

Первичные стадии фотобиологических процессов

Юрий Андреевич Владимирков
yuvlad@fbm.msu.ru

Москва 2003

Фотобиологические процессы

Фотосинтез - синтез органических молекул за счет энергии солнечного света;

Фототаксис - движение организмов, например бактерий, к свету или от света;

Фототропизм - поворот листьев или стеблей растений к свету или от света;

Зрение - превращение световой энергии в энергию нервного импульса в сетчатке глаза или в аналогичных фоторецепторах;

Действие интенсивного видимого света (лазеротерапия)

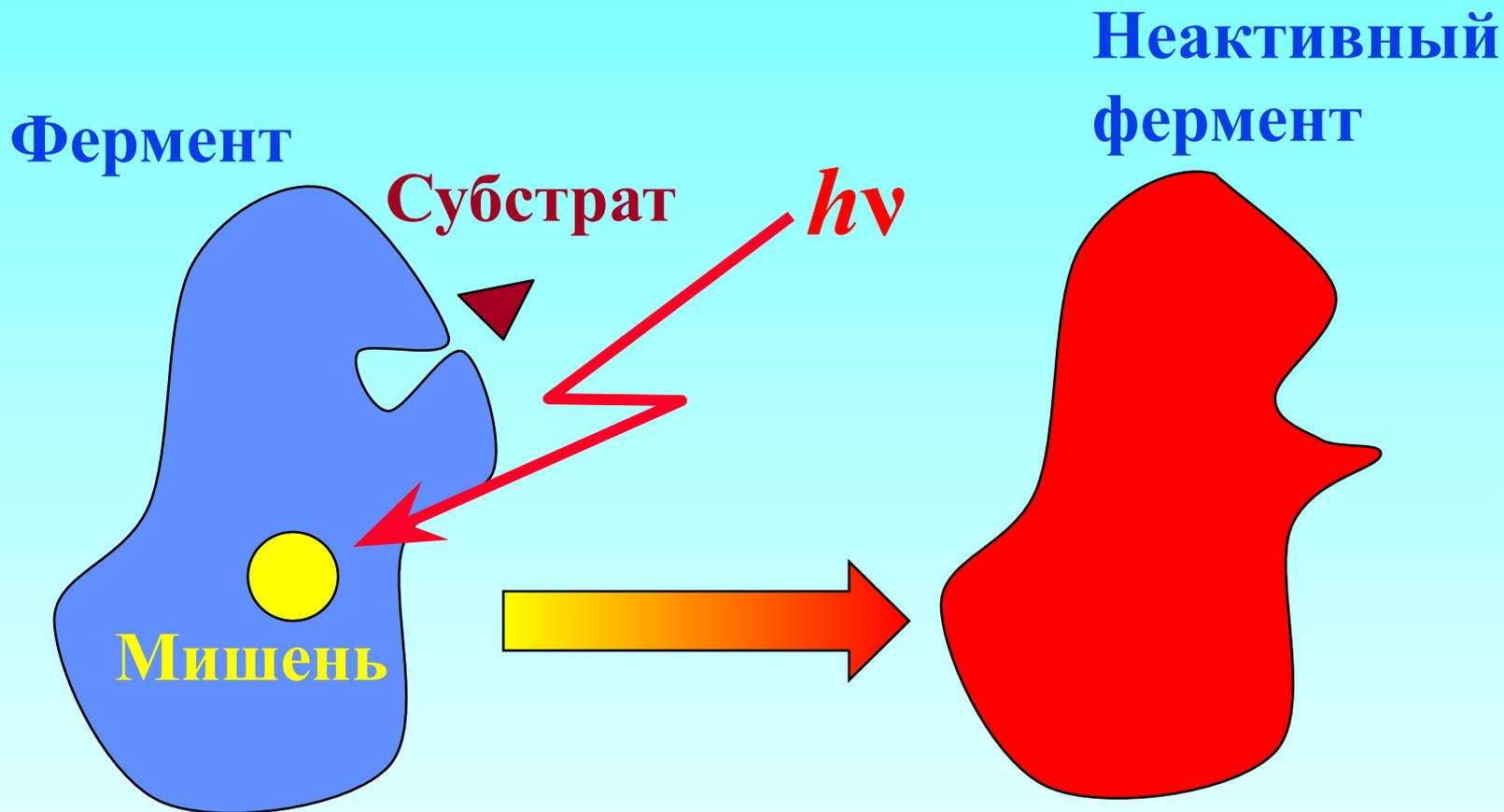
Действие ультрафиолетовых лучей

- Бактерицидное или бактериостатическое действие на микроорганизмы
 - Мутагенное действие
 - Канцерогенное действие
 - Образование витамина D из провитаминов
 - Эритемное действие на кожу
 - Образование загара
 - Терапевтические эффекты

Основные стадии фотобиологического процесса

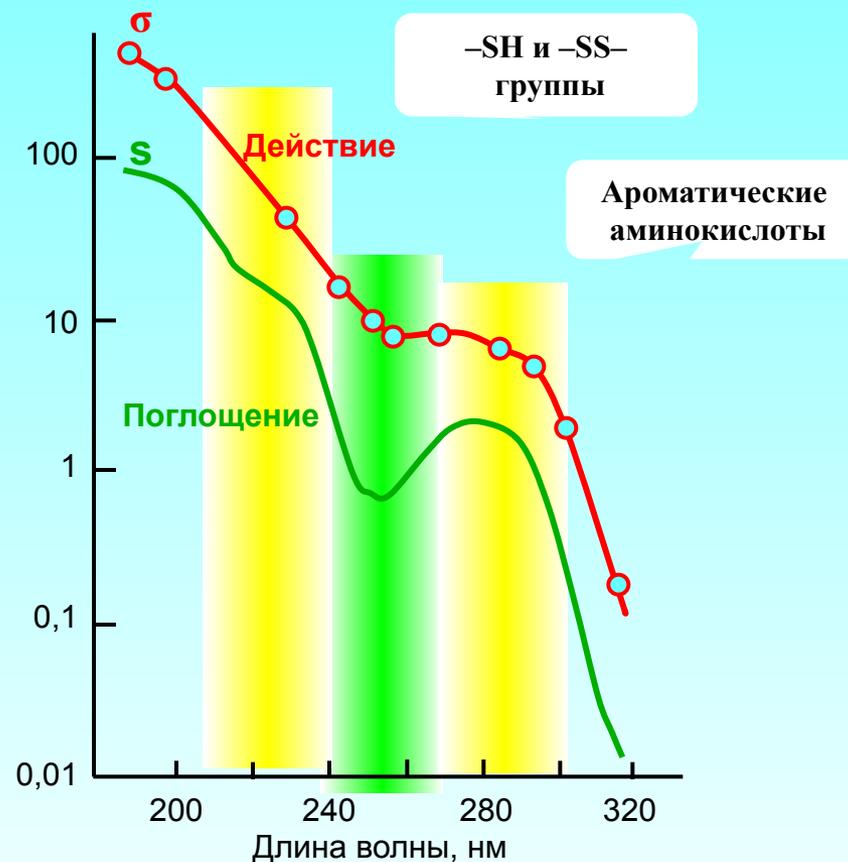
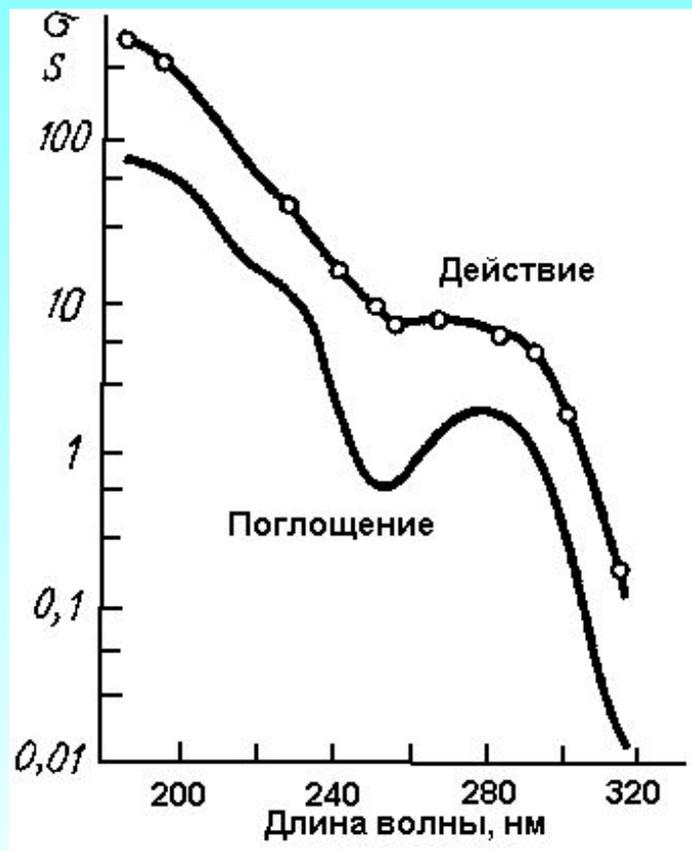
- 1) Поглощение кванта света.
- 2) Внутримолекулярные процессы размена энергией (фотофизические процессы).
- 3) Межмолекулярные процессы переноса энергии возбужденного состояния (миграция энергии).
- 4) Первичный фотохимический акт.
- 5) Темновые реакции, заканчивающиеся образованием стабильных продуктов.
- 6) Биохимические реакции с участием фотопродуктов.
- 7) Физиологический ответ на действие света.

Мишени для фотонов



Как узнать, что такое мишень?

Спектры поглощения и спектры действия



Инактивации трипсина под действием УФ-облучения

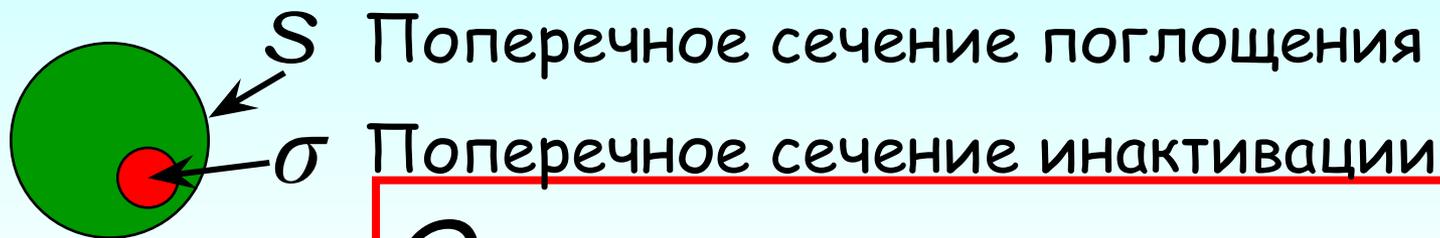
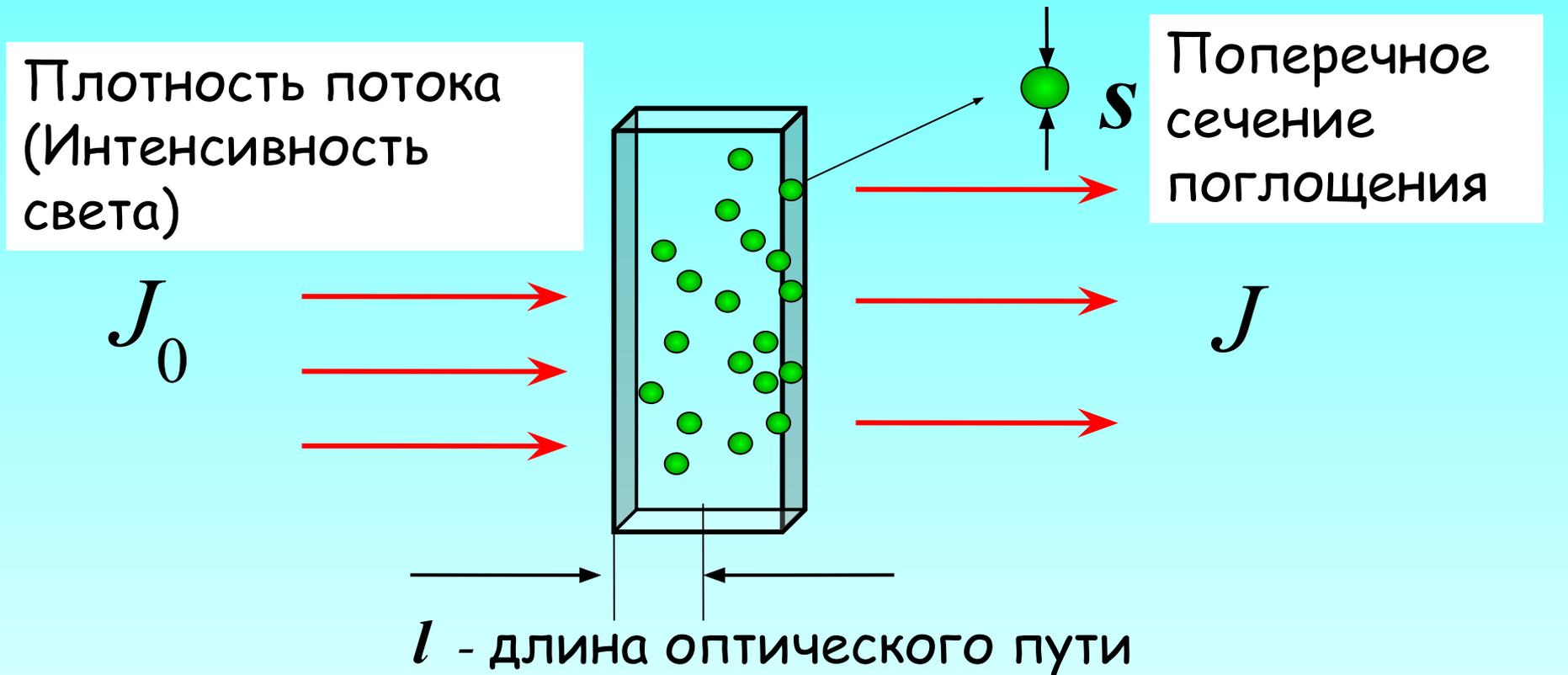
Одноударная фотохимическая реакция



Инактивация ферментов происходит по **одноударному механизму**. Это означает следующее:

1. Каждая молекула повреждается независимо от других.
2. Поглотив свет, молекула может быть либо полностью выведена из строя, либо останется совершенно целой. Частичного повреждения не происходит, равно как не происходит восстановления повреждения.

Одноударная фотохимическая реакция



$$Q - \text{Квантовый выход инактивации} = \sigma / S$$

Кинетика одноударной фотохимической реакции

Каждую секунду образец поглощает

$$J_0 S (1 - T) \text{ фотонов}$$

где $T = J / J_0$ - коэффициент пропускания, S - площадь сечения раствора.

При этом в растворе ежесекундно инактивируется

$$\frac{d(nSl)}{dt} = QJ_0 S (1 - T) \text{ молекул}$$

Скорость инаktivации равна

$$\frac{dn}{dt} = -QJ_0 (1 - T) / l$$

где Q - квантовый выход фотохимической реакции,
 l - длина оптического пути.

Напомним закон Бугера-Ламберта-Бера

$$I/I_0 = T = e^{-nsl}$$

s – поперечное сечение поглощения молекулы, см^2

n – концентрация в числе молекул в 1 см^3

$$1 - T = 1 - e^{-nsl}$$

В разбавленных растворах $nsl \ll 1$, и поглощение $(1 - T)$ приблизительно равно nsl (погрешность $< 5\%$ при $nsl < 0,1$).

$$1 - T \approx nsl$$

Кинетика одноударной фотохимической реакции

Из уравнения

$$\frac{dn}{dt} = QJ_0 (1 - T) / l$$

Следует, что $\frac{dn}{dt} = QJ(1 - e^{-nsl}) / l$

В разбавленных растворах $nsl \ll 1$, и выражение в скобках приблизительно равно nsl (погрешность менее 5% при nsl меньше 0,1). В этом случае

$$\frac{dn}{dt} = QJns$$

**Смотри Следующий
Слайд**

Кинетика одноударной фотохимической реакции

$$\frac{dn}{n} = QJsdt \quad \int_{n_0}^n \frac{dn}{n} = QJs \int_0^t dt$$

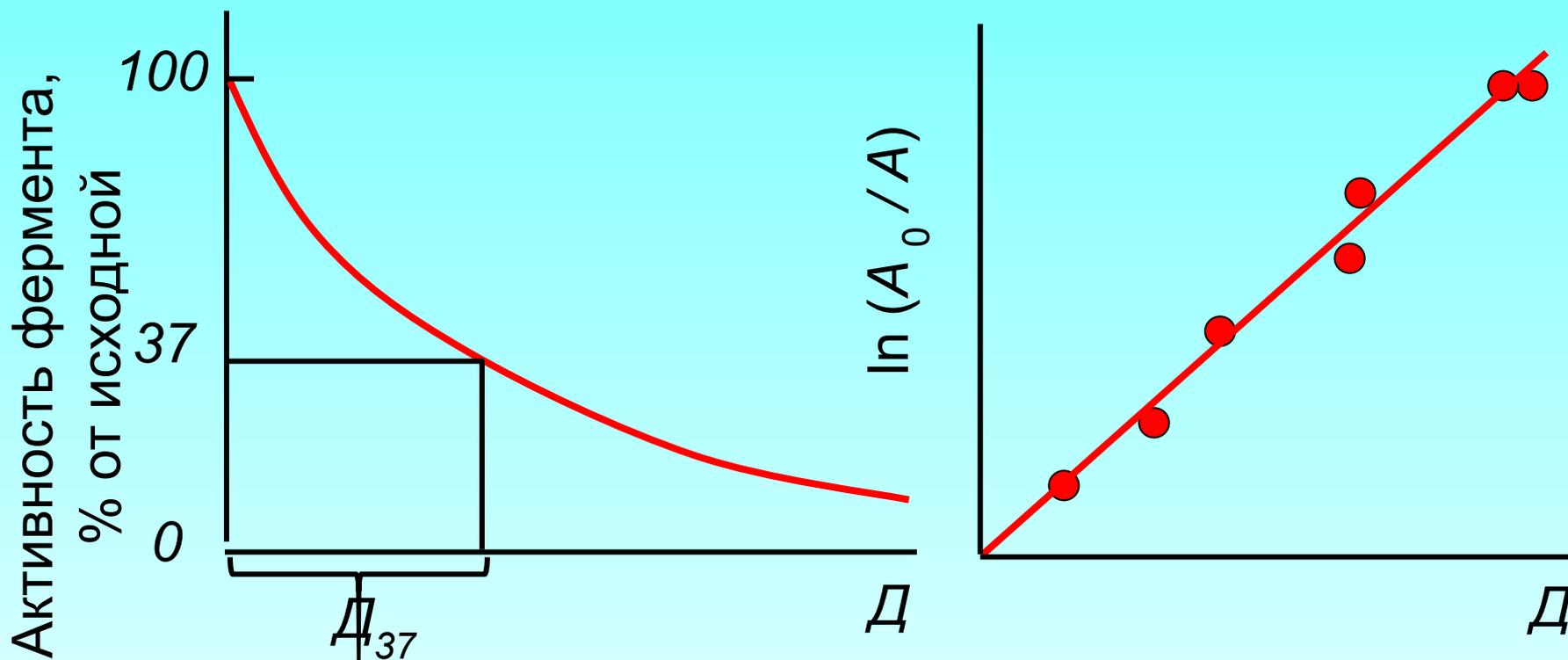
$$\ln \frac{n_0}{n} = QJs t$$

$$Qs = \sigma$$

$$Jt = \mathcal{D}$$

$$\ln \frac{n_0}{n} = \sigma \mathcal{D}$$

Кинетика инактивации фермента



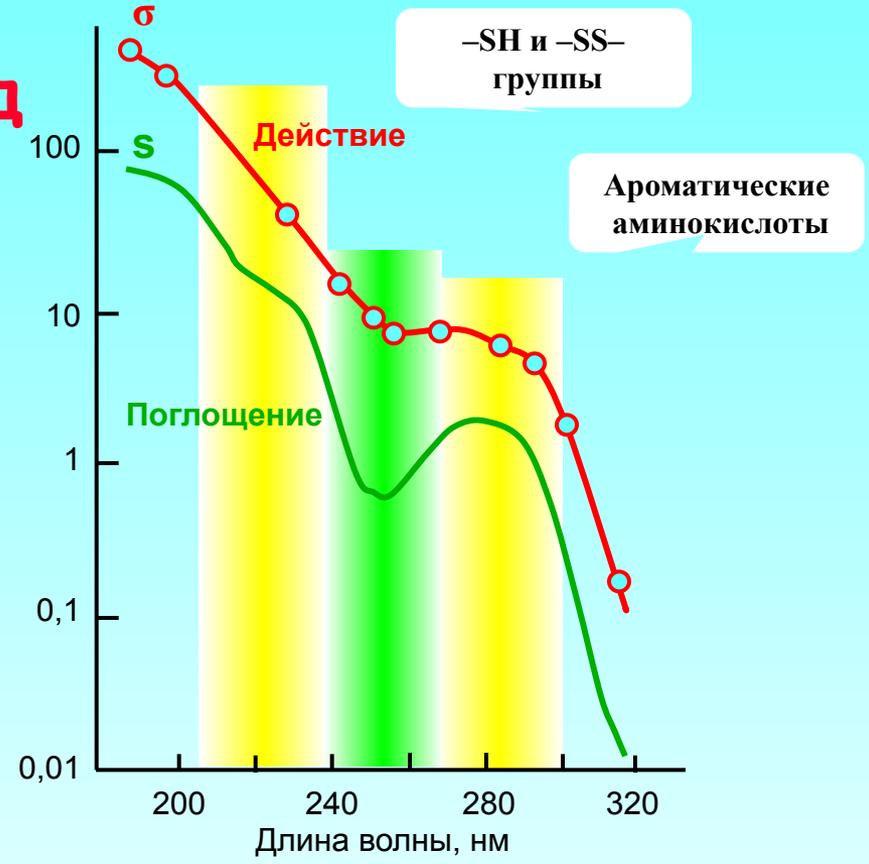
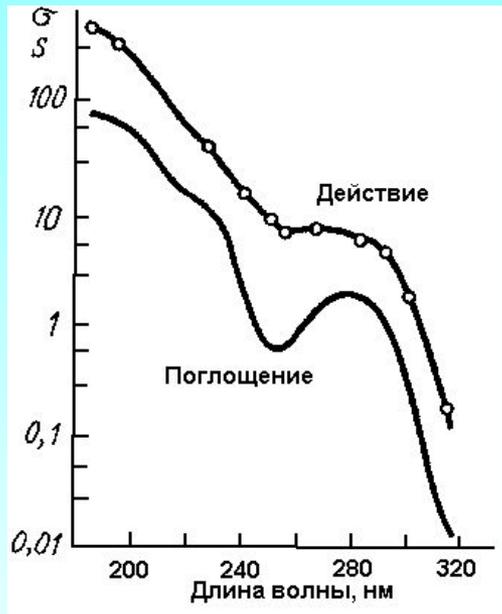
Определение поперечного сечения инактивации фермента:
 A_0 и A - активности фермента перед облучением и после облучения дозой D .

Величины, обычно откладываемые по оси ординат на спектрах фотобиологического действия

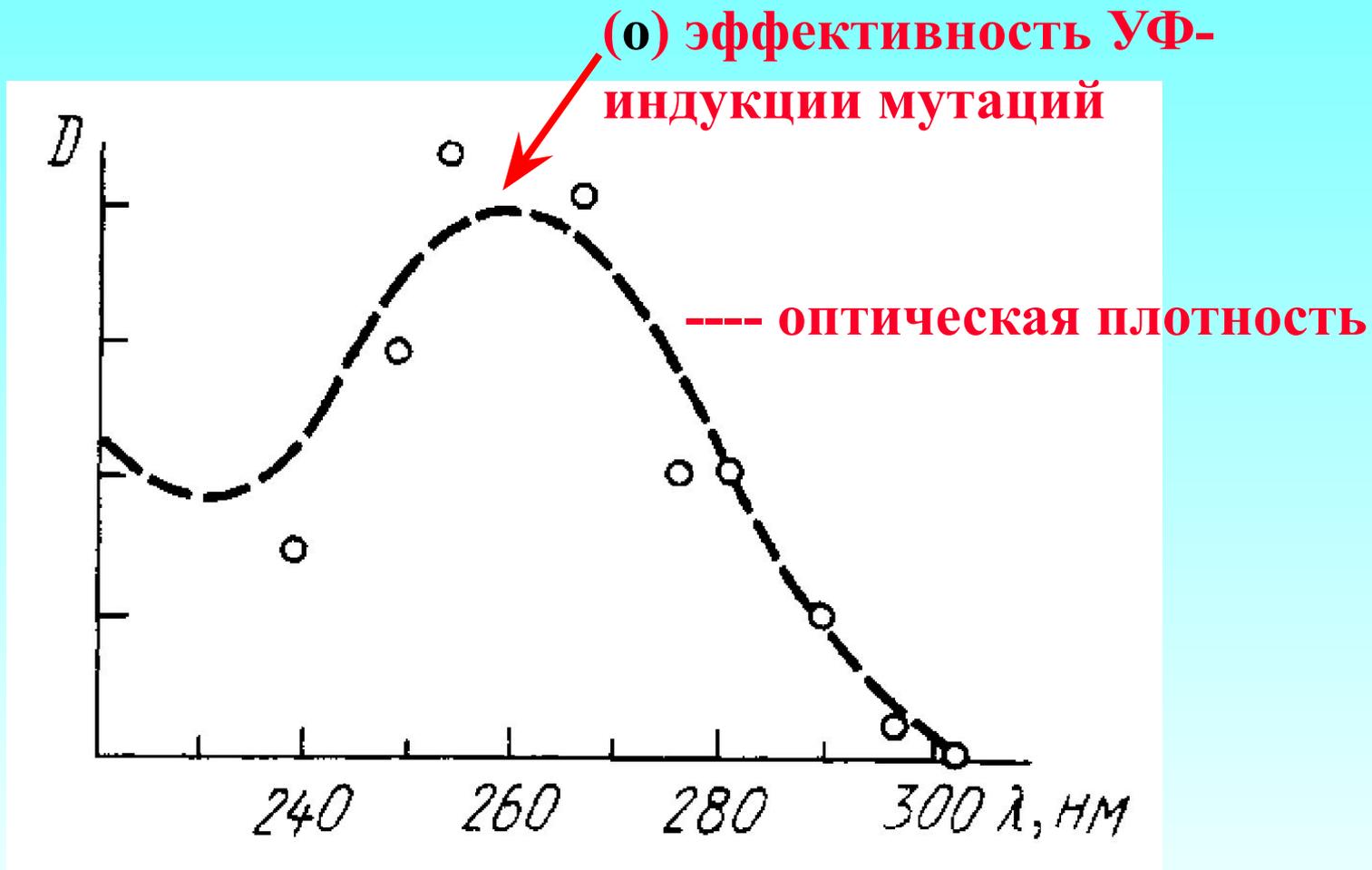
По оси абсцисс на спектрах откладывают длину волны действующего излучения.

По оси ординат откладывают либо **поперечное сечение инактивации** (при одноударном механизме); либо **величину, обратную дозе**, вызывающей определенный фотобиологический эффект.

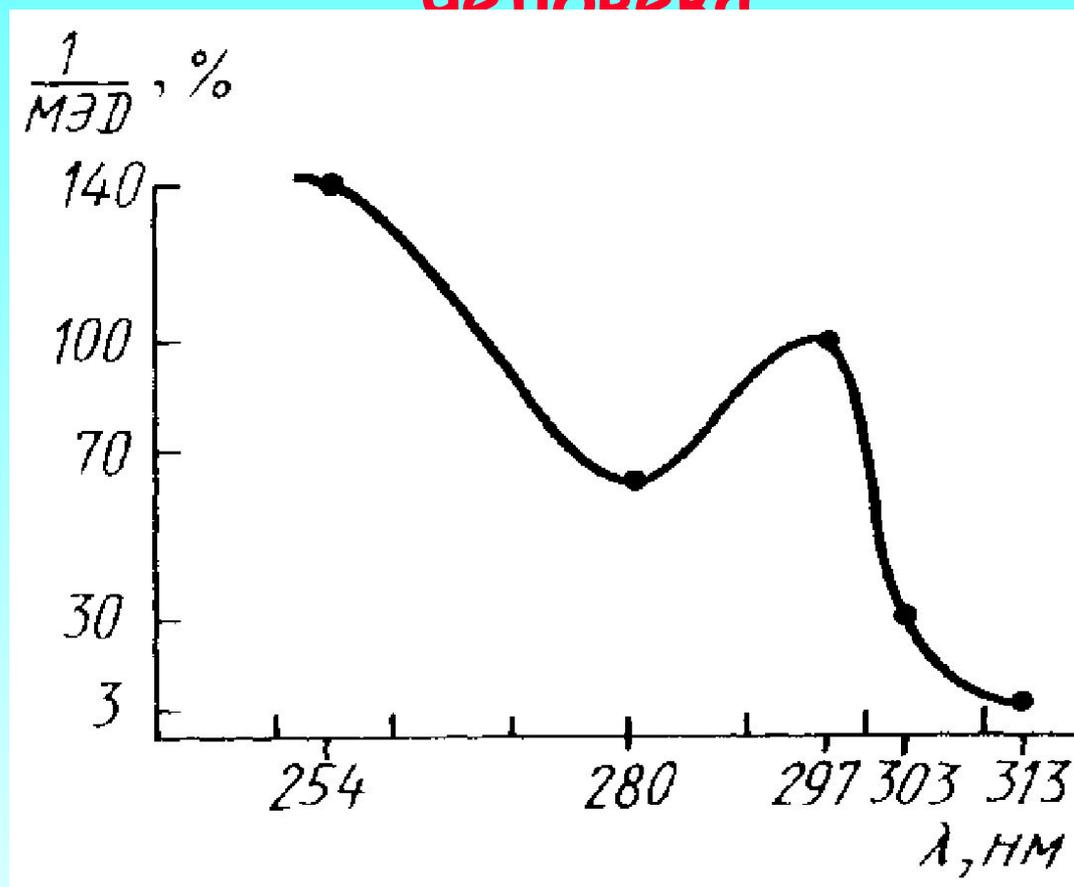
Спектр поглощения и спектр действия инактивации трипсина под действием УФ-облучения



Спектр действия возникновения мутаций у кукурузы



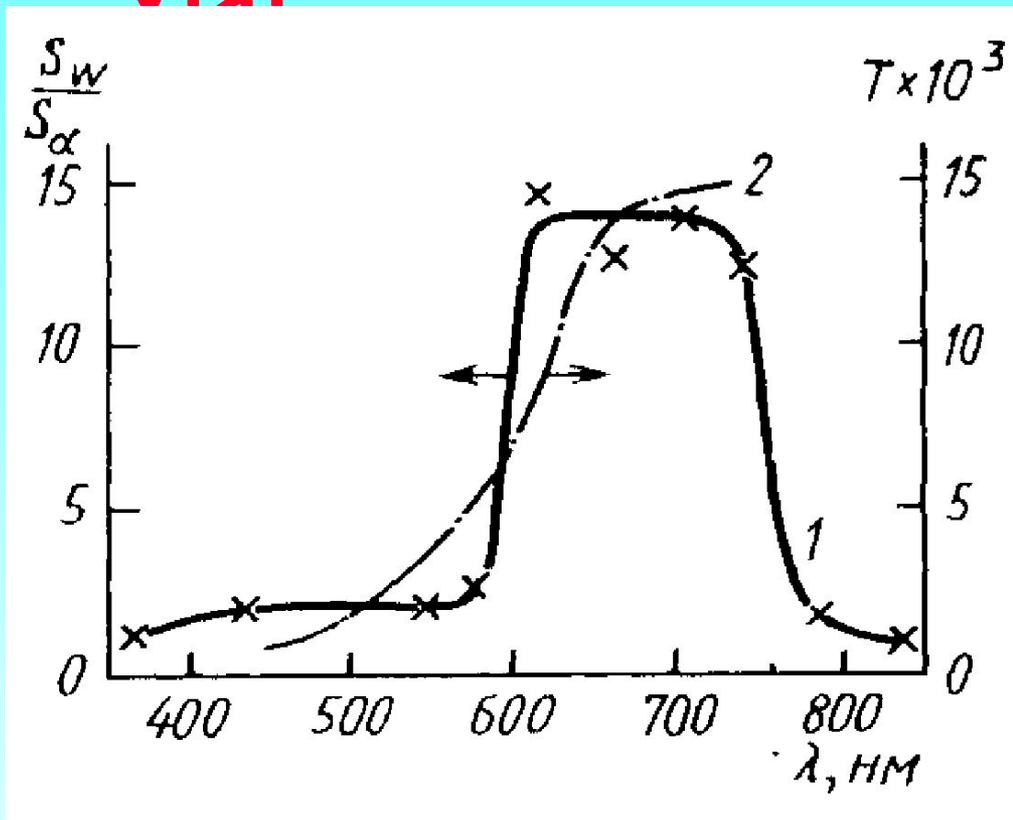
Спектр действия УФ-эритемы кожи человека



Спектр действия фотопериодической стимуляции полового созревания

УТЯТ

S_w / S_a — отношение размеров семенников в конце и начале опыта (1); спектр пропускания (2) тканей головы утят со стороны глазных орбиталей до гипоталамуса (фоторецептора)



Спектр действия по форме совпадает со спектром поглощения

Из уравнения $Q = \sigma / s$ напрямую следует, что спектр действия совпадает со спектром поглощения мишени для всех реакций, протекающих по одноударному механизму, если квантовый выход постоянен при всех длинах волн (закон Гротгуса-Варбурга).

Закон Гротгуса-Варбурга

Спектр действия совпадает со спектром поглощения мишени.

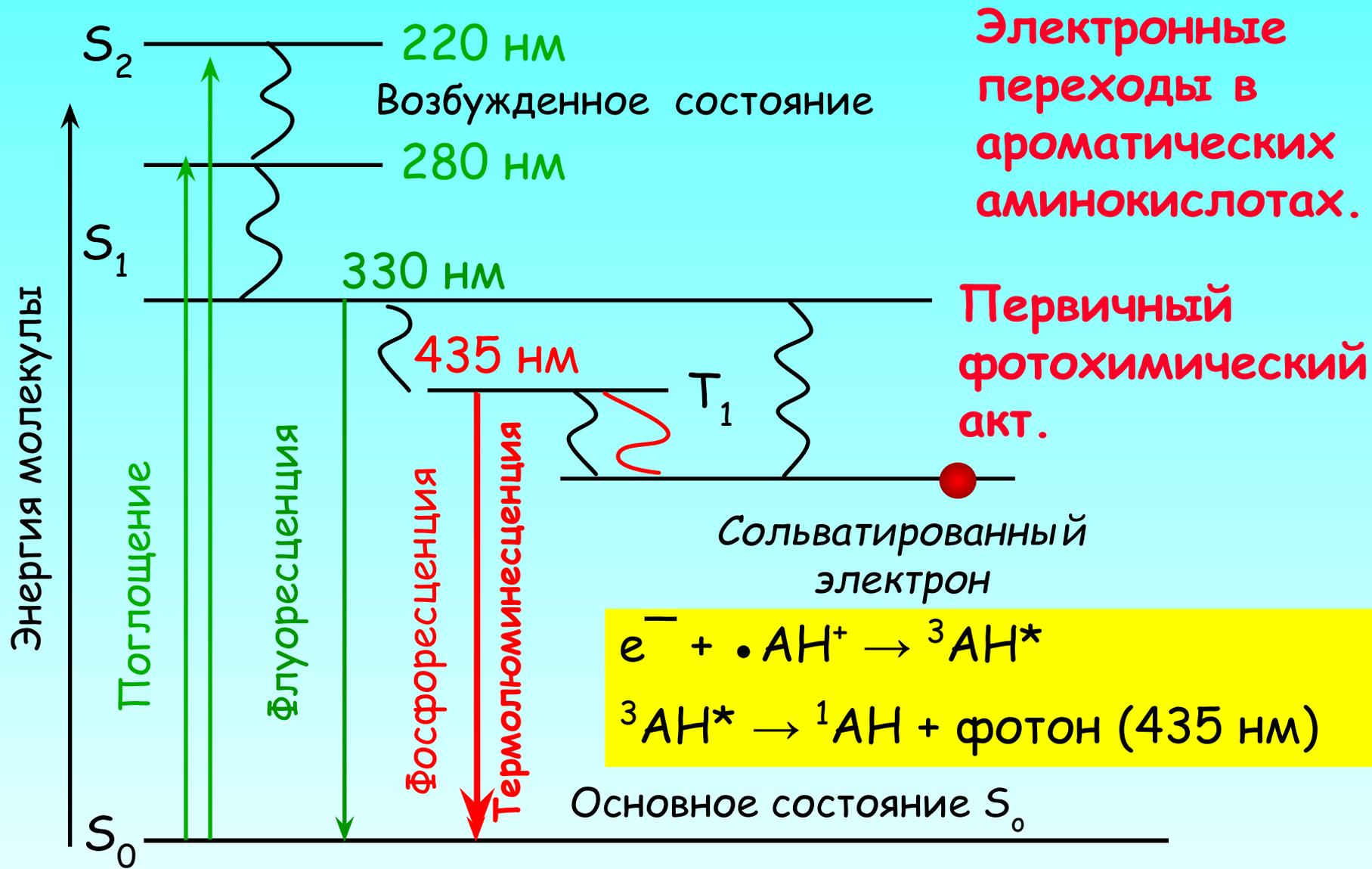
$$\sigma(\lambda) = Q s(\lambda)$$

Объяснение - то же, что и для закона Вавилова.

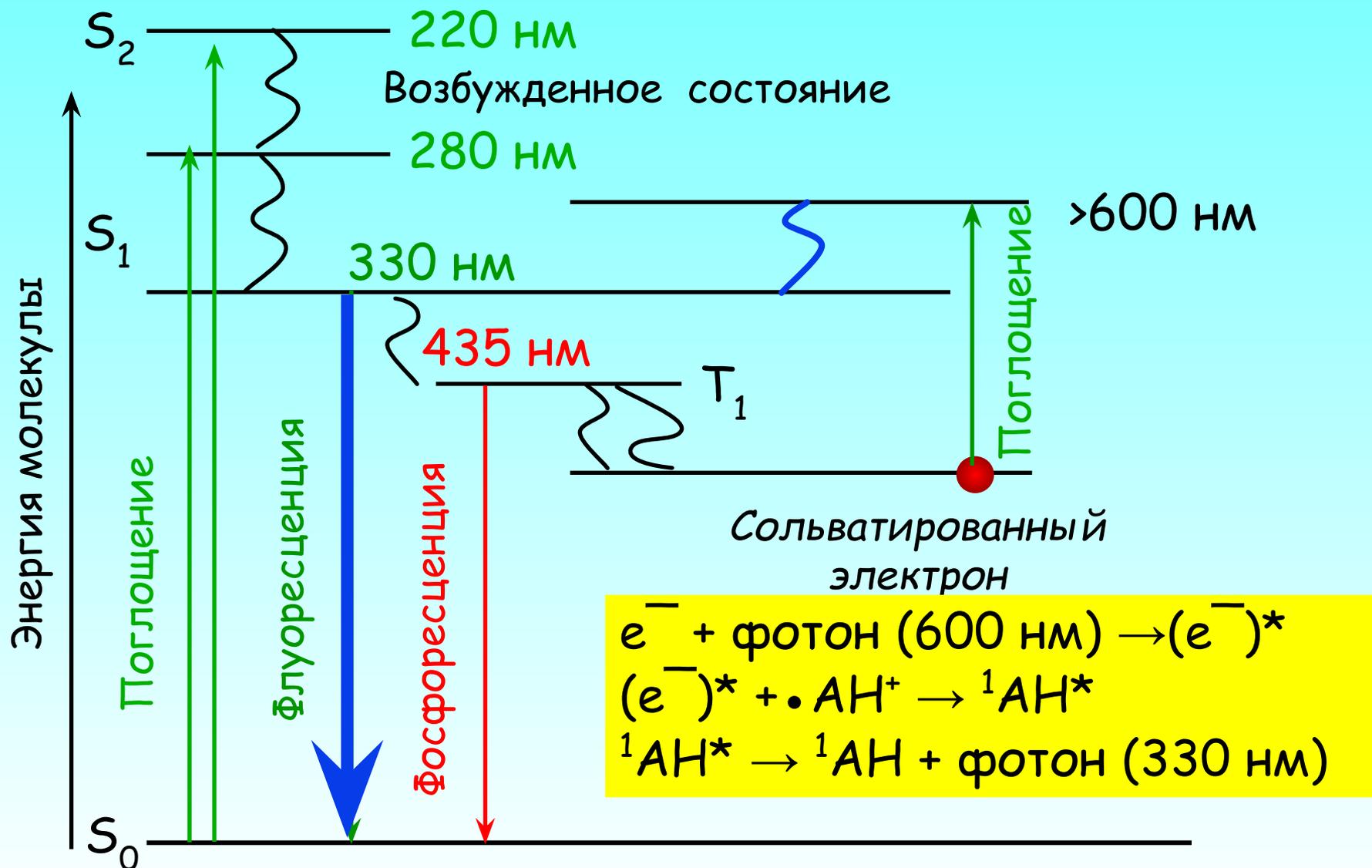
Первичные фотофизические и фотохимические процессы при действии УФ-излучения на белки

Почему это интересно?

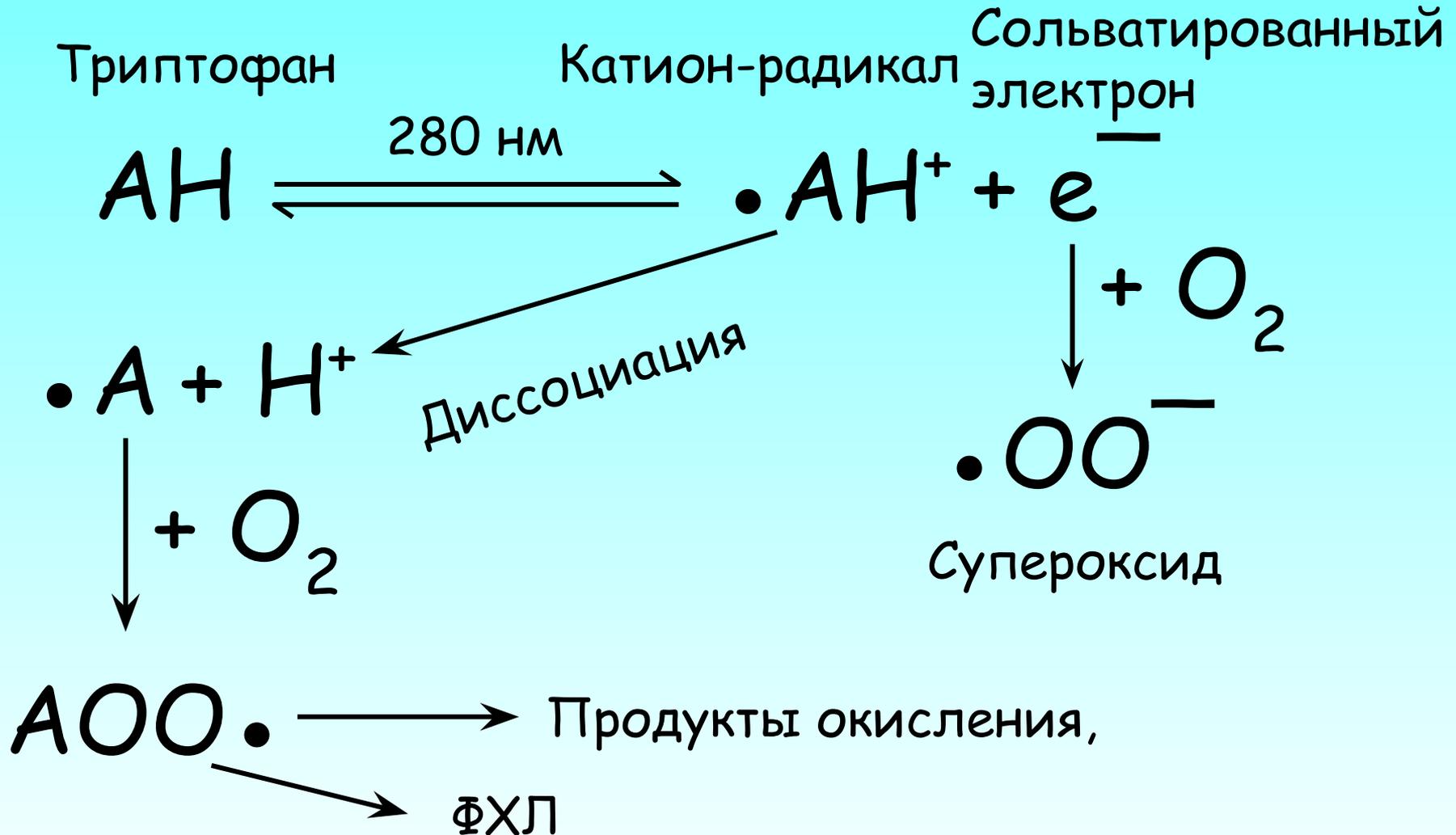
- Важный фотобиологический процесс.
- Реакции - довольно типичные и простые.
- Процесс хорошо изучен.



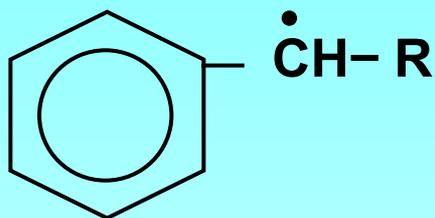
Фотоиндуцированная люминесценция



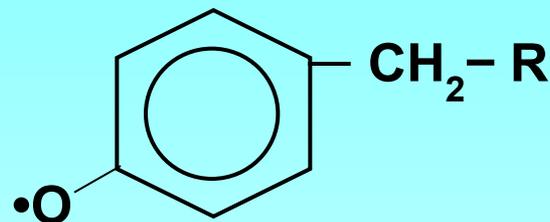
Первичные фотопродукты триптофана



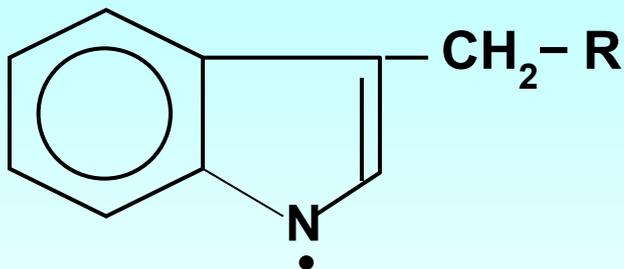
Нейтральные радикалы, образующиеся при фотоионизации фенилаланина и триптофана



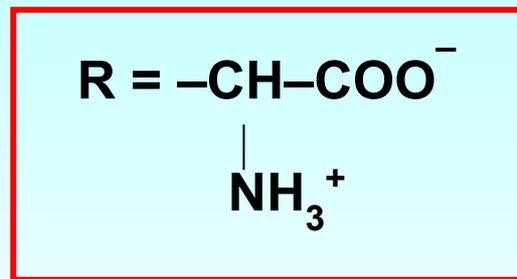
Радикал фенилаланина



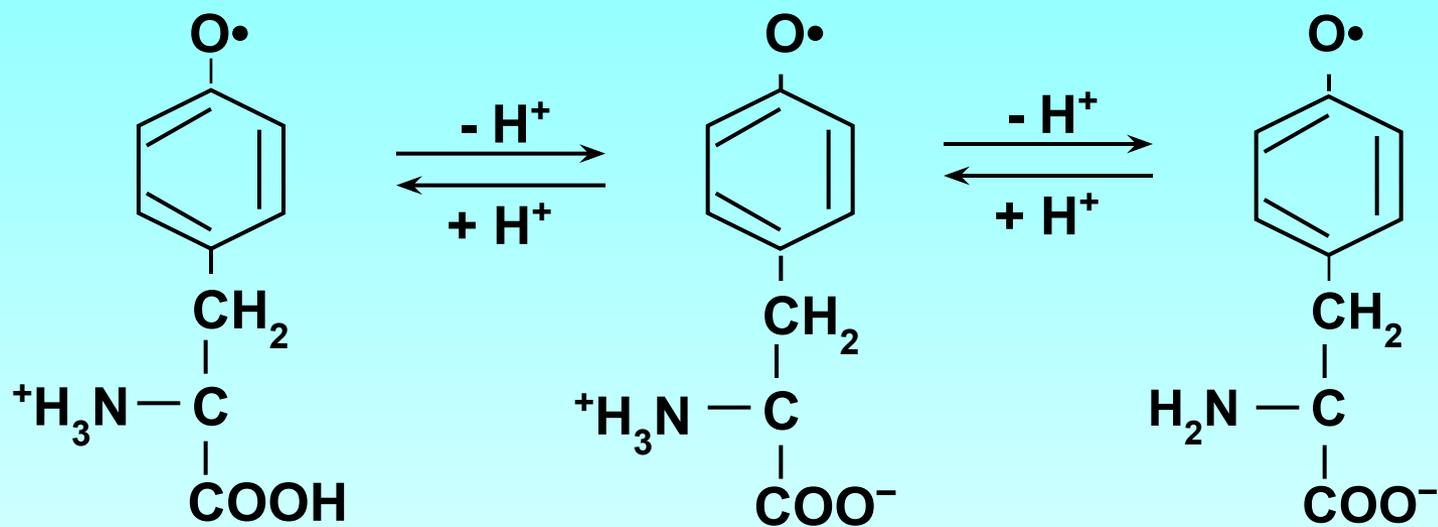
Радикал тирозина



Радикал триптофана



Радикалы тирозина, образующиеся при его фотоионизации



В кислой среде
(475; 500 нм)

В нейтральной среде
(495; 515 нм)

В щелочной среде
(383 нм)

Схема фотохимических реакций в белках

Нативный белок

Ароматические группы (АН)

SH и -SS- группы

$h\nu$ (280 нм)

$h\nu$ (254 нм)

$A\cdot + H^+$

$\cdot AN^+ + e_s$

S-S связи

-SH

Радикалы цистина

Фотолиз S-S или C-S связей

Поперечные сшивки между участками полипептидной цепи

Изменение конформации или разрушение активного центра

Инактивация

АОО•
Рекомбинация радикалов и хемилюминесценция

ДОФА, формил-кинурунин