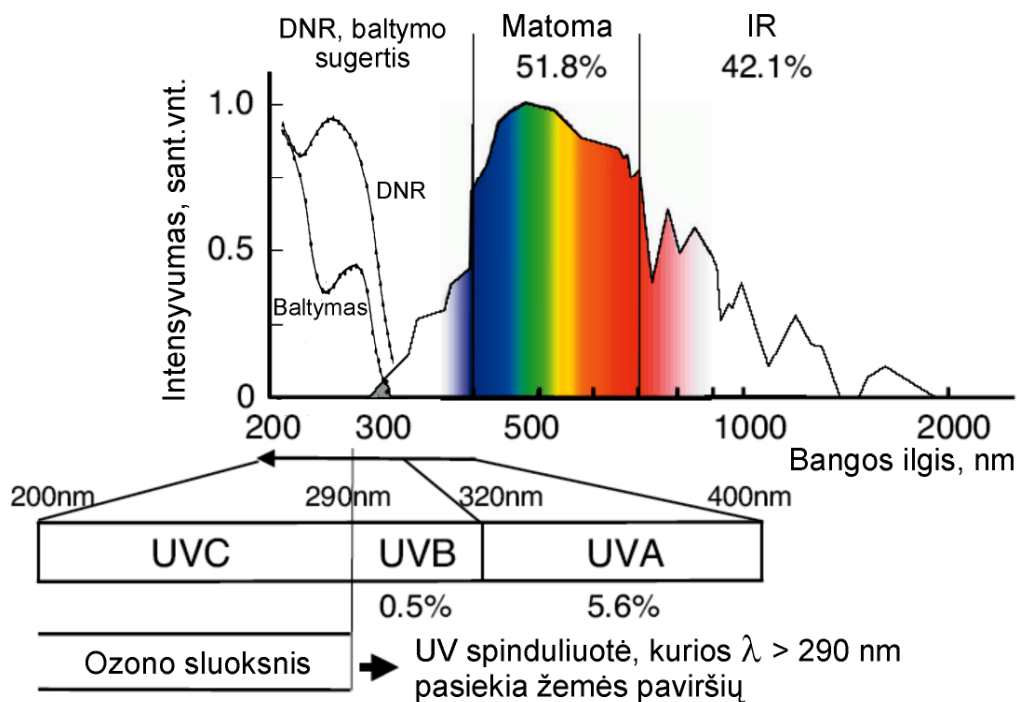


## 6. BIOLOGINIŲ MOLEKULIŲ FOTOPAŽAIDOS

Pagrindinis fotochemijos principas, kurį pirmą kartą suformulavo Teodoras Grotus (Grotthus) ir Draperis (Draper) 1818 metais, skelbia, kad tik sugerta šviesa gali sukelti medžiagos cheminį pokytį. Taigi, pirmoji fotocheminės reakcijos stadija yra fotono sugertis molekulėje, jai virstant sužadinta. Tolesni vyksmai priklauso nuo molekulės struktūros, šviesos bangos ilgio ir nuo kitų reakcijos sąlygų. Dalis sužadintų molekulių grįžta į pagrindinę būseną, perteklinės energijos netekdamos įvairių relaksacijos procesų, pvz., fluorescencijos ar vidinės konversijos, būdu (žr. 1.7.5 poskyrį). Molekulei relaksuojant, taip pat gali įvykti ir fotocheminis vyksmas (žr. 5.5 skyrių), jo metu susidariusio fotocheminio produkto kvantinis našumas yra apibrėžiamas kaip tikimybė, kad pradinei molekulei sugėrus vieną fotoną, susidarys viena fotoproducto molekulė. Iškart po sugerties vyksmo susidarę chemiškai reaktyvūs dariniai vadinami pirminiais produktais, dažniausiai tai molekulės sužadintoje metastabilioje būsenoje arba laisvieji radikalai. Daugeliu atvejų šviesa tolesnių reakcijų eigai nebereikalinga, ir tokios reakcijos vadinamos “tamsinėmis”. Tad fotobiologiniai procesai organizme vyksta pakopomis, pradedant labai greitais fotofizikiniais virsmis ( $10^{-15}$  s – 0,1 s), juos lydinčiomis tamsinėmis cheminėmis reakcijomis (0,1  $\mu$ s - 1s) ir galiausiai baigiasi santykinai lėtais (1 ms –  $10^6$ s) fiziologiniais vyksmais.

Svarbiausios mūsų organizmo bespalvės molekulės, nukleino rūgštys ir baltymai, intensyviai sugeria ultravioletinę spinduliuotę (UV) (6.1 pav.), todėl ji sukelia įvairias fotochemines reakcijas, dažnai sąlygojančios šių molekulių pažeidimą. Artimąją (ilgabangę) UV spinduliuotę sugeria “trumpos” žiedinės konjuguotos sistemos – tiek aromatinės, tiek heterociklinės (žr. 1.7.2 poskyrį). Taigi, artimąją UV intensyviai sugeria aromatinės amino rūgštys – tirozinas, fenilalaninas ir triptofanas. Daugumos baltymų sugertis šioje spektro srityje yra sąlygota būtent šių trijų amino rūgščių grupių. Taip pat artimąją UV spinduliuotę intensyviai sugeria purino ir pirimidino bazės – pagrindiniai DNR struktūros komponentai.

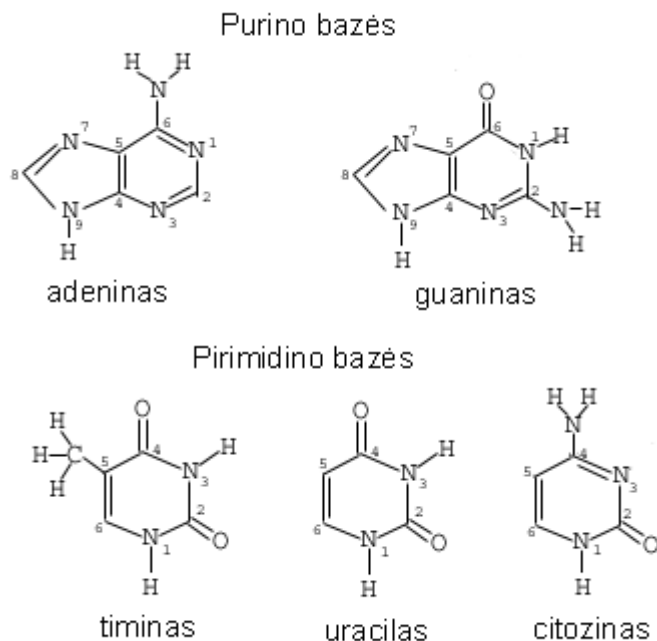


6.1 pav. Saulės spektras Žemės paviršiuje. Procentais nurodyta, kokią Saulės spektro dalį sudaro tam tikros srities spinduliuotė. Ultravioletinė spinduliuotė sudaro tik apie 6% Saulės spinduliuotės, pasiekiančios Žemės paviršių, ir apie 90% šios spinduliuotės yra ilgesnės, UVA bangos.

Trumpesnę ultravioletinę spinduliuotę sugeria beveik visos biologinės molekulės. Pavyzdžiui, UVC spinduliuotę sugeria ne tik visos amino rūgštys, bet ir baltymo peptidinė jungtis, kuriai būdingos dvi sugerties juostos: viena labai intensyvi ties 190 nm, kita, silpnesnė – ties 220 nm. Tačiau UVC spinduliuotė žemės paviršiaus nepasiekia, nes yra sugeriama ozono molekulių viršutiniuose atmosferos sluoksniuose.

## 6.1. UV poveikis nukleino rūgštims (DNR ir RNR)

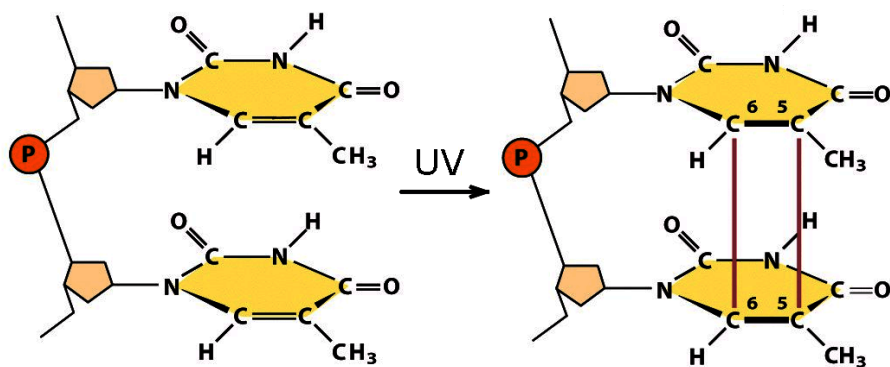
Pagrindiniai chromoforai, sugeriantys UV spinduliuotę nukleino rūgštyse, yra purino (adeninas ir guaninas) ir pirimidino (citozinas ir timinas – DNR, citozinas ir uracilas – RNR) nukleotidų azotinės bazės (6.2 pav.). Šie junginiai sugeria UV trumpabangę spinduliuotę iki 300 nm. Sugerties sritį sąlygoja žiedo  $\pi$ -elektronų sistema ( $\pi$ – $\pi^*$  šuolis). Bazių sugertis ( $\lambda_{\text{maks}} = 260$  nm), sąlygota  $\pi$ – $\pi^*$  šuolių, pasižymi dideliu molinės ekstinkcijos koeficientu. Nežymią įtaką sugerties juostoms taip pat turi ir  $n$ – $\pi^*$  šuoliai, kuriuose dalyvauja laisvos elektronų poros azoto ir deguonies atomuose. Geriausiai ji pastebima poliniuose tirpikliuose, tuomet azotinių bazių sugerties spektruose šie šuoliai pasireiškia juostų išplitimu 280-320 nm srityje. Žymų poveikį bazių sugerties juostų padėčiai, o pirmiausia –  $\pi$ – $\pi^*$  ir  $n$ – $\pi^*$  šuolių santykinei energijai turi pakaitų grupės purino ir pirimidino žieduose.



6.2 pav. Azotinės bazės, esančios DNR ir RNR išsidėsčiusių bazių sąveikos sudėtyje.

Nukleino rūgščių sugerties spektrai susidaro iš jų sudėtyje esančių bazių sugerties juostų ir pasižymi suvidurkinta sugerties juosta, kurios smailė, priklausomai nuo nukleotidų sudėties, yra 255 - 270 nm srityje. Tačiau nukleino rūgščių ir ekvivalentiško nukleotidų mišinio sugerties spektrai šiek tiek skiriasi. Nuo adityvumo principo (žr. 1.7.4 poskyrį) šiuo atveju nukrypstama dėl tvarkiai dvigrandėje spiralėje.

Ekspirimentiškai įrodyta, kad tirpaluose purino bazės yra žymiai atsparesnės UV poveikiui negu pirimidino bazės. Taigi, nukleino rūgštys dažniausiai pažeidžiamos dėl pirimidino bazių fotolabilumo. Pagrindinės fotocheminės reakcijos, kurias UV spinduliuotė sukelia DNR molekulėje, yra cheminių jungčių tarp gretimų pirimidino bazių susidarymas. Geriausiai ištirti ir dažniausiai susidarantys yra timino fotodimerai – ciklobutano tipo dimerai ir necikliniai 6-4 tipo (skaičiai žymi anglies atomų padėtis žieduose) fotoproduktai, vadinamieji aduktai.



6.3 pav. Timino ciklobutano tipo (cis-syn) dimero susidarymas DNR grandinėje tarp gretimų timinų

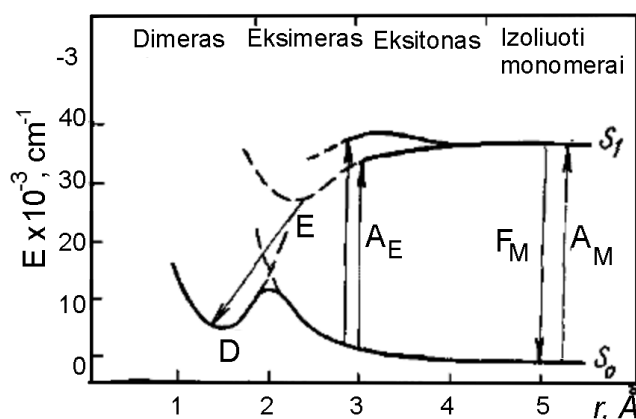
Rečiau pasitaikančios ir mažiau ištirtos UV spinduliuotės sukeltos reakcijos yra kitų pirimidino bazių (uracilo ir citozino) homodimerų bei heterodimerų susidarymas, fotohidratacija, DNR susiuvimai, DNR-baltymo susiuvimai, DNR trūkiai.

### 6.1.1. Pirimidino dimerų susidarymas

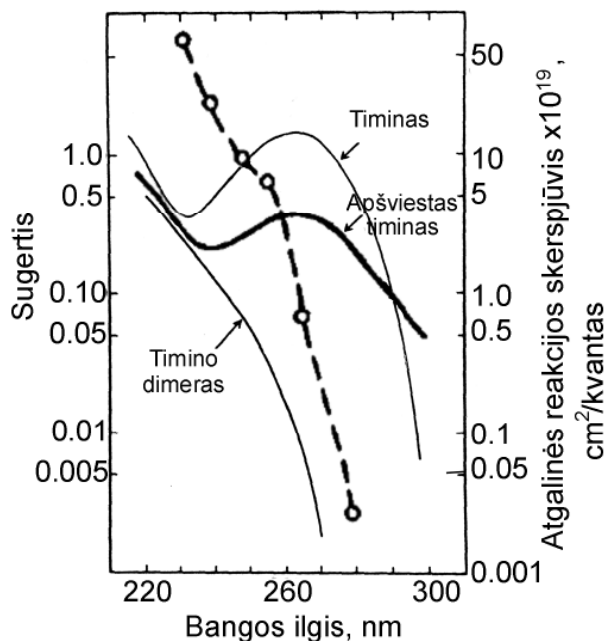
**Timino dimerizacija.** Timino fotodimerizacijos reakcija DNR grandinėje vyksta tarp dviejų kaimyninių timinų, kuomet, nutrūkus 5,6-dvigubam ryšiui (6.3 pav.), susidaro ciklobutano žiedas. Veikiant UV spinduliuote modelines sistemas, pavyzdžiui, timidil-timidino tirpalą, buvo išskirti keturi timino ciklobutano tipo dimerai – du *cis*- ir du *trans*-izomerai, tačiau praktiškai randamas tik *cis*-syn dimeras.

Kadangi timino dimerizacijos reakcija yra antrojo laipsnio (dalyvauja dvi vienodos molekulės), jos kvantinis našumas labai priklauso nuo timino koncentracijos bei molekulių tarpusavio orientacijos sužadavimo momentu. Manoma, kad būtent dėl pastarosios sąlygos fotodimerizacijos reakcijos kvantinis našumas būna žymiai didesnis žemose temperatūrose. Dėl orientacinio veiksnio timino dimerų susidarymo tikimybė priklauso ir nuo antrinės bei tretinės DNR spiralės struktūros. Pavyzdžiui, buvo įvertinta, kad dimerizacijos sąlygos palankiausios esant tokiai DNR konformacijai, kai gretimi timinai vienas kito atžvilgiu (plokštumomis) išsidėstę  $36^\circ$  kampu. Susidariusių timino dimerų kiekį taip pat apsprendžia greta viena kitos esančių timino bazių skaičius DNR grandinėje.

Tirpaluose timino dimerizacijos reakcija yra grįžtama, o dinaminė pusiausvyra tarp timino monomerų ir dimerų priklauso nuo švitinimo bangos ilgio. Toks atsakas gaunamas dėl skirtingų timino ir jo dimero sugerties spektrų (6.4 pav.) Švitinant DNR tirpalą ilgesnių bangų UV spinduliuote (~280 nm), labiau tikėtinas dimero susidarymas, tuo tarpu veikiant trumpesnių bangų spinduliuote (~240 nm), monomerų tirpale liks daugiau. Dėl šių priežasčių UV spinduliuote apšviestose *E. coli* bakterijose, kur teoriškai galėtų dimerizuotis 30-40 % timinų, praktiškai, net ir po didelių UV spinduliuotės ties 254 nm švitinimo dozių, dimerizuojasi tik 15 % timinų.



6.5 pav. Sąveikos tarp timino molekulių potencinės energijos kreivės. E – eksimeras, D – dimeras. Pagal [Lamola, 1968].



6.4 pav. Timino, apšviesto timino, timino dimerų sugerties spektrai, bei reakcijos dimeras → monomeras veikimo spektras (punktyrinė linija). Adaptuota iš [R. Setlow, *Biochim. Biophys. Acta*, 49, 237 (1961)]

timinų dimerizacijos reakcija. Taigi, remiantis eksperimentiniais duomenimis, timino dimerizacija vyksta, timinui reakcijoje dalyvaujant sužadintoje tripletinėje būsenoje.

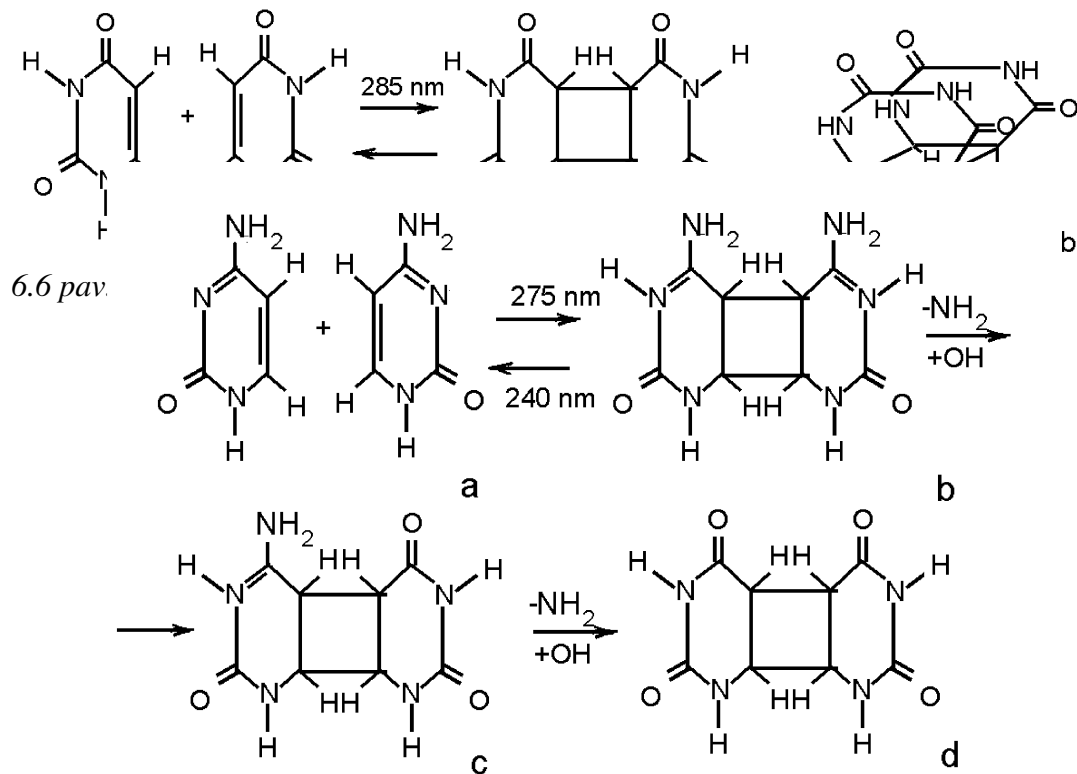
Manoma, kad timino dimerai susiformuoja betarpiškai per tripletinį eksimerą [Lamola, 1968] (6.5 pav.). Išvengdamas nestabilios cheminės būsenos, eksimeras iš karto virsta stabiliu fotocheminiu produktu – dimeru. Dviejų timino molekulių sąveika, esant optimaliam išsidėstymui, priklauso nuo atstumo tarp molekulių. Kai atstumas tarp timinų 3-4,5 Å, vyksta sąveika tarp eksitoninių būsenų, užpildant abu eksitoninius lygmenis. Jei molekulės dar labiau suartėja (~2,8 Å), iš žemesnės eksitoninės būsenos susidaro eksimeras, kuris tiesiogiai virsta stabiliu dimeru.

Kitų pirimidino bazių dimerizacija vyksta panašiai, kaip timino atveju, tačiau šių reakcijų kvantinis našumas yra daug mažesnis negu timino dimerizacijos.

**Uracilo dimerizacija.** Kaip ir timinas, veikiamas UV spinduliuote uracilas formuoja dimerus per ciklobutano žiedą (6.6 pav.) ir labiausia tikėtina konformacija taip pat yra *cis*-tipo izomeras. Uracilo dimerizacijos reakcija tirpaluose taip pat yra grįžtama. Tiesioginės ir atvirkštinės reakcijos kvantinis našumas priklauso nuo švitinimo bangos ilgio. Poliuracilo rūgščiai maksimalus tiesioginės reakcijos kvantinis našumas yra 0,1 (šviečiant ties 248 nm), o atvirkštinės – 0,45 (ties 230 nm).

### Timino dimerizacijos fotofizika.

Eksperimentiškai įrodyta, kad 1) tripletiniai gesikliai (O<sub>2</sub>, paramagnetiniai jonai) stabdo timino fotodimerizaciją, 2) mažinant timino tripletinės būsenos užpildą (sukūrus triplet-singuletinę energijos migraciją iš DNR timino į dažą proflaviną) taip pat mažėja reakcijos našumas, 3) dimerai susidaro ir praskiestuose timino tirpaluose, kai laiko tarpas tarp molekulių susidūrimų yra daug ilgesnis už singuletinės būsenos gyvavimo laiką (10<sup>-12</sup>s), bet palyginamas su tripletinės būsenos gyvavimo laiku (10<sup>-6</sup>s), 4) užpildant timino tripletinę būseną per triplet-tripletinį energijos pernešimą nuo acetofenono į DNR timiną vyksta



6.7 pav. Citozino virsmai, veikiant tirpalą UV spinduliuote. a – citozino monomerai, b – citozino dimeras, c – mišrus uracilo-citozino dimeras, d – uracilo dimeras.

Manoma, kad uracilo fotodimerizacijos reakcija taip pat vyksta per tripletinę būseną, nes uracilo fotodimerizacijos reakcija lėtėja, įdėjus tripletinės būsenos gesiklių, o panaudojus sensibilizatorius selektyviam uracilo tripletinės būsenos žadinimui, ši reakcija greitėja.

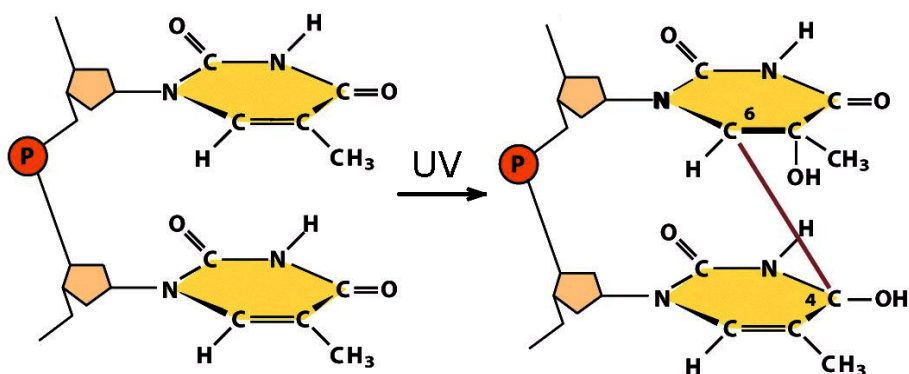
**Citozino dimerizacija.** Citozino fotodimerizacijos reakcija stebėta tirpaluose veikiant UV spinduliuote citoziną, citidil-citidiną, piliuridilcitidilo rūgštį ir DNR. Veikiant trumpesnių bangų UV spinduliuote, citozino dimerai monomerizuojasi. Tamsoje citozino dimerai irgi yra nestabilūs. Kuomet išotinama 5, 6 jungtis, jie greitai deaminuoja, virsdami uracilo dimerais, arba gali monomerizuotis (6.7 pav.). Dėl šių priežasčių citozino dimerų išskyrimas yra gana sudėtingas.

**Skirtingų pirimidino bazių dimerizacija.** Apšvietus nukleotidų ir DNR tirpalus, susidaro mišrus ciklobutano tipo timino-citozino, timino-uracilo ir uracilo-citozino dimerai. Timino-citozino fotodimeras yra *trans* izomeras. Veikiant šviesa, jis į monomerus nesuskyla. Timino-uracilo dimero susidarymas DNR grandinėje gali atrodyti keistai, nes DNR sudėtyje uracilo nėra, tačiau ši prieštara paaiškinama tokia schema:

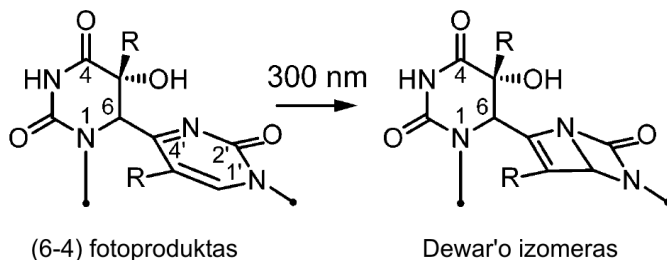


t. y. tamsoje citozinas, esantis mišriame dimere, deaminuoja ir virsta uracilu.

**Pirimidino aduktai.** Veikiant nukleotidus UV spinduliuote, gali susidaryti ne tik ciklobutaniniai pirimidino dimerai, bet ir įvairūs necikliniai homo- bei heterodimerai, kurie vadinami pirimidino aduktais (kad dviejų vienodų molekulių junginį būtų galima vadinti dimeru, jo molekulinė masė turi būti dvigubai didesnė negu monomero, kitu atveju jis vadinamas aduktu) (6.8 pav.). Pavyzdžiui, apšvietus UV spinduliuote DNR arba užšaldytą timino tirpalą, pasikeičia timino sugerties spektras. Lyginant su monomerinio timino



6.8 pav. Timino (6-4) fotoproducto susidarymas.



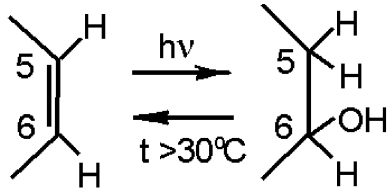
(6-4) fotoproduktas

Dewar'o izomeras

6.9 pav. Fotoproducto (6-4) Dewar'o izomero susidarymas.

sugertimi, susidariusio produkto sugerties juostos smailė yra paslinkta 40 nm į ilgabangę pusę, ties 320 nm. Toks sugerties pokytis būdingas iš dviejų timino bazių susidarant necikliniam timino dimerui- (6-4) timino aduktui. Manoma, kad aduktai susidaro ne per tripletinę būseną, bet per singuletinę būseną, kadangi, įdėjus timino tripletinės būsenos donorų, jie aduktų susidarymo nesensibilizuoja.

UV spinduliuote apšviestoje DNR randami timino-citozino, citozino-citozino ir timino-timino (6-4) aduktai, tačiau nerasta citozino-timino adukto. Be to, lyginant su ciklobutano tipo pirimidino dimerais, aduktų, susidarančių veikiant UV, nėra daug, t.y. jų susidarymo



6.10 pav. Fotohidratų susidarymo schema.

izomerai.

našumas yra vidutiniškai 100 kartų mažesnis negu ciklobutano tipo pirimidino dimerų. Tačiau, skirtingai nuo ciklobutaninių pirimidino dimerų, aduktų susidarymo reakcija nėra grįžtama. Susidariusius (6-4) pirimidino aduktus apšvietus 300-350 nm spinduliuote, jie beveik visi virsta Devaro (Dewar) izomerais (6.9 pav.). Tad natūralaus apšvietimo sąlygomis didžioji dalis susidariusių (6-4) pirimidino aduktų yra Devaro

### 6.1.2. Pirimidinų fotohidratacija

Pirimidinų fotohidratacijos reakcija vyksta prisijungiant vandeniui prie pirimidino žiedo 5,6-dvigubo ryšio, ir jį nutraukiant (6.10 pav.). Daugiausia fotohidratų susidaro uracilo tirpale, mažiau citozino ir timino tirpaluose. Taip pat fotohidratai rasti pirimidino bazių di- ir polinukleotidų tirpaluose, bei RNR ir DNR grandinėse. Būdinga tai, kad pirimidino hidratai efektyviai susidaro ne dvigrandėje, bet viengrandėje DNR. Hidratacijos reakcija negrįžtama. Todėl poliuridilo rūgštį ilgai arba intensyviai švitinant UV spinduliuote (240-270 nm), bandinyje praktiškai randami tik hidratai.

Skirtingai nei dimerai, hidratai suyra tamsoje, pakėlus terpės temperatūrą, pakeitus pH (tiek parūgštinus, tiek pašarminus), arba padidinus tirpalo joninę jėgą. Tirpale timino fotohidratacijos reakcijos kvantinis našumas – 0,002, poliuridilo rūgštyje – 0,01.

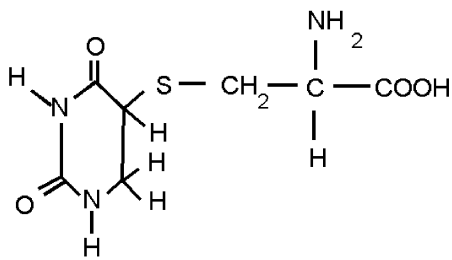
Remiantis eksperimentiniais įrodymais, manoma, kad fotohidratų susidarymas vyksta per sužadintą singuletinę pirimidino bazių būseną, kadangi, pirma, fotohidratacijos našumas nepriklauso nuo švitinamo bangos ilgio, nors perėjimo į tripletinę būseną tikimybė nuo bangos ilgio priklauso; antra, tripletiniai gesikliai, įtakojantys dimerizacijos greitį, pasirodė besą neveiksmingi hidratacijos atveju, trečia, fotohidratacija nevyksta selektyviai sužadinant azotinių bazių tripletinę būseną.

Kadangi pirimidinų fotohidratai susidaro viengrandėje DNR, gyvoje ląstelėje jų susidarymas įmanomas vykstant DNR replikacijai arba/ir transkripcijai. Galimas pirimidino hidratų vaidmuo sukeltas mutacijas buvo pademonstruotas modelinėje sistemoje *in vitro* [Bockstahler *et al.*, 1984], tačiau jų susidarymui *in vivo* pagrįsti reikia tolimesnių tyrimų.

### 6.1.3. Molekulių prijungimas prie DNR grandinės

**Vidiniai ir tarpmolekuliniai DNR susiuvimai.** Apie vidinius tarp dviejų komplementarių DNR grandinių atsirandančius kovalentinius susiuvimus liudija faktas, kad





6.11 pav. 5-cistein-6-hidrouracilas.  
naudoja viengrandę DNR.

Skersinių susiuvimų veikimo spektras sutampa su timidino sugerties spektru, tai patvirtina prielaidą, kad susiuvimo vietoje susidaro timino-timino dimerai. Be to, įrodyta, kad susiuvimų susidarymo kvantinis našumas tuo didesnis, kuo daugiau DNR sudėtyje yra adenino ir timino. Kaip ir timino dimerai, susiuvimai fotoreaktyvuojasi.

Yra užregistruoti ir tarpmolekuliniai DNR-DNR susiuvimai, tačiau tik sausuose DNR bandiniuose. Nustatyta, kad tarpmolekulinių susiuvimų kvantinis našumas siekia 0,01. Manoma, kad dėl DNR-DNR susiuvimų taip pat atsakingi timinų dimerai, tačiau ne ciklobutaninio tipo.

**Susiuvimai DNR – baltymas.** Pirmieji duomenys apie tai, kad fotochemiškai susidaro kovalentiniai susiuvimai tarp DNR ir baltymo, buvo paskelbti pastebėjus, kad UV poveikyje žymiai pablogėja DNR ekstrakcija iš *E. coli*. Lizuotas ląsteles paveikus tripsinu (baltymus skaidančiu fermentu) ekstrakcijos galimybės pasiekdavo įprastą lygmenį. Vėliau tokie susiuvimai buvo gauti ir *in vitro* DNR-albumino mišinyje.

Šviesos akceptoriais šiuo atveju gali būti abu komponentai - susiuvimas vyksta prieš sumaišymą atskirai sužadinus tiek baltymą, tiek DNR. Šis faktas leidžia manyti, kad susiuvimas vyksta ne per singuletinę ar tripletinę sužadintų chromoforų būseną, o susidarant ilgai gyvuojantiems produktams, tikėtina, laisvųjų radikalų prigimties.

Remiantis atliktais pirmaisiais modeliniais eksperimentais buvo manoma, kad DNR ir baltymo susiuvimas vyksta pirmiausia dalyvaujant cisteinui. Buvo išskirtas ir identifikuotas stabilus uracilo ir cisteino produktas – 5-cistein-6-hidrouracilas (6.11 pav.).

Vėliau paaiškėjo, kad modelinėse sąlygose, be cisteino, prie uracilo, veikiant UV spinduliuote, gali kovalentiškai jungtis dar bent dešimt amino rūgščių. Savo ruožtu, veikiamas UV spinduliuotės, timinas taip pat pasižymi dideliu reakcingumu jungiantis su amino rūgštimis. Manoma, kad baltymų aminorūgštys per SH- arba OH- grupes jungiasi prie penkto (arba šešto) azotinių bazių (timino arba uracilo) anglies atomo.

apšvietus UV spinduliuote, DNR grandinė tirpale neišsivynioja iki atskirų grandžių, netgi veikiant denatūracijos faktoriams, kurie sąlygoja vandenilinių ir kitų nekovalentinių jungčių išardymą. Pavyzdžiui, paveiktos UV, o paskui denatūruotos DNR molekulės yra atsparios fosfodiesterazės poveikiui, kuri kaip substratą

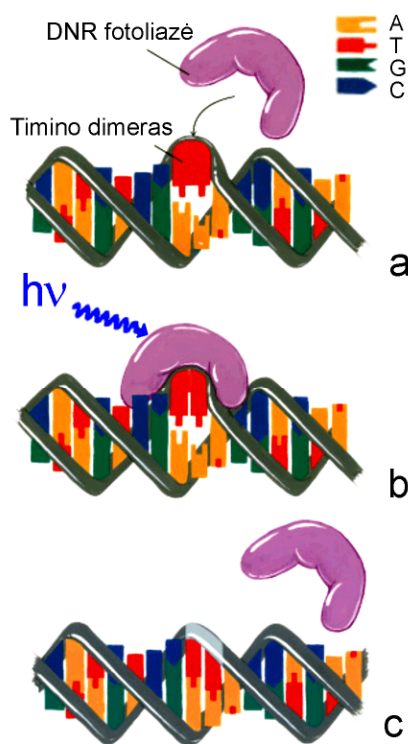
#### 6.1.4. DNR grandinėlių trūkiai

DNR trūkiai (dažniausiai tik vienos grandinėlių) stebimi tik paveikus DNR didele UV spinduliuotės doze. Be to, trūkių kvantinis našumas yra trimis eilėmis mažesnis, lyginant su pirimidino bazių dimerizacija. Pavyzdžiui, tabako mozaikos viruso DNR grandinės trūkių kvantinis našumas  $3,5 \cdot 10^{-6}$ .

#### 6.1.5. DNR fotopataidų atstatymo mechanizmai

Esant tam tikroms sąlygoms, pažeista DNR vieta gali būti atstatyta. Atstatymas gali vykti chemiškai arba dalyvaujant fermentams. Cheminis atstatymas gali vykti spontaniškai atsistatant pažeistai struktūrai, pvz., pirimidino fotohidratų dehidratacija.

**Fotoreaktyvacija** – tikriausiai pats paprasčiausias ir seniausias evoliucijos požiūriu



6.12 pav. Fotoreaktyvacijos modelis. DNR grandinėje fotoreaktyvuojantis fermentas (DNR fotoliazė) prisijungia prie pirimidino dimero, sudarydamas fermento-substrato kompleksą (a). Spinduliuotės tarp 300 ir 450 nm sugertis aktyvuoja šį kompleksą (b), pirimidino dimeras paverčiamas monomeriniais pirimidiniais ir fermentas atsilaisvina (c).

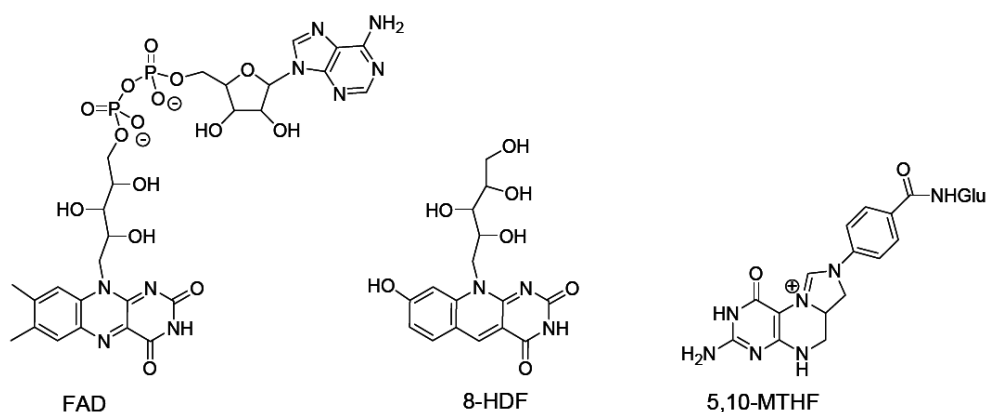
DNR pataidų atstatymo mechanizmas, vykstantis dalyvaujant tik vienam atstatančiam fermentui, kuris aktyvuojamas šviesa. Dar 1949 m. Kelneris (Kelner) pastebėjo, kad UV apšviestų bakterijų išgyvenamumas žymiai padidėja, jeigu ląstelės po to buvo apšviestos intensyvia mėlyna šviesa [Kelner, 1949]. 1958 m. Rupertas (Rupert) ir kt. pademonstravo, kad egzistuoja fotoreaktyvuojantis fermentas – fotoliazė ir ištyrė pagrindines jo savybes. Tamsoje fermentas stipriai prisijungia prie pirimidino dimero susiformavusio dėl UV poveikio, sudarydamas fermento-substrato kompleksą. Spinduliuotė tarp 300 ir 450 nm aktyvuoja šį kompleksą, substratas paverčiamas iš dimero į du monomerinius pirimidinus, tuomet fermentas atsilaisvina. Ši reakcija schemiškai parodyta 6.12 pav.

Pirimidino dimerų suardymas vyksta dalyvaujant dviem fotoliazės kofaktoriams.

Vienas iš šių kofaktorių yra katalitinis kofaktorius – redukuota flavino molekulė (FADH<sup>-</sup>), o kitas – šviesą sugeriantis chromoforas (6.13 pav.). Fermentui prisijungus prie pirimidino dimerų, pastarasis chromoforas sugeria

UV/mėlynos šviesos kvantą ir perduoda sužadavimo energiją  $\text{FADH}^-$  molekulei. Sužadintas  $^*\text{FADH}^-$  perduoda pirimidino dimerui elektroną, ko pasėkoje dimeras suyra į pirimidino monomerus. Atstatymo ciklas baigiasi elektronui grįžus į  $\text{FADH}^-$ .

Dauguma organizmų turi fotoliazę, kuri atpažįsta ciklobutano tipo pirimidino dimerus (CPD fotoliazė) arba 6–4 tipo pirimidino fotoproduktus (6–4 fotoliazė). CPD fotoliazės, randamos įvairiuose organizmuose, gali skirtis amino rūgščių seka bei šviesą surenkančiu chromoforu.



6.13 pav. Fotoliazės kofaktoriai. Katalitinis kofaktorius – FAD (flavino adenin-nukleotidas) (fotoliazėje aktyvi redukuota  $\text{FADH}^-$  forma); ir šviesą surenkantis chromoforas 8-HDF (8-hidroksi-5-deazaflavinas) arba 5, 10-MTHF (5, 10-meteniltetrahidrofolilpoliglutamatas).

CPD fotoliazės randamos bakterijose, kerpėse, augaluose, bestuburiuose ir daugelyje stuburinių (žuvyse, sterbliniuose), tuo tarpu 6–4 fotoliazės identifikuotos vaisinėse muselėse, šilkverpiuose ir gyvatėse, tačiau nerastos *E. coli* ir mielėse [Britt *et. al.*, 1996; Thoma, 1999]. 1974 metais Saterlend (Sutherland) pateikė įrodymų, kad DNR fotoliazė egzistuoja ir žmogaus leukocituose [Sutherland, 1974]. Vėliau fotoliazė buvo rasta ir žmogaus odoje [Ogut *et. al.* 1989; Roza *et. al.* 1991]. Tačiau šiuose tyrimuose fotoreaktyvacijos vyksmas priklausė nuo audinių tipo, iš kurių buvo ruošiami ekstraktai [Ogut *et. al.*, 1989] ir nuo to, kaip fotoreaktyvacija buvo sukeliama, t. y. fotoreaktyvacija buvo stebima ne po vieno ciklo – vieno apšvitinimo UV spinduliuote ir po to sekusio apšvitinimo regimajai šviesai, – tačiau po trijų ciklų, vykdomų 2,5 valandų intervalu. Gauti rezultatai pademonstravo, kad 40% dimerų buvo pašalinta (L. Roza, *et. al.* 1991).

Taigi, nors bakterijose 90% letalių DNR pažeidimų, sukeltų nedidele UV doze (254 nm), gali būti fotoreaktyvuotuos, tačiau žmogaus organizme, kaip ir daugelyje placentinių žinduolių, šis fotopažeidimų atstatymo mechanizmas neveikia arba nėra efektyvus.

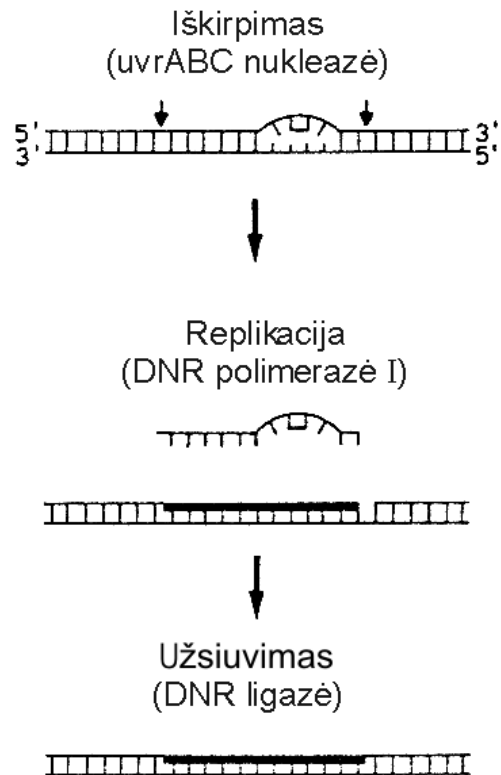
**Atstatymas iškerpant (ER, *excision repair*).** Žinomi du DNR ER būdai – nukleotidų atstatymas ir bazių atstatymas. Nukleotidų atstatymo mechanizmas pirmą kartą atrastas 1964 m. ir buvo vadinamas “tamsiniu” atstatymu, kad atskirti jį nuo fotoreaktyvacijos, kuri inicijuojama šviesa. Tuo tarpu bazių atstatymo iškerpant mechanizmas atrastas palyginti neseniai.

**Nukleotidų ER mechanizmas** susideda iš penkių pagrindinių žingsnių: DNR pažaidos atpažinimo, pažeistos DNR dalies įkirpimo, iškirpimo, nukleotidų atstatymo ir grandinėlių užsiuvimo (6.14 pav).

Pirmasis žingsnis nukleotidų atstatyme – DNR pažaidos atpažinimas. Šiame etape vienas ar keli baltymai prisijungia prie pažeistos DNR vietos. Susidaręs baltymų ir DNR kompleksas tarnauja jungimosi centru endonukleazei, fermentui, kuris įkerpa DNR grandinėle šalia pažeistų nukleotido(u). Pažeistas nukleotidas ir keli kaimyniniai nukleotidai yra pašalinami. Kitame žingsnyje, veikiant DNR polimerazei (*polA* geno produktas), susidaręs tarpas grandinėleje yra užpildomas trūkstamais nukleotidais, komplementariais likusiems DNR vijoje. Kai visi nukleotidai pakeičiami, DNR ligazė užsiuva abu grandinės galus – tai paskutinis DNR atstatymo žingsnis.

Tyrimai *in vivo* parodė, kad nukleotidų ER gali vykti dviem skirtingais būdais (6.15 pav.). Atstatymas pagal aukščiau aprašytą mechanizmą (6.14 pav.) gali vykti netgi tuomet, kai ląstelės yra tik buferinėje terpėje. Antrasis būdas, kuriuo ištaisoma mažiau DNR pažaidų, priklauso nuo funkcionuojančio *recA* geno ir gali vykti tik tuomet, kai ląstelės yra augimo terpėje.

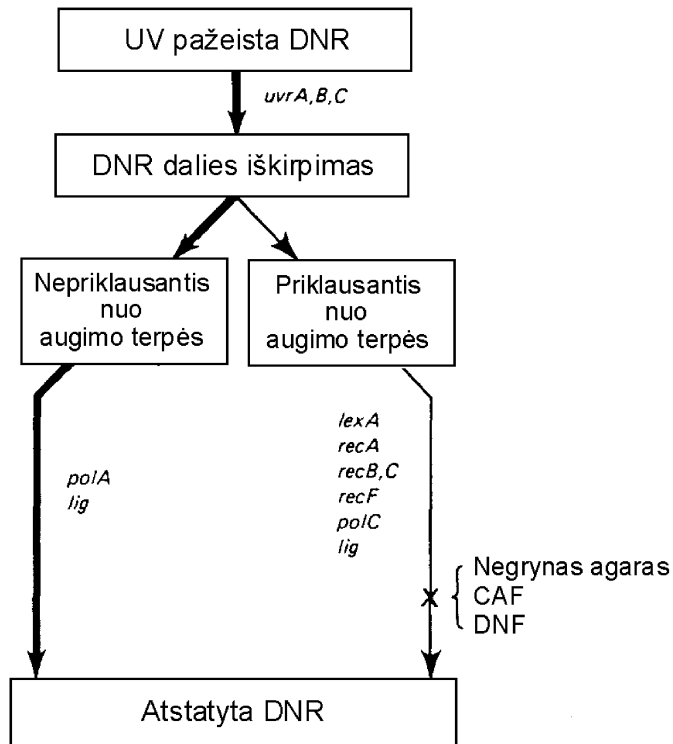
Kitas požymis, pagal kurį atskiriami šie du ER mechanizmai, yra atstatomo “lopo” dydis. Hanavoltas (Hanawalt) su kolegomis parodė, kad trumpi “lopai” (20-30 nukleotidų



6.14 pav. Pagrindinių procesų, vykstančių nukleotidų ER metu *E. coli* ląstelėse, schema. UvrABC nukleazė atpažįsta pažaidas ir iškerpa jas iš abiejų pusių, susidaro maždaug 12 nukleotidų tarpas. DNR polimerazė I užpildo šį tarpą nukleotidais komplementariais likusiems DNR vijoje. Galiausiai DNR ligazė užsiuva trūkius atstatytoje DNR grandinėje. Adaptuota iš [A. Sancar and W. D. Rupp, *Cell*, 33, 249-260 (1983)].

ilgio) yra pagaminami nuo *polA* priklausomu būdu, tuo tarpu ilgi lopai (200-1500 nukleotidų ilgio) – nuo *recA* priklausomu būdu.

Remiantis eksperimentiniais duomenimis apie postreplikacinio atstatymo būdus, buvo pasiūlytas nuo *recA* priklausantis nukleotidų ER modelis (6.16 pav.). Pagal šį modelį, nuo



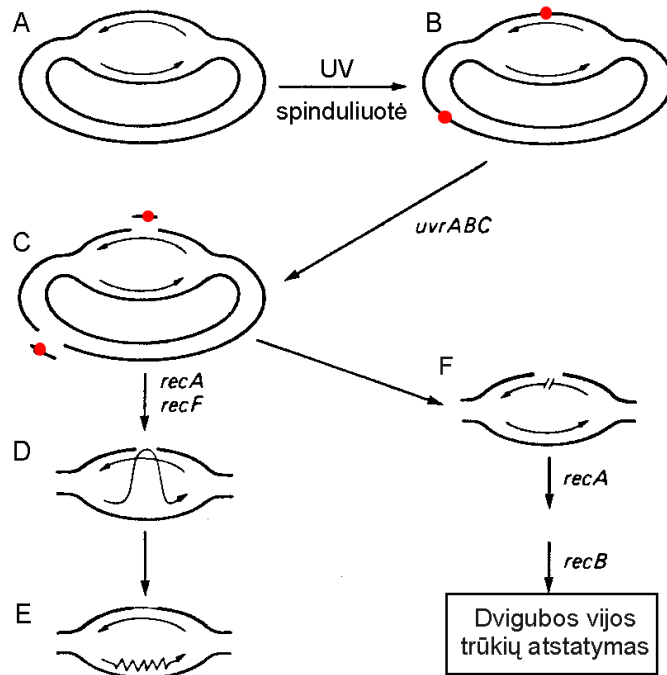
6.15 pav. Genetinė ir fiziologinė kontrolė skirtingų procesų, vykstančių nukleotidų ER metu *E.coli* ląstelėse. Dauguma iškirptų tarpų yra atstatomi nepriklausančiu nuo auginimo terpės būdu, dalyvaujant DNR polimerazei I (*polA*). Toks atstatymas vyksta pagal 6.10 paveiksle pavaizduotą mechanizmą. Nedidelė dalis tarpų yra atstatomi nuo auginimo terpės priklausančiu būdu, dalyvaujant *recA* geno produktui. Manoma, kad pastarasis atstatymo būdas veikia tik replikuotoje chromosomos dalyje. Chloramfenikolis (CAF), dinitrofenolis (DNF) ir negrynas agaras inhibuoja nuo augimo terpės priklausantį atstatymo mechanizmą. Pritaikyta iš [D.A.Youngs et. al., *J.Bacteriol.* 117, 717-752 (1974)].

žinduolių ląstelėse atskleidė, kad yra tiesioginė priklausomybė tarp karcinogenezės ir sutrikdyto DNR atstatymo mechanizmo. Klaidos DNR atstatyme dažniausiai yra priežastis, lemianti DNR mutacijų atsiradimą, kurios sąlygoja ląstelių karcinogenezę. DNR atstatymas iškerpant yra daug tikslesnis, negu postreplikacinis pažaidų atstatymo mechanizmas.

*recA* priklausantis nukleotidų ER vyksta tik replikuotose chromosomos dalyse, kur egzistuoja seseriniai dupleksai, ir kur gali vykti intrachromosominė rekombinacija (6.16 pav.). Dauguma nuo *recA* priklausančių ER priklauso ir nuo *recF*, ir tik maža dalis priklauso nuo *recB*. Manoma, kad genų *recF* ir *recB* produktų atliekamos funkcijos nuo *recA* priklausančiame ER mechanizme yra panašios į jų funkcijas postreplikaciniame atstatyme, ir svarbios replikuotoje prieš UV švitinimą chromosomos dalyje. Dalyvaujant *RecF*, iškirpti tarpai atstatomi per rekombinaciją, kurios metu susiformuoja ilgi “lopai” (6.16 pav. C-E), o *RecB* būdu atstatomi DNR dvigubos spiralės trūkiai, kurie atsiranda neatstatytuose tarpuose (6.16 pav. F).

ER mechanizmo tyrimai

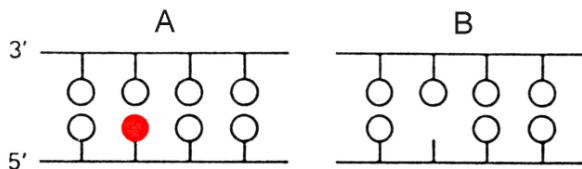
**Bazių ER** metu, fermentai, vadinami DNR glikosilazėmis, atpažįsta pakitusias bazes (pvz. timino glikolį, 3-metiladeniną, uracilą, hidrometiluracilą, hipoksantiną, šlapalą). Šie fermentai hidrolizuoja N-glikozilinę jungtį, kuri jungia bazę prie cukraus DNR karkase, taip pašalindami pakitusią bazę. Vieta, iš kurios buvo pašalinta bazė, vadinama AP centru



6.16 pav. Nuo *recA* priklausančio nukleotidų ER atstatymo schema. Veikiant UV, pažaidos gali atsirasti tiek replikuotose, tiek nereplikuotose chromosomos dalyse (A, B), tačiau tik iš replikuotų chromosomos dalių iškirpti tarpai (C) gali būti atstatyti intrachromosominės replikacijos būdu, kuris priklauso nuo *recF* (D). Šio proceso metu susidaro tarpas homologiame seseriniame duplekse (vingiuota linija), kuris užpildomas replikacijai naudojant priešingą motininę viją (E). Jei dukterinė vija, priešinga iškirptam tarpui, yra sutraukoma (-/-, F) atsiradęs dvigubos vijos trūkis atstatomas nuo *recB* priklausančio proceso metu. Pritaikyta iš [K.C. Smith, R.C.Sharma, *Mutation Res.*, 183, 1-9 (1987)].

(apurininiu arba apirimidininiu). Bazių ER mechanizmas schemiškai parodytas 6.17 pav. AP centrai tampa substratu AP endonukleazėms, kurios būna dviejų tipų. Vieno tipo endonukleazės įkerpa DNR ties AP centru iš 5' galo, o kito tipo endonukleazės – iš 3' galo. Iškirptas DNR tarpas atstatomas taip pat, kaip ir anksčiau aprašytame nukleotidų ER procese.

**Postreplikacinis atstatymas.** Pirmasis patvirtinimas, įrodantis kad ER nėra vienintelis DNR fotopažaidų atstatymo mechanizmas vykstantis tamsoje, buvo gautas pastebėjus, kad bakterijoms sutrikdžius abu, tiek nuo *uvrA*, tiek nuo *recA* priklausančius DNR atstatymo iškerpant mechanizmus, jos yra daug jautresnės UV spinduliutei, negu bakterijos, turinčios tik vieną iš šių mutaciją. Šie tyrimai leido spėti, kad *uvrA* ir *recA* genai veikia skirtingus



6.17 pav. Pirminiai žingsniai bazių atstatymo iškerpant procese. Pakitusią bazę (raudonas apskritimas) atpažįsta fermentas DNR glikozilazė. Bazė pašalinama iš DNR hidrolizuojant N-glikozilinį ryšį, kuris jungia bazę prie cukraus. Pašalintos bazės vieta (B) vadinama AP centru (žr. tekstą). Sekančiuose žingsniuose (neparodyta), AP endonukleazė iškerpa DNR karkasą ties AP centru, o susidaręs DNR tarpas atstatomas tokiu pat būdu, kaip aprašytame nukleotidų ER procese.

atstatymo modelis, buvo pastebėjimai, kad (1) iš karto po UV apšvitinimo *E. coli* sintetinama DNR yra su trūkais ir (2) naujai sintetintos DNR vidutinis ilgis yra artimas vidutiniam atstumui tarp pirimidino dimerų pradinėje grandinėje. Po tolimesnės ląstelių inkubacijos, dukterinėse DNR grandinėse trūkiai dingsta ir DNR dydis atitinka kontrolinių (neapšviestų) DNR dydį. Postreplikacinio atstatymo procesas schemiškai parodytas 6.18 paveiksle.

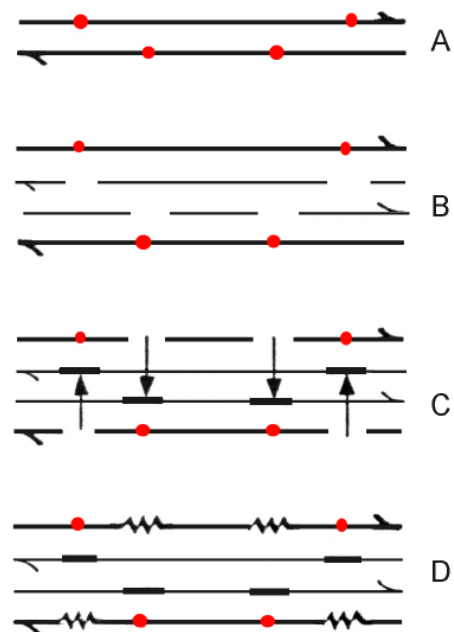
Nors aprašytieji DNR atstatymo iškerpant (ER) mechanizmai daugiausia buvo tiriami bakterijose, tačiau visi šie DNR pažeidimų taisymo metodai veikia ir žmogaus organizme.

## 6.2. Amino rūgščių ir baltymų fotochemija

Baltymų fotochemija prasideda nuo chromoforinių aminorūgščių, kurios daugiausia atsakingos už šviesos sugertį, fotochemijos. Kaip jau buvo minėta, baltymuose pagrindiniai chromoforai, sugeriantys ilgesnių bangų kaip 240

biocheminio atstatymo būdus, ir kad tam tikri žingsniai genetinės rekombinacijos metu yra svarbūs atstatant fotopažeidas. Postreplikacinį atstatymą atrado 1968 m. Rupas (Rupp) ir Hovardas-Flandersas (Howard-Flanders) tirdami ląsteles su sutrikdytu ER mechanizmu.

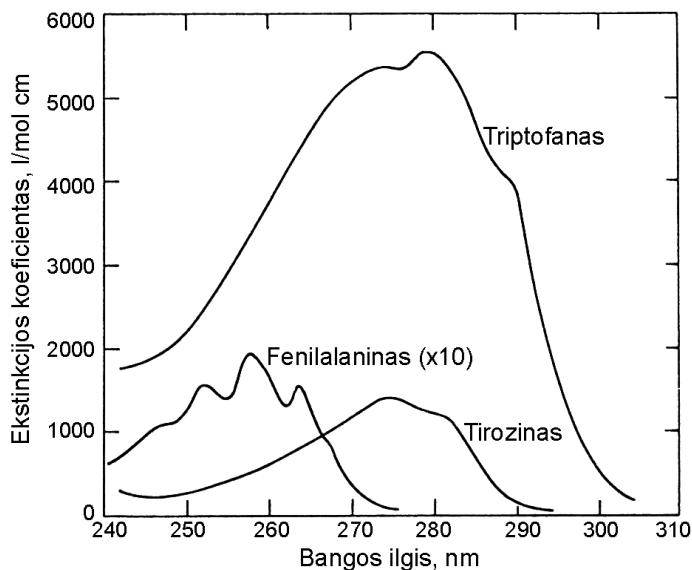
Eksperimentiniai rezultatai, kuriais remiantis buvo sudarytas postreplikacinio



6.18 pav. Postreplikacinis DNR dukterinės vijos trūkių atstatymas *E. coli* ląstelėse po UV apšvitinimo. Raudoni taškai žymi susidariusias fotochemines pažeidas abiejose DNR vijose (A). DNR sintetuojama iki pažeidos, praleidžiama pažeista motininės vijos vieta, paliekant tarpą dukterinėje vijoje (B). Tarpas dukterinėje vijoje užpildomas rekombinacijos būdu, panaudojant medžiagą iš motininės vijos (C). Šis procesas yra priklausomas nuo *recA* geno. Tarpai motininėse vijose yra atstatomi replikacijos būdu (D). Pritaikyta iš [K.C.Smith, *Photophysiol.*, 6, 209-278 (1971)].

nm spinduliuotę, yra aromatinės amino rūgštys – triptofanas, tirozinas ir fenilalaninas (6.19 pav), nedidelį indėlių sugerties spektre turi histidinas, cistinas ir peptidinis ryšys. Karboksilo ir amino grupės sugeria trumpesnes negu 240 nm UV bangas. Be to, visos amino rūgštys intensyviai sugeria UV bangas trumpesnes negu 200 nm.

**Aromatinių aminorūgščių fotochemija.** Iki 1960 metų buvo manoma, kad veikiant UV spinduliuotei, pagrindinis procesas, vykstantis aromatinėse aminorūgštyse, yra ryšių

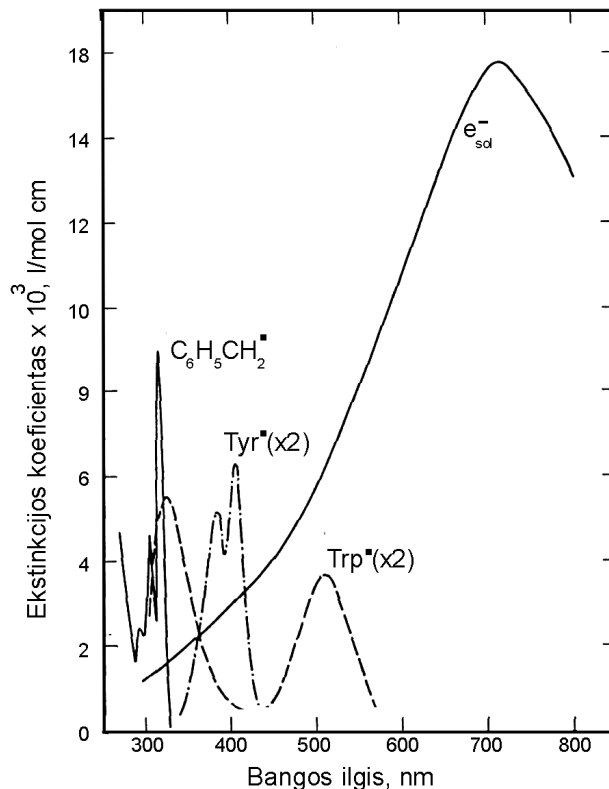


6.19 pav. Aromatinių aminorūgščių vandeninių tirpalų sugerties spektrai. Šios trys amino rūgštys yra pagrindinės, sugeriančios ilgesnių kaip 240 nm bangų spinduliuotę. Histidino sugerties maksimumas yra ties 211 nm. Cistinas turi intensyvią sugerties juostą ties 207 nm ir silpną ties 250 nm.

nutraukimas. Tačiau vėlesni impulsinės fotolizės eksperimentai atlikti su vandeniniais aminorūgščių tirpalais atskleidė, kad svarbiausias pirminis vyksmas yra fotojonizacija (elektronų išmušimas) [Grossweiner *et. al.*, 1963]. Tirozino vandeninio tirpalo impulsinės fotolizės spektruose aptiktas fenoksilo tipo aromatinis laisvasis radikalas (Tyr<sup>•</sup>), susidaręs nutraukus fenolo OH ryšį, taip pat spektre buvo stebima intensyvi, trumpai gyvuojanti, plati sugerties juosta raudonoje spektro srityje (6.20 pav.). Triptofano spektre buvo matoma kitokia, aromatinio radikalo (Trp<sup>•</sup>) sugertis, bei tokia pati sugerties juosta raudonojoje spektro dalyje (6.20 pav.). Fenilalanino vandeninio tirpalo impulsinės fotolizės spektre aptikta benzilo radikalo (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub><sup>•</sup>) sugerties ir “raudonoji” juostos. “Raudonoji” juosta buvo stebima tik trumpą laiką tarpą (<1μs) po impulso ir nesusidarydavo, jei tirpale būdavo deguonies, vandenilio peroksido arba azoto suboksido. Iš to sekė išvada, kad visuose apšviestuose aromatinių amino rūgščių tirpaluose susidaro “hidratuotas” elektronas. Hidratuotas elektronas yra kvazi-laisvas elektronas, pagautas dėl savo elektrinio krūvio ir vandens dipolių sąveikos. Hidratuotas elektronas yra nestabilus, greitai reaguoja su deguonimi, sudarydamas superoksido radikalo anijoną (O<sub>2</sub><sup>•-</sup>), vandenilio peroksido pirmtaką. Vėlesniais tyrimais pademonstruota, kad aromatinių rūgščių vandeniniuose tirpaluose fotojonizacija vyksta ir esant įprastiems šviesos intensyvumams [Creed, 1984].



Stabilūs triptofano vandeninio tirpalo produktai, susidarantys po UV švitinimo yra triptaminas, N-formilkinureninas (NFK), kinureninas, alifatinės amino rūgštys ir amoniakas. NFK susidarymas baltymų fotolizės metu svarbus todėl, kad šis triptofano oksidacijos produktas gali elgtis kaip fotosensibilizatorius, veikiant ilgesnių bangų UV spinduliuotei, pvz., NFK gali būti atsakingas už akių lęšiuko senėjimą [Grossweiner, 1984]. Tirozino vandeninio tirpalo fotolizės metu susidaro daug produktų, pvz., dihidroksifenilalaninas (DOPA, melanino sintezės pradmuo), ditirozinas, alifatinės aminorūgštys ir amoniakas. Stabilūs vandeninio fenilalanino tirpalo fotoproduktai yra tirozinas ir kiti fenoliai, įskaitant DOPA, alifatinius junginius ir amoniaką.



6.20 pav. Sugerties spektrai trumpai gyvuojančių darinių, identifikuotų impulsinės fotolizės būdu vandeniniuose amino rūgščių tirpaluose: Tyr<sup>\*</sup> – tirozino radikalas, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub><sup>\*</sup> – benzilo radikalas, e<sup>-</sup><sub>sol</sub> – solvatuotas elektronas.

**Cistino, histidino ir peptidinio ryšio fotochemija.** Nors cistino sugertis yra silpna, tačiau jis yra ypatingai svarbus baltymų fotochemijoje, nes cistino fotolizės kvantinis našumas yra aukštas, ir tai gali sąlygoti disulfidinių tiltelių trūkumus baltyme. Stabilūs cistino fotolizės produktai yra sulfhidrilas, disulfidas, alifatiniai dariniai ir vandenilio sulfidas [D. Creed, 1984]. Pirminiai galimi vyksmai baltyme yra S-S jungties nutraukimas, susidarant RS<sup>\*</sup> tipo radikalams, ir C-S jungties iširimasis, susidarant –S-S<sup>\*</sup> tipo radikalams. Hidratuoti elektronai labai greitai reaguoja su cistinu, sudarydami radikalo anijoną, kuriame elektronas laikinai pagaunamas S-S jungties.

Histidino sugertis yra labai silpna UV srityje, kurios  $\lambda > 240$  nm, todėl jo vaidmuo baltymų fotochemijoje nėra svarbus. Tačiau protonuota imidazolo grupė yra gera elektronų gaudyklė ir gali sugauti šviesa išmuštus elektronus iš aromatinių grupių.

Peptidinė jungtis taip pat silpnai sugeria ilgesnių bangų UV spinduliuotę, tačiau baltymuose, kuriuose nėra aromatinių aminorūgščių, pvz., želatinoje, jai gali tekti gana

svarbus vaidmuo. Peptidinė jungtis gali būti elektronų gaudykle, be to, ja gali keliauti elektronai iš sužadintų aromatinių liekanų į cistiną ir histidiną.

**Baltymų fotochemija.** Apšvietus UV spinduliuote vandeninį baltymo tirpalą, pasikeičia beveik visos jo fizikinės ir cheminės savybės: sugerties spektras, optinis aktyvumas, tirpumas, katalitinis aktyvumas ir kiti parametrai. Tačiau bandymai susieti šiuos pokyčius su pradinėmis fotocheminėmis reakcijomis daugeliu atvejų yra nesėkmingi dėl sudėtingos baltymų struktūros. “Bespalvio” baltymo sugerties spektrą UV srityje paprastai sudaro intensyvi juosta ties 180-220 nm ir “aromatinė” juosta ties 280 nm. Baltymų sugerties spektras panašus, tačiau neidentiškas į baltymą sudarančių amino rūgščių mišinio spektrą. Šie skirtumai sąlygoti peptidinio ryšio ir sąveikos tarp amino rūgščių liekanų. Tačiau, pirmuoju artutinumu galima iškelti prielaidą, kad šviesos dalis, sugerta tam tikros aminorūgšties, esančios baltyme, gali būti įvertinta, žinant jos koncentraciją baltyme ir jos ekstinkcijos koeficientą vandeniniame tirpale. Tačiau aminorūgšties liekanos fotochemija baltyme gali žymiai skirtis nuo aminorūgšties fotocheminių virsmų vandenyje. Galimos šių skirtumų priežastys yra:

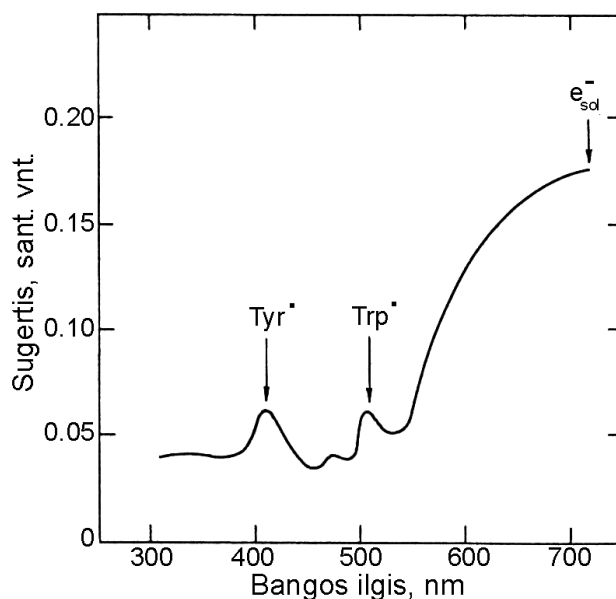
1. Sužadinimo energija gali būti perduodama tarp aromatinių rūgščių Fiorsterio mechanizmu tokiu nuoseklumu: fenilalaninas → tirozinas → triptofanas.
2. Elektronai, sugeneruoti aromatinių rūgščių fotojonizacijos metu, gali migruoti ir reaguoti skirtinguose vietose.
3. Fotolizinis disulfidinių tiltelių suardymas gali pakeisti baltymo konformaciją, gali vykti baltymo denatūracija.

Dėl apribotos difuzijos aminorūgščių liekanų pažaidos baltyme gali būti stabilesnės nei laisvose aminorūgštyse.

Vandeninių baltymų tirpalų spektruose, išmatuotose impulsinės fotolizės metu, aptiktos aromatinių laisvųjų radikalų juostos, panašios į stebėtas tirozino ir triptofano vandeniniuose tirpaluose, taip pat stebėta ir hidratuoto elektrono sugerties juosta (6.21 pav.). Tyr<sup>•</sup> (410 nm), Trp<sup>•</sup> (510 nm) ir hidratuoto elektrono (720 nm) sugerties juostos buvo stebimos daugelyje baltymų, kurių sudėtyje buvo aromatinių rūgščių liekanų, spektrų. Baltymų su cistino lieknomis (pvz., lizocimas, papainas ir tripsinas) impulsinės fotolizės spektruose stebėta juosta ties 420 nm, kuri buvo priskirta disulfido elektrono aduktui.

Šie rezultatai atskleidė, kad baltymuose dominuojančios pirminės fotocheminės reakcijos yra aromatinių rūgščių fotojonizacija ir laikinas elektrono pagavimas. Disulfido elektrono adukto juosta nebuvo nuslopinta, įsotinus tirpalą deguonimi ar azoto suboksidu, kurie greitai reaguoja su hidratuotais elektronais. Tai įgalino manyti, kad elektronai atkeliauja

iš aromatinių rūgščių liekanų į disulfidinį tiltelį tarpmolekulinės sąveikos būdu, o ne per vandens molekules.



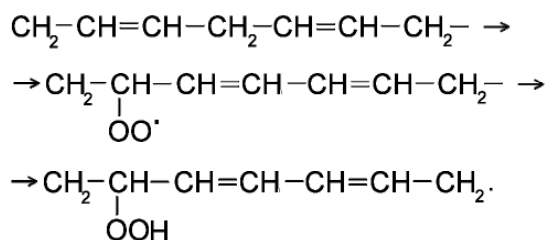
6.21 pav. Vandeninio subtilisino BPN' tirpalo, iš kurio buvo pašalintas oras, sugerties spektras, gautas impulsinės fotolizės būdu (spektras užregistruotas po 100 ns užlaikymo, lazerinio impulso (256 nm) trukmė 17 ns). Spektre nurodyti oksiduotų triptofano  $\text{Trp}^\bullet$  ir tirozilo  $\text{Tyr}^\bullet$  liekanų bei hidratuotų elektronų  $e_{\text{sol}}^-$  sugerties smailės. Šio baltymo sudėtyje yra 3 triptofanilai, 10 tirozinilai ir nei vienos cistino liekanos. Spektre stebimos sugerties juostos atskleidžia, kad kai kurios triptofanilo ir tirozinilo liekanos buvo fotojonizuotos, o išmušti elektronai buvo stabilizuoti vandeninėje terpėje hidratuotų elektronų būsenoje. Be to, paveikus lazerine spinduliuote, baltymas prarado fermentinį aktyvumą, nors nei viena triptofano nei tirozino liekanų nėra išsidėsčiusi šalia aktyvaus centro. Tuo remiantis buvo padaryta išvada, kad vienos triptofano liekanos fotolizė galėjo sukelti nedidelius baltymo konformacijos pokyčius, kurie apsunkino fermento jungimąsi prie substrato. Pritaikyta iš [A. Blum, L.I Grossweiner, *Photochem. Photobiol.* 36, 617-622 (1982)].

### 6.3. UV poveikis kitoms biomolekulėms

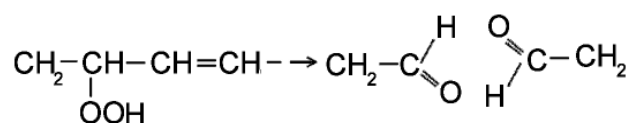
UV spinduliuotė gali sukelti ir kitų biomolekulių pažeidimus. Lipidai yra plati vandenyje netirpių biomolekulių klasė, kuriai priskiriami riebalai, vašakai, fosfolipidai, glikolipidai ir steroidai. Svarbiausią vaidmenį fotobiologijoje atlieka fosfolipidai, kadangi jie kartu su baltymais yra pagrindiniai ląstelių membranų struktūriniai komponentai. Fosfolipidai yra sudaryti iš fosforo rūgšties likučio – polinės dalies ir riebalų rūgščių – hidrofobinės dalies. Riebalų rūgštys, įeinančios į fosfolipidų sudėtį, gali būti sočiosios arba nesočiosios (turinčios dvigubą C=C jungtį).



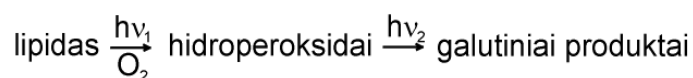
Nesočiose rūgštyse, susidarius  $RO_2^\bullet$  ir  $ROOH$ ,  $C=C$  jungtis persislenka, ir atsiranda tokia dvigubų jungčių konjuguota sistema:



Susidarę hidroperoksidai toliau patiria cheminius virsmus, pirmiausia grandinės nutrūkimą, kol galiausiai susidaro stabilūs produktai, dažniausiai aldehidai:



Manoma, kad stabilių produktų susidarymas vyksta dalyvaujant antram šviesos kvantui.



Taigi, dviejų fotonų sugerties reikalaujantis, dviejų žingsnių lipidų fotoperoksidacijos mechanizmas yra priklausomas nuo aktininės (poveikį sukeliančios) spinduliuotės bangos ilgio: trumpabangė UV šviesa sąlygoja hidroperoksidų susidarymą, o ilgabangė spinduliuotė, kurią intensyviai sugeria hidroperoksidai, padeda susidaryti galutiniams produktams (aldehidams).