količina D-aspartata kod ddY/DAO $^{-}$ miševa je u svim regijama mozga ostala ista kao kod ddY/DAO^{+} miševa. To je bilo za očekivati jer D-aspartat nije supstrat DAO enzima. Koncentracija D-leucina također se povećala u svim regijama mozga ddY/DAO^{-} miševa. Mehanizam povećanja koncentracije D-leucina isti je kao kod D-alanina, i do povećanja dolazi zbog povećanja koncentracije D-leucina u krvi. Koncentacija D-prolina približno je jednaka kod ddY/DAO^{-} i ddY/DAO^{+} miševa. Opaženo je samo malo povećanje koncentracije D-prolina u hipofizi, epifizi i malom mozgu kod ddY/DAO $^{-}$ miševa. [1]

2.3.2. Uloga D-serina i DAO u malom mozgu

Velike koncentracije D-serina su prisutne u malom mozgu miševa i štakora tijekom ranog, postnatalnog perioda razvoja, ali D-serin se ne može detektirati tri tjedna nakon rođenja. Uzrok tomu je ekspresija DAO u malom mozgu do koje dolazi nakon rođenja, i količina DAO se konstantno povećava dok ne dosegne koncentraciju koju imaju odrasli miševi.

Tijekom razvoja malog mozga najmanji neuroni migriraju s vanjskog sloja u unutarnji sloj.

Tijekom tog procesa D-serin, otpušten iz Bergmanovih glia stanica, veže se na NMDA receptore na tim najmanjim neuronima i tako im omogućuje migraciju. Inhibitori DAO i serin racemaza sprječavaju migraciju neurona u malom mozgu. Budući da su to kompetitivni inhibitori, povećanjem koncentracije D-serina ponovno dolazi do migracije neurona, tj. poništava se djelovanje inhibitora.

Također je uočeno da se u nerazvijenom mozgu D-serin, otpušten iz Bergmanovih glia stanica, veže na δ2 glutaminske receptore i regulira **LTD** (dugotrajno smanjenje sinaptičke aktivnosti). LTD se smatra osnovnim mehanizmom pamćenja, učenja i motoričkih sposobnosti. Ovaj tip LTD-a opažen je samo u malom mozgu miševa tijekom njihovog razvojnog perioda, i to zbog toga sto se povećane koncentracije D-serina nalaze u malom mozgu samo u tom periodu. Međutim, kod ddY/DAO $^{-}$ miševa LTD je opažen i u malom

mozgu odraslih miševa. To je zbog toga što se D-serin nalazi u velikim koncentracijama u malom mozgu čak i u odrasloj dobi ovih miševa, budući da oni nemaju DAO aktivnost.

Ova istraživanja su pokazala da D-serin i DAO imaju ključnu ulogu u razvoju i funkciji malog mozga. [1]

2.3.3. Bol i DAO

U usporedbi s ddY/DAO $^{+}$ miševima, ddY/DAO $^{-}$ miševi su pokazali pojačanu reakciju u drugoj fazi formalinskog testa (test za mjerenje odgovora na bol). Ovaj pokus indicira da ddY/DAO $^{-}$ miševi imaju niži prag tolerancije za bol. Uz formalinski test, proveden je i test s octenom kiselinom u kojem su ddY/DAO $^{-}$ miševi pokazali manju osjetljivost za bol. U skladu s rezultatima pokusa s octenom kiselinom, injekcija DAO inhibitora u krv normalnog miša značajno smanjuje osjetljivost na bol. Prema tome zaključeno je da je DAO važan faktor u osjetu za bol. [1]

2.3.4. Uloga DAO u amiotrofičnoj lateralnoj sklerozi (ALS)

Povezanost D-serina i DAO s neurološkim bolestima lijepo je prikazana na ALS primjeru. ALS ili Luo Gehringova bolest pripada grupi neuroloških bolesti, a zahvaća gornje i donje motoričke neurone, što dovodi do slabljenja mišića, atrofije, paralize i smrti uzrokovane prestankom rada dišnog sustava. Koncentracije D-serina u leđnoj moždini ljudi oboljelih od ALS-a, kao i kod miševa oboljelih od ALS-a, su drastično povećane.

Nedavno je mutacija (R199W) nađena u DAO genu kod ljudi oboljelih od ALS-a. Ova mutacija uzrokuje značajno smanjenje aktivnosti DAO i uzrokuje stvaranje ubikvitinskih proteinskih agregata u neuronima, što dovodi do njihove degeneracije. Iste posljedice dobivene su kada su motorički neuroni s R199W mutacijom uzgajani na podlozi sa astrocitama. Kod oboljelih od ALS-a također je pronađena druga heterozigotna varijanta DAO gena (R38H).

Mutacija G181R pronađena kod ddY/DAO $^{-}$ miševa rezultirala je razvojem ^{B6}DAO $^{-/-}$ miševa koji imaju abnormalni refleks udom. Broj i veličina motoričkih neurona u leđnoj moždini ovih miševa su smanjeni, a koncentracija D-serina jako povećana. Kod odraslih ^{B6}DAO $^{-/-}$ miševa uočena je atrofija mišića.

Kod ALS miševa koji imaju mutaciju gena koji kodiraju citosolnu bakar/cink superoksid dismutazu (SOD 1), došlo je do drastičnog smanjenja DAO mRNA, DAO proteina i aktivnosti DAO u leđnoj moždini. Posljedično došlo je do povećanja koncentracije D-serina napretkom bolesti.

Ovi rezultati upućuju na to da DAO održava koncentraciju D-serina niskom u leđnoj moždini i tako sprječava smanjenje broja motornih neutrona. U slučaju ALS-a aktivnost DAO je smanjena pa dolazi do akumulacije D-serina. Pretjerane količine D-serina uzrokuju preveliku aktivaciju NMDA receptora, što uzrokuju prevelik priljev kalcijevih iona u neurone. To dovodi do degeneracije motoričkih neurona. Prema toma DAO igra važnu ulogu u razvoju ALS-a.[1]

2.4. NMDA receptori i šizofrenija

Šizofrenija je psihijatrijski poremećaj koji označava kroničnu, ozbiljnu mentalnu bolest koja prvenstveno pogađa našu sposobnost razmišljanja i otežava percepciju stvarnosti. To uzrokuje promjenu ponašanja i neugodne osjećaje, te slabo izražavanje emocija. Najčešće manifestacije uključuju zvučne halucinacije, paranoju, bizarne deluzije, ili neorganiziranost govora i misli. Genetika, okoliš, neurobiološki i psihološki faktori, te društveni procesi, važni su čimbenici koji sudjeluju u razvoju ove bolesti. Iako nije u potpunosti poznat uzrok šizofrenije , smatra se da je smanjena aktivnost NMDA receptora jedan od najvećih neurobioloških čimbenika koji utječe na pojavljivanje ove bolesti.

Budući da DAO smanjuje koncentraciju D-serina, koji se veže na alosteričko mjesto NMDA receptora i omogućuje njegovu aktivnost, abnormalno velike koncentracije DAO mogu uzrokovati smanjenje aktivnosti NMDA receptora. I zbog toga se DAO dugo vremena povezivao sa šizofrenijom. Provedeno je mnogo eksperimenata čiji su rezultati potvrdili hipotezu: koncentracija D-serina manja je u likvoru mozga kod ljudi oboljelih od šizofrenije, nego kod zdravih ljudi, aktivnost i ekspresija DAO je pojačana u mozgu ljudi oboljelih. Međutim nije riješen mehanizam povezanosti DAO sa šizofrenijom.

Hipoteza je provjerena pomoću ddY/DAO$^-$ miševa. MK-801, inhibitor NMDA receptora koji inducira šizofreniju, inducira simptome šizofrenije i u ddY/DAO$^+$ i ddY/DAO$^-$ miševima, ali su simptomi kod ddY/DAO$^-$ miševa blaži nego kod ddY/DAO$^+$. **Metamfetamin** ima sličan efekt na ove miševe.[1] Metamfetamin je psihostimulans, strukturno je sličan amfetaminu i neurotransmiteru dopaminu, a djeluje tako da povećava koncentraciju dopamina što stvara stimulaciju i osjećaj euforije.[6] Fenciklidin (PCP), inhibitor NMDA receptora, inducira hiperaktivnost samo kod ddY/DAO$^+$ miševa. Ovi rezultati se objašnjavaju povećanom aktivnosti NMDA receptora zbog velike koncentracije D-serina u ddY/DAO$^-$ miševima koja inhibira djelovanje MK-801 i PCP-a. U skladu s ovom tvrdnjom, neurotransmisija, koju reguliraju NMDA receptori, povećana je kod ddY/DAO$^-$ miševa.

Budući da D-serin potiče aktivnost NMDA receptora, regulacija njegove koncentracije može poslužiti u liječenju ljudi oboljelih od šizofrenije. Zbog toga su razvijeni DAO inhibitori i testirani na miševima. DAO inhibitori očito povećavaju koncentraciju D-serina u malom mozgu. Rezultati djelovanja DAO inhibitora nisu mogli biti prikupljeni promatrajuću veliki mozak, jer su neki inhibitori povećavali koncentraciju D-serina u velikom mozgu, a drugi ne. Međutim, inhibitori su poboljšali simptome šizofrenije u miševima. Međudjelovanjem DAO inhibitora i D-serina dolazi do povećanja koncentracije D-serina u velikom mozgu, i poboljšavaju se simptomi šizofrenije u miševima, više nego kada se miševi tretiraju samo s DAO inhibitorima ili povećanom koncentracijom D-serina.

Značajan i ozbiljan problem ostaje pitanje povezanosti DAO i šizofrenije. DAO se prvenstveno nalazi u malom mozgu i moždanom deblu svih sisavaca, dok je šizofrenija abnormalna pojava u velikom mozgu. Mehanizam koji povezuje DAO i šizofreniju nije poznat, ali postoji nekoliko mogućnosti. Moguće je da postoje tragovi DAO u blizini sinapsa, koji se ne mogu detektirati (zadnja istraživanja su pokazala da DAO sudjeluje u

interakcijama sa sinaptičkim proteinima). Zatim, osim D-serina ostale D-aminokiseline mogu biti poveznica između DAO i šizofrenije. D-alanin može poslužiti kao kofaktor NMDA receptora. Ovu tvrdnju potvrđuje činjenica da, u odsutnosti DAO dolazi do povećanja koncentracije D-alanina u prednjem dijelu mozga. Treća mogućnost povezanosti DAO i šizofrenije je da postoji mehanizam kojim DAO iz malog mozga utječe na funkciju velikog mozga. I zadnja mogućnost je da DAO, osim oksidacijske demaninacije D-serina, ima dodatne funkcije koje još nisu otkrivene. [1]

2.5. D-aminokiseline u biotehnologiji

Zbog velikog značaja peptidoglikana za bakterije, enzimi koji su zaduženi za sintezu njegovih komponenata, česta su meta antibakterijskih lijekova. Lijekovi djeluju tako da sprječavaju reakcije u kojima dolazi do povezivanja glikanskih lanaca. Lijekovi koji djeluju na citoplazmatske reakcije sinteze peptidoglikana, koje uključuju i sintezu D-aminokiselina, su najdjelotvorniji. Poznate su sve racemaze potrebne za sintezu D-aminokiselina koje se nalaze u sastavu PG-a. Inhibitori alanin racemaze su neki prirodni spojevi, npr. D-cikloserin, a mogu biti i sintetizirani spojevi, npr. β-haloalanin, koji tvore ireverzibilne adukte s PLP-om. Kao i ostale aminokiseline esencijalne za PG, glutamat racemaza je meta antibakterijskih lijekova, nju inhibiraju analozi glutamata.

D-aminokiseline same mogu poslužiti kao regulatori rasta bakterija. Nije točno poznato na koji način D-aminokiseline reguliraju rast bakterija, ali je jasno da je njihova inkorporacija u PG metoda kojom se bakterija prilagođava različitim uvjetima u okolišu.

Rasprostranjenost D-aminokiselina u bioaktivnim prirodnim produktima (NP) upućuje na to da su one stereokemijski gradivni blokovi NP-a, te da imaju važnu ulogu u funkcionalnosti NP-a. D-aminokiseline u NP-u pružaju molekuli kemijske funkcionalnosti koje dodjeljuju molekuli jedinstvene osobine. Naprimjer, dva bakteriocina, peptidi s antimikrobnim djelovanjem, koji imaju istu primarnu aminokiselinsku strukturu i molekulsku masu, ali različitu stereokemiju na α-ugljikovom atomu jedne aminokiseline, imaju različite biološke uloge. Budući da su te D- i L-aminokiseline iste grade, tj. inkorporacija D- i L-aminokiselina odvija se na isti način, promjena kiralnosti jedne aminokiseline predstavlja jednostavan način uvođenja različitih svojstava.

Nadalje, peptidi koji sadrže D-aminokiseline imaju brojna antibakterijska, antitumorska i antiangiogenetska svojstva. Inhibiraju ulazak stanica HIV-a u stanice, reduciraju aterosklerozu i inhibiraju amiloid-β peptide fibrinogena, koji su povezani s Alzheimerovom bolesti. Peptidi koji se sastoje od D-aminokiselina imaju istu molekulsku masu i hidrofobna svojstva kao i peptidi koji se sastoje od L-enantiomera tih aminokiselina. Međutim, većina proteaza ne prepoznaje D-aminokiseline i zbog toga su peptidi s ugrađenim D-aminokiselinama stabilniji u biološkim sustavima.[2]

2.6. Daljnji koraci

Funkcije D-aminokiselina i DAO u središnjem živčanom sustavu su značajno proučene, pomoću miševa koji nemaju DAO aktivnosti. Daljnja istraživanja koristeći ove životinje dovest će do još većeg razumijevanja funkcija D-aminokiselina i DAO u psihologiji i patologiji. Trenutno veliki problem je taj što se ne zna mehanizam koji povezuje DAO sa šizofrenijom, i da li on uopće postoji. Ostali mutirani miševi ili štakori koji posjeduju povećanu DAO aktivnost mogli bi pomoći u rješavanju ovog problema.

Za liječenje šizofrenije pacijentima se daju velike količine D-serina. Međutim tada postoji opasnost od prevelike stimulacije NMDA receptora koja dovodi do neurodegeneracije koja je karakteristična za ALS. Prema tome potrebna je učinkovita kontrola koncetracije D-serina. [1]

Sinteza i katabolizam D-aminokiselina, kao i njihove uloge u bakterijskoj fiziologiji i strukturi biofilmova (bakterijskih kolonija), su područja koja zahtijevaju daljnja istraživanja. Pogrešno prozvane racemaze i transaminaze su prioriteti istraživanja. Geni prozvani alanin racemazama i prolin racemazama često eksprimiraju proteine koji kataliziraju reakcije koje nisu u skladu s njihovim nazivom (zadaćom). Daljnja istraživanja prokariotskih enzima uključenih u metabolizam D-aminokiselina i njihovo povezivanje s točnom genskom strukturom, osigurala bi bolji opis ovih enzima s ili bez PLP prostetičke skupine. Nova otkrića porodica izoleucin racemaza i BAR racemaza predstavljaju velik korak naprijed, ali njihovi geni često su krivo okarakterizirani pa se samo iz strukture bakterijskog genoma ne može puno toga zaključiti o stvarnim ulogama ovih racemaza. [2]

§ 3. Literaturna vrela

[1] M. Yamanaka, Y. Miyoshi, H. Ohide, K. Hamase, and R. Konno, *D-amino acids in the brain and mutant rodents lacking D-amino-acid oxidase activity, Amino Acids 43* (2012) 1384-1395.

[2] A. D. Radkov and L. A. Moe, *Bacterial synthesis of D-amino acids , Appl. Microbiol. Biotechnol., 98* (2014) 5363-5374.

[3] J. M. Berg, J. L. Tymoczko and L. Stryer, *Biokemija*, Školska knjiga, Zagreb, 2013, str.27., str. 657.

[4] J. M. Billard, *D-amino acids in brain neurotransmission and synaptic plasticity, Amino Acids* 43 (2012) 1851-1860.

[5] http://e-skola.biol.pmf.unizg.hr/odgovori50.htm (preuzeto 27.8.2016.)

[6] http://www.oocities.org/droge_info/metamfetamini.htm (preuzeto 27.8.2016.)