

KRYSTYNA SZKUTNICKA

## AMONIAKO-LIAZA L-FENYLOALANINY (PAL). II. MECHANIZM REGULACJI AKTYWNOŚCI ENZYMU W ROŚLINACH

Amoniako-liaza L-fenyloalaniny (PAL) (E. C. 4.3.1.5.) jest kluczowym enzymem uczestniczącym w metabolizmie związków fenolowych o szkielecie fenylopropanowym ( $C_6-C_3$ ). Aktywność tego enzymu regulowana jest przez światło, regulatory wzrostu i rozwoju roślin oraz końcowe produkty szlaku kwasu szikimowego takie jak fenyloalanina, kwas trans-cynamonowy i jego pochodne.

Podczas kiełkowania nasion i bulw, wzrostu izolowanych organów takich jak skrawki liści, odcinki pędów i bulw, niezależnie od procesu fizjologicznego, aktywność PAL początkowo wzrasta, osiąga maksimum, a następnie spada. Na powyższy obraz zmian aktywności PAL składają się cykliczne (24-godz.), charakteryzujące się niewielką amplitudą, okresy wzrostu i spadku aktywności enzymu. Prowadzone w wielu ośrodkach badania zmierzają w kierunku poznania mechanizmu i regulacji tych zmian aktywności enzymu.

Dane literatury oraz wyniki własnych badań autorki (Szkutnicka 1975) pozwoliły na zaproponowanie schematu regulacji PAL na poziomie molekularnym (schemat 1). W schemacie omówionym szczegółowo w dalszej części artykułu uwzględniono trzy podstawowe aspekty tej regulacji przy udziale endogennych i egzogennych czynników regulujących: syntezę, inaktywację i aktywację nieczynnej formy enzymu.

Wspomniany schemat zaproponowano przyjmując hipotezę Engelsmy (1969) i Zuckera (1968) zakładającą, że w tkance roślinnej odbywa się synteza PAL i jej inhibitora białkowego (ryc. 1). Inhibitor ten może tworzyć nieaktywny kompleks z enzymem. Aktywność PAL obserwowana w tkance roślinnej stanowi wypadkową wymienionych powyżej procesów, a aktualna aktywność enzymu zależy od intensywności przebiegu każdego z nich.

### 1. Mechanizm regulacji aktywności amoniako-liazy L-fenyloalaniny przy udziale związków fenolowych

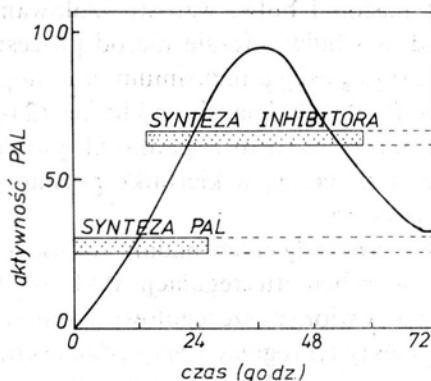
Jednym z podstawowych czynników regulujących aktywność PAL jest produkt reakcji katalizowanej przez ten enzym — kwas trans-cynamonowy oraz produkty

jego przekształcenia — kwasy trans-hydroksycynamonowe (Szkutnicka 1979).

Kwas trans-cynamonowy jest inhibitorem kompetycyjnym PAL (Walton 1968). Hamujący wpływ kwasu trans-cynamonowego i jego hydroksypochodnych na aktywność tego enzymu *in vivo* nie może być jednak bezpośrednim wynikiem kompetycyjnego hamowania enzymu. Świadczy o tym obserwacja, że potraktowanie rośliny kwasami trans-hydroksycynamonowymi powoduje po pewnym czasie zahamowanie wzrostu aktywności enzymu lecz aktywność ta nie spada poniżej poziomu obserwowanego przed potraktowaniem rośliny tymi kwasami (Goldstein i inni 1972).

Wykazano, że kwas trans-cynamonowy i jego hydroksypochodne mogą regulować aktywność PAL na zasadzie represji przez produkt reakcji. Drugą proponowaną drogą działania nagromadzających się związków fenolowych jest indukcja syntezy białek inaktywujących PAL; prowadzi to do inaktywacji enzymu (por. schemat 1) (Durst 1976, Engelsma 1968, 1972, 1974, Zucker 1965, 1968).

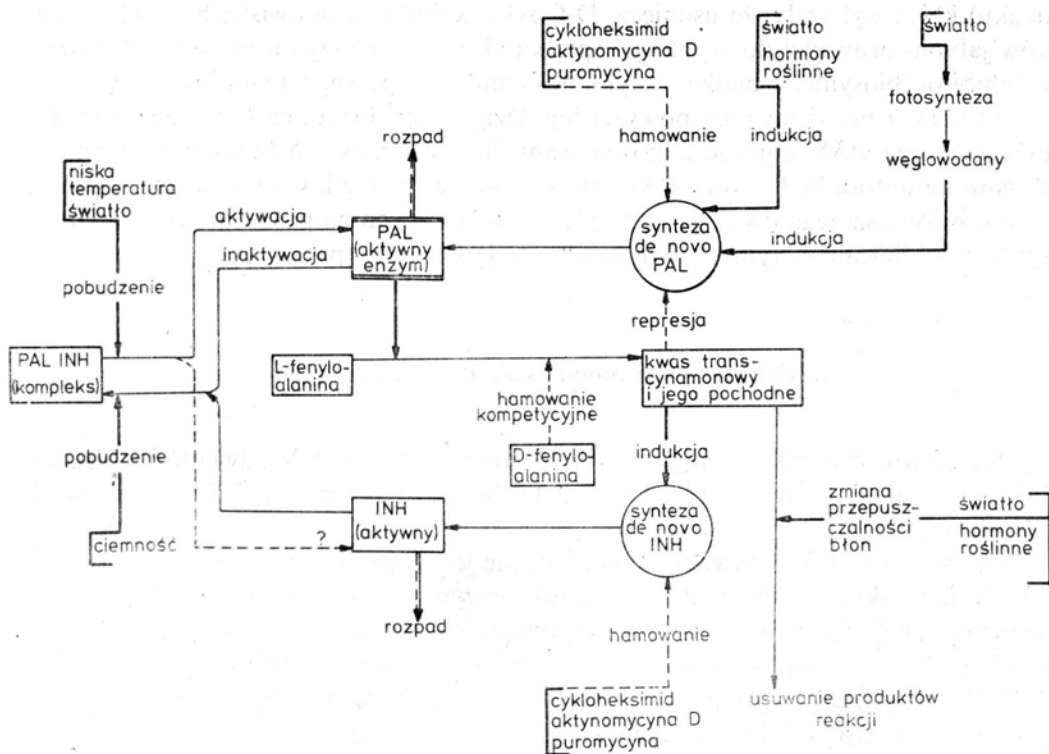
Zgodnie z hipotezą Zuckera (1968) przedstawioną na ryc. 1 synteza enzymu poprzedza syntezę inhibitora białkowego, indukowaną za pośrednictwem kwasu trans-cynamonowego. W miarę wzrostu ilości inhibitora białkowego zwiększa się szybkość inaktywacji i rośnie pula nieaktywnego enzymu. Uważa się to za przyczynę obserwowanego spadku aktywności PAL po osiągnięciu charakterystycznego dla danej tkanki maksimum (Durst 1976, Engelsma 1968, Szkutnicka 1975, Thor-



Ryc. 1. Schemat przedstawiający hipotezę rozdzielonej w czasie syntezy amoniako-liazy L-fenylalaniny (PAL) i inhibitora białkowego tego enzymu (według Zuckera, 1968)

pe i inni 1971, Walton 1968, Zucker 1965). Wykazanie niskiej aktywności PAL w tkankach o wysokim poziomie kwasów trans-hydroksycynamonowych popiera tę hipotezę (Durst 1976, Engelsma 1968, 1970, Engelsma i Maijer 1965).

Stwierdzono, że światło niebieskie i ultrafioletowe (UV) powoduje wzrost aktywności PAL (Attridge i Smith 1973, 1974, Attridge i inni 1974, Engelsma 1967, 1969, 1974, Hadwiger i Schwachau 1971, Nitsch i Nitsch 1966, Wellman 1971). Engelsma (1974) stwierdził, że zarówno UV jak i światło niebieskie powoduje przekształcenie kwasów trans-hydroksycynamonowych (kwasu p-kumarowego i ferulowego) do formy *cis*, które nie hamują aktywności PAL. Proces ten umożliwia wzrost aktywności PAL w wyniku naświetlania. Zahamowanie wzrostu aktywności PAL pod wpływem UV lub światła niebieskiego przez podanie cykloheksimidu



Schemat 1. Możliwe drogi regulacji aktywności amoniako-liazy L-fenylalaniny (PAL) w roślinach. INH — inhibitor białkowy PAL

pozwała na wnioskowanie, że kwasy trans-hydroksycynamonowe powodują represję syntezy *de novo* białka enzymu (Engelsma 1974) zgodnie ze schematem 1.

Hamujący wpływ L-fenylalaniny — substratu PAL — stwierdzony przez Creasy (1968), Engelsmę (1968), Szkutnicką (1975), Szkutnicką i Lewaka (1975), Thorpe i innych (1971) i Waltona (1968), przypisywany jest również działaniu kwasu trans-cynamonowego, który powstaje w wyniku dezaminacji tego aminokwasu zgodnie ze schematem 1.

Dotychczas omawiano endogenne związki fenolowe biorące udział w regulacji aktywności PAL. W poprzedniej pracy (Szkutnicka 1979) przedstawiono stymulujący wpływ stereoizomeru substratu tego enzymu — D-fenylalaniny — jako inhibitora kompetycyjnego *in vivo*. Prowadzone przez autorkę niniejszego artykułu badania wykazały, że D-fenylalanina może być pośrednio zaangażowana w regulacji syntezy *de novo* białka PAL i jej inhibitora białkowego.

Świadczy o tym wzmożone włączanie  $^{14}\text{C}$ -leucyny do białka enzymu stwierdzone w oczyszczonych metodą chromatografii powinowactwa preparatach z zarodków jabłoni, hodowanych w obecności D-fenylalaniny (Szkutnicka i Lewak w druku).

Wzrost aktywności PAL w obecności D-fenylalaniny może być również wynikiem zahamowanej syntezy *de novo* inhibitora białkowego enzymu przez ten aminokwas. Przypuszczenie to popierają wyniki uzyskane przez autorkę (złożone do

druku) które wykazały, że usunięcie D-fenylalaniny ze środowiska hodowli zarodków jabłoni prowadzi do szybkiego spadku aktywności enzymu w ciągu 12 godzin, a inhibitor biosyntezy białka — cykloheksimid — zapobiega temu spadkowi.

Zgodnie z przedstawioną powyżej hipotezą, D-fenylalanina hamując kompetywnie *in vivo* PAL ogranicza powstawanie kwasu trans-cynamonowego. Synteza *de novo* inhibitora białkowego PAL indukowana jest przez kwas trans-cynamonowy, co omówiono szczegółowo powyżej. Zatem D-fenylalanina pośrednio uniemożliwia syntezę inhibitora, a tym samym inaktywację enzymu (por. schemat 1).

## 2. Fotoregulacja amoniako-liazy L-fenylalaniny

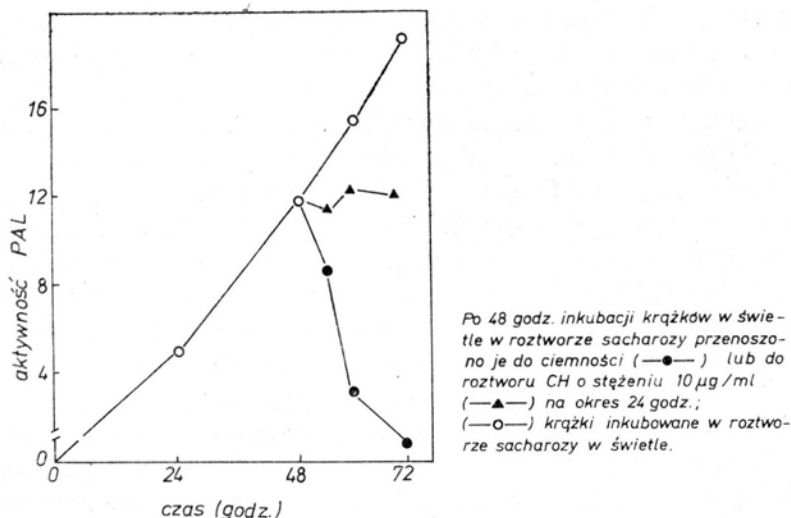
Na aktywność PAL, wpływa światło ultrafioletowe (UV), światło niebieskie, światło w całym zakresie widzialnym, a także światło czerwone i daleka czerwień (Zucker 1972).

Światło stymuluje aktywność PAL, lecz nie jest czynnikiem niezbędnym do pojawienia się tej aktywności. Spadek aktywności enzymu po osiągnięciu charakterystycznego dla danej tkanki maksimum obserwowany jest zarówno na świetle jak i w ciemności. Badania nad wpływem nieprzerwanego oświetlenia światłem białym na aktywność PAL wykazały występowanie cyklicznych, 24-godzinnych, zmian aktywności tego enzymu (Bopp i Meier 1974, McClure 1974, Podstolski i Brown 1974). Powyższe dane sugerują, że światło jest czynnikiem wpływającym głównie na zmianę równowagi pomiędzy aktywnym enzymem a systemem inaktywującym.

Wyniki badań prowadzonych przy zastosowaniu D<sub>2</sub>O (Iredale i Smith 1973, Sacher i inni 1972, Schopfer i Hock 1971) i <sup>14</sup>C-aminokwasów włączających się do białka PAL (Szkutnicka 1975, Zucker 1969, 1970, 1971) wykazały wzmożoną syntezę enzymu na świetle oraz mniej intensywną syntezę tego białka w ciemności. Wzrost aktywności enzymu pod wpływem światła obserwowany jest po 1,5—2,5 — godzinnym okresie zwłoki (Smith i inni 1977).

Równolegle przeprowadzono szereg badań przy zastosowaniu inhibitorów biosyntezy białek na poziomie translacji takich jak cykloheksimid (Amrhein i Zenk 1971, Creasy 1968, Engelsma 1967, Goldstein i inni 1972, Hyodo 1971, Minamikawa i Uritani 1965, Riov i inni 1969, Thorpe i inni 1971, Walton 1968, Zucker 1968), puromycyna (Minamikawa i Uritani 1965, Risslend i Mohr 1967, Walton 1968) i etionina (Walton 1968, Zucker 1965) oraz inhibitorów transkrypcji takich jak aktynomycyna D) (Huault i inni 1971, Hyodo 1971, Walton 1968). Wspomniane badania wykazały, że podanie tych inhibitorów powoduje zanik zmian aktywności enzymu w tkance.

Stwierdzono wzrost aktywności PAL w czasie inkubacji liści rzepienia na świetle białym. Wyłączenie światła powodowało natychmiastowy spadek aktywności enzymu (ryc. 2) (Zucker 1969). Podanie cykloheksimidu zapobiegało jednak zarówno dalszemu wzrostowi aktywności enzymu na świetle, jak również jej spadkowi w ciemności. Badania innych autorów prowadzone na różnym materiale roślinnym po-



Ryc. 2. Wpływ cykloheksimidu (CH) i światła na aktywność amoniako-liazy L-fenylalaniny (PAL) w krążkach liści rzeźpienia wg Zuckera, 1969

twierdzącą tę zależność (Engelsma 1967, Walton i Sondheimer 1968, Zucker 1968, 1971).

Wyniki tych badań nasuwają przypuszczenie, że wzrost aktywności PAL na świetle jest wynikiem ciągłej syntezy *de novo* enzymu, natomiast spadek aktywności enzymu w ciemności byłby wynikiem jego inaktywacji przy udziale specyficznego inhibitora białkowego podobnie jak to się dzieje pod wpływem kwasu trans-cynamonowego i jego pochodnych (por. też rozdz. 1). Cykloheksimid hamuje syntezę obydwu typów białek tzn. enzymu i inhibitora zarówno na świetle jak i w ciemności (por. schemat 1). Ostatnio stwierdzono, że indukowany przez światło wzrost aktywności PAL w komórkach pietruszki jest wynikiem syntezy *de novo* enzymu w następstwie indukowanego przez światło wzrostu ilości dostępnego do translacji m-RNA na polisomach (Ragg i inni 1977, Schröder i inni 1976).

Wyniki badań nad wpływem światła monochromatycznego na aktywność PAL wykazały rolę światła czerwonego w fotoregulacji i sugerują, że aktywność tego enzymu regulowana jest przy udziale fitochromu.

O udziale fitochromu w regulacji aktywności PAL świadczy indukcja aktywności tego enzymu przez krótkie naświetlanie siewek gorczycy (Durst i Duranton 1970, Durst i Mohr 1966, Mohr 1972, Mohr i inni 1968, Rissland i Mohr 1967, Weidner i inni 1968, 1969), grochu (Attridge i Smith 1967, Smith i Attridge 1970, Bellini i Van Poucke 1970) i rzodkiewki (Huault i inni 1971, Klein-Eude i inni 1971) światłem czerwonym. Krótkie naświetlanie daleką czerwienią powoduje spadek aktywności enzymu, podczas gdy nieprzerwane naświetlanie daleką czerwienią prowadzi do stałego wzrostu aktywności PAL. Stwierdzono też korelację wzrostu aktywności PAL ze zmianami ilości fitochromu (Huault i inni 1971 a, Klein-Eude i inni 1971, Larcher i inni 1971).

Zmiany aktywności PAL pod wpływem naświetlania czerwienią i daleką czerwienią występują dopiero po 60—90 min. zwłoki (Hopkins i Orkwiszewski 1971, Mohr i inni 1968). Wzrost aktywności enzymu pod wpływem dalekiej czerwieni może być zahamowany przez potraktowanie roślin cykloheksimidem (Klein-Eude i inni 1971). Uważa się to za dowód, że obserwowany wzrost aktywności PAL jest wynikiem regulowanej przez fitochrom syntezy *de novo* enzymu. Zastosowanie  $^3\text{H}_2\text{O}$  w badaniach nad regulacją aktywności PAL przy udziale fitochromu wykazało, że  $P_{fr}$  zwiększa tempo syntezy *de novo* tego enzymu (Acton i Schopfer 1975, Wellman i Schopfer 1975, Wu-Fu Tong i Schopfer 1976). Autorzy ci stwierdzili, że w miarę zwiększania się puli enzymu wzrasta tempo jego degradacji. Ze względu na fakt, że tempo syntezy enzymu przewyższa znacznie tempo degradacji obserwuje się wzrost aktywności PAL pod wpływem fitochromu.

Wyniki badań nad mechanizmem regulacji aktywności PAL i syntezy antocyjanów w siewkach gorczycy przy udziale fitochromu z jednoczesnym badaniem zawartości RNA i syntezy białek wykazały, że  $P_{fr}$  odblokuje transkrypcję potencjalnie aktywnych genów (Lange i inni 1967, Mohr 1966, Schopfer 1967) (model przedstawiający hipotezę zróżnicowanej aktywacji i represji genów i szczegółowy mechanizm udziału fitochromu w tym modelu znajdzie czytelnik w dwóch przeglądowych artykułach Schopfera (1972, 1972a).

Szereg autorów sugeruje, że fitochrom ( $P_{fr}$ ) zmieniając właściwości błon cytoplazmatycznych ułatwia transport wielu metabolitów komórkowych, a wśród nich kwasu trans-cynamonowego i produktów jego przekształcenia (por. rozdz. 1), z miejsca syntezy do wakuoli (Boudet i inni 1971, Engelsma 1967a, 1974, Taylor i Zucker 1966). Stymulujący wpływ światła czerwonego na aktywność PAL polegałby zatem na zapobieganiu represji syntezy *de novo* enzymu przez produkt reakcji enzymatycznej oraz jego hydroksypochodne. Również i ta droga regulacji została umieszczona na schemacie 1.

W regulacji aktywności PAL zaangażowane są również roślinne regulatory wzrostu i rozwoju. Wpływ tych substancji na aktywność PAL została szczegółowo omówiona w poprzednim artykule (Szkutnicka 1979). Biorąc pod uwagę przedstawione we wspomnianym artykule dane doświadczalne jak również mechanizm działania hormonów roślinnych i udział fitochromu w tym mechanizmie można założyć, że substancje te regulują aktywność PAL na poziomie syntezy *de novo* enzymu jak to zaznaczono na schemacie 1.

### 3. Inhibitor białkowy amoniako-liazy L-fenylalaniny. Odwracalna inaktywacja enzymu

Hipoteza Engelsmy (1969) i Zuckera (1968) o istnieniu białkowego inhibitora PAL zapoczątkowała badania nad regulacją aktywności tego enzymu *in vivo* (Attridge i Smith 1974, Attridge i inni 1974, Attridge i inni 1974a, Blondel i inni 1973, Chu i Widholm 1972, Engelsma 1970, 1970a, Hadwiger 1968,

Johnson i inni 1973, Klein-Eude i inni 1974, Szkutnicka 1975). Badania te doprowadziły do stworzenia modelu odwracalnej inaktywacji PAL.

W literaturze brak kompletnych danych charakteryzujących inhibitor białkowy PAL. Wykazano jednak, że inhibitor ten jest białkiem o ciężarze cząsteczkowym około 14000 (Attridge i inni 1974). Ze względu na nietrwałość *in vitro*, jego badanie jest trudne, zaś o mechanizmach inaktywacji i aktywacji PAL z jego udziałem można wnioskować tylko pośrednio ze skąpych danych doświadczalnych.

Wyniki prowadzonych wcześniej badań wskazywały na wpływ światła na regulację aktywności PAL przy udziale swoistego inhibitora (por. rozdz. 2). Wobec tego podjęto próby wyjaśnienia wpływu światła na mechanizm inaktywacji enzymu stosując naświetlanie roślin światłem o różnej długości fali. Jednocześnie zastosowanie cykloheksimidu oraz zróżnicowanie temperatury inkubacji roślin w czasie doświadczeń stworzyło możliwość częściowego wyjaśnienia problemów związanych z inhibitorem białkowym PAL.

Naświetlanie rosnących w ciemności siewek ogórka światłem niebieskim w temperaturze 25°C prowadzi początkowo do wzrostu, a następnie do spadku aktywności PAL (Engelsma 1967b). Jednak jeżeli tak traktowane rośliny poddano działaniu temperatury 4°C w ciemności, obserwowano pojawienie się drugiego maksimum aktywności enzymu. Cykloheksimid podany siewkom po traktowaniu ich niską temperaturą nie hamuje już wzrostu aktywności PAL w temperaturze 25°C lecz opóźnia w czasie jej spadek (Engelsma 1969).

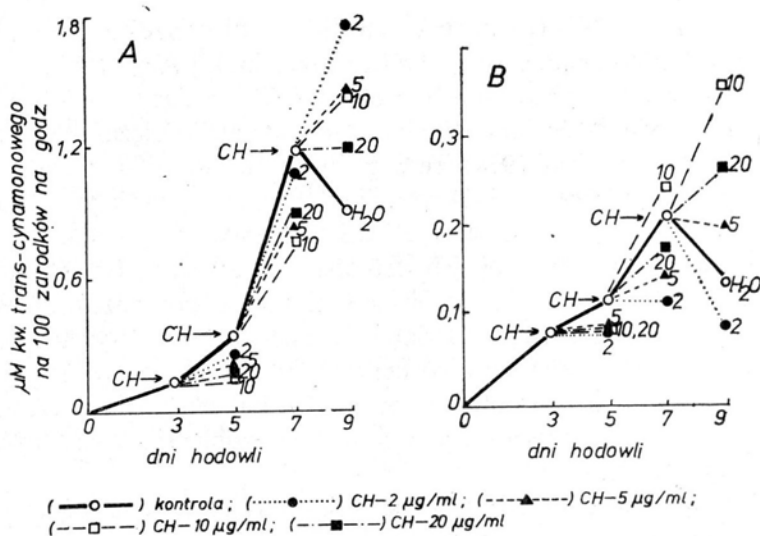
Na podstawie tych wyników zaproponowano, że w temperaturze 25°C w ciemności tworzy się nieaktywny kompleks enzymu z inhibitorem białkowym. Niska temperatura prowadzi do uwolnienia aktywnego enzymu z kompleksu (Por. schemat 1).

Wyniki badań ostatnich lat (Attridge i Smith 1973, 1974, Attridge i inni 1974, 1974a, Weissenbock 1971) sugerują, że wzrost aktywności PAL w siewkach ogórka po naświetleniu ich światłem niebieskim lub daleką czerwieńią, podobnie jak po potraktowaniu temperaturą 4°C, jest skutkiem dysocjacji tworzącego się wcześniej w ciemności nieaktywnego kompleksu enzym — inhibitor białkowy.

Jak wspomniano poprzednio (rozd. 2), światło może uczestniczyć w procesie inaktywacji i aktywacji PAL. Wyniki badań z zastosowaniem cykloheksimidu sugerują, że zarówno w okresie wzrostu aktywności PAL jak i w okresie spadku tej aktywności zachodzi ciągła synteza *de novo* białka, a proces ten jest pod kontrolą światła (UV, światło niebieskie, czerwień, daleka czerwień, światło w całym zakresie widzialnym).

Badania autorki niniejszego artykułu nad regulacją aktywności PAL w zarodkach jabłoni przy zastosowaniu cykloheksimidu (Szkutnicka i Lewak, w druku) wykazały zróżnicowaną wrażliwość syntezy tego enzymu na stosowany antybiotyk. Autorzy ci stwierdzili, że wpływ cykloheksimidu na aktywność PAL zależy od aktualnej aktywności enzymu w tkance roślinnej, stężenia antybiotyku i warunków świetlnych (ryc. 3).

W zarodkach jabłoni hodowanych na świetle (ryc. 3, A) cykloheksimid hamuje aktywność PAL proporcjonalnie do stężenia, podany w okresie gdy aktywność enzymu jest jeszcze niska. W późniejszym okresie efekt ten jest mniej wyraźny, nato-



Ryc. 3. Zmiany aktywności amoniako-liazy L-fenylalaniny (PAL) pod wpływem cykloheksimidu (CH) po 3, 5 i 7 dniach hodowli na świetle (A) i w ciemności (B) spoczynkowych zarodków jabłoni (wg Szkutnickiej, 1975)

miast w okresie maksymalnej aktywności PAL cykloheksimid nie tylko zapobiega spadkowi lecz powoduje wzrost aktywności.

Cykloheksimid podany na początku hodowli zarodków w ciemności hamuje aktywność PAL niezależnie od stężenia. W późniejszym okresie tylko niskie stężenia cykloheksimidu hamują aktywność PAL, wyższe natomiast stymulują aktywność tego enzymu (ryc. 3, B). Stymulację aktywności PAL pod wpływem cykloheksimidu obserwuje się wcześniej w zarodkach hodowanych w ciemności niż na świetle.

Dalsze badania autorki (Szkutnicka i Lewak, w druku) nad mechanizmem inaktywacji i aktywacji PAL w zarodkach jabłoni hodowanych w ciemności, prowadzono, oczyszczając enzym. Stosowano w tym celu metodę chromatografii powinowactwa na kolumnie z Sepharose 4B związanej z L-fenylalaniną. Wykazano elektroforetycznie, że oczyszczony preparat enzymu z zarodków jabłoni hodowanych zarówno w obecności cykloheksimidu jak i w kontroli zawiera jedną główną frakcję białka ( $R_x = 0,31$ ) o aktywności PAL. Wyniki omówione w dalszej części tekstu sugerują, że oczyszczony preparat zawiera aktywny enzym oraz kompleks enzymu z inhibitorem białkowym. Wydaje się, że kompleks enzymu z niskocząsteczkowym białkiem inhibitora (ok. 14000 (Attridge i inni 1974)) wykazuje minimalną, niewykrywalną w żelu różnicę w ruchliwości elektroforetycznej.

Stwierdzono, że radioaktywność białka we frakcjach z kolumny jest zdecydowanie obniżona, gdy użyte do wyodrębniania enzymu zarodki jabłoni hodowano w obecności cykloheksimidu. Zawartość białka w tych frakcjach jest również niższa w preparatach oczyszczonych z zarodków traktowanych tym antybiotykiem niż w kontroli. Natomiast aktywność PAL w tych samych frakcjach jest wyższa w preparatach oczyszczonych z zarodków hodowanych w obecności cykloheksimidu niż w kontroli.



Jednocześnie aktywność właściwa enzymu w preparatach oczyszczonych z zarodków traktowanych cykloheksimidem jest dużo wyższa niż w kontroli. Radioaktywność właściwa tego białka jest zdecydowanie obniżona w preparatach z zarodków jabłoni traktowanych cykloheksimidem w stosunku do kontroli.

Wyniki te można wyjaśnić zakładając, że w czasie całego cyklu zmian aktywności PAL odbywa się synteza enzymu i jego inhibitora białkowego. Pewna ilość enzymu tworzy kompleks z inhibitorem, a proces ten przebiega wcześniej i szybciej w ciemności niż na świetle. W okresie spadku aktywności PAL dominuje synteza inhibitora, który tworzy z enzymem nieaktywny kompleks. Zahamowanie syntezy białka przez cykloheksimid w tym okresie powoduje zmniejszenie liczby cząsteczek inhibitora. W ten sposób dochodzi do utrzymania w stanie aktywnym powstałych poprzednio cząsteczek enzymu. Zatem cykloheksimid wpływa pośrednio na stan równowagi pomiędzy kompleksem enzym-inhibitor i jego składnikami, a inaktywacja enzymu nie odbywa się w obecności cykloheksimidu.

Z drugiej strony, bardzo wyraźny wzrost aktywności PAL (ryc. 3, B) w zarodkach jabłoni hodowanych w obecności cykloheksimidu w porównaniu z zarodkami kontrolnymi, jak również większa aktywność właściwa enzymu w preparatach oczyszczonych z zarodków traktowanych cykloheksimidem sugeruje, że możliwa jest dysocjacja powstałego wcześniej w ciemności kompleksu enzymu z inhibitorem białkowym. Warunkiem tej dysocjacji jest zahamowanie syntezy *de novo* białka.

W ten sposób cykloheksimid staje się z jednej strony pośrednim czynnikiem uniezmogławiającym inaktywację enzymu, z drugiej zaś czynnikiem prowadzącym do aktywacji nieczynnego kompleksu.

Biorąc pod uwagę powyższe dane można przypuszczać, że udział światła w regulacji aktywności PAL odbywa się na podobnej drodze, jak to wykazano w badaniach z zastosowaniem cykloheksimidu (por. schemat 1). Na możliwość występowania nieaktywnej formy PAL oraz podobny mechanizm udziału światła w jej aktywacji wskazują również wyniki innych autorów (Blondel i inni 1973, Creasy i inni 1974, French i Smith 1975, Klein-Eude i inni 1974). Ostatnio stwierdzono również obecność inhibitora białkowego PAL w siewkach rzodkiewki (Faye 1977, Smith i inni 1977), i w liściach truskawki (Creasy 1976). Lamb (1977) sugeruje również obecność m-RNA kodującego inhibitor białkowy PAL w bulwach ziemniaka.

Przedstawiony w niniejszym artykule przegląd danych literatury o regulacji aktywności amoniako-liazy L-fenyloalaniny stanowi obszerny materiał wyjaśniający wiele aspektów regulacji syntezy związków fenolowych w roślinach. Podsumowanie istniejącego w tej dziedzinie stanu wiedzy stanowi zaproponowany przez autorkę schemat 1. Szczegółowa analiza poszczególnych elementów schematu, przeprowadzona w niniejszym artykule, pozwoliła jednocześnie przedstawić główne kierunki badań prowadzonych nad mechanizmem regulacji aktywności amoniako-liazy L-fenyloalaniny. Ostateczne wyjaśnienie mechanizmu regulacji aktywności tego enzymu i syntezy związków fenolowych wymaga jednak dalszych badań, tym bardziej zasługujących na uwagę, że amoniako-liaza L-fenyloalaniny stanowi dogodny model w badaniach nad mechanizmem regulacji aktywności enzymów roślinnych *in vivo*.

## LITERATURA

- Acton G. J., Schopfer P., 1975. *Biochim. Biophys. Acta* 404, 231—242.
- Amrhein N., Zenk M., 1971. *Z. Pflanzenphysiol.* 64, 145—168.
- Attridge T. H., Smith H., 1967. *Biochim. Biophys. Acta* 148, 805—807.
- Attridge T. H., Smith H., 1973. *Phytochem.* 12, 1569—1574.
- Attridge T. H., Smith H., 1974. *Biochim. Biophys. Acta* 343, 452—464.
- Attridge T. H., French C. J., Smith H., 1974. *Bull. 12, Roy. Soc. New Zealand, Wellington, str.* 361—364.
- Attridge T. H., Johnson Ch. B., Smith H., 1974a. *Biochim. Biophys. Acta* 343, 440—451.
- Bellini E., Van Poucke M., 1970. *Planta* 93, 60—70.
- Blondel J. D., Huault C., Faye L., Rollin P., 1973. *FEBS Letters* 36, 239—244.
- Bopp M., Meier V., 1974. *Portug. Acta Biol. Ser. A XIII*, 9—24.
- Boudet A., Ranjeva R., Gadal P., 1971. *Phytochem.* 10, 997—1005.
- Chu M., Widholm J. M., 1972. *Physiol. Plant.* 26, 24—28.
- Creasy L. L., 1968. *Phytochem.* 7, 441—446.
- Creasy L. L., 1976. *Phytochem.* 15, 673—675.
- Creasy L. L., Zucker M., Wong P. P., 1974. *Phytochem.* 13, 2117—2124.
- Durst F., 1976. *Planta* 132, 221—227.
- Durst F., Duranton H., 1970. *Compt. Rend. 270 D, cyt. za Zucker M., 1972. Ann. Rev. Plant Physiol.* 23, 133—156.
- Durst F., Mohr H., 1966. *Naturwissenschaften* 53, 531—532.
- Engelsma G., 1967. *Planta* 75, 207—219.
- Engelsma G., 1967a. *Planta* 77, 49—57.
- Engelsma G., 1967b. *Naturwissenschaften* 54, 319—320.
- Engelsma G., 1968. *Planta* 82, 355—368.
- Engelsma G., 1969. *Naturwissenschaften* 56, 563—564.
- Engelsma G., 1970. *Planta* 90, 133—141.
- Engelsma G., 1970a. *Planta* 91, 246—254.
- Engelsma G., 1972. *Plant Physiol.* 50, 599—602.
- Engelsma G., 1974. *Plant Physiol.* 54, 702—705.
- Engelsma G., Maijer G., 1965. *Acta Bot. Neer.* 14, 54—72.
- Farkas G. L., str. 115—126, *Academiai Kiado, Budapest.*
- Faye L., 1977. *Biochimie* 59, 345—350.
- French Ch. J., Smith H., 1975. *Phytochem.* 14, 963—967.
- Goldstein L. D., Jennings P. H., Marsh Jr. H. V., 1972. *Plant Cell Physiol.* 13, 783—795.
- Hadwiger L. A., 1968. *Neth. J. Plant Physiol.* 74, 163—169.
- Hadwiger L. A., Schwachau M. E., 1971. *Plant Physiol.* 47, 588—590.
- Hopkins W. G., Orkwiszewski J. A. J., 1971. *Can. J. Bot.* 49, 129—135.
- Huault C., Klein-Eude D., Rollin P., Blondel J. D., 1971. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 273, 745—748.
- Huault C., Larcher G., Malcoste R., 1971a. *Compt. Rend. 273 D*, 1371—1374.
- Hyodo H., 1971. *Plant Cell Physiol.* 12, 989—991.
- Iredale S. E., Smith H., 1973. *Phytochem.* 12, 2145—2154.
- Johnson Ch. B., Attridge T. H., Smith H., 1973. *Biochim. Biophys. Acta* 317, 219—230.
- Klein-Eude D., Huault C., Rollin P., 1971. *C. R. Acad. Sc. Paris* 273, 1276—1278.
- Klein-Eude D., Rollin P., Huault C., 1974. *Plant Sci. Letters* 2, 1—8.
- Lamb C. J., 1977. *Planta* 135, 169—175.
- Lange H., Bienger J., Mohr H., 1967. *Planta* 76, 359—366.
- Larcher G., Huault C., Malcoste R., 1971. *Compt. Rend. 273 D*, 2257—2261.
- McClure J. W., 1974. *Phytochem.* 13, 1065—1069.
- Minamikawa T., Uritani J., 1965. *J. Biochem.* 57, 678—688.
- Mohr H., 1966. *Photochem. Photobiol.* 5, 469—483.

- Mohr H., 1972. w Wstęp do fotobiologii, red. Swanson C. P., str. 105—144, PWRiL, Warszawa.
- Mohr H., Huault C., Lange H., Rissland I., Lohman L., Weidner M., 1968. *Planta*, 83, 262—275.
- Nitsch C., Nitsch J. P., 1966. *Compt. Rend.* 262 D, 1102—1104.
- Podstolski A., Brown G. N., 1974. *Plant Physiol.* 54, 41—43.
- Ragg H., Schröder J., Hahlbrock K., 1977. *Biochim. Biophys. Acta* 474, 226—233.
- Riov J., Monselise S. P., Kahn R. S., 1969. *Plant Physiol.* 44, 631—635.
- Rissland J., Mohr H., 1967. *Planta* 77, 239—249.
- Sacher J. A., Towers G. H. N., Davies D. D., 1972. *Phytochem.* 11, 2383—2391.
- Schopfer P., 1967. *Planta* 72, 306—320.
- Schopfer P., 1972. w *Nucleic acids and proteins in higher plants*, red.
- Schopfer P., 1972a. w *Phytochrome*, red. Mitrakos K., Shropshire Jr. W., str. 486—514. Acad. Press, London.
- Schopfer P., Hock B., 1971. *Planta* 96, 248—253.
- Smith H., Attridge T. H., 1970. *Phytochem.* 9, 487—495.
- Smith H., Billet E. E., Giles A. B., 1977. w druku, cyt. za Lamb C. J., 1977. *Planta* 135, 169—175.
- Schröder J., Betz B., Hahlbrock K., 1976. *Europ. J. Biochem.* 67, 527—542.
- Szkutnicka K., 1975. *Praca doktorska*, Wyd. Biologii UW.
- Szkutnicka K., Lewak St., 1975. *Plant Sci. Letters* 5, 147—156.
- Szkutnicka K., Lewak St., w druku.
- Szkutnicka K., 1979. *Wiadomości Botaniczne*, 23, 89—101.
- Thorpe T. A., Maier V. P., Hasegawa S., 1971. *Phytochem.* 10, 711—718.
- Taylor A. O., Zucker M., 1966. *Plant Physiol.* 41, 1350—1359.
- Walton D. C., 1968. *Plant Physiol.* 43, 1120—1124.
- Walton D. C., Sondheimer E., 1968. *Plant Physiol.* 43, 465—469.
- Wiedner M., Rissland I., Mohr H., 1968. *Naturwissenschaften* 55, 452—456.
- Weidner M., Rissland I., Lohman L., Huault C., Mohr H., 1969. *Planta* 86, 33—41.
- Weissenbock G., 1971. *Z. Pflanzenphysiol.* 66, 73—81.
- Wellman E., 1971. *Planta* 101, 283—286.
- Wellman E., Schopfer P., 1975. *Plant Physiol.* 54, 822—827.
- Wu-Fu Tong, Schopfer P., 1976. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 73, 4017—4021.
- Zucker M., 1965. *Plant Physiol.* 40, 779—784.
- Zucker M., 1968. *Plant Physiol.* 43, 365—374.
- Zucker M., 1969. *Plant Physiol.* 44, 912—922.
- Zucker M., 1970. *Biochim. Biophys. Acta* 208, 331—333.
- Zucker M., 1971. *Plant Physiol.* 47, 442—444.
- Zucker M., 1972. *Ann. Rev. Plant Physiol.* 23, 133—156.