

ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
«УЖГОРОДСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»
Українсько-угорський навчально-науковий інститут
Кафедра фізико-математичних дисциплін

КІШ ДАНІЕЛЛА БЕРНАТІВНА

**Вивчення процесів утворення позитивних іонів
молекулами тиміну під дією електронного удару в
середній школі**

Дипломна робота на здобуття освітнього ступеня бакалавра

Науковий керівник:
Шафраньош Мирослав Іванович
доцент, кандидат фізико-математичних наук

Ужгород – 2021

Регістрація 1
«14» березня 2021 р. Дунай В. В.

Дипломна робота допущена до захисту

Завідувач кафедри
Мікла В.І. Мікла

«14» березня 2021 р.

Рецензент Дунай к. ф.-м. н. Дунай В. В.

АНОТАЦІЯ

Дипломна робота бакалавра містить: 37 сторінки, 15 рисунків, 2 таблиці, список використаних літературних джерел із 17 найменувань.

Здійснені розрахунки структурних параметрів основ ДНК тиміну за допомогою напівемпіричного методу AM1 з пакету програм HyperChem з оптимізацією геометрії молекул. Для іонізованих і нейтральних форм біомолекул розраховані довжини і порядки зв'язків, а також розподіл електронних густин. Встановлено, що найменші порядки зв'язків мають іонізовані молекули. За допомогою аналізу розподілу густин зарядів у структурі молекул виявлені локальні області, які є найбільш чутливими до впливу негативно заряджених частинок.

Ключові слова: азотисті основи, тимін, нуклеотид, ДНК, РНК, азотисті основи, моносахарид.

SUMMARY

The diploma work of the bachelor contains: 37 pages, 15 figures, 2 tables, the list of the used literary sources from 17 names.

The structural parameters of thymine bases of DNA were calculated using the semi-empirical method AM1 from the HyperChem software package with optimization of molecule geometry. For ionized and neutral forms of biomolecules, bond lengths and orders, as well as electron density distributions, are calculated. Ionized molecules have been found to have the lowest bond orders. By analyzing the distribution of charge densities in the structure of molecules, local regions were identified that are most sensitive to the influence of negatively charged particles.

Key words: nitrogenous bases, thymine, nucleotide, DNA, RNA, bases, monosaccharide.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. АЗОТИСТІ ОСНОВИ. ТИМІН	6
РОЗДІЛ 2. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ	9
2.1. НУКЛЕОТИДИ	9
2.2. ПЕРВИННА СТРУКТУРА НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ	14
2.3. ПРОСТОРОВА СТРУКТУРА ДНК І РНК.	16
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ОПРОМІНЕННЯ НА БІОМОЛЕКУЛИ.	24
РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	29
4.1. УТВОРЕННЯ ПОЗИТИВНИХ ІОНІВ ТИМІНУ	29
4.2. МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ ІОНІЗАЦІЇ ТИМІНУ	30
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ	36

ВСТУП

Інтерес до експериментального вивчення процесів утворення іонів біомолекул електронним ударом зумовлений, в першу чергу, важливістю проблеми внутріклітинного опромінення біоструктур вторинними електронами, які утворюються у значній кількості в речовині при дії різних видів випромінювання.

Взаємодія високоенергетичної радіації з живими клітинами, в основному, не приводить безпосередньо до деградації біополімерних молекул. Цю функцію виконують вторинні електрони, яких виділяється біля $4 \cdot 10^4$ на 1 MeV високоенергетичної частинки, що налітає. Більшість цих електронів є низькоенергетичними (повільними) з енергіями від долей до десятків eV. Саме з повільними електронами пов'язують, на сьогодні, основну частину деструктивних змін на молекулярному рівні біоструктур.

При цьому головною мішенню в клітинах часто стають такі біологічно важливі макромолекули, як ДНК і РНК, що відповідають за генетичну інформацію.

В експериментах, проведених з компонентами цих молекул, було показано, що за умови електронного удару мають місце різні фізичні процеси, а саме: збудження, іонізація, дисоціативне збудження та дисоціативна іонізація молекул.

Метою досліджень було проведення досліджень іонізації молекул азотистої основи ДНК – тиміну - під дією електронів малих енергій.

Об'єкт дослідження – явище зіткнення низькоенергетичних електронів з молекулами.

Предмет дослідження – процеси іонізації молекул ДНК повільними електронами.

Завдання роботи: 1) ознайомитись з науковою літературою про структуру і функції нуклеїнових кислот;

2) засвоїти методіку розрахунків структурних параметрів біомолекул;

3) визначити довжини зв'язків та розподіл зарядів у молекулах тиміну та його іонах.

Метою викладання представленого матеріалу в середній школі на рівні стандарту полягає у формуванні в учнів знань про закономірності функціонування живих систем, їх початок, розвиток і взаємодію, взаємозв'язок із навколишнім середовищем; розуміння фізичної та біологічної картини світу та цінності таких категорій, як знання, життя, природа, здоров'я, необхідності раціонального використання і відновлення природних ресурсів, усвідомлення біосферної етики; уміння опанувати методологію пізнання живої природи, різноманітними способами пізнавальної діяльності, життєвими навичками, здатністю до саморозвитку й самонавчання в умовах сьогодення, з врахуванням глобальних змін і викликів; свідомого ставлення до природи як безперечної, унікальної цінності; застосування знань з фізики та біології у повсякденному житті та майбутній професійній діяльності, оцінювання їх ролі для збалансованого розвитку людства, науки та технологій.

РОЗДІЛ 1. АЗОТИСТІ ОСНОВИ. ТИМІН

Фізичний вплив вторинних електронів, які виникають у значній кількості в результаті дії первинного високоенергетичного випромінювання на речовину, ініціює процеси дисоціативного захоплення, збудження та іонізації молекул азотистих основ нуклеїнових кислот (аденін, тимін, гуанін, урацил та цитозин), які, у свою чергу, запускають ланцюг деструктивних змін у генетичних макромолекулах ДНК і РНК.

Азотисті основи — гетероциклічні органічні сполуки, похідні піримідину і пурину; входять до складу нуклеїнових кислот. До них відносять аденін, гуанін, тимін, цитозин і урацил. Аденін і гуанін є похідними пурину, а цитозин, урацил і тимін — піримідину [1].

Молекула пурину складається із двох конденсованих кілець: піримідину та імідазолу. Азотисті основи являють собою або оксо- (урацил, тимін), або аміно- (аденін), або змішані — оксо- і аміно-(цитозин, гуанін) похідні піримідину чи пурину. Азотисті основи здатні існувати в різноманітних таутомерних формах, проте стійкішими є лактамні (оксо-) форми. Тимін зустрічається тільки в ДНК, його структурною особливістю є присутність метильної групи біля 5 атома вуглецю, що і відрізняє його від урацилу. В РНК тимін замінюється на урацил. Азотисті основи, з'єднуючись з молекулою рибози або дезоксирибози, утворюють нуклеозиди. Такі похідні, в яких до вуглеводної групи приєднана одна або декілька фосфатних груп (зазвичай у положенні 5 залишку рибози або дезоксирибози, рідше у положеннях 3 або 2), називаються нуклеотидами, які і є структурними компонентами молекул нуклеїнових кислот — ДНК і РНК. Між певними парами похідних піримідину і пурину утворюються міцні міжмолекулярні водневі зв'язки. Такими комплементарними парами є урацил–аденін, тимін–аденін і цитозин–гуанін. У такій формі вони входять до складу ДНК.

Тимін органічна сполука, що належить до піримідинових основ. Входить до складу дезоксирибонуклеїнової кислоти [2]. Міститься в усіх

живих клітинах. Органічна сполука, що складається з гетероциклічного кільця, отриманого з піримідинового, бензольного кільця з двома атомами вуглецю, заміщеними двома атомами азоту. Його конденсована формула - $C_5H_6N_2ABO_2$, будучи циклічним амідом і однією з азотистих основ, з яких складається ДНК.

Зокрема, тимін - це азотиста основа піримідину, поряд із цитозином та урацилом. Різниця між тиміном та урацилом полягає в тому, що перший присутній у структурі ДНК, тоді як другий присутній у структурі РНК.

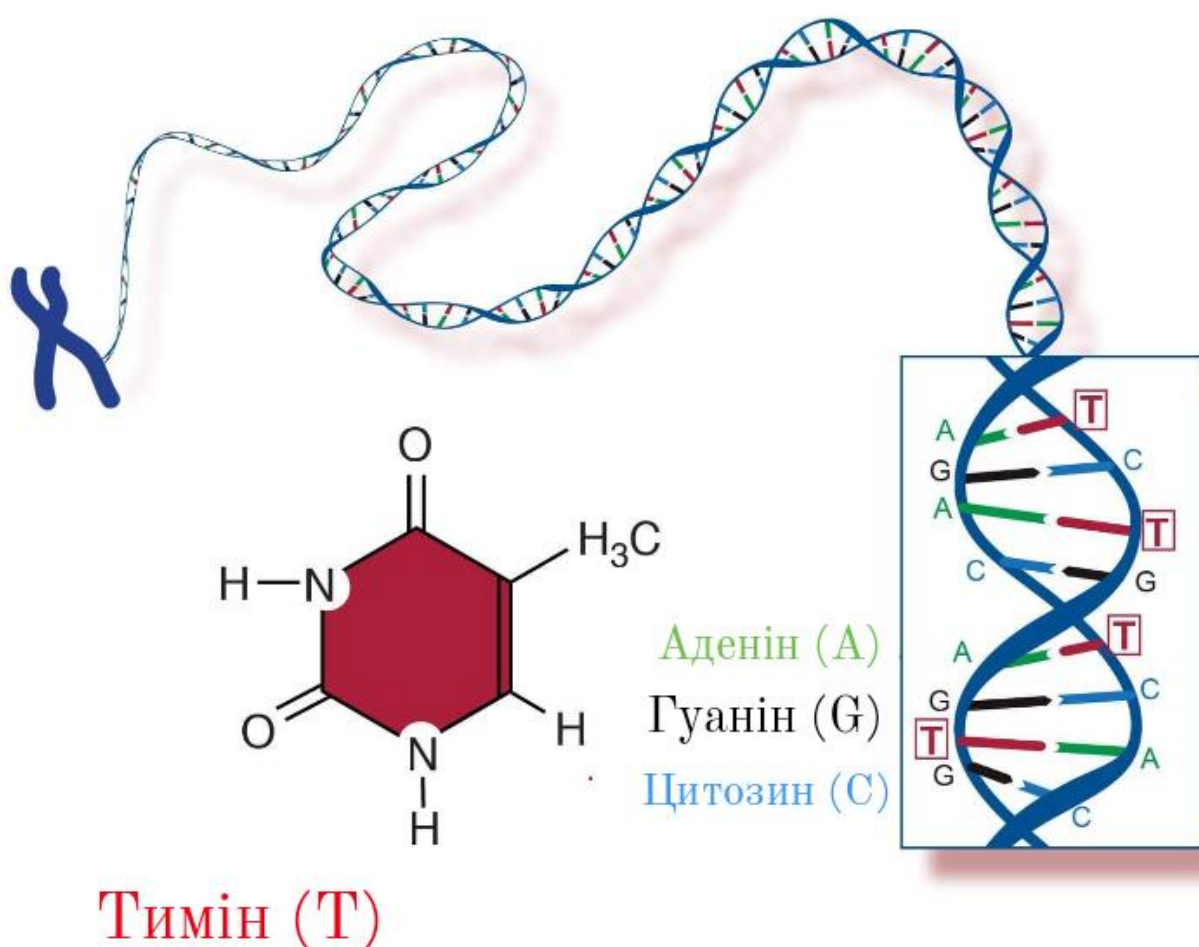


Рис. 1.1. Тимін [2].

У сучасних наукоємних технологіях широко застосовуються органічні речовини, в тому числі в приладах з використанням молекулярної електроніки. Робота молекулярних електронних пристроїв базується на перенесенні

електронів через молекули, при цьому відбуваються елементарні процеси взаємодії молекул з електронами різної енергії. Особливості взаємодії визначаються як величиною енергії електронів, так і структурою самої молекули. Незважаючи на широке застосування органічних молекул у молекулярній електроніці, в радіаційній хімії, біології та медицині, не існує достатньо інформації, яка стосується їх взаємодії з електронами. Це обумовлює потребу в дослідженнях процесів взаємодії електронів із складними молекулами, зокрема фрагментації молекул під дією електронів. При фрагментації молекул внаслідок взаємодії з електронами утворюються радикал-іони, які призводять до гасіння люмінесценції, що викликає деградацію пристроїв молекулярної електроніки. У зв'язку з цим явищем вивчення як мас-спектрів молекул при різних енергіях іонізуючих електронів, так і визначення ефективних перерізів прямої та дисоціативної іонізації є актуальним. Зазначимо про певні експериментальні труднощі при дослідженні іонізації молекул, що підтверджується обмеженим числом даних, не дивлячись на значний інтерес до них з боку розробників приладів молекулярної електроніки, дослідження складних органічних молекул — це дуже цікавий, актуальний і перспективний об'єкт для органічної електроніки, так як вони мають унікальні багатообіцяючі оптичні та електронні властивості. Завдяки здатності формувати тонкі шари кристалічної структури на різних поверхнях їх найчастіше використовують в якості органічних плівок у фотогальванічних перетворювачах енергії та світловипромінювальних пристроях.

РОЗДІЛ 2. СТРУКТУРА І ФУНКЦІЇ НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

2.1. НУКЛЕОТИДИ

Нуклеотиди - це органічні молекули, основа яких містить кільця атомів вуглецю та азоту [3]. У структурі нуклеотидів беруть участь п'ять типів атомів, а саме: водень, який є одновалентним; кисень, який є двовалентним; азот, який є тривалентним; вуглець, який є чотиривалентним; і фосфор, який є п'ятивалентним. Це означає, що кожен будівельний блок здатний утворювати різну кількість ковалентних зв'язків.

Кожен нуклеотид містить фосфатну групу, цукор та пуринову або піримідинову основу (плоска, кільцеподібна молекула, що містить вуглець та азот). Два типи нуклеїнових кислот розрізняють на основі цукру, який вони містять, рибонуклеїнові кислоти та дезоксирибонуклеїнові кислоти. Обидва цукри мають по п'ять атомів вуглецю (пентоза), і, як свідчить різниця між їх назвами, до дезоксирибози замість групи ОН приєднується Н на другому атомі вуглецю рибози.

Рибонуклеїнова кислота у якій, як впливає з назви, рибоза - це цукор. На відміну від них, ДНК означає дезоксирибонуклеїнову кислоту. У ДНК нуклеотиди відрізняються лише своїми основами.

Азотисті основи - це органічні речовини з особливою будовою замкнутого ланцюга, утвореного атомами Карбону і Нітрогену. До складу нуклеотидів входять : аденін, гуанін, тимін, цитозин, урацил (рис. 2.1.)

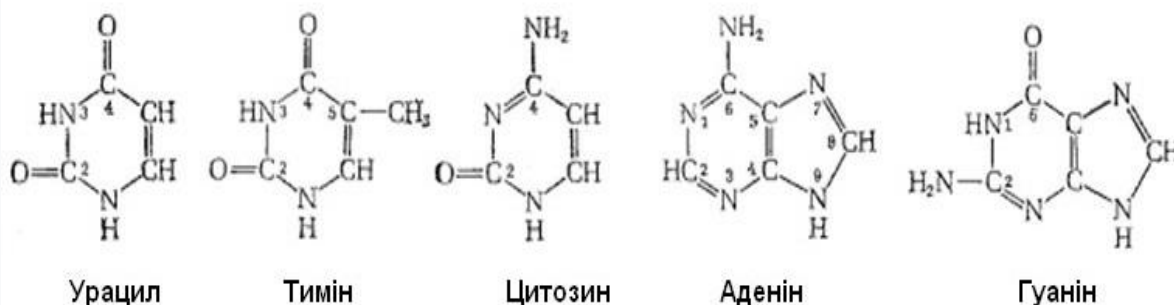


Рис. 2.1. Основи нуклеїнових кислот

Моносахаридом ДНК є дезоксирибоза $C_5H_{10}O_4$, а моносахаридом РНК - рибоза $C_5H_{10}O_5$. Молекули їх мають будову замкненого п'ятикутника. Схематично їхня будова зображена на рис. 2.2. [4].

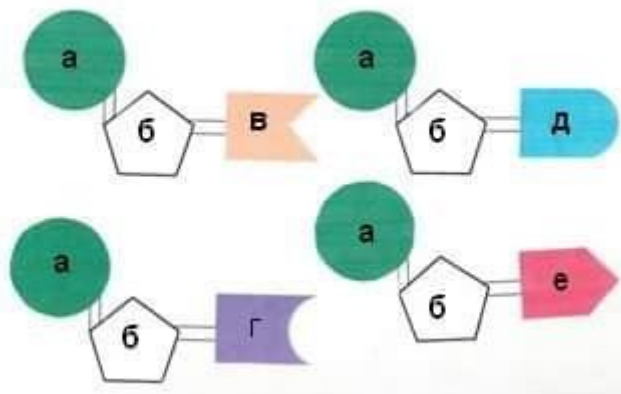


Рис. 2.2. Будова нуклеотидів:

а - ортофосфатна кислота;

б - моносахарид;

в.г.д.е - азотисті основи.

В молекулі ДНК кількість аденіну дорівнює кількості тиміну, а кількість гуаніну - кількості цитозину. Ця закономірність допомогла розкрити структуру ДНК, яка складається не з одного полінуклеотидного ланцюга, а з двох, причому аденін одного полімерного ланцюга завжди з'єднаний водневими зв'язками з тиміном другого полінуклеотидного ланцюга, а гуанін постійно зв'язується з цитозином. Така закономірність дістала назву **комплементарності** (доповнюваності).

Комплементарність ланцюгів ДНК в подвійній спіралі дозволяє використовувати один з ланцюгів як матрицю для побудови іншого. Цей принцип грає важливу роль в реплікації ДНК, оскільки він є основою спадковості, тобто використовується для передачі генетичної інформації наступному поколінню. Транскрипція ДНК, тобто синтез ланцюга РНК на матриці ДНК, також ґрунтується на комплементарності.

У клітинах ДНК існує у вигляді дволанцюгової молекули, в якій всі азотисті основи беруть участь в утворенні відповідних водневих зв'язків між ланцюгами. РНК складається з одного ланцюга і часто утворює складні структури завдяки здатності додаткової гідроксильної групи в залишках рибози утворювати додаткові водневі зв'язки.

Генетичний код – це набір правил, використовуваних живими клітинами для трансляції інформації, закодованої в генетичному матеріалі (послідовності нуклеотидних триплетів (кодонів) в ДНК або інформаційній РНК) в послідовність амінокислот в білках. Кодон, що складається з трьох нуклеотидів в послідовності нуклеїнової кислоти, визначає одну певну амінокислоту. Генетичний код є спільним для всіх організмів і містить 64 кодони. З них 61 кодон використовується для кодування 20 різних амінокислот, і 3 кодони є «стоп-кодонами», що сигналізують про припинення синтезу білка.

Незважаючи на схожість будови і хімічної природи, ДНК та РНК виконують у живих організмах різні функції.

Головна функція ДНК - збереження і передача генетичної (спадкової) інформації від батьків до нащадків. В її молекулі зашифрована інформація про будову всіх білків організму. Пригадаємо, що білки - це поліпептидні ланцюги, що складаються з амінокислот. Кожній амінокислоті в молекулі білка відповідає послідовність із трьох нуклеотидів (триплет) в молекулі ДНК. Ділянка ДНК, в якій зашифрована будова одного білка, називається **геном**. Довжина гену залежить від розмірів білкової молекули. Оскільки в організмі є дуже багато різновидів білків, то молекула ДНК має велику довжину і досягає 1 м. Так, вважають, що сумарна довжина молекул ДНК 46 хромосом однієї клітини людини становить 170—180 см. Відповідно, дуже велика і молекулярна маса ДНК (сотні мільйонів атомних одиниць).

Два ланцюги, які складаються з десятків і сотень нуклеотидів, скручуються між собою й утворюють подвійну спіраль. Діаметр цієї спіralі становить $2 \cdot 10^{-9}$ м (2 нм), а відстань між сусідніми нуклеотидами — $3,4 \cdot 10^{-10}$ м.

10^9 м (0,34 нм; $1 \text{ нм} = 10^{-9}$ м). Розмір витка спіралі (крок спіралі) становить $3,4 \cdot 10^{-9}$ м (3,4 нм), у ньому розміщується 10 пар нуклеотидів. В клітині вона перебуває в компактному (згорнутому) вигляді. При поділі клітини подвійна спіраль ДНК розкручується і під дією спеціального ферменту полінуклеотидні ланцюги роз'єднуються. За принципом комплементарності кожний з ланцюгів добудовує собі новий ланцюг із відповідних нуклеотидів. Цей процес називається **реплікацією** ДНК. При цьому із однієї молекули ДНК утворюються дві абсолютно точні її копії, і кожна з дочірніх клітин дістає свою ДНК. Таким чином повністю передається вся спадкова інформація. ДНК виконує роль порталу, що вміщує інформацію про структуру білків, а РНК виступає як дієвий чинник синтезу білків відповідно до структури ДНК.

Основними функціями біоорганічних речовин в обміні речовин є:

- 1) структурна — участь у реакціях синтезу з утворенням різних нових молекул;
- 2) енергетична — участь у реакціях розкладу та забезпеченні енергетичних потреб живого (глюкоза, фруктоза, АТФ);
- 3) регуляторна — участь у регуляції біохімічних процесів та функцій (ферменти, вітаміни, гормони);
- 4) резервна — хімічна інертність та нерозчинність у воді зумовлюють відкладання певних біомолекул про запас (крохмаль, глікоген, жири, олії);
- 5) захисна — біомолекули знешкоджують внутрішні й зовнішні шкідливі речовини, захищають від ультрафіолетового випромінювання, хвороботворних вірусів, бактерій (лізоцим);
- 6) інформаційна — участь у процесах сприймання, збереження й реалізації інформації (рецепторні білки, РНК, ДНК).

Головна функція РНК - забезпечувати процес синтезу білка, властивого конкретному організмові. Є три види РНК: інформаційні, транспортні, рибосомні. Кожна молекула **інформаційної РНК** дістає в процесі свого синтезу в ядрі інформацію від ДНК про будову білка у вигляді скопійованої послідовності нуклеотидів і переносить її на рибосоми, де

відбувається синтез білка. Кожен з тисячі білків має свою інформаційну РНК. Основна функція **транспортних РНК** - транспортування до рибосом амінокислот, необхідних для синтезу білка. Кожна амінокислота має свою транспортну РНК, іноді не одну. **Рибосомні РНК** зосереджені в рибосомах і допомагають залишкам амінокислот з'єднуватись, утворюючи білок. Їх функція вивчена ще недостатньо. Перестановка амінокислот місцями або втрата під час синтезу білка хоча б однієї амінокислотної ланки практично не відбуваються. Рідкісні випадки, що трапляються, можуть негативно позначитись на організмові.

Вивчення будови ДНК дало змогу розвиватися новій галузі науки, яка називається генною інженерією. Її досягнення використовуються у виведенні нових сортів рослин і порід тварин, виявленні та лікуванні спадкових хвороб тощо (посилання на рис. 2.3.).

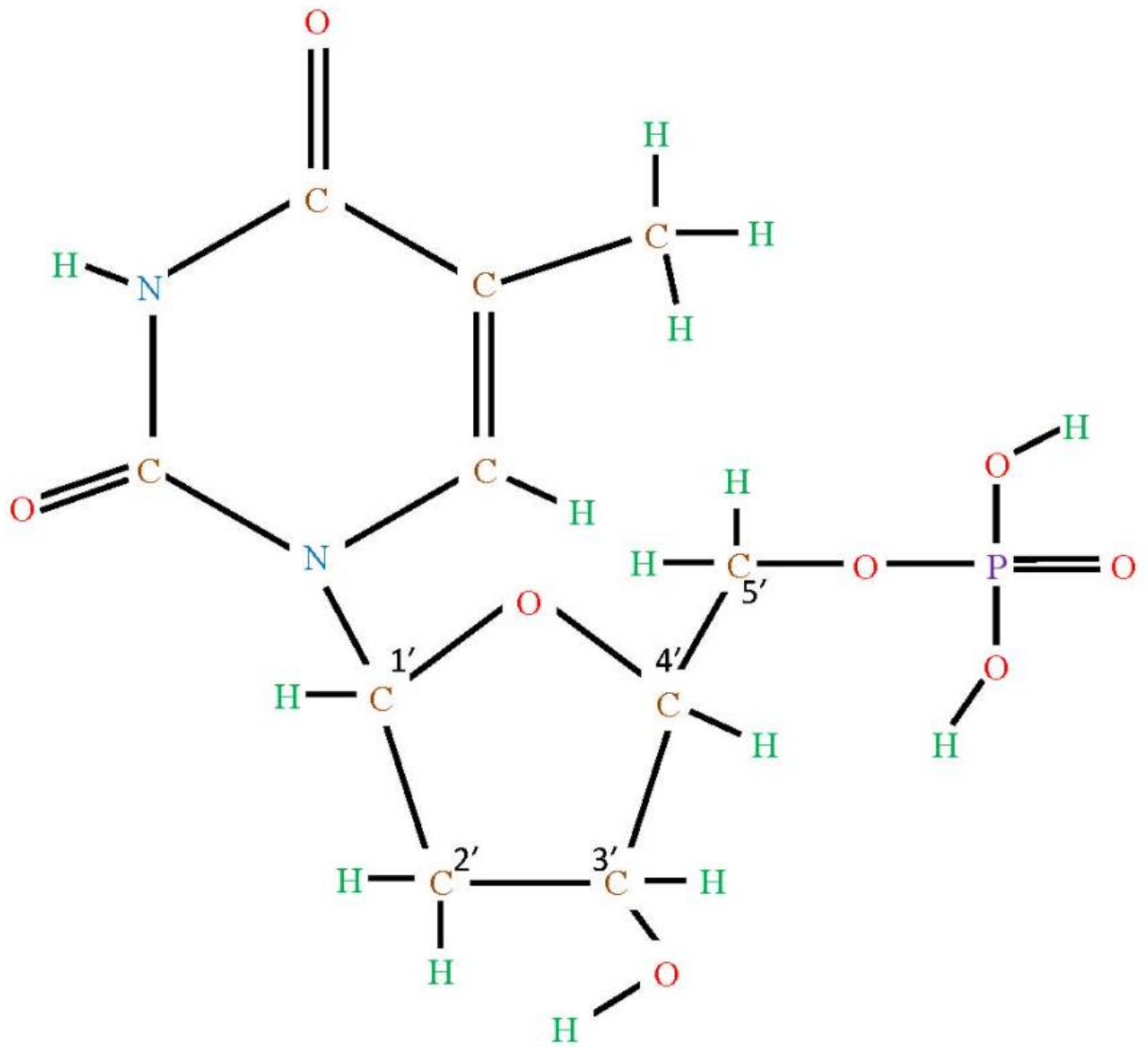


Рис. 2.3. Будова молекули тиміну.

2.2. ПЕРВИННА СТРУКТУРА НУКЛЕЇНОВИХ КИСЛОТ

Наприкінці 1940-х років вже було відомо, що ДНК складається з регулярно повторюваних структурних одиниць, в яких основи повторювались по ланцюгу. Також було відомо, що може бути багато типів молекул ДНК.

Зараз ми знаємо, що кожна ДНК може характеризуватися певною послідовністю. ДНК у своєму різноманітному порядку несе величезну кількість (генетичної) інформації, необхідної для зберігання багатьох можливих амінокислотних послідовностей білків у живому світі.

На початку 1950-х років група дослідників з хімічної лабораторії Кембриджського університету визначила точні фосфодієфірні зв'язки, що з'єднують нуклеотиди. Результат був напрочуд простим. Ці зв'язки завжди були однаковими: фосфатна група пов'язує 5'-ий атом вуглецю дезоксирибози, цукор, з 3'-ім атомом вуглецю наступного нуклеотидного цукру (за допомогою ковалентного зв'язку). Видно, що при утворенні зв'язку молекула води також утворюється на пов'язаній частині нуклеотидів.

Три нуклеотиди зливаються в одну молекулу з фосфодієфірними зв'язками (вихід води)

Фосфодієфірні зв'язки між цукровою та фосфатною групами становлять кістяк ДНК.

Таким чином, в одноланцюговій ДНК нуклеотиди пов'язані між собою, як показано в анімації: 5'-ий атом вуглецю молекули ковалентно пов'язаний через фосфатну групу з 3'-ім атомом вуглецю попередньої молекули, тоді як її 5'-ий вуглець атом також ковалентно пов'язаний з наступною молекулою тощо.

Ці ланцюги прийнято представляти у простішій схематичній формі, як показано на рисунках 2.4 та 2.5. Атоми вуглецю цукру пронумеровані, фосфатна група скорочена хімічним символом фосфору і наведені лише ініціали основи. 2.4 Рядок 5' ACGTAACG 3' (або просто ACGTAACG, що дотримується домовленості) показаний на рисунку 2.5 відповідає рядку ACUUGAU.

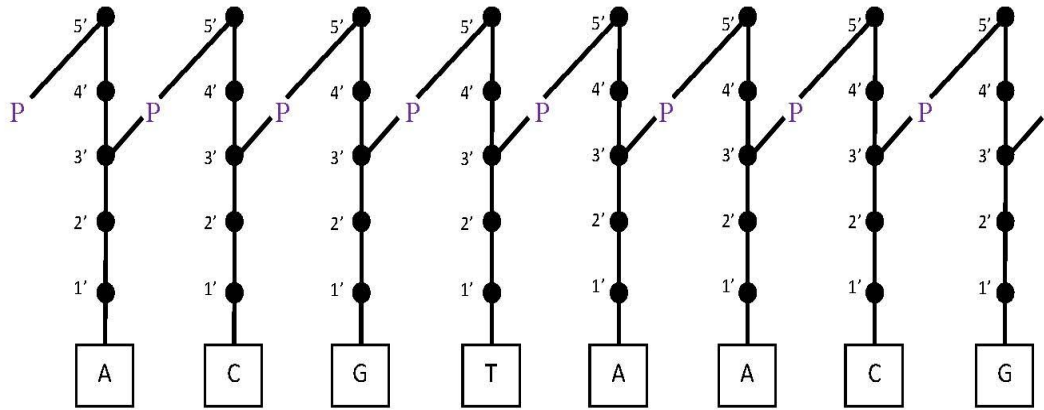


Рисунок 2.4. Схематичний малюнок ланцюга ДНК.

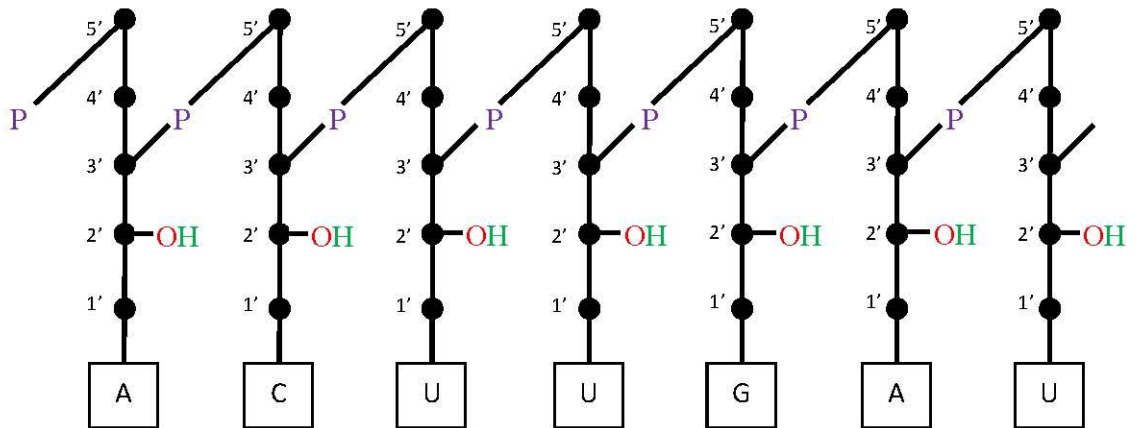


Рисунок 2.5. Схематичний малюнок ланцюга РНК (ОН на 2'-ій атомі вуглецю цукру також вказує, що це РНК).

Однак у природі ДНК, зазвичай, не зустрічається у вигляді одноланцюгової молекули.

2.3. ПРОСТОРОВА СТРУКТУРА ДНК І РНК.

До 1951 року було не тільки відомо, що чотири основи не були присутні в однакових кількостях, але також було очевидно, що їх кількість сильно варіюється в різних молекулах ДНК. Також було помічено, що кількість

чотирьох основ не змінюється незалежно. Кількість пуринових та піримідинових основ досліджували методами хроматографічного розділення, і було встановлено, що кожна молекула ДНК містила однакову кількість пуринів та однакову кількість піримідинів. Згідно з дослідженнями Е. Чаргаффа, кількість аденіна у кожному досліджуваному виді така ж, як і тиміну. Подібним чином кількість іншого пуринового каркасного нуклеотиду, гуаніну, завжди була такою ж, як і кількість іншого піримідинового каркасного нуклеотиду, цитозину. Центральним питанням була також тривимірна структура молекули, яка вперше була визначена дифракцією рентгенівських променів у 1938 році. Дослідження показали, що цукрово-фосфатний ланцюг ДНК має гвинтову конфігурацію, і вимірювання діаметра спіралі показали, що він занадто великий для молекули, що складається лише з одного ланцюга. Джеймс Д. Ватсон та Френсіс Х. К. Крик продемонстрували структуру подвійної спіралі ДНК у своїй статті в 1953 року, і їм було вручено Нобелівську премію 1962 року за своє відкриття.

Таким чином, ДНК складається з двох ниток (рис. 2.6.) з нитками, що проходять в протилежних напрямках.

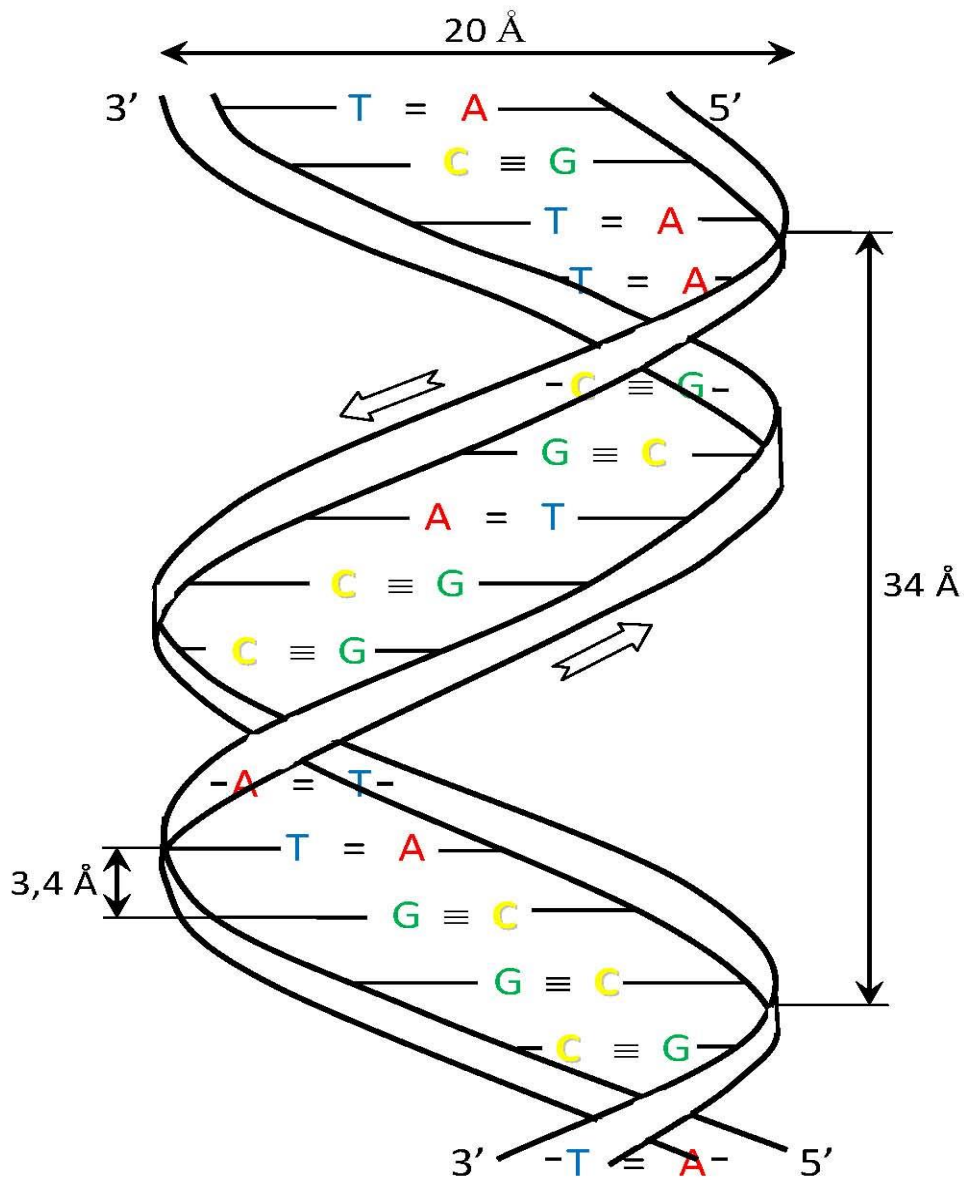


Рис. 2.6. Молекула ДНК є подвійною спіраллю, два ланцюги утримуються водневими зв'язками між основами.

Комплементарність Ватсона-Крика відіграє фундаментальну роль у побудові дволанцюжкових ланцюгів ДНК

Не менш важливо, що пурини аденін та гуанін не можуть бути випадково пов'язані з двома піримідинами - тиміном та цитозином. Аденін може зв'язуватися лише з тиміном, а гуанін - лише з цитозином. Ці водневі зв'язки показані на рисунку 2.6. між цитозином і гуаніном; а на рис 2.7. між аденіном і тиміном.

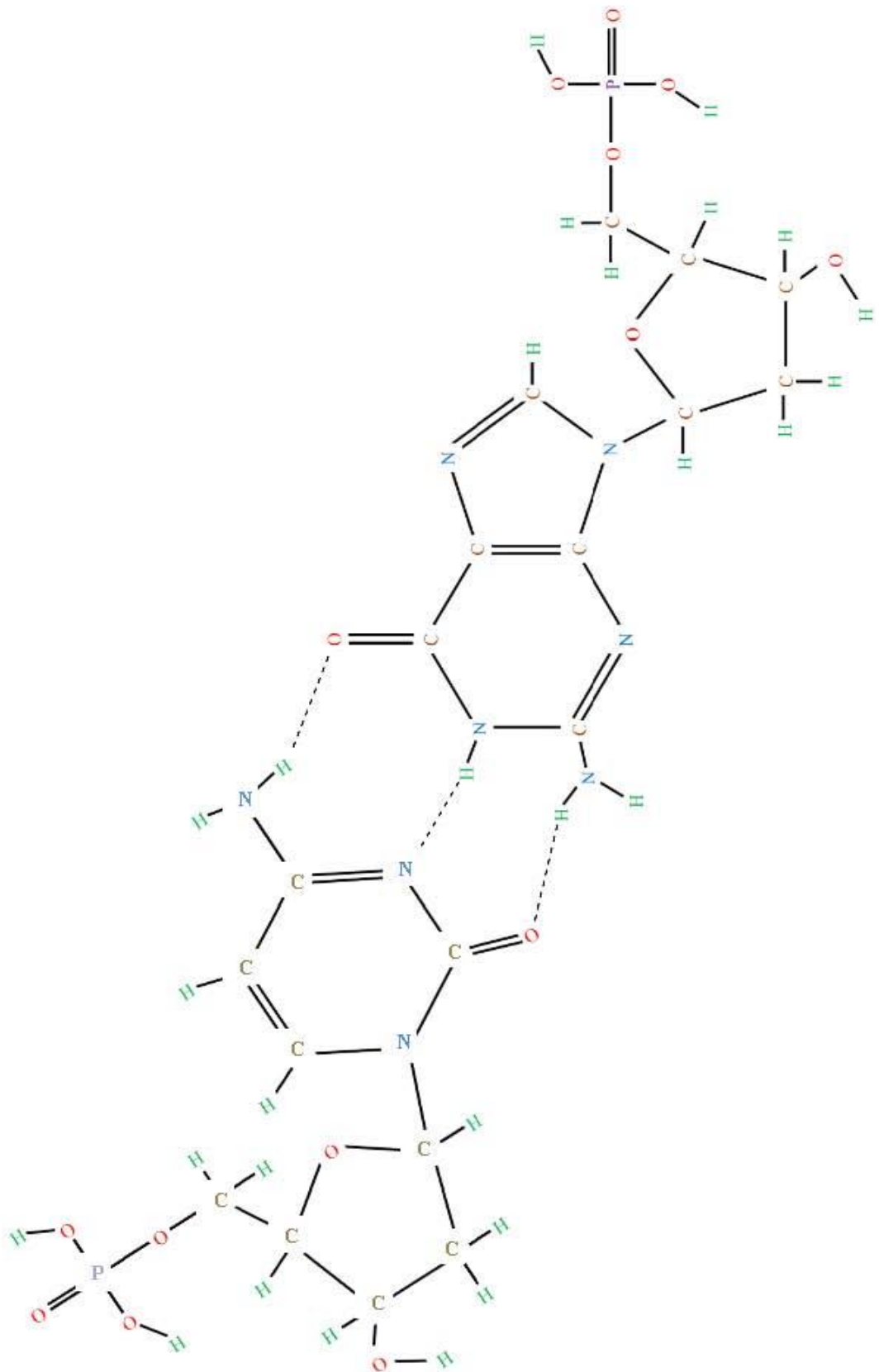


Рис. 2.7. Між основами цитозину та гуаніну може утворитися потрійний водневий зв'язок.

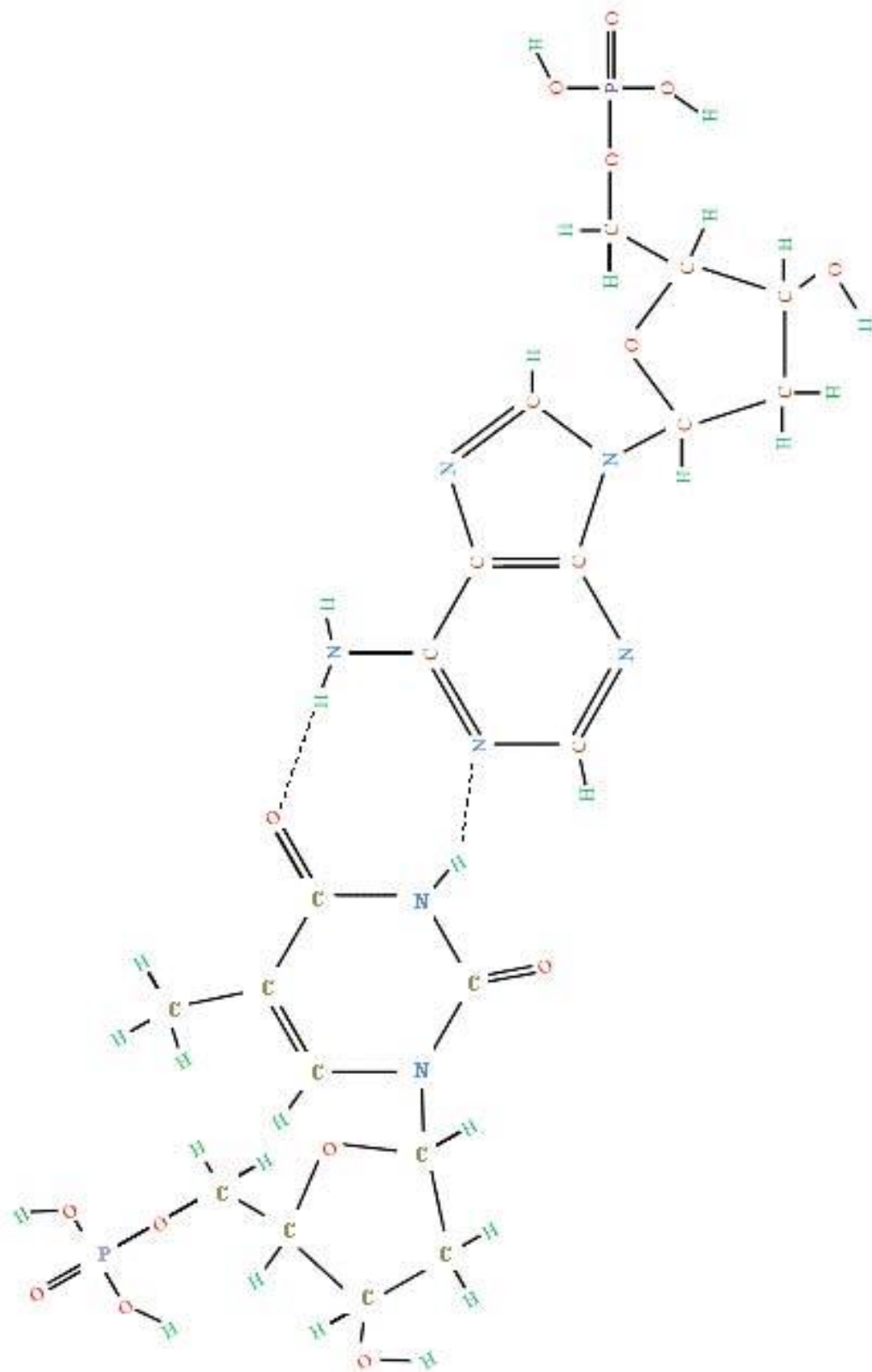


Рис. 2.8. Молекули аденіна і тиміну утримуються разом подвійним водневим зв'язком.

Структуру подвійної спіралі можна побачити на рис. 2.5., де розміри також вказані. Як видно, діаметр спіралі становить 20 \AA , тобто $2 \text{ нм} = 2 \cdot 10^{-9}$ метрів. Сусідні пари основ знаходяться на відстані $3,4 \text{ \AA}$. У десяти парах основ молекула утворює повну спіраль, саме тому завдяки своїй просторовій структурі ланцюг ДНК може бути зв'язаний лише з іншим ланцюгом протилежного напрямку. На рисунку 2.6. показана структура подвійної спіралі, побудована з відповідних (доповнюючих) пар основ. Схематично у двох вимірах це рис. 2.9., де комплементарність Ватсона-Крика повинна бути задоволена. Подібним чином може бути представлена РНК, у якій дві ланцюги зв'язані між собою воднем (рис. 2.10.) або змішана ланцюг з однією ланцюгом ДНК, а іншою з РНК.

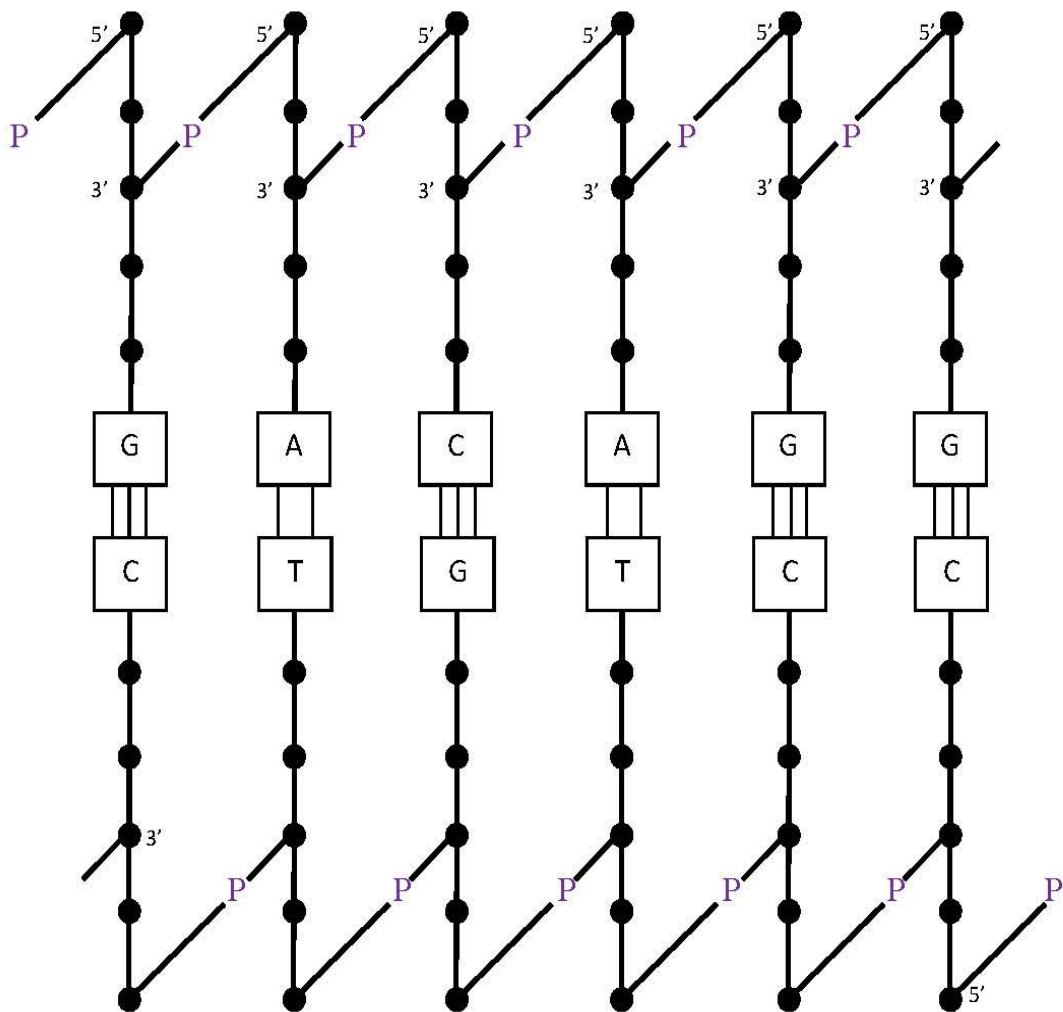


Рис. 2.9. Дволанцюгова ДНК схематично.

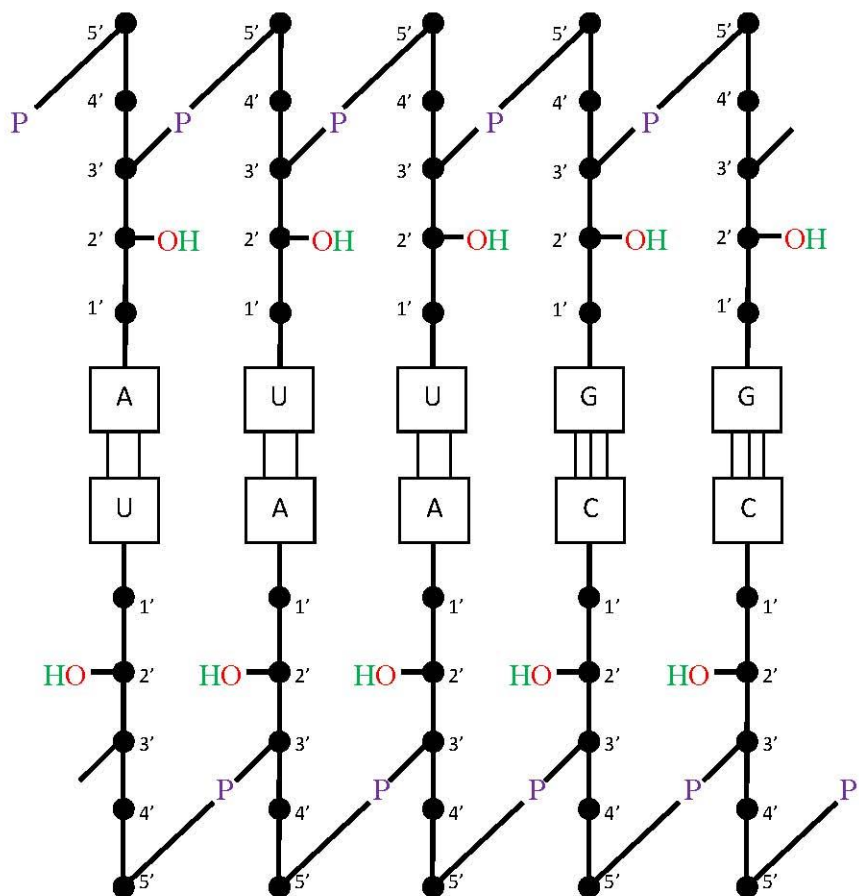


Рис. 2.10. Схематичне зчеплення двох ланцюгів РНК.

Таким чином, дволанцюгова ДНК складається з двох частин одноланцюгової ДНК, які зв'язані водневим зв'язком через пари Ватсона-Крика, утворені з основ.

Симетрія кожної пари основ дозволяє їм вписатися в подвійну спіраль двома способами ($A = T$; $T = A$; $G \equiv C$; $C \equiv G$); Таким чином, уздовж будь-якого даного ланцюга ДНК усі чотири бази можуть існувати у всіх можливих послідовних перестановках. З цієї причини, через специфічне сполучення основ, якщо ми знаємо послідовність одного ланцюга (наприклад, TCGCATT), ми також знаємо послідовність іншого ланцюга (AGCGTAA). Протилежна

послідовність називається комплементом, а відповідний полінуклеотидний партнер - комплементарною ланцюгом.

Чим сильніша пара C G, тим міцніший зв'язок між двома ланцюгами, оскільки між ними існує потрійний водневий зв'язок, на відміну від подвійного зв'язку іншої можливої пари.

Як видно із огляду літератури, біополімерні молекули ДНК і РНК мають важливе значення не лише в живій природі, але і для розробки нових інформаційних технологій.

РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ОПРОМІНЕННЯ НА БІОМОЛЕКУЛИ.

Фізичний вплив вторинних електронів, які виникають у значній кількості в результаті дії первинного високоенергетичного випромінювання на речовину [5,6], ініціює процеси дисоціативного захоплення, збудження та іонізації молекул азотистих основ нуклеїнових кислот (аденін, тимін, гуанін, урацил та цитозин), які, у свою чергу, запускають ланцюг деструктивних змін у генетичних макромолекулах ДНК і РНК.

Пріоритетні дослідження взаємодії повільних електронів з біомолекулами нуклеїнових кислот розпочались в Ужгородському університеті ще кілька десятків років тому. На сьогодні отримано багато важливих експериментальних і теоретичних результатів, які підтверджують значення не лише високих енергій, але й низькоенергетичних резонансних впливів.

Важливим фізичним процесом в опроміненних молекулах є утворення іонів – позитивних і негативних. У роботах [14-16] приведені експериментальні результати вивчення процесів іонізації молекулярних компонентів нуклеїнових кислот при дії повільних електронів.

Отримані дані про парціальні перерізи утворення іонів найбільш ймовірних фрагментів молекул тиміну при енергії бомбардуючих електронів 95 еВ приведені у табл. 1, де m/z – маса молекулярного фрагменту в атомних одиницях маси; σ - величини перерізів утворення іонних фрагментів молекул [14-16].

Аналіз таблиць показує, що утворення молекулярних іонів є переважаючим процесом (перерізи за порядком величини 10^{-16} см²), що свідчить про достатню стійкість досліджуваних основ до електронного удару. Це дуже значимий факт для такої складної молекули, як тимін, коли найбільший парціальний переріз іонізації характеризує утворення молекулярного іону. Багато складних молекул не мають стійких молекулярних іонів.

Найбільші перерізи утворення іонних фрагментів характерні для груп: $C_3H_4N_2^+$, $C_4H_5NO^+$, $C_3H_3NO^+$, $C_3H_5N^+$, $C_2H_3N^+$, $C_2H_2N^+$, $CH_2N_2^+$, $C_3H_3O^+$, CO^+ , CNO^+ . Більшість іонних фрагментів молекул характеризуються значно меншими перерізами утворення $\sim(10^{-17}-10^{-18})$ см². Для найбільш інтенсивних та добре розділених мас-спектральних ліній були виміряні енергетичні залежності перерізів утворення іонних фрагментів (рис.3.1). Як свідчать приведені дані, енергетичні залежності перерізів утворення молекулярних іонів, в загальних рисах (пороги іонізації, енергії максимумів), подібні до енергетичних залежностей повних перерізів іонізації. Натомість, для заряджених фрагментів молекул енергетичні пороги їх утворення та положення максимальних перерізів зсуваються в область більш високих енергій.

Абсолютні величини перерізів утворення позитивних іонів молекул тиміну та їх фрагментів при енергії електронів 95 Ев) [14].

m/z	Іони	$\sigma, 10^{-16} \text{ см}^2$
126	$C_5H_6N_2O_2^+$	2,5
83	$C_4H_5NO^+$	0,4
81	$C_4H_3NO^+$	0,23
70	$C_2NO_2^+; C_3H_4NO^+$	0,63
69	$C_3H_3NO^+$	0,25
56	$C_2H_2NO^+; HNO^+$	0,3
55	$C_2H_3N_2; C_3H_3O^+; C_3H_5N; C_2^+$	1,1
53	$C_3H_3N^+$	0,23
52	$C_3H_2N^+$	0,43
43	$CHNO^+$	0,33
42	$CNO^+; CN_2H_2^+$	0,5
41	$C_2H_3N^+; CHN_2^+$	0,35
40	$C_3H_4^+; C_2NH_2^+$	0,45
39	$C_3H_3^+; C_2NH^+$	1,0
38	$C_3H_2^+; C_2^+N$	0,55
37	C_3H^+	0,6
29	COH^+	0,23
28	$CO^+; CH_2N^+$	1,0
27	$C_2H_3^+$	0,2
26	$C_2H_2^+$	0,13
18	H_2O^+	0,23
17	OH^+	0,17
16	O^+	0,2

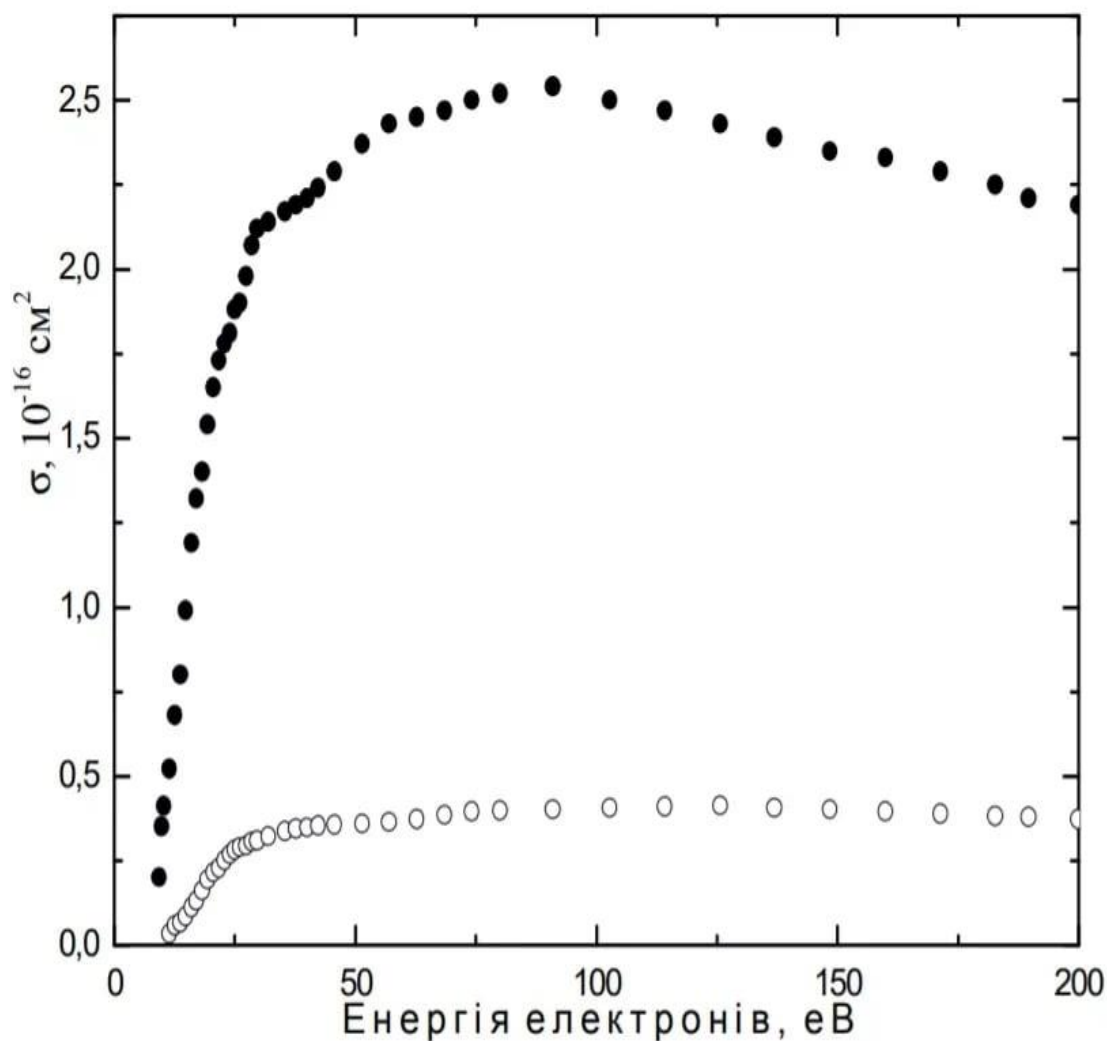


Рис.3.1. Залежність абсолютної величини перерізу утворення позитивних іонів тиміну від енергії електронів: ○ – молекулярний іон; ● – іонний фрагмент $C_4H_5NO^+$ ($m/z = 83$) [14].

Інтерес до експериментального вивчення процесів непружного розсіяння електронів біомолекулами зумовлений, в першу чергу, важливістю проблеми внутріклітинного опромінення біоструктур вторинними електронами, які утворюються у значній кількості в речовині при дії випромінювання різних видів. Більшість вторинних електронів є низькоенергетичними (повільними) з енергіями від долей до десятків eV. Саме з повільними електронами пов'язують, на сьогодні, основну частину

деструктивних змін на молекулярному рівні біоструктур. При цьому головною мішенню стають генетичні макромолекули.

Визначення абсолютних значень перерізів утворення позитивних іонів, дозволяє провести якісні оцінки процесів, які мають місце у біомолекулах. Зокрема, переріз іонізації біомолекул за величиною майже на порядок більший від перерізу іонізації молекул води H_2O ($\times 10^{-16}$ до $1,5 \text{ см}^2$, згідно [5-8]), на долю яких припадає $\sim 70\%$ маси живих клітин. Звідси випливає, що протекуючі властивості молекул води щодо азотистих основ за іонізаційним критерієм в умовах клітини будуть виражені не досить істотно [9,14-16].

Іонізація нуклеотидних основ, а особливо дисоціативна іонізація, під впливом вторинних низькоенергетичних електронів, у свою чергу, приводитимуть до структурних і функціональних зрушень у живих клітинах. Насамперед слід очікувати порушень стабільності системи водневих зв'язків між комплементарними парами основ, генотоксичних і мутагенних змін. Не виключений вплив на енергетику клітини, на протонні транспортні системи.

Природний енергетичний стан цих біомолекул забезпечує стабільність зв'язків у комплементарних парах макромолекул, синтез білків і регуляторні процеси на молекулярному і клітинному рівнях, а також функціонування нуклеїнових кислот як генетичних носіїв. Зміни (мутації), які виникають внаслідок опромінення молекули ДНК, а також їх наслідки, є процесом непередбачуваним і результати такої взаємодії проявляються лише через деякий час (наступні покоління).

РОЗДІЛ 4. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

4.1. УТВОРЕННЯ ПОЗИТИВНИХ ІОНІВ ТИМІНУ

У роботах [14-16] приведені експериментальні результати вивчення процесів утворення позитивних і негативних іонів молекулярних компонентів нуклеїнових кислот при дії повільних електронів. Ці дані використані у нашій дипломній роботі для теоретичних розрахунків, метою яких є моделювання найбільш імовірних напрямків фрагментації біомолекул при опроміненні.

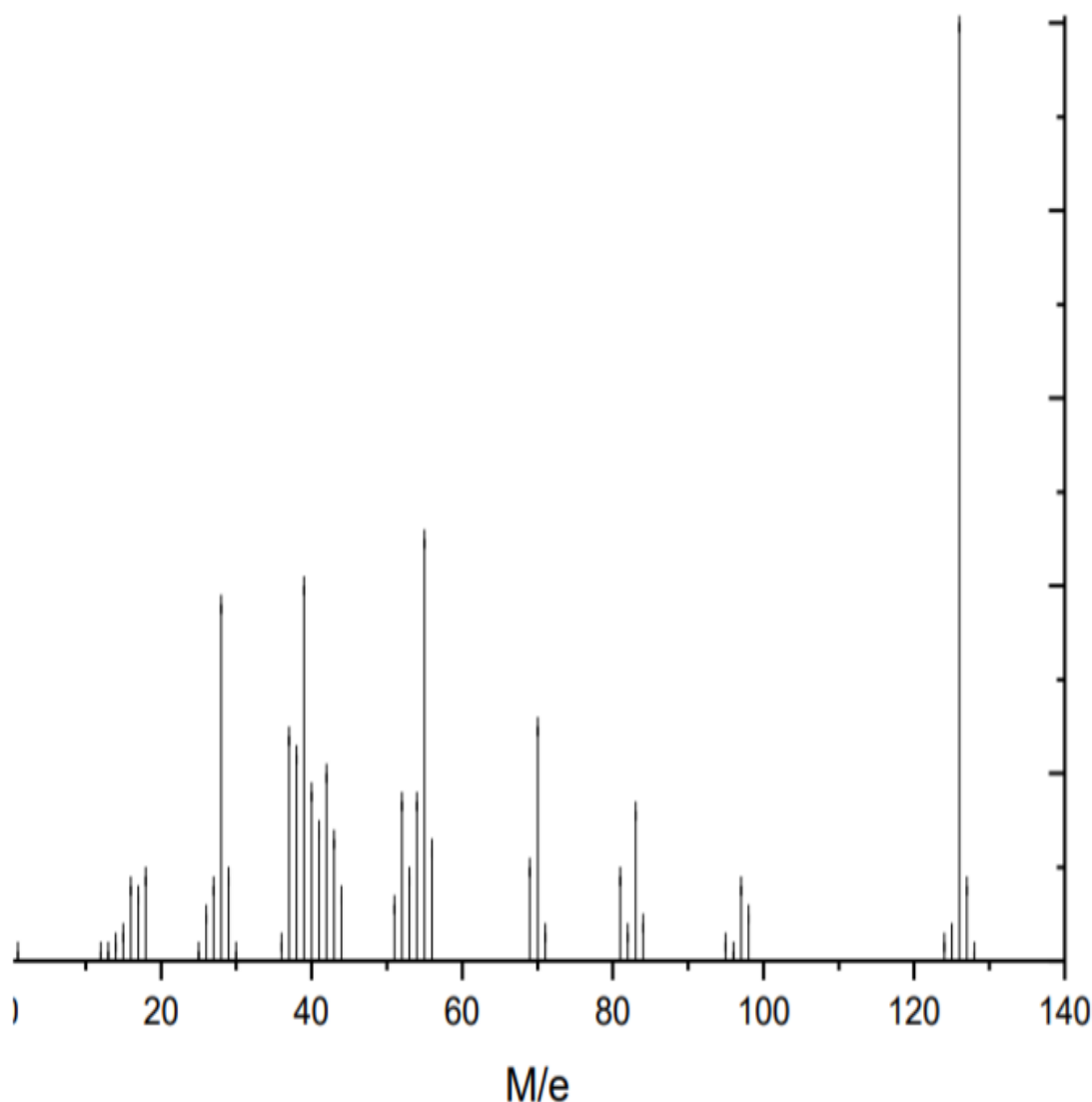


Рис.4.1. Масс-спектр тиміну при енергії 95 eV.

На початковому етапі даної роботи було вивчено та ідентифіковано мас-спектр молекул тиміну. Видно, що найбільш інтенсивна лінія з $[m/z = 126]$ належить молекулярному іону тиміну, інші заряджені фрагменти характеризуються менш інтенсивними лініями.

4.2. МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСІВ ІОНІЗАЦІЇ ТИМІНУ

Моделювання процесів утворення позитивно заряджених фрагментів, які представлені в мас-спектрі тиміну, було виконано за допомогою квантово-механічного методу AM1 [17]. Цей метод входить в пакет програм HyperChem 8.0.7. Пакет містить високотехнологічні сервісні програми, які забезпечують можливість квантово-хімічного розрахунку параметрів хімічних частинок речовини методами неемпіричної і напівемпіричної квантової хімії. Метод AM1 є поліпшенням методу MNDO – одного із найбільш точних методів. Використовується для органічних молекул, що містять елементи з головних підгруп 1-ої і 2-ої груп періодичної системи. Цей метод дозволяє одержувати більш якісні результати у порівнянні з методом MNDO, а також коректні результати для великих органічних молекул при розрахунках електронних характеристик системи і ентальпій утворення. Метод AM1 – метод самоузгодженого поля для молекул, які містять як азот, так і кисень. Розраховує електронну структуру, оптимізує геометрію, розраховує повну енергію і теплоту утворення. Метод самоузгодженого поля – багатоконфігураційний підхід, спрямований на подолання відомих труднощів у розрахунках молекул з високою симетрією. Нижче будуть приведені результати наших теоретичних розрахунків розподілу густин електричних зарядів і визначені довжини зв'язків у молекулі та позитивному молекулярному іоні тиміну (див. Рис.4.2; Рис.4.3). Розрахунках були виконані, використовуючи метод AM1 в режимі оптимізації всіх структурних параметрів з нормою градієнта $< 0,01$.

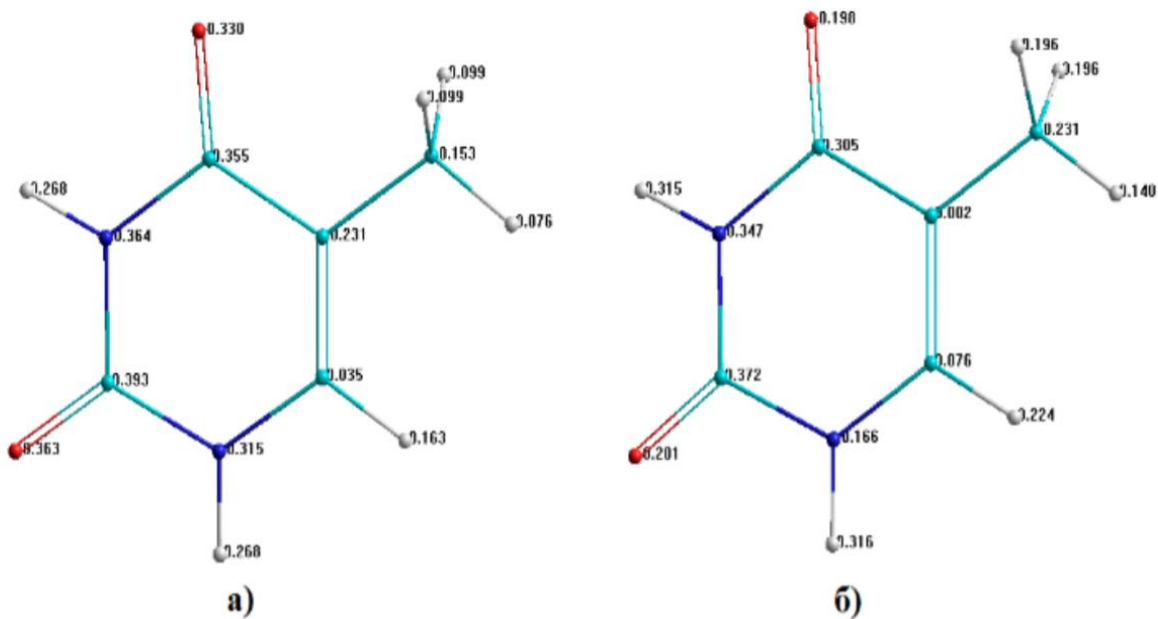


Рис. 4.2. Розподіл зарядів у нейтральній молекулі та позитивному молекулярному іоні тиміну (а – нейтральна молекула, б – позитивний молекулярний іон).

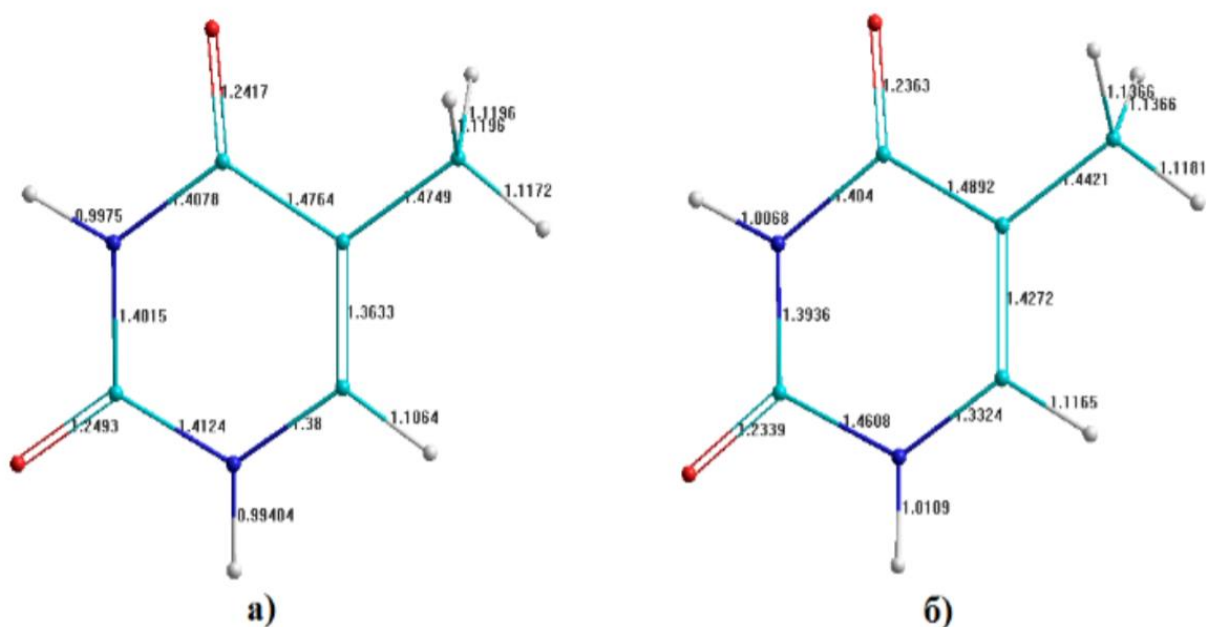


Рис. 4.3. Розподіл довжин зв'язків у нейтральній молекулі та позитивному молекулярному іоні тиміну. Довжини зв'язків показані в ангстремах (А) (а – нейтральна молекула, б – позитивний молекулярний іон).

Розглянемо найбільш ймовірні варіанти фрагментації. Очевидно, що ймовірність утворення того чи іншого позитивно зарядженого фрагменту тиміну буде пропорційний відносній інтенсивності ліній в мас-спектрі тиміну. При цьому будемо вважати, що сумарна інтенсивність всіх ліній мас-спектру становить одиницю.

Для фрагментації молекулярного іону необхідним є одночасний розрив принаймні двох зв'язків у кільцевій структурі молекулярного іона тиміну (див. Рис.4.3). Основна ідея моделі утворення зарядженого фрагменту полягає у тому, що розрив зв'язків найбільш ймовірно відбувається у тих місцях, де сума довжин зв'язків є найбільшою (сила взаємодії найменша). В таблиці 1 приведений перелік сумарних довжин двох зв'язків в молекулярному іоні тиміну.

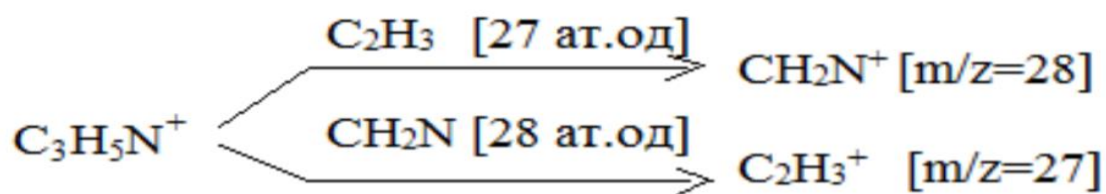
Таблиця 2

Фрагментація та розриви зв'язків у молекулі тиміну при взаємодії з електроном.

Номер розриву	Зв'язок	Сума зв'язків	Позитивно заряджений фрагмент	Нейтральний фрагмент
1	N1 – C2 C4 – C5	2.9499	$C_3H_5N^+$	C_2HNO_2
2	N3 – C4 C4 – C5	2.8931	CO^+	$C_4H_6N_2O$
3	C5 – C6 N1 – C2	2.8878	CH_2N^+	$C_4H_4NO_2$
4	C5 – C6 N3 – C4	2.831	$C_3H_3O^+$	$C_2H_3N_2O$
5	N1 – C2 N3 – C4	2.8644	$CHNO^+$	C_4H_5NO

6	C4 – C5 C5 – C6	2.9165	$C_2H_3^+$	$C_3H_3N_2O_2$
---	--------------------	--------	------------	----------------

Як видно із табл.2, найбільша сумарна довжина зв'язків спостерігається по лінії розриву – 1. У цьому випадку молекулярний іон втрачає нейтральний фрагмент C_2HNO_2 утворюючи заряджений фрагмент $C_3H_5N^+$ [$m/z = 55$]. Цьому фрагменту відповідає друга по інтенсивності лінія у мас-спектрі тиміну (див.Рис.4.1). В подальшому $C_3H_5N^+$ маючи надлишок внутрішньої енергії розпадається, втрачаючи при цьому нейтральні фрагменти C_2H_3 та CH_2N , за схемою:



Лінія з [$m/z=28$] є четвертою за інтенсивністю у мас-спектрі тиміну.

При розриві зв'язків N3 – C4; C4 – C5 молекулярний іон втрачає нейтральний фрагмент $C_4H_6N_2O$ і продукує заряджений фрагмент CO^+ [$m/z=28$], якому відповідає інтенсивна лінія в мас-спектрі. Розрив зв'язків C5 – C6; N3 – C4 супроводжується втратою нейтрального фрагмента $C_2H_3N_2O$ у молекулярному іоні із утворенням зарядженого фрагменту $C_3H_3O^+$. Інтенсивна лінія з [$m/z=55$] відповідає сумі чотирьох заряджених фрагментів: $C_2H_3N_2^+$; $C_3H_3O^+$; $C_3H_5N^+$ та C_2HNO^+ . Утворення якого із цих фрагментів є найбільш ймовірним? Відповідь на це запитання дає аналіз довжин зв'язків у молекулярному іоні. А саме – розрив зв'язків C4 – C5; C5 – C6 приводять до утворення фрагмента $C_3H_3O^+$. Отже, найбільш імовірним є утворення саме цього фрагменту. Розрив N1 – C2; N3 – C4 приводить до втрати молекулярним іоном нейтрального фрагменту і утворення зарядженого фрагменту $CHNO^+$ [$m/z=43$]. Відповідна лінія спостерігається у мас-спектрі.

Сума довжин зв'язків C4 – C5; C5 – C6 є другою за величиною в табл.2. При цьому молекулярний іон втрачає нейтральний фрагмент $C_3H_3N_2O_2$ і продукує заряджений фрагмент $C_2H_3^+$ [$m/z=27$]. Дивним є той факт, що відповідна цьому фрагменту лінія в мас-спектрі є незначної інтенсивності. Логічне пояснення такої невідповідності (велика сума зв'язків – слабка лінія) полягає в наступному: розриви №1 та №6 (див.табл.1) в молекулярному іоні є конкурентними. Тому найбільш імовірним буде розрив №1, так як сума довжин відповідних зв'язків є найбільшою.

Важливо, що математичне моделювання фрагментації біомолекули дає можливість розділити утворення двох позитивно заряджених фрагментів тиміну, які мають однакове відношення m/z .

ВИСНОВКИ

1. Опрацьована наукова література про структуру і функції нуклеїнових кислот. Проаналізовано вплив випромінювання на біомолекули.
2. Методом AM1, який входить в пакет програм HyperChem 8.0.7., виконані розрахунки довжин зв'язків та густин зарядів у нейтральній молекулі та молекулярному іоні тиміну.
3. Запропонована модель фрагментації молекул тиміну під дією електронів. Виявлено шість найбільш ймовірних розривів зв'язків у циклічній структурі молекулярного іона тиміну. Отримані результати добре узгоджуються з даними експериментальних досліджень.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Боечко Ф. Ф., Боечко Л. О. Основні біохімічні поняття, визначення і терміни. Київ, - 1993.
2. Біологічний словник / За ред. К.М. Ситника, В.О. Топачевського. — К., 1986.
3. Сиволоб А. В. Молекулярна біологія. - К: Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет", - 2008.
4. Глосарій термінів з хімії // Й. Опейда, О. Швайка. Ін-т фізико-органічної хімії та вуглехімії ім. Л. М. Литвиненка НАН України, Донецький національний університет. — Донецьк : Вебер, 2008.
5. Cobut V., Frongillo Y., Patau J.P., Goulet T., Fraser M.-J., Jay-Gerin J.-P.. Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water -- I. physical and physicochemical aspects // Radiat. Phys. Chem. - 1998. - V. 51. - P. 229- 243.
6. Deutsch H. Calculated cross sections for the multiple ionization of neon and silicon atoms by electron impact / H. Deutsch, K. Becker, S. Matt, T. D. Märk // Plasma Phys. Control. Fusion. - 1998. - V. 40. - P. 1721-1727.
7. Deutsch H. A detailed comparison of calculated and measured electron-impact ionization cross sections of atoms using the Deutsch–Mark (DM) formalism / H. Deutsch, P. Scheier, S. Matt-Leubner, K. Becker, T.D. Märk // International Journal of Mass Spectrometry. - 2005. - V. 243. - P. 215–221.
8. Бете Г. Квантовая механика / Ганс Альбрехт Бете; пер. с англ. В.П. Скворцова. – Москва: – Мир, 1965. – 334 с.
9. Inokuti Mitio. Total Cross Sections for Inelastic Scattering of Charged Particles by Atoms and Molecules. I. A Sum Rule for the Bethe Cross Sections and Its Application to the Helium Atom / Mitio Inokuti, Kim Yong-Ki, L. Robert Platzman // Phys. Rev. A. – 1967. – V.164. – P. 55 – 61.
10. Inokuti Mitio. Oscillator-strength moments, stopping powers, and total inelastic-scattering cross sections of all atoms through strontium / Mitio

Inokuti, J.L. Dehmer, T. Baer, J.D. Hanson // *Phys. Rev. A.* – 1981. – V. 23. – P. 95–109.

11. Зон Б.А. Логарифмические точные сечения рассеяния быстрых электронов на атомах / Б.А. Зон, В.Б.Зон // *ЖТФ.* – 2007. – Т. 77. – С. 38–41.

12. Мотт Н. Теория атомных столкновений / Н. Мотт и Г. Меси: пер. с англ. Е.Е. Микитина. – М.: Мир, 1969. – 756 с.

13. Monte Carlo simulation of fast electron and proton tracks in liquid water / [V. Cobut, Y. Frongillo, J. Patau та ін.]. // *I. physical and physicochemical aspects. Radiat. Phys. Chem.* – 1998. – №51. – С. 229–243.

14. Процессы образования положительных и отрицательных ионов молекул тимина, инициируемые медленными электронами / И.И. Шафраньш, М. И. Суховия, М. И. Шафраньш, Л. Л. Шимон. // *ЖТФ.* – 2008. – Т. 78. – №12 – С. 7–11.

15. Резонансне утворення негативних іонів молекул урацилу / М.І.Шафраньш, М. І. Суховія, Л. Л. Шимон, І. І. Шафраньш. // *Науковий вісник Ужгородського університету. Серія фізика.* – 2008. – №23. – С. 85–90.

16. Абсолютное сечение образования отрицательных ионов молекул цитозина электронным ударом / М. И. Шафраньш, М. И. Суховия, Л. Л. Шимон, Л. Л. Шафраньш. // *Письма в ЖТФ.* – 2005. – Т. 78. – №24. – С. 74–77.

17. AM1: A general purpose quantum mechanical molecular model / M. S.Dewar, E. G. Zoebish, E. E. Headly, J. J. Stewart. // *J. Am. Chem. Soc.* – 1985. – Т. 107. – №13. – С. 3902–3909.