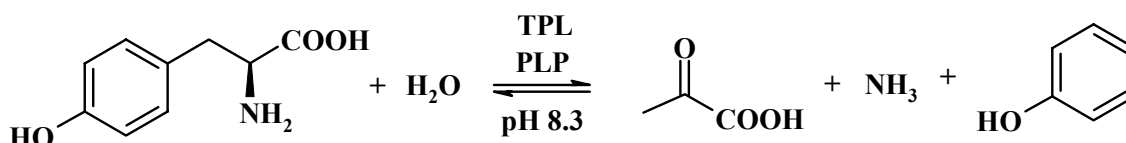


KINETYCZNE EFEKTY IZOTOPOWE WODORU W BADANIACH MECHANIZMU DZIAŁANIA LIAZY TYROZYNA FENOL

W. Augustyniak, R. Kański, M. Kańska

Wydział Chemii, Uniwersytet Warszawski, ul. Pasteura 1, 02-093 Warszawa

Liaza tyrozyna fenol (TPL, E.C. 4.1.99.2) katalizuje rozkład tyrozyny do fenolu, pirogronianu i amoniaku.



Reakcja ta jest odwracalna, ulegają jej również inne pochodne tyrozyny podstawionej w pierścieniu aromatycznym. Co więcej, TPL katalizuje też rozkład 3-(*O,S*)-podstawionych pochodnych alaniny (np. cysteinę, czy też serynę) do kwasu pirogronowego i amoniaku, oraz odpowiedniego alkoholu lub tiolu. Reakcja odwrotna do rozkładu daje L-tyrozinę (i odpowiednie pochodne) z dobrymi wydajnościami. TPL jest również katalizatorem racemizacji alaniny.

Proponowany mechanizm działania liazy tyrozyna fenol składa się z a) rozpoznania substratu; b) związania go z cząsteczką 5'fosforanu pirydoksalu (PLP, kofaktor) w centrum aktywnym poprzez utworzenie zasady Schiffa pomiędzy grupą aldehydową PLP i grupą aminową substratu; c) oderwania protonu z pozycji α substratu z wytworzeniem chinoidowego kompleksu; d) przyłączenia protonu do aromatycznego atomu węgla w tyrozynie związanego z resztą alifatyczną z jednoczesną dearomatyzacją układu do pochodnej cykloheksadienonowej; d) eliminacji układu aromatycznego z jednoczesną rearomatyzacją do fenolu; e) hydrolizy powstałego z części alifatycznej α -aminoakrylanu związanego z PLP do kofatora, pirogronianu i amoniaku.

Mechanizm badano głównie metodami spektroskopowymi (stopped-flow), jak i za pomocą chemicznych i genetycznych modyfikacji enzymu. W literaturze brakuje systematycznych danych z badań izotopowych. Ich uzyskanie było celem przedstawionych badań. Wyznaczono kinetyczne efekty izotopowe wodoru ($^1\text{H}/^2\text{H}$, jak i $^1\text{H}/^3\text{H}$) w pozycji α , oraz w pozycji orto względem grupy hydroksylowej układu aromatycznego, oraz efekty rozpuszczalnikowe. Używano metod kompetycyjnych (radiochemicznie, z użyciem podwójnego znakowania), jak i niekompetycyjnych (pomiar kinetyki reakcji). Na podstawie tych danych wysnuto wnioski dotyczące mechanizmu działania TPL.