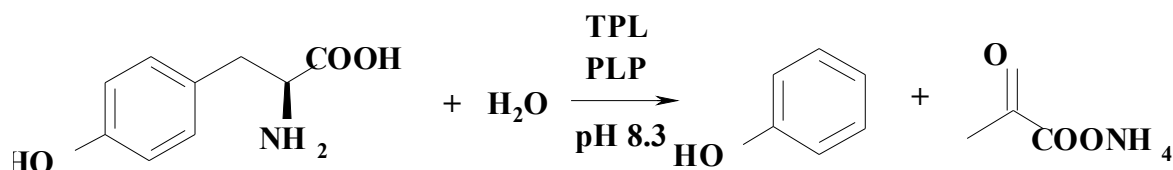


## Impact of Competitive Inhibitors on Kinetic Isotope Effects in Reaction Catalysed by Tyrosine Phenol-Lyase

*Wojciech Augustyniak, Ryszard Kański, Marianna Kańska*  
*Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski*

Fenololiza tyrozynowa (TPL, EC 4.1.99.2) jest bakteryjnym enzymem, który katalizuje odwracalny hydrolytyczny rozkład L-tyrozyny do fenolu, pirogronianu i amoniaku. 5'-fosforan pirydoksalu (PLP) jest kofaktorem enzymu.



Mechanizm tej reakcji składa się z wielu etapów obejmujących tworzenie zasady Schiffa tyrozyna-PLP, oderwanie protonu z pozycji  $\alpha$  z utworzeniem chinoidowego produktu przejściowego, następnie  $\beta$ -eliminację fenolu i końcowe przegrupowania prowadzące do pirogronianu i amoniaku.

Nasze poprzednie badania pozwoliły na odkrycie szeregu ciekawych zjawisk, np. względnych zmian szybkości poszczególnych etapów reakcji w trakcie reakcji, odmienne zachowanie atomów wodoru w pozycjach 3*S* i 3*R*, etc.

W tej pracy badano wpływ składu izotopowego wody ( $\text{H}_2\text{O}$  vs  $\text{D}_2\text{O}$  jako rozpuszczalniki) na wartości kinetycznych efektów izotopowych (KIE), badano także wpływ fenolu jako inhibitora mieszanego i jonów  $\text{Al}^{3+}$  jako kwasu Lewisa na wartości KIE.

Efekty izotopowe mierzono używając metod radiochemicznych (KIE  $^1\text{H}/^3\text{H}$ ) z zastosowaniem podwójnego znakowania przy znaczniku pilotowym  $^{14}\text{C}$  w grupie karboksylowej. Efekty deuteru mierzono za pomocą pomiaru kinetyki stanu stacjonarnego z użyciem spektrofotometrii UV-VIS.