

02;12

## Процессы образования положительных и отрицательных ионов молекул тимина, инициируемые медленными электронами

© И.И. Шафраньош, М.И. Суховия, М.И. Шафраньош, Л.Л. Шимон

Ужгородский национальный университет,  
88000 Ужгород, Украина  
e-mail: shafivan@rambler.ru

(Поступило в Редакцию 23 октября 2007 г.)

Методом пересекающихся электронного и молекулярного пучков исследованы процессы образования положительных и отрицательных молекул оснований нуклеиновых кислот тимина под действием медленных электронов. Разработанная авторами методика позволила измерить интенсивность молекулярного пучка и определить энергетические зависимости и абсолютные величины полных сечений образования положительных и отрицательных ионов молекул тимина. Установлено, что максимальных значений сечение образования положительных ионов достигает при энергии 95 eV, а его абсолютная величина составляет соответственно  $1.4 \cdot 10^{-15} \text{ cm}^2$ . Полное сечение образования отрицательных ионов составляет  $8.2 \cdot 10^{-18} \text{ cm}^2$  при энергии 1.1 eV. Измерены масс-спектры молекул тимина и определены сечения диссоциативной ионизации.

PACS: 34.80.Gs, 34.80.Ht

### Введение

В последнее время лавинообразно растет число публикаций по ионизации электронным ударом биологически значимых молекул. Причиной этого феномена является осознание исследователями чрезвычайной важности проблемы и серьезных последствий внутриклеточного облучения молекул вторичными электронами. Последние в большом количестве образуются в веществе при прохождении через него потоков ионизирующего излучения. В большей своей части вторичные электроны являются низкоэнергетичными (медленными) с энергиями от долей до десятков электронвольт [1]. Именно с медленными электронами связывают, по сегодняшним представлениям, основной массив деструктивных изменений на молекулярном уровне биоструктур, где главными мишенями становятся генетические макромолекулы ДНК и РНК. Физическое моделирование этих изменений и оценка их радиобиологических последствий требуют знания таких основных характеристик процессов электрон-молекулярных взаимодействий, как абсолютные величины сечений образования положительных и отрицательных ионов.

Ранее [2,3] нами были определены сечения образования отрицательных и положительных ионов цитозина электронным ударом. В настоящей работе приведены новые данные о сечениях ионизации молекулы тимина. Тимин наряду с цитозином, аденином, урацилом и гуанином является нуклеотидным основанием, важным составляющим генетических макромолекул ДНК и РНК. Заметим, что в известной нам литературе [4–8] приводятся весьма противоречивые данные об абсолютных значениях сечений образования отрицательных ионов тимина, поэтому постановка новых исследований прецизионной методикой является необходимой.

### Экспериментальная часть

В основе эксперимента лежит метод пересекающихся пучков молекул и электронов, который успешно был применен нами ранее [2,3]. В этом методе наиболее сложным является получение газовой фазы молекул и измерение их концентрации. В данной работе пучок исследуемых молекул формируется с помощью эффузионного термического источника многоканального типа и системы коллимирующих щелей. Необходимая температура (405 K) источника, при которой не наблюдаются структурные изменения тимина, была найдена опытным путем. Составляющими эффузионного источника являются: медный контейнер с исследуемым веществом, резистивный нагреватель контейнера, калиброванный термопарный датчик температуры контейнера, тепловые экраны. Контейнер выполнен в виде полого цилиндра, на одном торце которого монтировался элемент, содержащий эффузионные каналы (100 каналов на площади  $1.5 \times 1.5 \text{ mm}^2$ ), а на противоположном — герметическая крышка. На ее внутренней поверхности размещался исследуемый препарат и датчик температуры. Конструкция нагревателя обеспечивала температуру элемента на  $10^\circ\text{C}$  выше температуры крышки. Это предотвращало закупоривание микроканалов во время экспериментов. Исследуемый препарат — тимин ( $\text{C}_5\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_2$ ) является продуктом фирмы Sigma-Aldrich, чистота 99%.

Молекулярный пучок проходил через область взаимодействия с электронным пучком и в конце своего пути осаждался на дне коллектора, образуя со временем заметный след — конденсат. Коллектор был выполнен в виде медной камеры цилиндрической формы с входной щелью и имел температуру жидкого азота. Измерение массы конденсата и времени его образования позволяло определить интенсивность молекулярного пучка и соответственно его концентрацию ( $n$ ). Геометрические

размеры конденсата вместе с его расстоянием от эффузионного источника использовались для определения параметров пучка — сечения области столкновений и угловой апертуры. Детальное изложение методики определения концентрации молекул в пучке приведено в работах [2,3].

Относительная погрешность в определении концентрации молекул в пучке не превышает 17%. Эксперименты проводились при  $n \sim 8 \cdot 10^{10} \text{ см}^{-3}$  и вакууме  $\sim 1 \cdot 10^{-5}$  Па. При этом вклад от процесса ионизации остаточных газов в камере не превышал 2%.

Генератором пучка электронов служила пятиэлектродная пушка с вольфрамовым катодом. Первый электрод пушки находился под небольшим отрицательным потенциалом [9], который задерживал низкоэнергетическую часть потока электронов из катода. Электроны пучка, пройдя область столкновений, улавливались цилиндром Фарадея, который находился под отрицательным потенциалом. Измерения проводились при силе тока пучка электронов  $1 \cdot 10^{-7} - 1 \cdot 10^{-8}$  А и энергетической неоднородности электронов на полувысоте их энергетического распределения  $\Delta E_{1/2} \sim 0.3$  eV. Электронная пушка размещалась в продольном магнитном поле с индукцией  $B = 1.2 \cdot 10^{-2}$  Т. Заметим, что в присутствии продольного магнитного поля электроны пучка будут двигаться по трохоидальным траекториям, длина которых, в общем случае, больше линейного размера области сечения электронного и молекулярного пучков. Расчеты показывают, что вследствие этого эффекта в условиях нашего эксперимента (индукция магнитного поля  $1.2 \cdot 10^{-2}$  Т, диаметр диафрагм электронной пушки 1 мм) максимальная длина пути отдельных электронов при их энергии 100 eV увеличивается в 1.01 раза, а при энергии 5 eV — в 1.25 раза.

Начало (нуль) энергетической шкалы электронов определялось по энергетическому положению резонансного типа образования ионов  $\text{SF}_6^-$  [10]. По ширине резонанса на его полувысоте определялась величина  $\Delta E_{1/2}$ . С этой целью камера столкновений наполнялась газом  $\text{SF}_6$  до давления  $1.3 \cdot 10^{-3}$  Па.

Для полного сбора ионов, образовавшихся в области пересечения электронного и молекулярного пучков, на пути молекулярного пучка размещался проходной коллектор, внутри которого находился осевой электрод (зонд). Полнота сбора ионов обеспечивалась потенциалом зонда, равным 25 В, полярность которого определялась знаком заряда ионов, подлежащих регистрации. Магнитное поле препятствовало попаданию на зонд электронов, рассеянных на исследуемых молекулах и электродах электронной пушки.

Система регистрации и управления процессом измерений работала в двух режимах:

- 1) измерение токов ионов и электронов при определении абсолютных величин сечений ионизации (при фиксированной энергии электронов);
- 2) измерение отношений тока ионов к току электронов при ступенчатом сканировании энергии пучка элект-

тронов (при определении энергетической зависимости сечений ионизации).

Абсолютные значения полных сечений образования положительных и отрицательных ионов молекул определялись из выражения:

$$\sigma = i/i_e n l, \quad (1)$$

где  $\sigma$  — полное сечение образования ионов,  $i$  — сила тока ионов соответствующего знака,  $i_e$  — сила тока электронного пучка;  $n$  — концентрация молекул в области пересечения пучков,  $l$  — путь электронов в молекулярном пучке. В случае положительных ионов абсолютное сечение определялось при энергии 100 eV, а для отрицательных — при энергии 4.5 eV.

Измерение масс-спектра молекул тимина проводилось при энергии 95 eV по методике, изложенной ранее [11].

Приведенные в работе данные по сечениям образования положительных и отрицательных ионов получены путем усреднения результатов пяти измерений. Относительные погрешности измерений составляют: 9% — для энергетических зависимостей сечений ионизации; 21% — для абсолютных величин сечений ионизации.

## Результаты и их обсуждение

В данных экспериментах были изучены процессы образования положительных и отрицательных ионов азотистого основания нуклеиновых кислот — тимина — под действием медленных электронов.

### Положительные ионы тимина

Энергетическая зависимость сечения образования положительных ионов тимина приведена на рис. 1, где по оси абсцисс отложена энергия налетающих электронов в единицах электронвольт, а по оси ординат — сечение ионизации в единицах  $\text{см}^2$ .

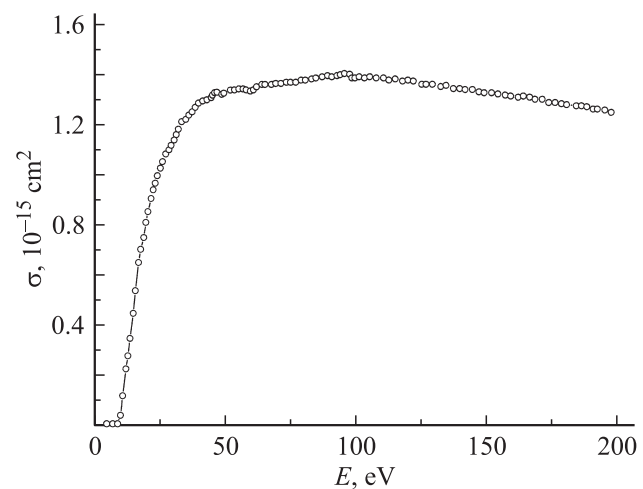


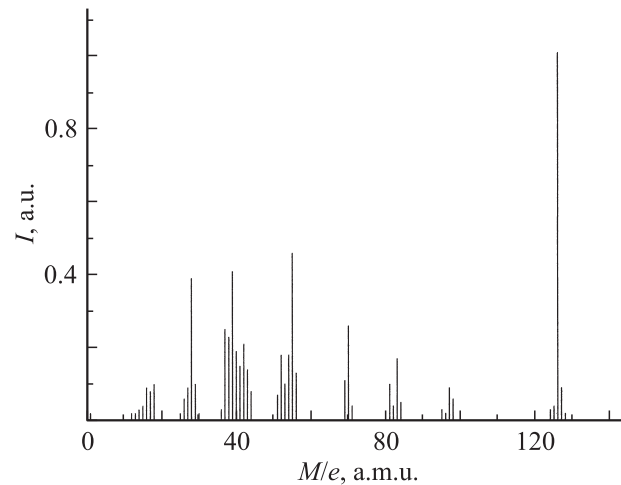
Рис. 1.

Как видно из рис. 1, функция ионизации молекул имеет форму пологой кривой с максимумом при энергии 95 eV. Экспериментально определенный порог ионизации тимина равен  $9.2 \pm 0.2$  eV, что удовлетворительно согласуется с данными, полученными другими методами [12,13]. На кривой ионизации заметна структура, которую можно отнести на счет процессов диссоциативной ионизации. Максимальная величина полного

**Таблица 1.** Абсолютные величины сечений образования положительных ионов молекул тимина и их фрагментов при энергии электронов 95 eV

$M/e$ , a.m.u.	Ионы	$\sigma$ , $10^{-16}$ cm <sup>2</sup>
1	H	0.025
12	C	0.025
13	CH	0.025
14	N	0.05
15	CH <sub>3</sub> ; NH	0.075
16	O	0.2
17	OH	0.17
18	H <sub>2</sub> O	0.23
25	C <sub>2</sub> H	0.025
26	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	0.13
27	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub>	0.2
28	CO; CH <sub>2</sub> N	1.0
29	COH	0.23
30	CH <sub>2</sub> O	0.025
36	C <sub>3</sub>	0.05
37	C <sub>3</sub> H	0.6
38	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> ; C <sub>2</sub> N	0.55
39	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> ; C <sub>2</sub> NH	1.0
40	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> ; C <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	0.45
41	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N; CHN <sub>2</sub>	0.35
42	CNO; CN <sub>2</sub> H <sub>2</sub>	0.5
43	CHNO	0.33
44	CH <sub>2</sub> NO	0.18
51	C <sub>3</sub> HN	0.15
52	C <sub>3</sub> H <sub>2</sub> N	0.43
53	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> N	0.23
55	C <sub>2</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> ; C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> O; C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> N; C <sub>2</sub> HNO	1.1
56	C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> NO	0.3
69	C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> NO	0.25
70	C <sub>2</sub> NO <sub>2</sub> ; C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> NO	0.63
71	C <sub>2</sub> HNO <sub>2</sub>	0.08
81	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> NO	0.23
82	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> NO	0.08
83	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> NO; C <sub>3</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	0.4
84	C <sub>2</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.1
95	C <sub>4</sub> H <sub>3</sub> N <sub>2</sub> O	0.05
96	C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O	0.025
97	C <sub>4</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O	0.2
98	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O	0.13
124	C <sub>5</sub> H <sub>4</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.05
125	C <sub>5</sub> H <sub>5</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	0.08
126	(T <sup>+</sup> )C <sub>5</sub> H <sub>6</sub> N <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	2.5

Примечание.  $M/e$  — масса молекулярного фрагмента в атомных единицах массы;  $\sigma$  — величины сечений образования положительных ионов молекул тимина и их фрагментов.



**Рис. 2.**

сечения ионизации равна  $1.4 \cdot 10^{-15}$  cm<sup>2</sup>. Приведенное здесь сечение имеет смысл полного сечения, так как включает в себя образования ионов целой молекулы и ее фрагментов, т.е. продуктов диссоциативной ионизации (парциальные сечения ионизации).

Масс-спектр образовавшихся фрагментов молекулы тимина при энергии 95 eV приведен на рис. 2. Полученные данные о полном сечении ионизации молекулы тимина и ее масс-спектре позволили определить парциальные сечения образования наиболее вероятных фрагментов тимина при энергии налетающих электронов 95 eV (см. табл. 1).

Анализ масс-спектра и табл. 1 показывает, что образование положительных ионов целой молекулы тимина является преобладающим процессом (сечение  $2.5 \cdot 10^{-16}$  cm<sup>2</sup>). Ионы фрагментов молекулы (диссоциативная ионизация) характеризуются гораздо меньшими сечениями ионизации  $\sim 10^{-17} - 10^{-18}$  cm<sup>2</sup>. Среди фрагментов относительно большие сечения ионизации характерны для групп CNO, CH<sub>2</sub>H<sub>2</sub>; C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>NH; C<sub>2</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>O, C<sub>3</sub>H<sub>5</sub>N, C<sub>3</sub>HNO. Наблюдаются ионы фрагментов молекулы без боковой группы –CH<sub>3</sub>, а также ионы пиримидинового кольца. В то же время в масс-спектре не было обнаружено линий, относящихся к двухзарядным ионам.

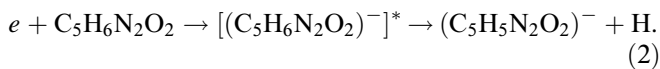
### Отрицательные ионы тимина

В отличие от положительных ионов образование отрицательных ионов тимина заметным образом проявляется в очень узкой области энергий бомбардирующих электронов (рис. 3), т.е. имеет резонансный характер. Максимальной величины сечение образования ионов достигает при энергии 1.1 eV и равно  $8.2 \cdot 10^{-18}$  cm<sup>2</sup>. Измеренное сечение имеет смысл полного сечения, состоящего из образования отрицательных ионов как целой молекулы, так и ионов ее фрагментов. Вместе с этим в соответствии с законами сохранения [14] образовавшийся ион целой молекулы должен находиться

Таблица 2. Абсолютные величины сечения образования отрицательных ионов тимина и цитозина

Параметр	Ион	Настоящая работа	[13]	[4]	[6]	[7]
Сечение, $\text{cm}^2$	Тимин	$8.2 \cdot 10^{-18}$	$4.2 \cdot 10^{-18}$	$\sim 10^{-14}$	$1.2 \cdot 10^{-15}$ $2.3 \cdot 10^{-16}$	$4.7 \cdot 10^{-19}$ $2.2 \cdot 10^{-19}$
	Цитозин					
Энергия резонанса, eV	Тимин	1.1	1.5	0.18 1.4	1.02 1.51	1.01 1.54
	Цитозин					

в возбужденном состоянии, которое в силу своей нестабильности распадается на ионизованный и нейтральный фрагменты. Представляется, что наиболее вероятным нейтральным фрагментом будет атом водорода, который имеет наименьшую величину связи в пиримидиновом кольце [5]. Таким образом, процесс образования отрицательных ионов идет по схеме:



Анализ литературы [4–8] свидетельствует (см. табл. 2) о существенных расхождениях величин сечений образования отрицательных ионов тимина, полученных разными авторами. Похожая картина наблюдалась и для другого основания нуклеиновой кислоты — цитозина, на что нами было уже указано в работе [3]. Такие расхождения выходят далеко за пределы погрешностей эксперимента и требуют проверки надежности отдельных элементов используемых методик (и, вероятно, могут быть объяснены). Авторы работ [4,6,8] искомое сечение для тимина определили путем его нормирования на известное сечение образования отрицательного иона молекулы  $\text{SF}_6$ . Заметим, что результаты [4] впоследствии были пересмотрены и уточнены в работе [8]. В исследовании [7] сечение отрицательного иона тимина нормировалось на сечение положительного иона тимина, которое, в свою очередь, находилось расчетным путем.

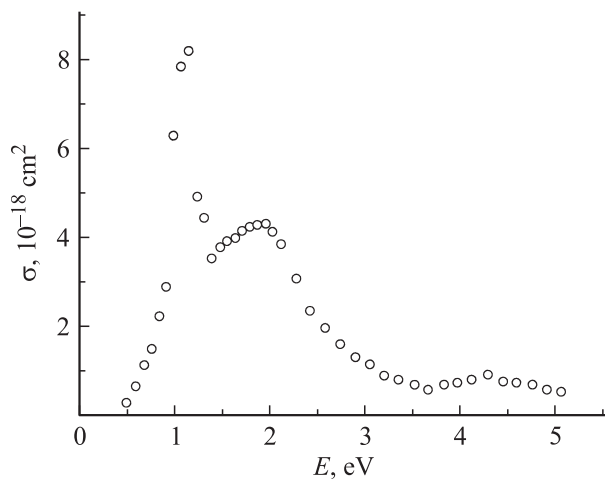


Рис. 3.

На наш взгляд, в примененных процедурах калибровки [4,6,8] и нормировки [7] есть вопросы, требующие отдельных, дополнительных исследований.

В отличие от работ [4–8] в данном исследовании все необходимые величины для определения упомянутого сечения находились экспериментально. Отсутствие источников систематических погрешностей в наших экспериментах имеет подтверждение в следующем. При неизменных условиях эксперимента отношение токов положительных и отрицательных ионов в соответствии с (1) будет равно:

$$i^+/i^- = i_e(100) \cdot \sigma^+(100)/i_e(4.5) \cdot \sigma^-(4.5), \quad (3)$$

где  $i^+$  и  $i^-$  — соответственно токи положительных и отрицательных ионов при энергии 100 и 4.5 eV,  $i_e(100)$  и  $i_e(4.5)$  — соответственно токи пучка электронов при энергии 100 и 4.5 eV,  $\sigma^+(100)$  и  $\sigma^-(4.5)$  — соответственно сечения образования положительных ионов при энергии 100 eV и отрицательных ионов при энергии 4.5 eV. Таким образом, для отношения сечений образования положительных и отрицательных ионов устанавливается жесткая связь, которая „не чувствует“ возможных погрешностей, связанных с экспериментальным определением концентрации молекул и длины пути электронов величин (см. (1))

$$\sigma^+(100)/\sigma^-(4.5) = i^+ \cdot i_e(4.5)/i^- \cdot i_e(100). \quad (4)$$

Нами были выполнены измерения отношения  $i^+ \cdot i_e(4.5)/i^- \cdot i_e(100)$  для случая, когда камера столкновений наполнялась газом  $\text{SF}_6$ . С другой стороны, отношение (4) рассчитывалось по известным сечениям образования положительных [15] и отрицательных [10] ионов молекулы  $\text{SF}_6$ . Результаты расчетов и экспериментальных измерений совпадали между собой с погрешностью 40%, что указывает на отсутствие в данном исследовании систематических погрешностей, или промахов. В дополнение к приведенному выше заметим, что используемый нами методический подход был надежно апробирован при определении сечений ионизации атомных систем [16].

Можно полагать, что окончательное выяснение причин, которые могут объяснить расхождение сечений образования отрицательных ионов, возможно после публикации соответствующих данных для других нуклеотидных оснований.

## Заключение

Впервые экспериментально определены абсолютные величины полного и парциальных сечений образования положительных ионов тимина. Среди парциальных сечений наибольшим обладает процесс образования положительного иона целой молекулы. Процесс образования отрицательных ионов проявляется уже при тепловых энергиях электронов и сопровождается диссоциацией молекулы. Наибольшая вероятность деструктивных изменений в молекуле тимина инициируется действием медленных электронов.

## Список литературы

- [1] Cobut V., Frongillo Y., Patau J.P. et al. // *Radiat. Phys. Chem.* 1998. Vol. 51. P. 229–243.
- [2] Шафраньош М.И., Суховия М.И., Шимон Л.Л., Шафраньош И.И. // *Письма в ЖТФ.* 2005. Т. 31. Вып. 24. С. 74–77.
- [3] Shafranyosh I.I., Sukhoviya M.I., Shafranyosh M.I. // *J. Phys. B.* 2006. Vol. 39. P. 4155–4162.
- [4] Huels M.A., Hahndorf I., Pfenberger E. et al. // *J. Chem. Phys.* 1998. Vol. 108. P. 1309–1315.
- [5] Hanel G., Gstir B., Denifl S. et al. // *Phys. Rev. Lett.* 2003. Vol. 90. P. 188 104-1–188 104-4.
- [6] Denifl S., Ptasinska S., Probst M. et al. // *J. Phys. Chem.* 2004. Vol. 108. P. 6562–6569.
- [7] Aflatooni K., Scheer A.M., Burrow P.D. // *J. Chem. Phys.* 2006. Vol. 125. P. 054 301-1–054 501-5.
- [8] Denifl S., Hanel G., Gstir B. et al. // *Book of Abstr. XXIII Int. Conf. on Photonic, Electronic and Atomic Collision (ICPEAC).* Stockholm, 2003. We 096.
- [9] Fox R.E. // *Rev. Sci. Instr.* 1955. Vol. 26. P. 1101–1105.
- [10] Бучельникова Н.С. // *ЖЭТФ.* 1958. Т. 35. С. 1119–1123.
- [11] Суховия М.И., Славик В.Н., Шафраньош И.И. и др. // *Биополимеры и клетка.* 1991. Т. 7. Вып. 6. С. 77–82.
- [12] Padva A., Peng S., Lin J. et al. // *Biopolymers.* 1978. Vol. 17. P. 1523–1528.
- [13] Беркин Б.И., Янсон И.К., Суходуб Л.Ф. и др. *Взаимодействие биомолекул. Новые экспериментальные подходы и методы.* Киев: Наук. думка, 1985. 317 с.
- [14] Мессе Г. *Отрицательные ионы.* М.: Мир, 1979. 754 с.
- [15] Rapp D., Englander-Golden P. // *J. Chem. Phys.* 1965. Vol. 43. P. 1464–1470.
- [16] Shafranyosh I.I., Margitich M.O. // *J. Phys. B.* 2000. Vol. 33. P. 905–910.