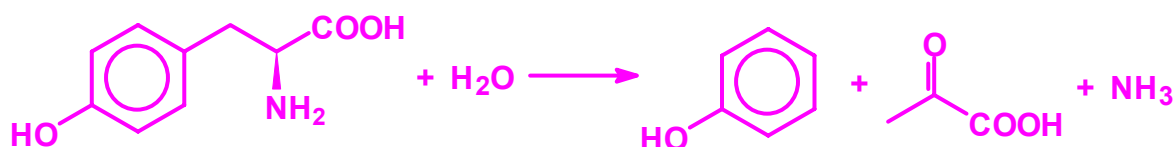


WSTĘP

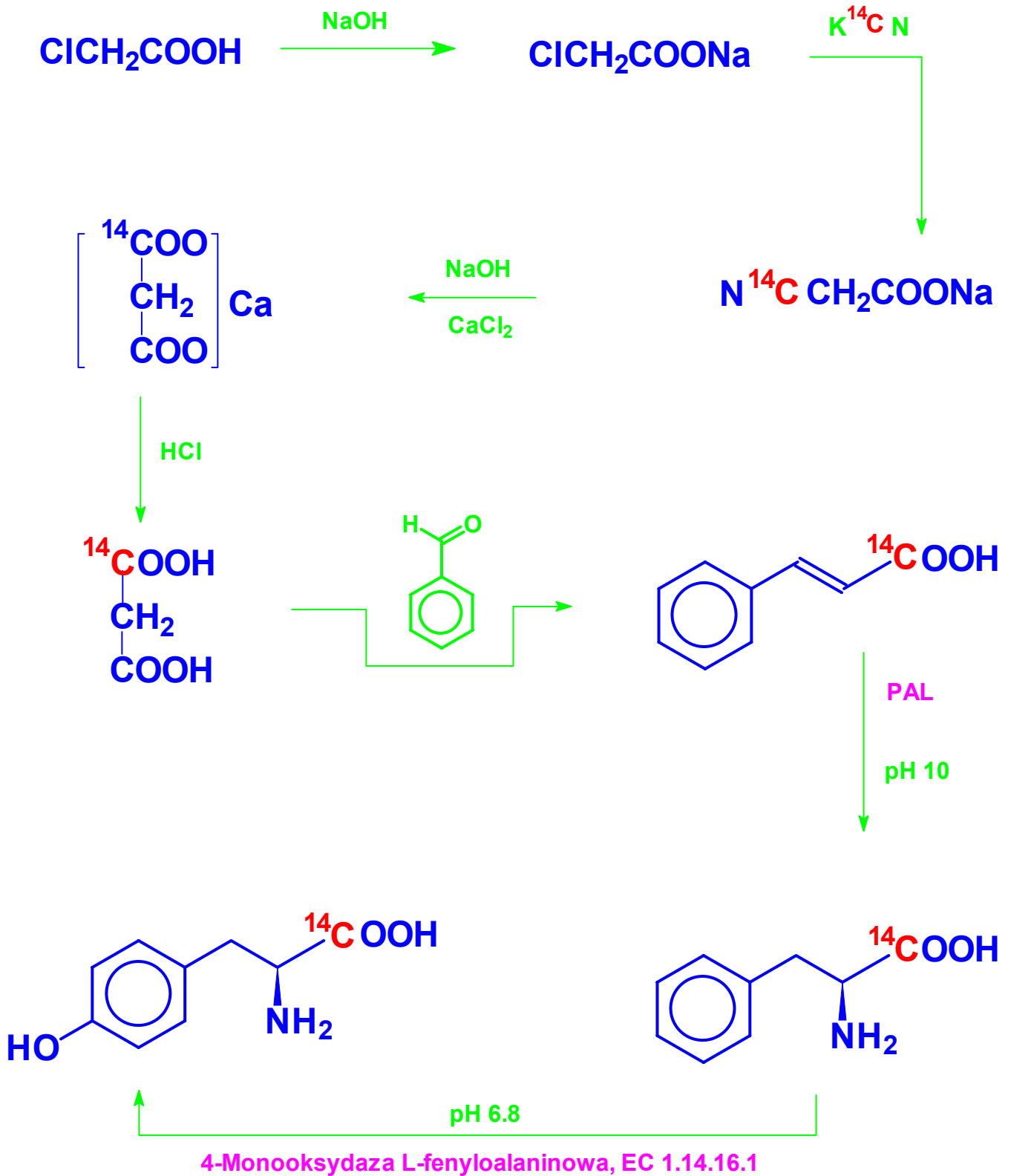
Enzym fenololiza tyrozynowa (*TPL*, *E.C. 4.1.99.2.*) katalizuje reakcję rozkładu L-tyrozyny do fenolu, pirogronianu i amoniaku.



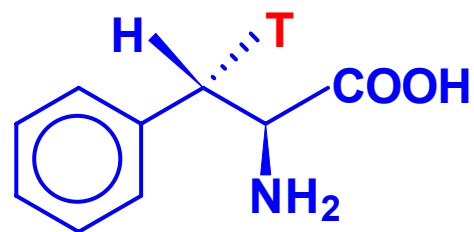
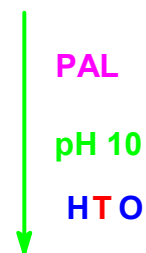
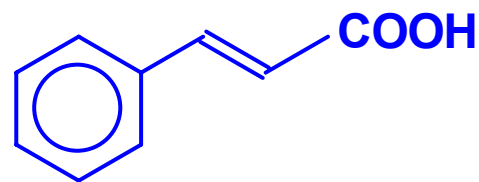
Substratem tej reakcji mogą być różne pochodne tyrozyny, jak też D-tyrozyna. Enzym ten katalizuje z niewielką wydajnością reakcje odwrotne z pochodnych fenolu i pirogronianu, oraz seryny lub cysteiny. TPL katalizuje też racemizację alaniny [1].

Proponowany mechanizm działania TPL (schemat obok) był już wstępnie badany za pomocą metod klasycznych [2-4]. Celem prezentowanych badań jest bardziej dokładne poznanie tych procesów przy pomocy metody kinetycznych efektów izotopowych. W związku z tym należało otrzymać odpowiednie izotopomery L-tyrozyny *selektywnie znakowane izotopami węgla i wodoru*, a następnie wyznaczyć wartości **KIE** stosując metodę standardu wewnętrznego (**podwójne znakowanie**).

SYNTEZA [1-¹⁴C]-L-Tyr

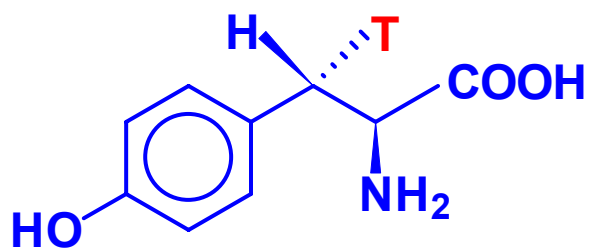


SYNTEZA [3S-³H₁]-L-Tyr

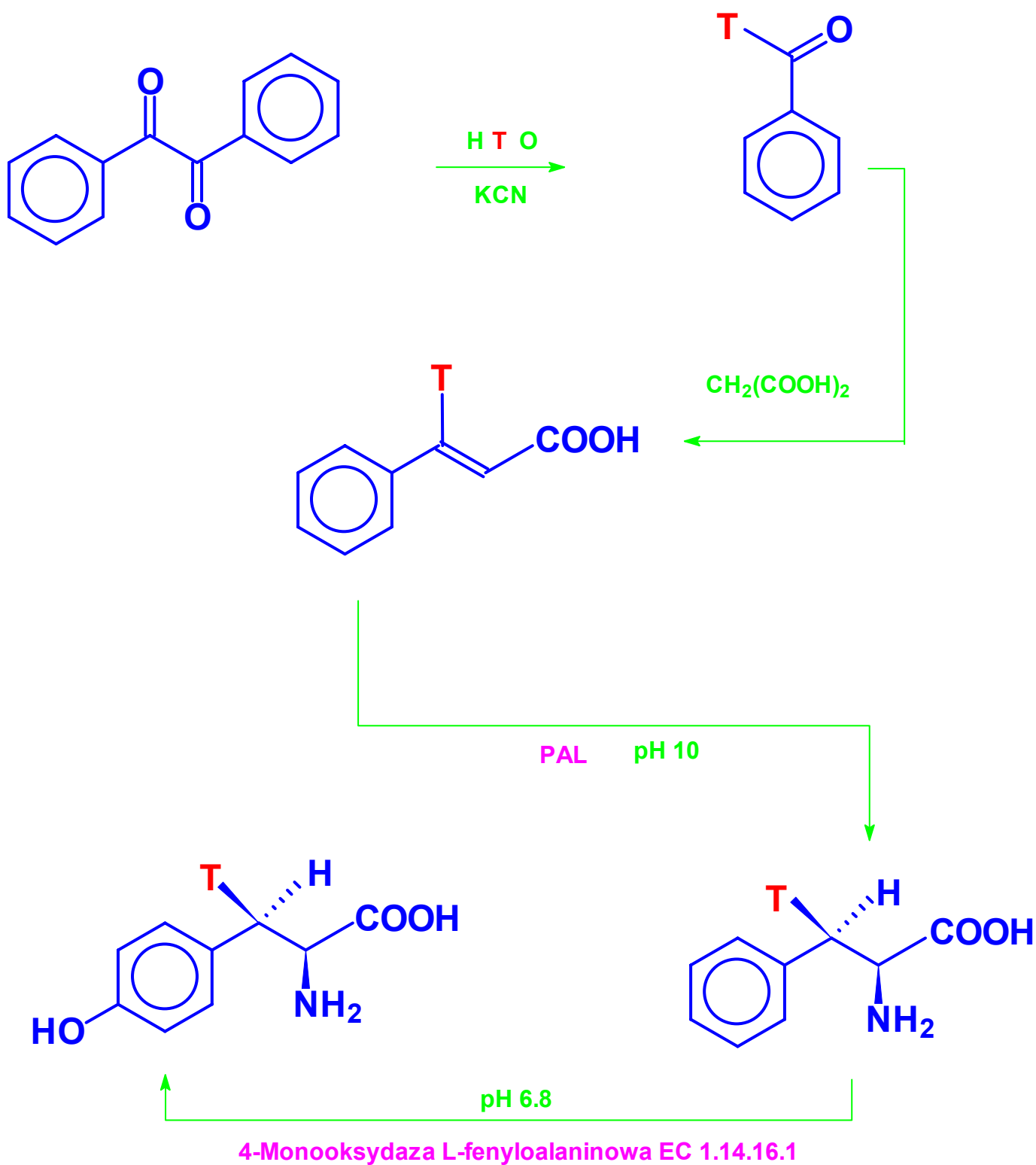


pH 6.8

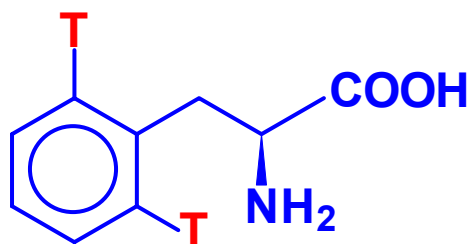
4-Monooksydaza L-fenylalaninowa EC 1.14.16.1



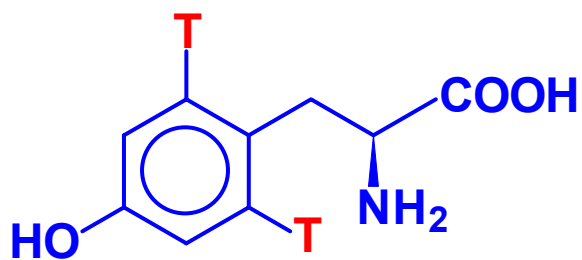
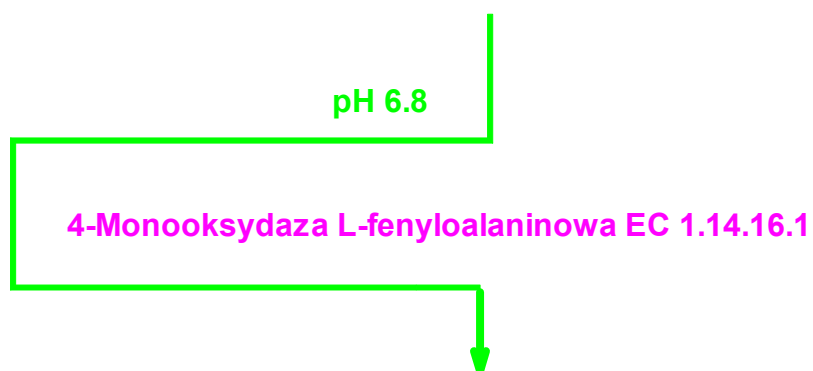
SYNTEZA [3R-³H₁]-L-Tyr



SYNTEZA [2',6'-³H₂]-L-Tyr

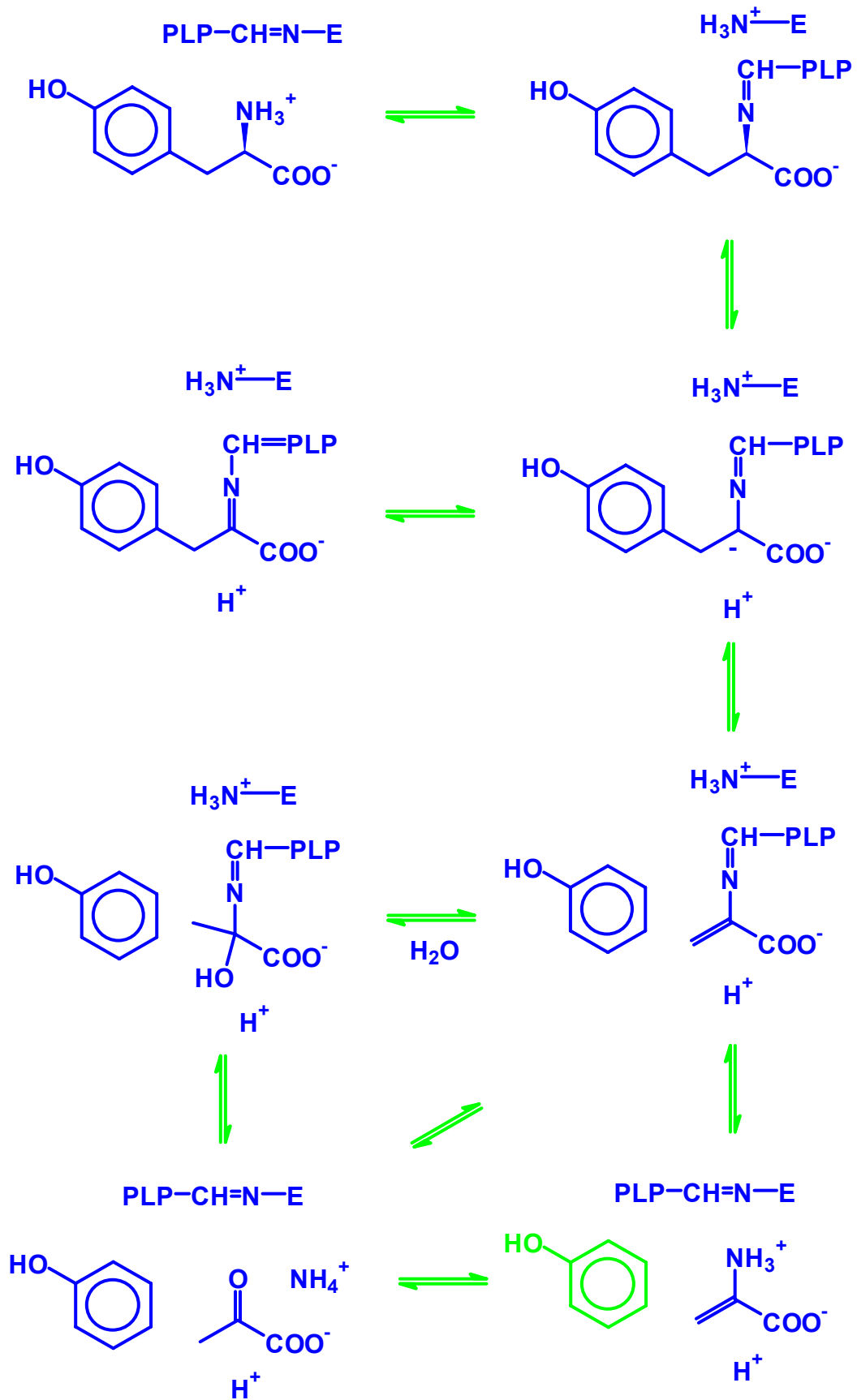


[2',6'-³H₂]-L-Phe



[2',6'-³H₂]-L-Tyr

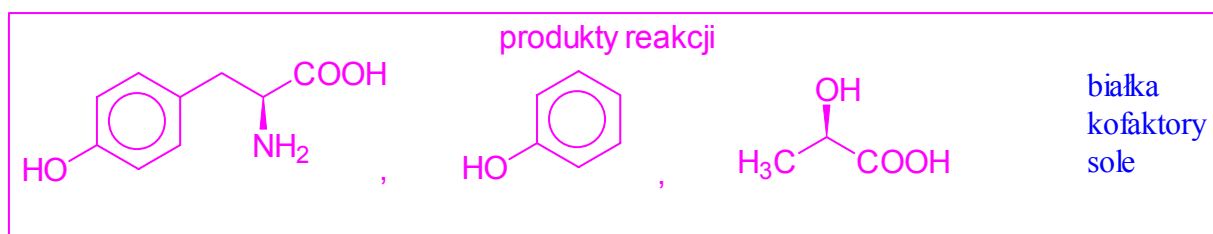
MECHANIZM DZIAŁANIA β -TYROZYNAZY



WYDZIELANIE PRODUKTÓW Z MIESZANINY POREAKCYJNEJ



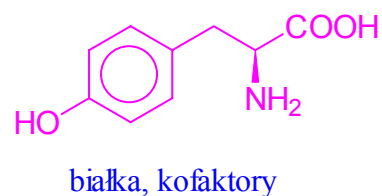
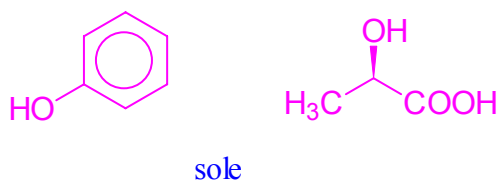
HCl, temp.



AMBERLIT IR-120 (H⁺)

1. H₂O

2. 0,3M NH₃



POMIAR RADIOMETRYCZNY, LSC

WYZNACZONE WARTOŚCI $^1\text{H}/^3\text{H}$ KIE W REAKCJI KATALIZOWANEJ PRZEZ β -TYROZYNAZĘ

Tablica 1. $^1\text{H}/^3\text{H}$ KIE, $k/^{3S}k$, dla $[1-^{14}\text{C}, 3S-^3\text{H}]$ -L-tyrozyny

Frakcja reakcji f	$k/^{3S}k$ obliczony z:			
	R_0, R_r, R_p	R_0, R_r, f	R_0, R_p, f	R_r, R_p, f
0,2524	0,9772	1,0001	0,9903	0,9417
0,3464	0,9512	0,9791	0,9626	0,9736
0,4008	0,9669	0,9700	1,0071	0,9725
0,4449	-	0,9756	1,0138	0,9427
Śr. $k/^{3S}k$	0,9651 \pm 0,0131	0,9756 \pm 0,0196	0,9903 \pm 0,0228	0,9576 \pm 0,0178

Tablica 2. $^1\text{H}/^3\text{H}$ KIE, $k/(^{2',6'})k$, dla $[1-^{14}\text{C}, 2',6'-^3\text{H}_2]$ -L-Tyr.

Frakcja reakcji f	$k/(^{2',6'})k$ obliczony z:
	R_0, R_p, f
0,1034	1,0066
0,1359	1,0100
0,1936	1,0023
0,2554	1,0213
Śr. $k/(^{2',6'})k$	1,0103 \pm 0,0070

LITERATURA

1. Kumagai, H., Utagawa, T., Yamada, H., *J. Biol. Chem.*, 1661-7, **250**, 1975.
2. Faleev, N. G., Sadovnikova, M. S., Martinkova, N. S., Belikov, V. M., *Enzyme Microb. Technol.*, 219-224, **3**, 1980.
3. Nagasawa, T., Utagawa, T., Goto, J., Kim, C. J., Tani, Y., Kumagai, H., Yamada, H., *Eur. J. Biochem.*, 33-40, **117**, 1981.
4. Palcic, M. M., Shen S. J., Schleicher, H., Kumagai, H., Sawada, S., Yamada, H., Floss, H. G., *Z. Naturforsch.*, 307-318, **42c**, 1987.