



УДК 547.963.32.04

ФОТОХИМИЯ ПСОРАЛЕНОВ И СТРУКТУРА НУКЛЕИНОВЫХ
КИСЛОТ *

Херст Дж. Е.

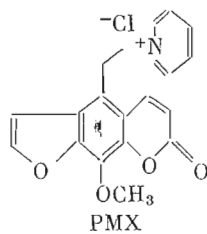
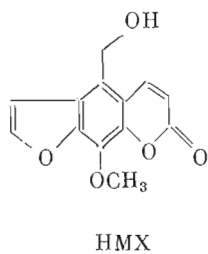
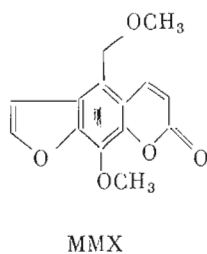
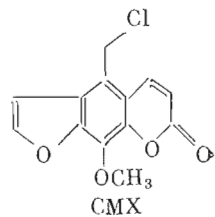
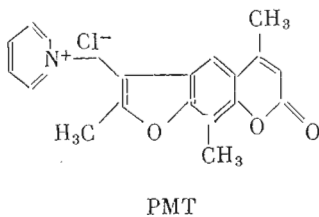
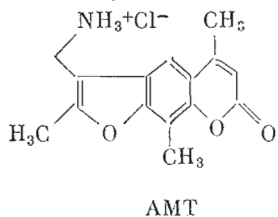
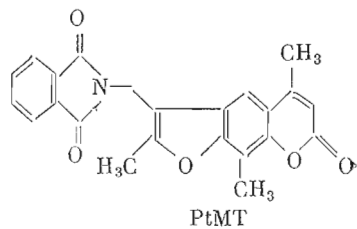
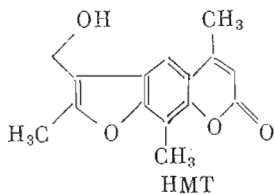
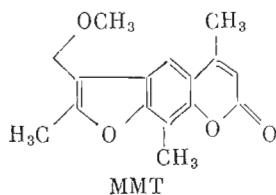
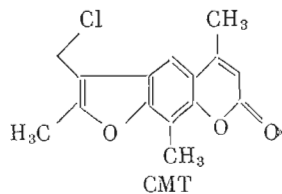
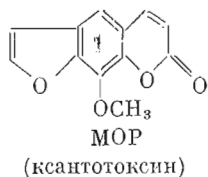
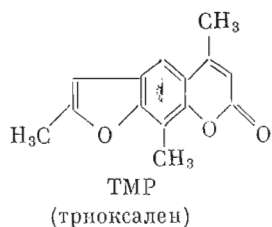
Калифорнийский университет, Беркли, США, химический факультет

Синтезирован ряд новых производных псоралена, которые обладают более высокой водорастворимостью и способностью более активно связываться с нуклеиновыми кислотами. Увеличение водорастворимости и силы связывания таких соединений облегчает исследование оптических изменений в фотохимических процессах при взаимодействии псораленов с ДНК. Обсуждаются изменения как флуоресценции, так и поглощения. Из кинетической модели фотохимических процессов следует, что основное влияние на кинетику фотоприсоединения оказывают константа равновесия интеркаляции псоралена в ДНК и квантовые выходы: фотоприсоединения ДНК к интеркалированному псоралену и фоторазрушения псоралена в водном растворе. Эти три параметра полностью описывают кинетику фотохимии псоралена. Приведены их значения для ряда производных триоксалена и метоксипсоралена (ксантотоксина). Рассмотрено использование фотохимии псораленов для изучения вторичной структуры нуклеиновых кислот в хроматине, бактериофаге *fd* и рибосомах.

В настоящее время в химической литературе описано свыше 100 производных псоралена, половина которых существует в природе, остальные синтезированы искусственным путем. Из этого большого числа в настоящее время в США широко используются в научной и клинической практике только два производных. Эти соединения известны под коммерческими названиями триоксален — 4,5',8-триметилпсорален (ТМР) и метоксален, или ксантотоксин, — 8-метоксипсорален (МОР).

В нашей лаборатории исследуются многие фундаментальные проблемы химии псораленов, в том числе подходы к изучению вторичных структур 16S рибосомных РНК *E. coli* *in vitro* и в составе 30S частиц рибосом [1–3], 5S рибосомных РНК *Drosophila melanogaster* *in vitro* [4] и кольцевых одноцепочечных ДНК бактериофага *fd* внутри вириона [5]. В ходе исследований стало очевидным, что различные модификации псораленового ядра позволяют проводить эксперименты, которые невозможны при использовании ТМР или МОР. Принимая это во внимание, мы синтезировали ряд новых псораленов. Некоторые из них обладают более высокой фотореактивностью по отношению к ДНК и РНК, чем ТМР и МОР. Эти новые производные представляют собой 4'-аддукты ТМР — хлорметилтриоксален (СМТ), метоксиметилтриоксален (ММТ), гидроксиметилтриоксален (НМТ), фталимидометилтриоксален (РтМТ), аминометилтриоксаленхлоргидрат (АМТ) и пиридинийметилтриоксаленхлорид (РМТ). Детальное описание взаимодействия ММТ, НМТ и АМТ с нуклеиновыми кислотами можно найти в работе [6]. Айзексом и соотр. [7] получено несколько растворимых производных 8-метоксипсоралена: 5-хлорметилксантотоксин (СМХ), 5-метоксиметилксантотоксин (ММХ), 5-гидроксиметилксантотоксин (НМХ) и 5-пиридинийметилксантотоксинхлорид (РМХ). Новые достижения органической химии псораленов представлены в работе [8] и в соответствующих патентах [9].

* Доложена на VII Вавиловской конференции по нелинейной оптике, Новосибирск, 1981. Перевод с англ. Б. Ф. Полковникова.



Главным преимуществом новых соединений MMT, HMT, AMT, MMX и HMX является их высокая растворимость в воде, а в случае AMT — наличие положительно заряженной боковой цепи. Эти свойства значительно увеличивают способность данных веществ к связыванию с нуклеиновыми кислотами, т. е. при фиксированной дозе вещества и излучения в реакции фотоприсоединения с ДНК или РНК ковалентно связывается большее количество псоралена. Одним из примеров преимуществ новых производных псоралена может служить их использование для инактивации вирусов.

Получение антивирусных вакцин. Современные методы инактивации вирусов для получения вакцин основаны на формальдегидной или тепловой денатурации интактных вирусов. Недостатком этих методов является сопутствующая денатурация или химическая модификация вирусного белка, изменяющая антигенные структуры, к которым образуются антитела.

С помощью псораленов, обладающих очень слабой реакционной способностью по отношению к белку, удается полностью инактивировать как ДНК-, так и РНК-содержащие вирусы с эффективностью, на несколько порядков превосходящей обычные методы денатурации. На примере РНК-содержащего вируса везикулярного стоматита [10] было обнаружено, что определенная доза триоксалена способна снизить число жизнеспособных вирионов до 10% от изначального титра вируса, тогда как эквивалентная доза нового производного псоралена (AMT) после обработки им вируса оставляет лишь 10⁻¹ исходного количества бляшкообразующих вирусных частиц. В обоих случаях время, необходимое для инактивации вируса, составляло несколько минут. В работе [11] была продемонстрирована еще более высокая эффективность AMT при инактивации вируса западного энцефалита лошадей.

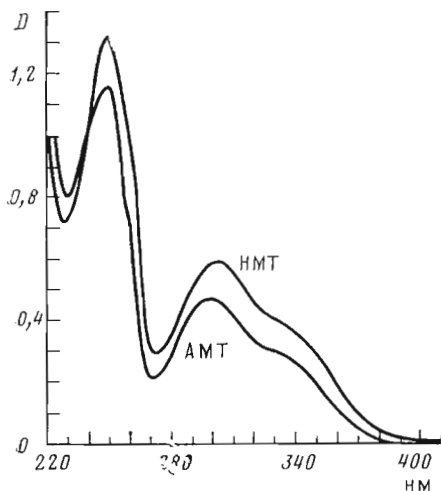


Рис. 1

Рис. 1. Спектры поглощения АМТ (46,6 мкМ) и НМТ (52,9 мкМ) в 10 мМ трис-буфере (рН 7,0), содержащем 1 мМ EDTA

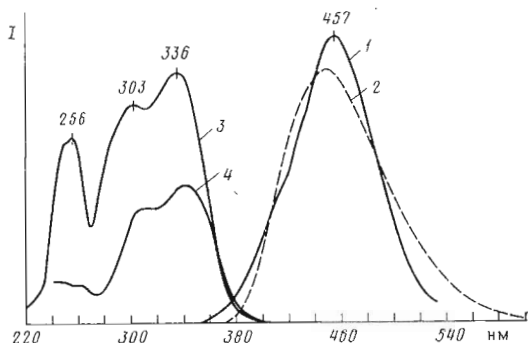


Рис. 2

Рис. 2. Спектры испускания ($\lambda_{\text{возб}}$ 330 нм) АМТ (27,8 мкМ), с коррекцией (1) и без коррекции (2), и скорректированные спектры возбуждения ($\lambda_{\text{исп}}$ 450 нм) АМТ (27,8 мкМ) (3) и смеси АМТ (25,9 мкМ) с poly(dA)·poly(dT) (0,15 мкМ) по фосфату (4) в буфере трис-EDTA

Исходя из теоретических предпосылок, можно предположить, что инактивированные псораленом вирусы представляют собой идеальную вакцину, поскольку антигенный белковый компонент вируса, по всей вероятности, совершенно не изменяется в процессе инактивации.

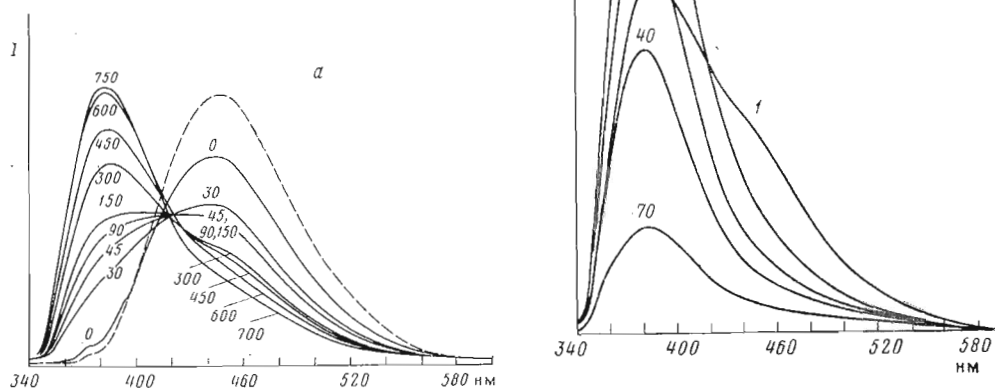
Здесь следует отметить, что в последнее время широкое распространение получила онкогенная теория. Если эта теория верна, то инактивированные вирусы могут содержать онкоген, способный отделиться от вирусного генома, внедриться в геном хозяина и вызвать онкотрансформацию. Однако при инактивации псораленом имеется возможность химической модификации каждой четвертой пары оснований. Это полностью исключает возможность репарации или рекомбинации вирусного генома.

Химиотерапия опухолей. Одним из методов химиотерапии опухолей с помощью псораленов является пероральное или парэнтеральное локальное введение лекарств с последующим локальным облучением плотной части опухоли через игольчатый световод. Такой подход по сути аналогичен фотохимиотерапии псориаза, только его возможности не ограничиваются наружным применением. Если такой метод зарекомендует себя на практике, то появится новая возможность осуществлять целенаправленное уничтожение трансформированных клеток без нанесения травмы, неизбежной при хирургическом вмешательстве или воздействии жесткой ионизирующей радиации.

Оптические свойства псораленов и продуктов их реакции с ДНК

Обычно активирующее излучение в фотохимии лежит в диапазоне 340–380 нм, довольно далеко от области поглощения чистых нуклеиновых кислот, расположенной ниже 300 нм. Спектр поглощения псораленов (рис. 1) очень похож на спектр поглощения соответствующих кумаринов, что позволяет предположить слабое сопряжение в фурановом кольце. Действительно, поглощение в бензофуране при длинах волн больше 320 нм незначительно. Исходя из этого можно заключить, что моноаддукт с пиримидином по фурановому кольцу будет иметь заметное поглощение в диапазоне 320–380 нм, в то время как моноаддукт по пирановому циклу такого поглощения иметь не должен. Из этого также следует, что предшественником при образовании поперечных сшивок является моноаддукт фуранового кольца и что только он будет флуоресцировать при возбужде-

Рис. 3. Спектры флуоресценции в процессе фотореакции АМТ с poly[d(A-T)]. Цифры у кривых означают время от начала реакции в секундах (а) и минутах (б); пунктирная линия — АМТ без poly[d(A-T)]



нии светом с длиной волны 365 нм [12–14]. Все эти выводы были подтверждены экспериментально в нашей лаборатории.

На рис. 2 показаны спектры возбуждения и испускания чистого АМТ, где спектр возбуждения был записан при длине волны флуоресценции 450 нм, а спектр испускания — при длине волны возбуждения 330 нм [15]. Пик флуоресценции при 457 нм практически не зависит от длины волны возбуждения в интервале 240–280 нм. В спектре возбуждения отчетливо различаются три полосы, соответствующие трем полосам поглощения (ср. рис. 1). Эти полосы обуславливают флуоресценцию с эффективностью, обратно пропорциональной эффективности поглощения, причем самая коротковолновая полоса дает наиболее слабую флуоресценцию.

В присутствии poly[d(A-T)] интенсивность флуоресценции АМТ падает на 23% (рис. 3). В условиях нашего эксперимента практически весь АМТ интеркалирует в poly[d(A-T)] еще до фотореакции, так как его константа связывания с ДНК очень велика. При облучении этой реакционной смеси светом с длиной волны 365 нм пик флуоресценции при 457 нм, как видно из рис. 3а, подавляется и возникает новый пик при 380 нм, соответствующий образованию фуранового моноаддукта. Дальнейшее облучение ведет к падению флуоресценции на 380 нм (рис. 3б), поскольку остается лишь нефлуоресцирующий продукт с поперечными шивками [15].

В аналогичных экспериментах с использованием двойной спирали гомополимеров poly(dA)·poly(dT) [15] также было продемонстрировано возникновение пика при 380 нм, т. е. образование фуранового моноаддукта, но падение этой флуоресценции происходило медленнее и сопровождалось образованием неидентифицированного до настоящего времени продукта фоторазрушения, который флуоресцирует при 460 нм.

Кинетика фотоиндуцированного присоединения к ДНК

Айзекс и др. [6] разработали рабочую модель присоединения псораленов к ДНК, включающую в себя три этапа: интеркаляцию псоралена (а), фотоприсоединение интеркалированного (б) и фоторазрушение свободного псоралена в растворе (с):



Таблица 1

Соединение	M _r	ε ₂₅₀ · 10 ⁻³ , л · моль ⁻¹ · см ⁻¹	Растворимость		K _{дис} , моль/л	[PS]/[S] в насыщенном растворе
			мг/л	моль/л		
Псорален	186		35	1,9 · 10 ⁻⁴	4,0 · 10 ⁻³	0,05
TMP (триоксален)	228	15	0,6	2,6 · 10 ⁻⁶	1,3 · 10 ⁻⁴	0,05
AMT	257	25	> 10 ⁴	3,4 · 10 ⁻²	6,6 · 10 ⁻⁶	5000
HMT	258	21	41	1,6 · 10 ⁻⁴	2,9 · 10 ⁻⁴	0,55
MMT	272	25	10	3,7 · 10 ⁻⁵	5,4 · 10 ⁻⁴	0,39
PMT	356	25	> 10 ⁴	2,8 · 10 ⁻²	2,6 · 10 ⁻⁵	1080
МОР (ксантотоксин)	216	21	38	1,8 · 10 ⁻⁴	1,3 · 10 ⁻³	0,14
HMX	246	18	46	1,8 · 10 ⁻⁴	5,0 · 10 ⁻³	0,04
MMX	260	17	55	2,1 · 10 ⁻⁴	1,0 · 10 ⁻²	0,02
PMX	344	23	> 10 ⁴	2,9 · 10 ⁻²	5,2 · 10 ⁻⁵	560

Таблица 2

Соединение	φ ₂ , %	φ ₃ , %	φ ₂ /φ ₃	PS *	A _S **	Λ _S /PS
Псорален	3	0,83	3,6	1,2	9	7,5
TMP	8,4	4,7	1,8	15	28	1,9
AMT	2,2	2,2	1	61	67	1,1
HMT	1,6	0,49	3,2	14	38	2,7
MMT	0,47	0,16	2,9	13	23	1,8
PMT	0,18	0,031	5,8	49	55	1,1
МОР	1,3	0,055	24	3,7	(42)	(11,4)
HMX	0,14	0,014	10	1	(4)	(4)
MMX	0,12	0,089	1,3	0,5	(2)	(4)
PMX	0,062	0,083	0,74	39	(67)	(1,7)

* PS — число молекул псоралена на 1000 пар оснований в условиях равновесного связывания.

** A_S — предельное число ковалентных связей на 1000 пар оснований.



где P — псорален; S — участок интеркаляции, PS — интеркалированный псорален; A — фотоаддукт; B — продукт фоторазрушения. Аддукт A может поглотить второй фотон и образовать поперечную шивку, но он по-прежнему считается аддуктом A, поскольку в эксперименте измеряется только количество [³H]псоралена, ковалентно связанного с ДНК.

Использованные нами производные псоралена характеризовались четырьмя параметрами, соответствующими вышеописанным процессам. Константа диссоциации, определяемая равновесием в реакции (a), дается следующим выражением:

$$K_{\text{дис}} \equiv \frac{[P][S]}{[PS]} = \frac{k_{-1}}{k_1}.$$

Обычно эта константа измеряется путем равновесного диализа с использованием радиоактивного псоралена. Константы диссоциации, молярные коэффициенты поглощения и растворимость некоторых псораленов приведены в табл. 1 [7]. Растворимость соединения в воде при комнатной температуре (табл. 1) позволяет рассчитать максимальную степень интеркаляции, предшествующую фотореакции и определяемую как [PS]/[S] для насыщенного раствора.

Параметр φ₂ представляет собой квантовый выход моноаддукта в предположении, что молярный коэффициент поглощения раствора псоралена, интеркалированного в ДНК, при длине волны 365 нм не отличается от молярного коэффициента поглощения свободного псоралена в растворе. Это предположение было экспериментально проверено для AMT.

Параметр φ₃ является квантовым выходом фоторазрушения псоралена, описываемого реакцией первого порядка по концентрации псоралена. Мы

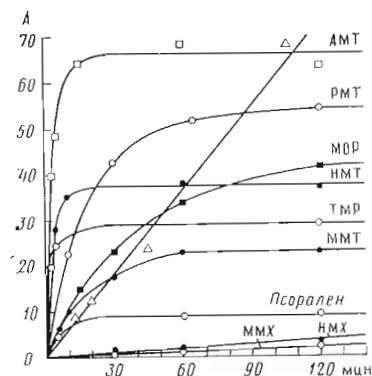
нашли, что в сильно разбавленных растворах несвязанный псорален подвергается фотодимеризации в незначительной степени.

Из табл. 2 [7] видно, что квантовый выход фотоприсоединения к ДНК составляет 0,06—8%, причем наибольшее значение характерно для триоксалена, а наименьшее — для пиримидиниевого производного ксантотоксина—

РМХ. Квантовый выход фоторазрушения в растворе колеблется от 0,08 до 4,7%. Обычно квантовый выход присоединения в 1—5 раз больше квантового выхода фоторазрушения. Только МОР и НМХ выпадают из этого правила — относительная (по отношению к присоединению) фотостабильность у них на порядок выше.

На рис. 4 показана кинетика фотоиндуцированного присоединения этих производных к ДНК, из которой следует качественное отличие поведения производных ксантотоксина (ММХ, НМХ и РМХ), поскольку время, необходимое для их присоединения к ДНК, на порядок больше, чем для остальных производных. Увеличение времени фотоприсоединения связано с тем, что все большие количества МОР втягиваются в ДНК. Этот процесс менее вероятен для других производных вследствие

Рис. 4. Кинетика фотоиндуцированного присоединения производных псоралена к тимусной ДНК. А — число ковалентных связей на 1000 пар оснований



их фоторазрушения. В настоящее время для полного выяснения связи между квантовыми выходами и структурой соединения требуются более широкие исследования.

Джонстон и др. [16—18] изучали образование поперечных сшивок в ДНК с АМТ, используя лазерный флеш-фотолиз. Из приведенных работ следуют три основных вывода. Во-первых, одиночный лазерный импульс длительностью 10 нс при умеренной плотности энергии приводит только к образованию моноаддуктов. Во-вторых, задержка между первым и вторым импульсами, необходимая для эффективного образования поперечных сшивок, составляет 1 мкс, что позволяет предположить необходимость конформационных изменений ДНК в процессе образования поперечных сшивок. И наконец, при более высокой плотности энергии небольшое количество поперечных сшивок образуется даже при одноимпульсном воздействии. Хотя механизм одноимпульсного образования поперечных сшивок еще не совсем ясен, можно предположить, что малая часть интеркалированных молекул находится в тех участках, где к моменту прихода импульса уже произошли конформационные изменения, так что за короткое время могут поглотиться два фотона, каждый из которых вызывает реакцию. Другой возможностью является интеркомбинационная конверсия, в результате которой небольшая часть возбужденных молекул дает триpletные бирадикалы, которые могут вступать в реакцию с обоих концов.

Применение фотохимии псораленов для решения фундаментальных структурных задач

Структура хроматина. Нуклеосомная структура хроматина придает специфичность фотохимической реакции псораленов с ДНК. Фотоиндуцированное присоединение псораленов в основном происходит в межнуклеосомных областях хроматина. Это было показано с помощью электронной микроскопии на денатурированной высокомолекулярной ДНК из ядер дрожжей после их фотореакции с триоксаленом [11], а также на коротких фрагментах ДНК, полученных расщеплением данной ДНК микрококковой нуклеазой [19—21]. В процессе нуклеазной обработки ядер дрожжей происходит освобождение меченого тритием триоксалена. Это подтверждает, что места фотоприсоединения триоксалена к хроматину и места дей-

ствия микрококковой нуклеазы находятся на ДНК *D. melanogaster* в непосредственной близости.

Вторичная структура одноцепочечной ДНК бактериофага fd. Введение фотохимических поперечных сшивок в ДНК в присутствии триоксалена было использовано Шепом и Херстом [22] для «замораживания» вторичной структуры одноцепочечных молекул ДНК бактериофага *fd* в среде с различной ионной силой. Такая вторичная структура под электронным микроскопом напоминает по форме прямую или петлеобразную шпильку. Большинство одноцепочечных кольцевых молекул ДНК *fd* содержит только одну шпильку после облучения при 15° С в 20 мМ NaCl в присутствии триоксалена. При увеличении ионной силы в ДНК под электронным микроскопом обнаруживаются дополнительные шпильки. Для картирования этих вторичных структур суперскрученную двуцепочечную ДНК бактериофага *fd* (RFI) превращали в линейную форму с помощью эндонуклеазы рестрикции *HindII*, которая вносит только один разрыв в каждую молекулу RFI. После денатурации и получения поперечных сшивок в линейной одноцепочечной ДНК бактериофага *fd* (смесь вирусной и комплементарной цепей) картировали положение шпилек на ДНК по отношению к сайтам узнавания *HindII*. Согласно полученным данным, шпильки располагаются в определенных местах. Наиболее стабильная шпилька соответствует участку инициации превращения однонитевой ДНК фага *fd* в RFI.

Исследование специфической ориентации ДНК в составе нитчатого бактериофага fd с помощью поперечных сшивок псораленом и электронной микроскопии. Шен и др. [5] стабилизировали молекулярную структуру одноцепочечной ДНК бактериофага *fd* внутри нитчатого вириона с помощью фотохимических поперечных сшивок псораленом в растворах с различной концентрацией NaCl. Известно, что короткие шпильки (100—300 пар оснований) могут быть стабилизированы в определенных условиях на денатурированной ДНК вируса SV40, так что их можно наблюдать под электронным микроскопом. Было зафиксировано расположение шести основных шпилек. Далее эти исследования были продолжены Шеном и Херстом [23], которым удалось ввести поперечные сшивки в линейные молекулы одноцепочечной ДНК SV40: *EcoRI-SV40* и *BglII-SV40* в присутствии ионов магния. После реакции кроме шпилек, наблюдавшихся ранее, было зафиксировано появление семи дополнительных шпилек и петлеобразных структур размером от 300 до 2000 нуклеотидных звеньев. Эти петли расположены в определенных местах генома SV40. По крайней мере три из них находятся в области, которая, как предполагается, участвует в сплайсинге ранних и поздних мРНК SV40. Эти петлеобразные структуры, вероятно всего, возникают при спаривании взаимодаленных участков одноцепочечной ДНК. РНК, транскрибируемая с матрицы — двухцепочечной ДНК, должна вести себя аналогичным образом; вероятно, это связано с наличием сайтов узнавания ферментов, обеспечивающих процессинг (сплайсинг) РНК.

Взаимодействие взаимодаленных областей 16S рибосомной РНК E. coli в растворе. Волленцайн и др. [3] ввели поперечные сшивки в 16S рибосомную РНК *E. coli* в водном растворе путем облучения в присутствии НМТ. При электронной микроскопии денатурированной РНК с поперечными сшивками отмечается разнообразие больших открытых петель. Кроме того, поскольку молекулы с поперечными сшивками имеют меньшие размеры, чем молекулы без сшивок, то вполне вероятно, что они содержат еще и мелкие шпильки, находящиеся за пределами разрешения данного метода. Были определены размеры, положение и ориентация петлеобразных структур 11 классов на молекуле. Частота появления петель различных классов зависит от условий образования поперечных сшивок. Когда поперечные сшивки создаются в растворе, содержащем ионы Mg^{2+} , частота появления петель по крайней мере четырех классов оказывается выше, нежели в 3,5 мМ NaCl. Полагают, что петли возникают вследствие образования поперечных сшивок между комплементарными последовательностями, разделенными большими расстояниями в цепи РНК. Такое комплементарное взаимодействие между удаленными друг от друга по первичной

структуре остатками характерно для вторичной структуры рибосомной РНК в растворе.

Исследование вторичной структуры 16S рибосомной РНК в составе 30S частицы рибосом E. coli с помощью поперечных шивок. Таммана и др. [1] исследовали структуру 16S рибосомной РНК в составе 30S субъединицы рибосом *E. coli*. Положение и количество поперечных шивок в РНК, индуцированных фотореакцией 30S субчастиц рибосом в присутствии НМТ, определяли с помощью электронной микроскопии. При использовании 30S субчастиц в неактивной конформации было обнаружено по крайней мере семь различных поперечных шивок между взаимоудаленными участками 16S рибосомной РНК. Все они наблюдаются также при обработке свободной 16S рибосомной РНК в растворе, содержащем НМТ. Наиболее часто встречающаяся поперечная шивка образуется между участком вблизи одного из концов молекулы РНК и участком, отстоящим от него на расстоянии около 600 нуклеотидов. При этом образуется петлеобразная структура из 570 оснований. Размер и ориентация этой структуры указывают на то, что она соответствует аналогичной структуре, образующейся при поперечной шивке в области 3'-конца свободной 16S рибосомной РНК.

При использовании активных 30S субчастиц в присутствии 5 мМ Mg^{2+} все еще наблюдается образование шести из семи шивок, образующихся в случае неактивных 30S субчастиц. Однако частота появления некоторых из них, в частности петли из 570 оснований, сильно уменьшается. Поэтому можно предположить, что взаимодействия дистальных участков, приводящие к образованию поперечных шивок, в активной конформации или полностью отсутствуют, или стерически невозможны. Поперечные шивки приводят также к некоторой потере функциональной активности 30S субчастиц. Это согласуется с предположением, что наличие поперечной шивки, вызывающей образование петли из 570 оснований, фиксирует 30S субчастицу в неактивной форме, которая не может ассоциировать с 50S субчастицами. Локализация взаимодействующих участков, которые НМТ связывает поперечными шивками, позволяет предположить, что РНК может быть организована в виде трех основных доменов. Удивительно то, что три из семи поперечных шивок включают участки вблизи 3'-конца 16S рибосомной РНК. Это обеспечивает сближенность больших участков рибосомной РНК. Таким образом, структурные изменения в области 3'-конца должны отражаться на структуре всей 30S субчастицы.

В заключение я хочу выразить благодарность своим коллегам по исследованию фотохимии псораленов в течение последних пяти лет: Ж. П. Башельери, С. Айексу, А. Рапопорту и Г. Визегану. Написание этого обзора стало возможным благодаря грантам GM 11180 и GM 25151 Службы здравоохранения США и гранту NP 185 Американского противоракового общества.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Thammana P., Cantor C. R., Wollenzien P. L., Hearst J. E.* J. Mol. Biol., 1979, v. 135, p. 271–283.
2. *Wollenzien P. L., Hearst J. E., Squires C., Squires C. J.* Mol. Biol., 1979, v. 135, p. 285–291.
3. *Wollenzien P. L., Hearst J. E., Thammana P., Cantor C. R.* J. Mol. Biol., 1979, v. 135, p. 255–269.
4. *Thompson J., Wegnez M., Hearst J. E.* J. Mol. Biol., 1981, v. 147, № 3, p. 417–436.
5. *Shen C.-K. J., Hearst J. E.* J. Mol. Biol., 1977, v. 112, p. 495–507.
6. *Isaacs S. T., Shen C.-K. J., Hearst J. E., Rapoport H.* Biochemistry, 1977, v. 16, p. 1058–1064.
7. *Isaacs S. T., Chun C., Hyde J. E., Rapoport H., Hearst J. E.* Trends in Photobiology. N. Y.: Plenum Press, 1981.
8. *Bender D. R., Hearst J. E., Rapoport H.* J. Org. Chem., 1979, v. 44, p. 2176–2180.
9. *Hearst J. E., Rapoport H., Isaacs S., Shen C.-K. J.* US Patents No 4, 124, 598 (1978); No 4, 169, 204 (1979); No 4, 196, 281 (1980).
10. *Hearst J. E., Thiry L.* Nucl. Acids Res., 1977, v. 4, p. 1339–1347.
11. *Hanson C. V., Riggs J. L., Lennete E. H.* J. Gen. Virol., 1978, v. 40, p. 345–358.
12. *Krauch C. H., Krämer D. M., Wacker A.* Photochem. and Photobiol., 1967, v. 6, p. 341–354.

13. *Musajo L., Bordin F., Bevilacqua R.* Photochem. and Photobiol., 1967, v. 6, p. 927-931.
14. *Musajo L., Bordin F., Caporale G., Marciani S., Rigatti G.* Photochem. and Photobiol., 1967, v. 6, p. 711-719.
15. *Johnston B. H.* Doctoral dissertation. University of California, Berkeley, USA, 1980.
16. *Johnston B. H., Hearst J. E.* Biochemistry, 1981, v. 20, № 4, p. 739-745.
17. *Johnston B. H., Johnston M. A., Moore C. B., Hearst J. E.* Science, 1977, v. 197, p. 906-908.
18. *Johnston B. H., Kung A., Moore C. B., Hearst J. E.* Biochemistry, 1981, v. 20, № 4, p. 735-738.
19. *Wiesehahn G., Hearst J. E.* In: Molecular mechanism in the control of gene expression. V. 5. N. Y.: Acad. Press. 1976, p. 27-32.
20. *Wiesehahn G., Hyde J. E., Hearst J. E.* Biochemistry, 1977, v. 16, p. 925-932.
21. *Hyde J. E., Hearst J. E.* Biochemistry, 1978, v. 17, p. 1251-1257.
22. *Shen C.-K. J., Hearst J. E.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1976, v. 73, p. 2649-2653.
23. *Shen C.-K. J., Hearst J. E.* Analyt. Biochem., 1979, v. 95, p. 108-116.

Перевод поступил в редакцию
5.I.1982

PSORALEN PHOTOCHEMISTRY AND NUCLEIC ACID STRUCTURE

HEARST J. E.

*Department of Chemistry, University of California Berkeley,
California 94720*

Many new psoralen derivatives have been synthesized in an effort to enhance their water solubility and their binding to nucleic acids. Availability of the very soluble strongly binding compounds has improved our abilities to follow the optical changes associated with the photochemistry of psoralens with DNA. Changes in both absorbance and fluorescence are presented in this review. A kinetic model for the photochemistry concludes that the detailed kinetic is dominated by the equilibrium constant for intercalation of the psoralen in the DNA, the quantum yield for photoaddition to DNA once intercalated and the quantum yield for photodestruction of the drug in water. With these three parameters the kinetics of photochemistry is predictable. The values of these parameters for numerous derivatives of 8-methoxypsoralen and 4,5,8-trimethylpsoralen are presented. Application of this photochemistry to a study of nucleic acid secondary structure in chromatin, *fd* bacteriophage, and in ribosomes is reviewed.