

ІОНІЗАЦІЯ МОЛЕКУЛ УРАЦИЛУ ЕЛЕКТРОННИМ УДАРОМ

М.І.Суховія, В.В.Медулич, І.І.Шафраньош

Ужгородський національний університет, 294000, Ужгород, вул.Волошина, 54

В умовах електронного та молекулярного пучків, що перетинаються, досліджено іонізацію азотистої основи РНК - урацилу. Встановлено, що абсолютна величина повного перерізу утворення позитивних іонів урацилу та його фрагментів становить $1 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$ і максимальних значень досягає при енергії електронів 88 еВ. Визначені величини парціальних перерізів продуктів дисоціативної іонізації молекул урацилу. Проаналізовані можливі біофізичні наслідки фізичних процесів в нуклеотидних основах.

ВСТУП

Вивчення впливу випромінювання на біоструктури розпочалось в Ужгородському університеті ще на кафедрі біофізики, яка була в складі фізичного факультету. На цьому етапі в експериментах використовувалась високоенергетична радіація: гама- і рентгенівська [1]. Відомо [2,3], що такі взаємодії супроводжуються виникненням значної кількості вторинних електронів, більшість з яких є низькоенергетичними (повільними) з енергіями від долей до десятків еВ.

Взагалі, актуальність вивчення процесів непружного розсіяння повільних електронів біомолекулами зумовлена кількома факторами. В першу чергу, це, звичайно, важливість проблеми внутріклітинного опромінення. В таких умовах головною мішенню стають генетичні макромолекули ДНК і РНК. Ці процеси мають не лише фундаментальне, але і суто практичне значення, наприклад, при радіотерапії. По-друге, можливість отримання інформації про пряме збудження триплетних довгоживучих станів біомолекул. Саме такі метастабільні стани відіграють виняткову роль у первинних (фізичних) стадіях біологічних процесів [4].

Слід відмітити, що вже з 60-х років на фізичному факультеті УжДУ в Проблемній лабораторії фізики електронних зіткнень, зокрема, і під керівництвом

І.С.Алексахіна, розвинулись оригінальні дослідження електрон-атомних взаємодій.

У наших перших експериментах [5-7], проведених з гетероциклічними компонентами нуклеїнових кислот, було показано, що при електронному ударі мають місце різні фізичні процеси: збудження, іонізація, дисоціативне збудження та дисоціативна іонізація молекул. Ці роботи є пріоритетними і зрозуміло, що під час досліджень довелося вирішувати низку методичних питань. Серед них – отримання нуклеотидних основ у газовому стані, формування молекулярних пучків, підбір оптимальних експериментальних умов тощо.

Фізичне моделювання каскаду фізико-хімічних перетворень в умовах живих клітин та оцінка радіобіологічних наслідків вимагають знання кількісних характеристик процесів, насамперед, перерізів іонізації біомолекул. Тому завданням даної роботи є експериментальне вивчення особливостей іонізації молекул урацилу, який є важливою компонентою РНК.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА УСТАНОВКА ТА МЕТОДИКА ДОСЛІДЖЕНЬ

Основою експерименту є методика пучків електронів та молекул, що перетинаються, яка була успішно застосована нами раніше в дослідженнях інших біомолекул [8,9].

Пучок молекул урацилу $C_4H_4N_2O_2$ (фірма Sigma-Aldrich, чистота 99%) отримався за допомогою термічного ефузійного джерела багатоканального типу та системи колімуючих щілин.

Джерелом електронів служила п'ятиелектродна гармата із катодом, виготовленим із торованого вольфраму. Виміри проводилися при силі струму пучка електронів $1 \cdot 10^{-7} A - 1 \cdot 10^{-6} A$ і енергетичній неоднорідності електронів на піввисоті їх енергетичного розподілу $\Delta E_{1/2} \sim 0,3$ еВ.

Для повного збору іонів, що утворилися в області перетину електронного та молекулярного пучків, на шляху молекулярного пучка встановлюється прохідний колектор, всередині якого міститься осьовий електрод (зонд). Повнота збору іонів забезпечується потенціалом зонду 25 В, полярність якого визначається знаком заряду іонів, що реєструвалися. Магнітне поле унеможливило попадання на зонд електронів, розсіяних на молекулах цитозину та поверхнях електродів.

Система реєстрації та керування процесом вимірів складалася із таких пристроїв: електрометричного підсилювача іонного струму, перетворювача "струм – частота" пучка електронів, блоків ступінчатої розгортки прискорюючого потенціалу електронного пучка (ЦАП, УН), персонального комп'ютера (ІМ-РС-АТ) з інтерфейсною картою паралельного вводу/виводу, друкуючого пристрою. Система працювала в режимі вимірювання струмів іонів та електронів при фіксованій енергії електронного пучка (при визначенні абсолютної величини перерізу іонізації), або в режимі вимірювань відношень струму іонів до струму електронів при ступінчатому скануванні енергії пучка електронів (при визначенні енергетичної залежності перерізу іонізації). Експерименти проводилися при вакуумі $\sim 10^{-5}$ Па.

Відносні похибки експериментальних вимірів становили: 9% - для енергетичних залежностей перерізів іонізації;

21% - для абсолютних величин перерізів іонізації.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В проведених експериментах були вперше отримані дані про абсолютні значення ефективних перерізів утворення позитивних іонів молекул урацилу в області енергій електронів від порогу до 200 еВ. Урацил є гетероциклічною молекулою, похідною піримідину, в якій в другому і четвертому положенні (С2 і С4) в кето-формі знаходяться карбо-кисильні групи.

У даній роботі переріз утворення позитивних іонів має зміст повного перерізу, тобто включає в себе перерізи утворення іонів як цілої молекули урацилу, так і її фрагментів (так звані парціальні перерізи). Експериментально встановлено, що при енергії 88 еВ повний переріз іонізації урацилу максимальний і рівний $1 \cdot 10^{-15} \text{ см}^2$.

Абсолютні значення ефективних перерізів іонізації (**Q**) молекул урацилу та їх фрагментів при енергії електронів 88 еВ зведені в таблиці 1. Аналіз таблиці свідчить про те, що з найбільшою імовірністю реалізується процес утворення позитивного іону цілої молекули урацилу $C_4H_4N_2O_2$ ($M=112$). Достатньо великий переріз мають іони фрагментів C_3H_3NO . Вони можуть виникнути двома каналами: внаслідок розривів зв'язків N1-C2, N3-C4, а також C2-N3 і C6-N1.

До речі, геометрична площа піримідинового кільця урацилу, розрахована з використанням даних [10] про параметри молекули, є за величиною того ж порядку, як і визначений нами повний переріз фізичного процесу. Переріз іонізації молекул води H_2O , на долю яких припадає $\sim 70\%$ маси живих клітин, на порядок менший і становить $1,5 \cdot 10^{-16} \text{ см}^2$, згідно [11].

Визначення перерізів іонізації урацилу та інших нуклеотидних основ (див., наприклад [9]) дозволяє провести оцінку

Таблиця 1.

Іон	Маса	Q, 10^{-16} (cm^2)
$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}_2$	112	2,69
$\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$	96	0,14
$\text{C}_3\text{H}_3\text{N}_2\text{O}$	83	0,34
$\text{C}_3\text{H}_4\text{NO}$	70	0,28
$\text{C}_3\text{H}_3\text{NO}$	69	1,14
$\text{C}_3\text{H}_2\text{NO};$ $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}$	68	0,59
$\text{C}_2\text{H}_2\text{NO};$ $\text{C}_3\text{H}_4\text{O}$	56	0,18
$\text{CNO};$ $\text{C}_2\text{H}_2\text{O};$ CH_2N_2	42	0,99
$\text{CHN}_2;$ $\text{C}_2\text{H}_3\text{N}$	41	0,34
$\text{C}_2\text{H}_2\text{N};$ CN_2	40	0,30
CO	28	0,53
H_2O	18	0,20

ймовірностей процесів, які протікатимуть під впливом вторинних низькоенергетичних електронів на рівні біомакромолекул і клітин.

Так, при іонізації компонентів нуклеїнових кислот насамперед слід очікувати порушення стабільності системи водневих зв'язків між комплементарними парами основ в ДНК, зміни у вторинній та вищих структурах нуклеїнових кислот і, відповідно, в процесах реплікації та транскрипції. Не виключений вплив на енергетику клітини, на протонні транспортні системи. Збільшення кількості іонізованих молекул та їх фрагментів може спровокувати підвищену чутливість до зовнішніх електромагнітних полів. Отже, іонізація основ, а особливо дисоціативна іонізація, можуть, в кінцевому рахунку, зумовити структурні та функціональні зміни у клітині.

Фрагментація піримідинових та пуринових кілець молекул нуклеотидних основ може спричинити появу мутацій типу делецій (випадання основи); трансверсій (заміна пуринових основ на піримідинові);

транзицій (заміна цитозину (Ц) на тимін (Т), цитозину на урацил (У), тиміну на урацил, аденіну (А) на гуанін (Г)); заміщення кодонів, наприклад: ЦАА на ТУУ. В результаті таких змін синтезуватимуться “неправильні” амінокислоти, наприклад, замість амінокислоти валіну буде треонін. Ймовірна також дискримінація амінокислот фенілаланіну, лейцину, цистеїну. Це все приводитиме до синтезу атипових білків, наслідком чого можуть бути генетичні та соматичні зміни організму.

ВИСНОВКИ

За допомогою розробленої авторами методики у прямому експерименті вперше визначений абсолютний переріз утворення позитивних іонів молекул урацилу в області енергій електронів 0-200 еВ. Встановлено, що його величина становить $1 \cdot 10^{-15} \text{cm}^2$ і максимальних значень досягає при енергії електронів 88 еВ. Проаналізовані можливі біофізичні наслідки процесів іонізації та фрагментації нуклеотидних основ, викликаних електронним ударом.

ЛІТЕРАТУРА

1. М.И.Суховия, А.В.Ковальчук, Э.Н.Трифонов. Доклады АН СССР, **225**, 1202 (1975).
2. А.Чердзби. Ядерные излучения и полимеры.-Наука.-М.,1962.
3. С.Sonntag. The chemical basis for radiation biology. Taylor&Francis Pres. London, 1987.
4. А.Б.Рубин. Биофизика, т.1. ВШ. М., 1987.
5. М.И.Суховия, И.И.Шафраньош, В кн.: Механизмы радиационного поражения и восстановления нуклеиновых кислот. Пушино-на-Оке. 51 (1980).
6. М.И.Суховия, В.Н.Славик, И.И.Шафраньош, Л.Л.Шимон, Биополимеры и клетка. **7**, 77 (1991).
7. М.І.Суховія, М.І.Шафраньош, І.І.Шафраньош, In: Spectroscopy of

- Biological Molecules: New Directions.- Kluwer Acad. Publ.- Dordrecht/Boston/London, 281 (1999).
8. И.И.Шафраньош, М.И.Суховия, М.И.Шафраньош, Л.Л.Шимон. Письма в ЖТФ, **31**, 74 (2005).
9. I.I.Shafranyosh, M.I.Sukhoviya, M.I.Shafranyosh. J.Phys.B:At.Mol. Opt.Phys., **39**, 4155 (2006).
10. P.Hobza, J.Sponer. Chem. Rev. **99**, 3247 (1999).
11. G.Vikor, M.V.Kurepa, Fizika. **8**, 134 (1991).

IONIZATION OF THE URACIL MOLECULES BY ELECTRON IMPACT

M.I.Sukhoviya, V.V.Medulich, I.I.Shafranyosh

Uzhgorod National University, 88000, Uzhgorod, Voloshin st. 54

The ionization of the nucleic acid base uracil were studied using the modern technique of normally crossed molecular and electron beams. The absolute cross section for positive uracil ions formation had maximum at 88 eV of the electron energy and was $1 \cdot 10^{-15} \text{cm}^2$. The partial cross sections of the uracil dissociative ionization products were determined too. Biophysical consequences of the obtained results are discussing.