

СРС по медицинской биофизике на тему:
**«Фотохимические превращения ДНК.
Люминесцентные метки и зонды и их
применение в биологии и медицине.»**

Выполнила:

Булатова Гульфинур

Факультет и группа:

СТ16-007-2

Проверила:

Абдрасимова В. О.

План

1. Фотохимические реакции.
2. Основные законы фотохимии.
3. Фотобиологические процессы.
4. Фотохимические превращения ДНК.
5. Люминесценция.
6. Люминесцентный анализ. Люминесцентные зонды и метки.
7. Значение и применение люминесценции в биологии и медицине.

Фотохимические реакции

Фотохимические реакции -это химические реакции, происходящие под воздействием света; имеют важнейшее общебиологическое значение.

По характеру биологического эффекта фотохимические реакции подразделяют на физиологические и повреждающие.

- К **физиологическим** относятся те реакции, которые лежат в основе фотосинтеза, биосинтеза физиологически важных веществ -витаминов, пигментов и др., а также реакции обеспечивающие физиологические функции связанные с получением информации из окружающей среды, - зрение, тропизмы, таксисы.

- **Повреждающие** фотохимические реакции имеют в своей основе действие света, особенно УФ-излучения, на нуклеиновые кислоты и белки. В результате может наблюдаться гибель клеток, интенсивный мутагенез, инактивация ферментов и др.

Основные фотохимические законы

Существует 2 основных закона фотохимии:

Первый закон: Химическое действие может произвести только свет, который поглощается реагирующими молекулами (закон Гротгуса – Дрепера).

Второй закон: Первичный фотохимический акт происходит под действием одного кванта света – фотона. Этот закон называют также законом квантовой эквивалентности (сформулирован Альбертом Эйнштейном и Иоганном Штарком).

Основные фотохимические законы

Второй закон фотохимии служит основой для расчета квантового выхода фотохимической реакции, который равен числу прореагировавших (или вновь образовавшихся) молекул, деленному на число поглощенных квантов. Квантовый выход, определяемый экспериментально, позволяет судить о механизме фотохимической реакции.

$$\gamma = \frac{\text{число фотохимических превращений}}{\text{число поглощенных квантов}}$$

Фотохимическая реакция протекает в 2 стадии:

Световая стадия- это чисто физический процесс поглощения молекулой кванта излучения. Молекула переходит в возбужденное состояние (акт запасаения энергии молекулой). Вступая во взаимодействие с окружающими молекулами, возбужденная молекула распадается на радикалы, ионы или ион- радикалы, они называются первичными восстановителями и окислителями.

Образовавшиеся первичные восстановители и окислители обладают высокой химической активностью. Они способны осуществлять окислительно-восстановительные реакции без энергии света. Первичные восстановители и окислители участвуют в биохимических реакциях, что приводит к изменению общефизиологического состояния организма.

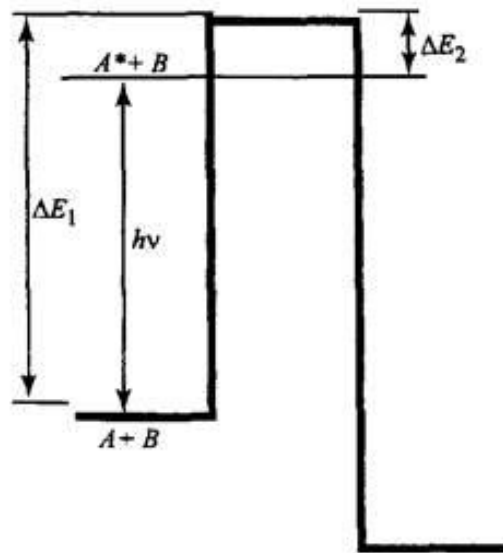
Таким образом, всякий фотобиологический процесс можно представить схемой: поглощение квантов- фотохимические реакции- химические и биохимические реакции- физиологическая реакция.

Фотобиологические процессы

- *Фотобиологическими процессами называются процессы, которые начинаются поглощением света одним из биологически важных соединений и заканчиваются определенной физиологической реакцией.*

Фотобиологические процессы

- Во всех фотобиологических процессах энергия света необходима для преодоления активационных барьеров химических превращений. Реакционная способность возбужденной светом молекулы определяется рядом факторов. Она зависит от положения возбужденного энергетического электронного уровня, что обеспечивает преодоление энергетического барьера.



*Энергетическая схема
фотохимического процесса*

Фотохимические превращения ДНК в живых организмах.

В основе всех фотобиологических процессов лежат фотохимические реакции. К основным фотохимическим реакциям относятся следующие.

Фотовосстановление и фотоокисление – перенос электрона с одной молекулы на другую. Одна молекула при этом окисляется, а другая восстанавливается.

Фотодиссоциация – процесс распада молекулы с образованием свободных радикалов под действием кванта излучения.

Фотоизомеризация – изменение пространственной конфигурации молекулы под действием света, изменение структуры молекулы.

Фотодимеризация – образование химической связи между мономерами при действии фотонов света. Таким образом, элементарная фотохимическая реакция может быть связана либо с потерей электрона молекулой, либо с его приобретением, либо с деструкцией молекулы. Деструкция молекул приводит к изменению их химических свойств; например, белок при деструкции теряет свои ферментативные свойства.

Действие ультрафиолетового излучения на белки и нуклеиновые кислоты.

- Выяснение механизма действия ультрафиолетового излучения на белки и нуклеиновые кислоты имеет важное общебиологическое значение.
- Биологические эффекты ультрафиолетового излучения в трёх спектральных участках существенно различны, поэтому биологи иногда выделяют, как наиболее важные в их работе, следующие диапазоны:

Ближний
ультрафиолет,
УФ-А лучи (UVA,
315—400 нм)

УФ-В лучи (UVB,
280—315 нм)

Дальний
ультрафиолет,
УФ-С лучи (UVC,
100—280 нм)

Действие ультрафиолетового излучения на белки и нуклеиновые КИСЛОТЫ.

- Практически весь УФ-С и приблизительно 90 % УФ-В поглощаются при прохождении солнечного света через земную атмосферу. Излучение из диапазона УФ-А достаточно слабо поглощается атмосферой. Поэтому радиация, достигающая поверхности Земли, в значительной степени содержит ближний ультрафиолет УФ-А и в небольшой доле — УФ-В.

Фотохимические превращения ДНК

- Ультрафиолетовое излучение может вызвать такие фотобиологические реакции, которые приводят к деструкции белков и нуклеиновых кислот.
- Первичные изменения приводят к нарушению структуры ДНК и денатурации белков.
- Вторичные изменения наступают вследствие того, что клеточные ферменты расщепляют денатурированный белок. При этом накапливаются продукты распада → продукты распада вызывают раздражение нервных окончаний → сложные рефлекторные реакции.

Фотохимические превращения ДНК

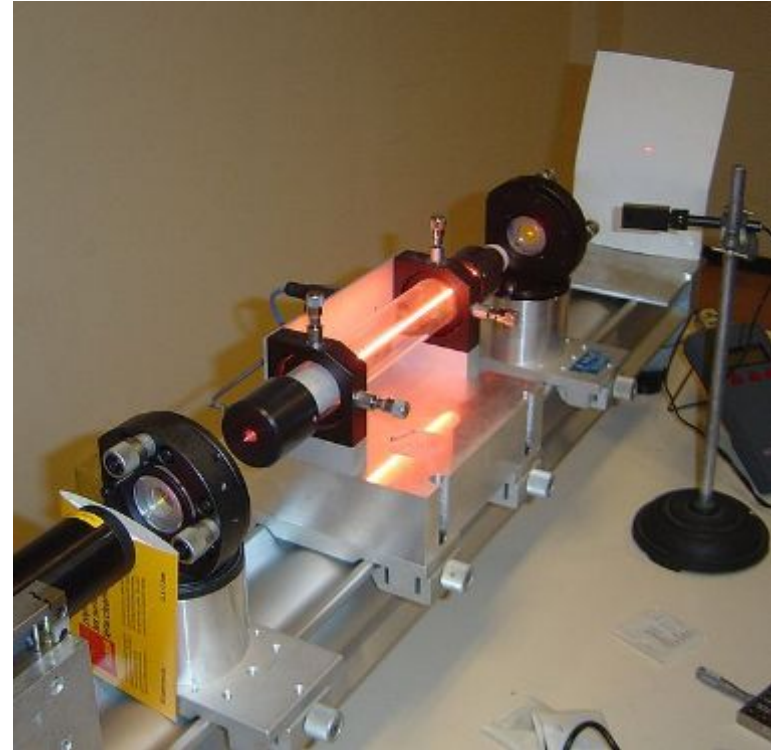
- **Механизм действия ультрафиолетового излучения на нуклеиновую кислоту**

Основное действие ультрафиолетовых лучей на нуклеиновую кислоту заключается в том, что последняя теряет биологическую активность, т. е. способность передавать заключенную в ней информацию. При этом основную роль в инактивации ДНК играют процессы димеризации тиминовых оснований. Процессы димеризации тиминовых оснований протекают раньше других фотохимических реакций. Когда еще не наблюдается заметного накопления гидрированных и окисленных оснований, инактивация ДНК уже происходит. Две молекулы тимина в двойной спирали ДНК никогда не расположены рядом. Более того, в силу комплементарности нитей в ДНК они никогда не расположены точно напротив друг друга. Под воздействием ультрафиолетовых лучей возникает местное расплетение нитей ДНК. Затем нити изгибаются таким образом, что тиминовые основания сближаются. Между ними возникает стойкая химическая связь, которая как бы стягивает двойную нить ДНК и препятствует считыванию с нее информации.

Фотохимические превращения ДНК

- Ультрафиолетовое излучение оказывает сильное бактериостатическое и бактерицидное действие. При облучении ультрафиолетовыми лучами бактерий и вирусов происходит угнетение их активности, подавление способности к размножению и гибель. Механизм действия ультрафиолетового излучения на бактерии и вирусы был выявлен при изучении спектров действия инактивации этих организмов. Под спектром действия понимают зависимость величины фотобиологического эффекта от длины волны излучения. Оказалось, что спектр действия инактивации при ультрафиолетовом облучении вирусов и бактерий совпадает со спектром поглощения нуклеиновых кислот (У. Винклер, 1962).
- Следовательно, основой бактерицидного действия ультрафиолетовых лучей является повреждение и инактивация нуклеиновых кислот. Для бактерий, кроме того, определенное значение имеет и повреждение ферментных систем.

Люминесцентные метки и зонды и их применение в биологии и медицине



Люминесценция

- Люминесценция – это нетепловое свечение вещества, происходящее после поглощения им энергии возбуждения.
- Физическая природа люминесценции состоит в переходах электронов атомов или молекул из возбуждённого состояния в основное. При этом причиной первоначального их возбуждения могут служить различные факторы: внешнее излучение, температура, химические реакции и др.

Типы люминесценции

- Хемилюминесценция - свечение, использующее энергию химических реакций;

Виды:

- Митогенетическое излучение (190-320 нм)
- Биолюминесценция (420-710 нм)
- Сверхслабое свечение (710-800 нм)

Типы люминесценции

- **Электролюминесценция**- возникает при пропускании электрического тока через определённые типы люминофоров.

Типы люминесценции

- Фотолюминесценция - свечение под действием света (видимого и УФ-диапазона).

1) мономолекулярная люминесценция — акты возбуждения и испускания света происходят в пределах одного атома или молекулы;

2) метастабильная люминесценция — акты возбуждения и испускания света происходят в пределах одного атома или молекулы, но с участием метастабильного состояния;

3) рекомбинационная люминесценция — акты возбуждения и испускания света происходят в разных местах.

Выход люминесценции

- Выход — одна из важнейших характеристик люминесценции. Выделяют квантовый выход и энергетический выход. Под квантовым выходом понимают величину, показывающую отношение среднего числа излучённых квантов на один поглощённый.

Выход люминесценции

Квантовые переходы между энергетическими уровнями:

- с нижнего уровня на верхний (**возбуждение**).
- с верхнего уровня на нижний (**релаксация**).

Люминесцентный анализ

- Люминесцентным анализом называют метод исследования различных объектов под действием ультрафиолетового облучения, вызывающего люминесценцию этих объектов. При люминесцентном анализе наблюдают или собственное свечение исследуемых тел, или свечение люминофоров, которые вводят в эти тела.
- Люминесцентный анализ – совокупность методов для определения природы и состава вещества по спектру его люминесценции.

Люминесцентные метки и зонды

- **Флуоресцентные зонды.** В медицине используется применение специальных флуоресцирующих молекул, добавляемых к исследуемым биологическим системам извне, в которых они распределяются в соответствии со своими свойствами. Такие молекулы получили название *флуоресцентных зондов*. Примером использования флуоресцентных зондов является метод *флуоресцентной ангиографии* – контрастирование сосудов флуоресцеином и их последующее фотографирование. Флуоресцеин возбуждается невидимым длинноволновым ультрафиолетовым излучением. Люминесценция его наблюдается в видимом свете. Диагностическая значимость этого метода заключается в том, что по скорости появления флуоресценции (люминесценции) в поверхностных тканях судят об участках тела с пониженным кровообращением, в них флуоресцеин появляется позже, чем в участках тела с нормальным кровообращением.

Люминесцентные метки и зонды

- **Флуоресцентные метки.** Флуоресцирующие молекулы можно ковалентно связывать с определенными молекулами и затем эту систему ввести в исследуемый объект. Такие молекулы называются *флуоресцентными метками*. Примером является использование флуоресцентно-меченых антител. Если добавить такие антитела к суспензии смеси клеток, то они связываются только с теми из них, на поверхности которых находятся специфические к данному антителу антигены. Возникает яркая люминесценция определенных клонов клеток, наблюдаемая в люминесцентном микроскопе. Данная методика используется в иммунологических исследованиях крови.

Использование люминесценции в биологии и медицине

- Проверка качества и сортировка пищевых продуктов
- Сортировка фармакологических средств
- Диагностика кожных заболеваний (поражение кожи, ногтей, волос грибками и лишаяем)

Использование люминесценции в биологии и медицине

- Люминесцентный качественный и количественный анализ
- Люминесцентные зонды и метки (флуоресцентная ангиография – контрастирование сосудов флуоресцином и их последующее фотографирование)

Люминесцентная микроскопия



Исследовательский
люминесцентный микроскоп
«Люмам И-3»



Рабочий люминесцентный
микроскоп «Люмам Р-1»

Люминесцентные зонды



Заключение

В СРС рассмотрены фотохимические превращения ДНК в живых организмах, влияние ультрафиолетовых лучей на структуру и функции нуклеиновых кислот. А также было рассмотрено понятие люминесценции и ее роль в биологии и медицине.