

## Abstrakt

Šikimátová dráha spolu s navazující fenylypropanoidní drahou v rostlinách poskytuje vedle aromatických aminokyselin také celou řadu sekundárních metabolitů. Významným enzymem je šikimátdehydrogenasa, která je v rostlinách součástí bifunkčního proteinu 3-dehydrochinátdehydratasy/šikimátdehydrogenasy (DHD/SDH; EC 4.2.1.10 a EC 1.1.1.25). Ačkoliv regulace šikimátové dráhy je poměrně komplexní záležitostí, o regulaci rostlinné SDH je k dispozici informací velice málo. Cílem tohoto projektu bylo proto najít vhodný rostlinný zdroj o vysoké aktivitě SDH a zjistit, zda a jakým způsobem je SDH regulována látkami fenylypropanoidního metabolismu, především jednoduchými polyfenoly.

Enzymový preparát SDH o výsledné specifické aktivitě  $470 \mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$  byl připraven 3-krokovou purifikací z kořene petržele (*Petroselinum crispum*). Detekcí aktivity tohoto enzymu v gelu po nativní elektroforéze a po isoelektrické fokusaci byla zjištěna jedna isoforma. Relativní molekulová hmotnost SDH kořene petržele byla pomocí gelové chromatografie stanovena 60 000 a pomocí červené nativní elektroforézy 63 000. Isoelektrický bod odpovídal hodnotě 4,5. Optimální pH reakce katalyzované SDH bylo zjištěno v rozmezí pH 9,5 – 10,0.

Pomocí studie počátečních rychlostí dvousubstrátové reakce byly stanoveny kinetické parametry ( $K_m$ ,  $V_{\text{max}}$ ) pro substrát i koenzym šikimátdehydrogenasy.  $K_m$  SDH pro šikimát byla  $161 \pm 9 \mu\text{M}$  a pro  $\text{NADP}^+$   $54 \pm 11 \mu\text{M}$ . Mechanismus této dvousubstrátové reakce je pravděpodobně sekvenční.

Celá řada látek fenylypropanoidního metabolismu ovlivňovala aktivitu SDH z kořene petržele, z nichž kyselina *p*-kumarová a kyselina *t*-ferulová byly studovány podrobnou inhibiční studií. Pro obě látky byl určen smíšený typ inhibice a příslušné inhibiční konstanty.  $\text{ZnSO}_4$  a  $\text{CuSO}_4$  snižovaly aktivitu SDH.

## Klíčová slova

šikimátdehydrogenasa, fenylypropanoidy, kyselina kumarová, kyselina ferulová, inhibice, šikimátová dráha