

УДК 577.3

МОЛЕКУЛЯРНА БІОФІЗИКА

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗБУЖДЕНИЯ И ИОНИЗАЦИИ ОСНОВАНИЙ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ ЭЛЕКТРОННЫМ УДАРОМ

М.И.Суховия, И.И.Шафраньш, Л.Л.Шимон

Ужгородский государственный университет

294000 Ужгород, ул. Подгорная, 46

Поступила в редакцию 30 ноября 1998 г.

Изучены неупругие взаимодействия пучка электронов, энергия которых регулировалась в пределах от 0 до 300 эВ, с основаниями нуклеиновых кислот в газовой фазе. В спектральной области 200 - 600 нм получены спектры излучения тимина, аденина, цитозина и продуктов их диссоциативного возбуждения. Исследованы зависимости эффективных сечений возбуждения спектральных полос в максимуме от энергии электронов (функции возбуждения). Измерены также функции ионизации оснований. Полученные экспериментальные данные используются для моделирования условий внутриклеточного бета-облучения генетических структур.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: основания нуклеиновых кислот, медленные электроны, возбуждение, ионизация, диссоциация.

Изучение механизмов взаимодействия низкоэнергетических электронов с молекулами является важным не только для физики, но и для биофизики и радиобиологии, особенно, если иметь в виду такие объекты, как нуклеиновые кислоты и их компоненты. Процессы возбуждения, ионизации и диссоциации биомолекул под влиянием вторичных электронов лежат в основе радиационной деградации клеточных структур. Формирование триплетных метастабильных состояний молекул и проблема абиогенного синтеза нуклеотидов также связаны с такими неупругими взаимодействиями [1]. Однако процессы возбуждения и ионизации биомолекул электронным ударом практически мало изучены вследствие экспериментальных трудностей. Исследования взаимодействия медленных (0-100 эВ) электронов с молекулами цитозина и аденина выполнены нами ранее [2,3]. В данном сообщении приводятся результаты для молекул тимина. Экспериментальные данные, полученные для различных оснований, используются для физического моделирования условий внутриклеточного бета-облучения генетических структур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовались препараты азотистых оснований нуклеиновых кислот фирм "Calbiochem" и "Reanal".

Исследования проводились на специально сконструированной экспериментальной установке, основными блоками которой являются источники молекулярного и электронного пучков, камера столкновений, вакуумная система, системы детектирования ионов и фотонов. Методика и техника экспериментов описаны в наших предыдущих публикациях [2,3]. Источником электронного пучка служила пятиэлектродная электронная пушка с оксидным катодом. Энергия электронного пучка регулировалась в пределах от 0 до 300 эВ. Плотность тока пучка 4 мА/см² при энергетической неоднородности 0,7 эВ. Эксперименты проводились при вакууме в камере столкновений 10⁻⁷ Тор.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов были получены спектры излучения тимина и продуктов его диссоциативного возбуждения в области 200-600 нм для различных энергий электронного пучка. Также изучены зависимости эффективных сечений возбуждения десяти спектральных полос в максимуме от энергии электронов - "функции возбуждения". Спектральные характеристики тимина и его фрагментов, а именно - длины волн λ_{max} , соответствующие максимумам спектральных полос, и относительные интенсивности полос I для энергии электронов 100 эВ, приведены в таблице 1. Там же указаны аналогичные данные для изученных нами ранее оснований цитозина и аденина.

Таблица 1. Характеристики спектров излучения молекул нуклеотидных оснований, возбуждаемых электронами энергией 100 эВ

| ТИМИН | | ЦИТОЗИН | | АДЕНИН | |
|-----------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|-----------------------------|-------------|
| λ_{max} , нм | I, отн. ед. | λ_{max} , нм | I, отн. ед. | λ_{max} , нм | I, отн. ед. |
| 286,5 | 1,00 | 290,6 | 1,00 | 308,1 | 1,00 |
| 333,2 | 0,52 | 316,8 | 0,38 | 327,0 | 0,74 |
| 369,6 | 0,88 | 328,3 | 0,69 | 338,2 | 0,28 |
| 408,1 | 0,59 | 340,5 | 0,67 | 354,5 | 0,52 |
| 432,0 | 0,48 | 356,7 | 0,42 | 388,0 | 0,43 |
| 482,2 | 0,72 | 381,2 | 0,85 | 435,3 | 0,24 |
| 525,0 | 0,40 | 429,3 | 0,35 | | |

Сопоставление оптических и масс-спектров пиримидиновых оснований [2], а также анализ пороговых значений энергии и формы соответствующих функций возбуждения дают возможность определить природу молекулярных фрагментов. Наиболее вероятно образование следующих фрагментов: $C_4H_4N_2$, C_4N_2 , C_2N_2 , H_2CN_2 , HC_3N , NCO , $HNCN$, NCN , CNC , OH . Как правило, в наших экспериментах функции возбуждения спектральных полос характеризуются подъемом вблизи пороговых значений энергии и имеют один или два максимума. В частности, функция возбуждения тимина для полосы с максимумом 487 нм имеет порог около 4 эВ и достигает экстремальных значений при 16 и 87 эВ. Не исключено, что ее поведение отражает суперпозицию нескольких процессов, в том числе и возбуждение оптически запрещенных интеркомбинационных переходов. Функция ионизации молекул тимина имеет максимум при 60 эВ. Пороговое значение этой функции 9,5 эВ соответствует первому потенциалу ионизации молекулы.

Анализ физической стадии взаимодействия медленных электронов с биомолекулами позволяет оценить вклад первичных физических процессов в радиационную деградацию живой клетки. Таким образом можно построить физическую модель, характеризующую последствия бета-облучения нуклеиновых кислот. При этом медленные электроны могут быть вторичными как при внешнем облучении различными видами радиации, так и при внутриклеточном воздействии.

В общем случае, взаимодействие электронов с мишенью количественно описывается следующим соотношением [4]:

$$\Delta Z = N_m \cdot P_e \cdot Q_p \cdot L,$$

где ΔZ - количество актов взаимодействия, вызывающих реакцию, N_m - концентрация мишеней, P_e - поток электронов, Q_p - эффективное сечение реакции, L - путь электронов в среде мишени (ширина молекулярного пучка).

Для наших экспериментальных условий: $P_e = 2 \cdot 10^{16} \text{ c}^{-1}$; $N_e = 5 \cdot 10^{10} \text{ cm}^{-3}$; $Q_p = 1,5 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2$; $L = 7 \cdot 10^{-1} \text{ cm}$; $\Delta Z = 7 \cdot 10^9 \text{ c}^{-1}$. Отметим, что из сравнения P_e и ΔZ следует, что только одна из 10^5 частиц вступит во взаимодействие с мишенью.

Для расчета дозы, образованной в ядре живой клетки потоком электронов, можно использовать следующий подход. Допустим, что клетка имеет форму шара, в центре которого находится ядро также сферической формы. Источники потоков медленных электронов в клетке (β - потоков) представим точечными излучателями: $Q_1, Q_2, \dots, Q_i, \dots, Q_n$.

Доза D_{oi} в точке Q_i [5]:

$$D_{oi} = N \int_V D_p dV,$$

где N - относительное количество частиц, провзаимодействующих с молекулами клетки; D_p - доза, создаваемая одним излучателем; V - объем клетки.

Средняя доза, поглощенная всей клеткой:

$$D = 1/V \int_0^a D_{oi} 4\pi b^2 db,$$

где a - радиус клетки, b - расстояние от точечного источника до ядра клетки.

Таким путем можно оценить общее количество поглощенной энергии на клетку, ядро, молекулу, то есть поглощенную дозу, не раскрывая, на какие конкретно физические, физико-химические процессы используется данная энергия. Наша модель позволяет более корректно решить этот вопрос, поскольку она дает возможность экспериментально измерить вероятности различных физических процессов. В

частности, полученные нами результаты свидетельствуют о том, что абсолютные сечения ионизации и возбуждения тимина электронным ударом составляют соответственно $1,5 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ (при энергии электронов 60 эВ) и $3 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ (при энергии электронов 20 эВ). При низких энергиях вероятности возбуждения триплетных и синглетных состояний близки. Кроме того, необходимо учитывать одновременное прохождение нескольких процессов. Например, диссоциативное возбуждение и диссоциативную ионизацию, возбуждение образовавшихся ионов и фрагментов. Результаты спектральных и масс-спектрометрических исследований взаимодействия оснований с медленными электронами свидетельствуют о достаточно высоких вероятностях этих процессов. Измерение их абсолютных сечений чрезвычайно трудная задача, однако одним из реальных экспериментальных подходов ее решения может быть прецизионный учет припороговых эффектов, например, при измерениях функций возбуждения и ионизации.

ВЫВОДЫ

При взаимодействии медленных электронов с нуклеотидными основаниями в газовой фазе эффективно проходят процессы возбуждения и ионизации молекул как целого, а также диссоциативное возбуждение и диссоциативная ионизация оснований. При моделировании условий внутриклеточных радиационных эффектов, вызванных вторичными (медленными) электронами, необходимо оценивать не только общую поглощенную энергию (дозу), а и вероятности протекания каждого из этих физических процессов,

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fielden E.M., Lillicrap S.C. // *Curr. Top. Radiat. Res.* 1974. V.7. P. 138-180.
2. Суховия М.И., Славик В.Н., Шафраньош И.И., Шимон Л.Л. // *Биополимеры и клетка.* 1991. Т.7, №6. С.77-82.
3. Суховия М.И., Вошечинец Е.И., Шафраньош И.И., Шимон Л.Л. // *Биополимеры и клетка.* 1996. Т.12, №3. С.97-100.
4. Месси Г., Бархоп Е. *Электронные и ионные столкновения.* М. Наука, 1959. 604 с.
5. Robertson J.S., Bond V.P. // *Internat. J. Appl. Radiat. Isotop.* 1959. V.7, №1. P.35-37.