

Діелектрометричні дослідження впливу ультрафіолетового випромінювання на водні розчини азотистих основ нуклеїнових кислот

С. О. Чічак, М. І. Суховія, О. О. Кикинеші

Ужгородський державний університет
Вул. Підгірна, 46, Ужгород, 294000, Україна

Досліджено дисперсію діелектричних характеристик азотистих основ нуклеїнових кислот: імпедансу, комплексної діелектричної проникності, тангенса кута діелектричних втрат, ємності. В інтервалі частот 10^2 — 10^6 Гц, отримано діаграми Коул-Коула. Виявлено зміни релаксуючих структур піримідинових основ після дії ультрафіолетового випромінювання.

Вступ. У зв'язку з необхідністю розробки принципово нових, екологічно чистих технологій увага дослідників все частіше звертається на біоорганічні матеріали природного походження. Зараз успішно розвиваються такі перспективні науково-технічні напрямки, як молекулярна електроніка, зокрема біоелектроніка, біосенсорика, що є новим кроком у мікромініатюризації і вдосконаленні електронних пристроїв переробки інформації [1—4]. Унікальним об'єктом, що має властивості квазіоднорізного органічного напівпровідника з відносно легкими переходами «впорядкованість — невпорядкованість» у ґратці, які можуть супроводжуватися нелінійними ефектами, є молекули нуклеїнових кислот [5, 6]. Зрозуміло, що для створення таких біотехнічних пристроїв необхідно мати інформацію про фізичні властивості біополімерів і їх складових, про особливості структури молекул та її залежність від зовнішніх факторів (температури, електромагнітних полів, випромінювання тощо).

Чутливим і надійним способом вивчення структури і динаміки біооб'єктів є діелектричні виміри, здійснювані в широкому частотному діапазоні. Вони дозволяють отримати дані про розміри, ступінь гідратації молекул, впорядкованість їхньої структури, конформаційні перетворення, міжмолекулярні взаємодії, цілісність мембран, життєздатність клі-

тин і біотканин [7—11]. Практичне використання електромагнітних полів у медицині (наприклад, для магнітнорезонансної терапії [12], імпедансної томографії [13]) і проблема захисту від випромінювань [14] також вимагають розуміння механізмів взаємодії електромагнітних полів з організмами, аналізу електричних властивостей біологічних об'єктів та їхньої залежності від факторів середовища.

У даній роботі наведено результати досліджень електричних параметрів азотистих основ нуклеїнових кислот і їхніх змін при дії ультрафіолетового (когерентного і некогерентного) випромінювання.

Матеріали і методи. В роботі використано препарати азотистих основ нуклеїнових кислот фірми «Reanal» (Угорщина). Для проведення дослідів готували розчини основ на бідистильованій воді, 50—100 мкг/мл, рН 6,9—7,1. Для порівняння досліджували також препарати сублімованих у вакуумній камері основ при температурах 370—400 К і тиску 1,1 мПа. Контроль однорідності препаратів здійснювали спектрофотометричним і діелектричним методами.

Джерелами ультрафіолетового (УФ) випромінювання були азотний лазер ЛГІ-21 і воднева лампа ДВС-25. Характеристики азотного лазера: довжина хвилі $\lambda = 337$ нм, тривалість імпульсу $7 \cdot 10^{-9}$ с, частота 100 Гц, імпульсна і середня потужності 1,6 кВт і 3 мВт відповідно. Діапазон роботи водневої лампи в УФ області 200—350 нм.

Інтенсивність випромінювання лазера становила $1,2 \cdot 10^2$ Вт/м², лампи — $0,2 \cdot 10^3$ Вт/м². Досліджувані розчини опромінювали у кварцевих кюветках протягом 10—30 хв.

Діелектричні виміри проводили на установці, яка складалася з моста змінного струму, нуля-індикатора та генератора синусоїдальних електричних коливань. Діапазон частот 10^2 — 10^6 Гц. Розчини нуклеотидних основ знаходилися у спеціально сконструйованій електродній камері з екрануванням. Камера містила пластини з органічного скла, які плоско-паралельно рухалися одна відносно одної з одночасною фіксацією віддалі. У нижній пластині було сферичне заглиблення для розміщення досліджуваного об'єкта, до верхньої пластини підводили електроди діаметром 100 мкм, виготовлені з платини. Відстань між електродами 3 мм. У даному частотному діапазоні визначали електричні характеристики для неопромінених (контрольних) і опромінених розчинів нуклеотидних основ. Паралельно ті ж параметри вимірювали для розчинника (води).

Результати та обговорення. В роботі вивчено дисперсійні залежності основних електричних характеристик водних розчинів азотистих основ нуклеїнових кислот, оцінено розміри надмолекулярних утворень, що релаксують, проаналізовано зміни структури молекул під дією УФ випромінювання — когерентного (лазер, $\lambda = 337$ нм) і некогерентного (лампа, $\lambda = 260$ і 337 нм).

У частотному діапазоні 10^2 — 10^6 Гц експери-

ментально виміряно електропровідність G та ємність C розчинів. За відомими співвідношеннями (див., наприклад, [15]) визначено імпеданс Z , діелектричну проникність ϵ та тангенс кута діелектричних втрат $\text{tg } \delta$ досліджуваних об'єктів.

Імпеданс, або комплексний опір системи, визначається, як

$$Z = \frac{1}{G} + iX,$$

де $i = \sqrt{-1}$, X — реактивний опір: $X = 1/\omega C$.

У загальному випадку діелектрична проникність ϵ комплексною величиною [16]:

$$\epsilon = \epsilon' + i\epsilon'' = \epsilon_\infty + (\epsilon_s - \epsilon_\infty)/(1 + i\omega\tau),$$

де ϵ' — дійсна частина діелектричної проникності; ϵ'' — коефіцієнт діелектричних втрат; ϵ' і ϵ'' залежать від частоти ω . При $\omega = 0$, тобто в постійному полі, $\epsilon'' = 0$ і ϵ' дорівнює статичній діелектричній проникності ϵ_s .

Тангенс кута діелектричних втрат $\text{tg } \delta = \epsilon''/\epsilon'$.

На рис. 1 показано дисперсію тангенса кута діелектричних втрат для розчинів цитозину і гуаніну. Як видно з графіків, у діапазоні 10^2 — 10^6 Гц існують певні частоти, при яких спостерігається максимальне поглинання енергії електромагнітного поля молекулами. Для контрольних зразків цитозину і гуаніну це частота ≈ 5 кГц. Причому для цитозину положення максимуму тангенса кута діелектричних втрат змінюється при УФ опроміненні. Аналогічна залежність спостерігалася і для

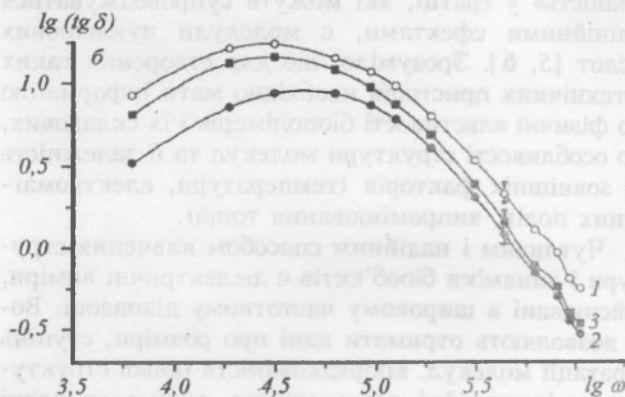
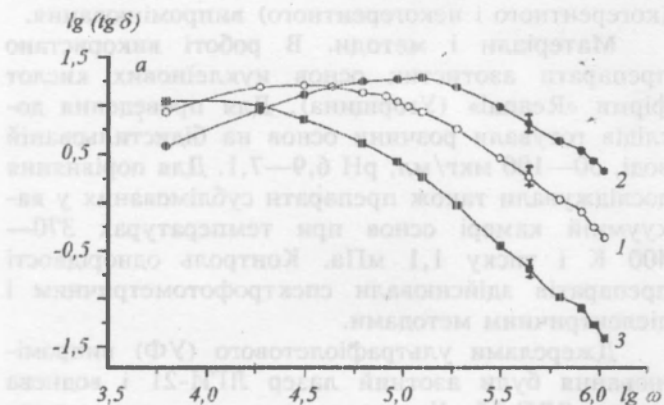


Рис. 1. Дисперсія тангенса кута діелектричних втрат $\text{tg } \delta$ одного розчину цитозину (а) і гуаніну (б): 1 — контроль; 2 — опромінення УФ, $\lambda = 260$ нм; 3 — опромінення УФ, $\lambda = 337$ нм

3-метилурацилу. Загалом у піримідинових основах цей ефект вираженіший, ніж у пуринових. З ростом частоти змінного струму нелінійно зменшуються імпеданс, ємність і діелектрична проникність усіх досліджуваних зразків. Приклад дисперсійної залежності ємності розчину 3-метилурацилу наведено на рис. 2. Як видно, в області частот 10^3 — 10^4 Гц спостерігається плавний перехід між різними видами дисперсії (від α -дисперсії до β -дисперсії). У загальному випадку цей перехід зумовлений зменшенням ефекту поверхневої поляризації і появою об'ємної поляризації з меншим часом релаксації [15].

Додаткову інформацію про області дисперсії можна отримати, побудувавши за експерименталь-

ними даними функціональні залежності уявної частини комплексної діелектричної проникності від дійсної: $\epsilon'' = f(\epsilon')$ — так звані діаграми Коул-Коула. Для цитозину і гуаніну відповідні графіки представлено на рис. 3. Відхилення форми діаграм від ідеального кола з центром на осі абсцис («скошена дуга») свідчить про те, що тут мають місце кілька простих областей дисперсії з різними релаксацийними параметрами. Причому кожній простій області дисперсії відповідає певна нормальна реакція, активна в діелектричному спектрі, тобто така, що сприяє дипольній поляризації системи при накладанні зовнішнього поля. Діаграми Коул-Коула в цьому випадку наближено описуються емпіричним рівнянням Девідсона-Коула [16]:

$$\frac{\epsilon_s - \epsilon_\infty}{\epsilon_s - \epsilon_\infty} = \frac{1}{(1 + i\omega\tau)^b}$$

де b — емпіричний параметр, не залежний від частоти; τ — час релаксації; $\epsilon_s - \epsilon_\infty = R$ — релаксацийна сила. Остання характеризує вплив релаксацийного процесу на діелектричну проникність рідини і визначається будовою рідини. Зокрема, асиметричні діаграми комплексної діелектричної проникності, наведені на рис. 3, свідчать про те, що в даному частотному діапазоні реалізуються одночасно області дисперсії, часи релаксації яких близькі за порядком величин, але різні релаксацийні сили.

Згідно з загальною теорією релаксацийних явищ [16, 17], для поляризації системи сприятливими, тобто діелектрично проявлюваними, є лише такі процеси, які супроводжуються змінами моментів електричних диполів середовища. В розчинах — це реакції асоціації і комплексоутворення за участю полярних молекул, реакції перерозподілу

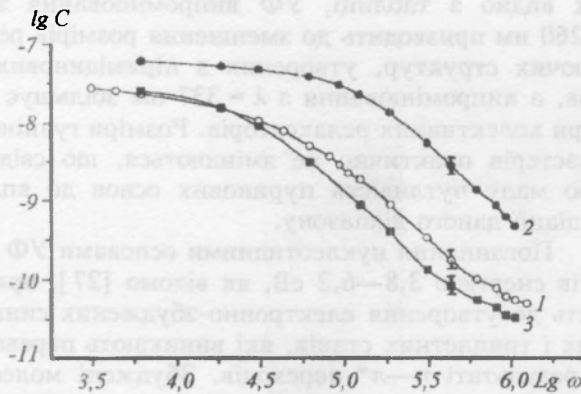


Рис. 2. Частотна залежність ємності C водного розчину метилурацилу: 1 — контроль; 2 — опромінення УФ, $\lambda = 260$ нм; 3 — опромінення УФ, $\lambda = 337$ нм

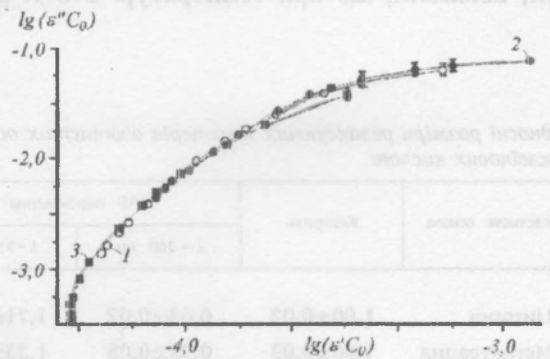
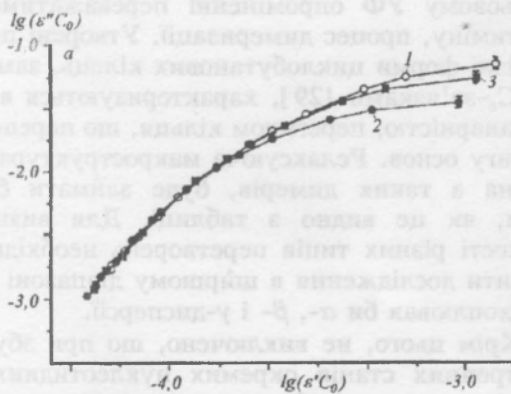


Рис. 3. Діаграми Коул-Коула для водного розчину цитозину (а) і гуаніну (б): 1 — контроль; 2 — опромінення УФ, $\lambda = 260$ нм; 3 — опромінення УФ, $\lambda = 337$ нм

асоціатів, формування димерів, тримерів і вищих структур та певні конформаційні перетворення молекул. Важливо, що всі ці процеси, які призводять до діелектричної релаксації, можуть відбуватися і з участю нуклеотидних основ. Так, утворення асоціатів і комплексів, стабілізованих слабкими взаємодіями — водневими, гідрофобними, ван-дер-ваальсовими, у водних розчинах основ описано в роботах [18, 19]. Відомо також, що при кристалізації основи формують за допомогою водневих зв'язків плоско-паралельні шари [20]. Особливий інтерес викликає виявлена нещодавно [21—23] динамічна стереоізомерія біомолекул, зумовлена нежорсткістю і непланарністю структури канонічних нуклеотидних основ, що містять у своєму складі аміногрупу. Така нежорсткість молекул супроводжується значною дипольною нестійкістю і може проявлятися у вигляді ангармонійних коливань, що підтверджено і експериментально [24]. Звичайно, кожен із цих процесів буде домінуючим у певному частотному інтервалі, однак може мати місце суперпозиція релаксаційних сил, взаємовплив і перекривання діапазонів, своєрідний спектр часів релаксації. Наприклад, форма і розміри кластерів, релаксуючих в області 10^4 — 10^6 Гц, елементами яких є мономерні молекули азотистих основ і молекули води, без сумніву, визначатимуться і структурною нежорсткістю основ, їхньою агрегаційною мінливістю. Утворення асоціатів молекул, як показано в [21], повинно супроводжуватися їхньою деформацією, взаємодією внутрішніх і міжмолекулярних коливань і, як наслідок, релаксацією керованої енергії на зовнішні ступені свободи.

За положенням максимумів релаксаційних втрат відносно шкали частот можна оцінити розміри надмолекулярних утворень, які релаксують у цьому діапазоні. Розрахунки, які базуються на емпіричних співвідношеннях [8, 15] з урахуванням дифузної орієнтаційно-обертальної взаємодії молекул, показали, що при температурі 293 К розміри

релаксаторів у досліджуваних препаратах азотистих основ лежать у межах $(2,2—2,4) \cdot 10^7$ м. Використавши дані літератури [18, 25] про геометричні параметри молекул основ, можна показати, що кількість молекул піримідинових основ в релаксуючій структурі становить $\sim 10^2$.

При опроміненні ультрафіолетом розміри релаксаторів і відповідно кількість їхніх мономерних складових змінюються. Цей ефект залежить від типу азотистої основи і від довжини хвилі УФ випромінювання. Причому когерентність малопотужного лазерного випромінювання при довжині хвилі 337 нм не відіграє особливої ролі, що узгоджується з результатами, отриманими раніше в роботі [26] для макромолекул ДНК. У таблиці наведено відносні розміри релаксуючих кластерів досліджуваних молекул при опроміненні різними довжинами хвиль некогерентного ультрафіолету. Як видно з таблиці, УФ випромінювання з $\lambda = 260$ нм призводить до зменшення розмірів релаксуючих структур, утворених з піримідинових основ, а випромінювання з $\lambda = 337$ нм збільшує розміри колективних релаксаторів. Розміри гуанінових кластерів практично не змінюються, що свідчить про малу чутливість пуринових основ до впливу радіації даного діапазону.

Поглинання нуклеотидними основами УФ квантів енергією 3,8—6,2 еВ, як відомо [27], призводить до утворення електронно-збуджених синглетних і триплетних станів, які виникають переважно в результаті π — π^* -переходів. Збуджені молекули можуть вступати в різні фотохімічні реакції, з яких найкраще вивчено реакцію фотодимеризації тиміну [28]. Наведені вище результати підтверджують, що в молекулах цитозину і метилурацилу УФ випромінювання з $\lambda = 260$ нм, у першу чергу, викликає деградацію — окислення, дезамінування, розщеплення піримідинових кілець. При більш довгохвильовому УФ опроміненні переважатиме, як і для тиміну, процес димеризації. Утворені при цьому різні форми циклобутанових кілець, замкнених C_5 — C_6 -зв'язками [29], характеризуються великою непланарністю, перегином кільця, що перешкоджає стекінгу основ. Релаксуюча макроструктура, сформована з таких димерів, буде займати більший об'єм, як це видно з таблиці. Для визначення кількості різних типів перетворень необхідно продовжити дослідження в ширшому діапазоні частот, що охоплював би α -, β - і γ -дисперсії.

Крім цього, не виключено, що при збудженні електронних станів окремих нуклеотидних основ внаслідок певних вібронних взаємодій, викликаючих деформацію остова молекул, також може виникати дипольна нестабільність і відповідно зміни

Відносні розміри релаксуючих кластерів азотистих основ нуклеїнових кислот

Азотиста основа	Контроль	УФ опромінення	
		$\lambda = 260$ нм	$\lambda = 337$ нм
Цитозин	1,00±0,02	0,63±0,02	1,71±0,07
Метилурацил	1,00±0,03	0,75±0,03	1,33±0,05
Гуанін	1,00±0,03	0,90±0,04	1,98±0,04

діелектричної проникності [16, 30]. Однак для діелектричного проявлення ефекту Яна-Теллера необхідно реалізувати дещо іншу схему експерименту, яка б передбачала одночасну дію електромагнітного поля і УФ опромінення.

С. А. Чичак, М. І. Суховія, А. А. Кикинеші

Диэлектрические исследования воздействия ультрафиолетового излучения на водные растворы азотистых оснований нуклеиновых кислот

Резюме

Исследована дисперсия диэлектрических характеристик азотистых оснований нуклеиновых кислот: импеданса, комплексной диэлектрической проницаемости, тангенса угла диэлектрических потерь, емкости. В интервале частот 10^2 — 10^6 Гц получены диаграммы Коул-Коула. Выявлено изменение релаксирующих структур пиримидиновых оснований после воздействия ультрафиолетового излучения.

S. A. Chichak, M. I. Sukhoviya, A. A. Kikineshi

Dielectric investigations of the ultraviolet radiation effect on the water solutions of nucleic acid bases

Summary

Dispersion of the dielectric properties of nucleic acid bases: impedance, complex dielectric constants, dielectric losses, capacity are studied. Cole-Cole diagrams are obtained in the frequency range 10^2 — 10^6 Hz. The variation of the relaxation structures of pyrimidine bases are shown under the ultraviolet radiation influence.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Рамбиди М. Г., Замалин В. М. Молекулярная микроэлектроника: физические предпосылки и возможные пути развития // Поверхность.—1986.—№ 8.—С. 5—30.
2. Rowell F. Biological receptors in biosensors // Biochem. Soc. Trans.—1991.—19, N 1.—Р. 32—36.
3. Корпан Я. І., Гончар М. В., Стародуб М. Ф., Ельська Г. В. Біосенсори на основі клітин мікроорганізмів // Біополімери і клітка.—1995.—11, № 2.—С. 15—28.
4. Солдаткін О. П. Біосенсор на основі уреазі з покращеною чутливістю для аналізу іонів важких металів // Біополімери і клітка.—1997.—13, № 5.—С. 377—379.
5. Стариков Е. Б. Нелинейная физика нуклеиновых кислот: солитоны или автосолитоны // Молекуляр. биология.—1990.—24, № 6.—С. 1504—1524.
6. Евдокимов Ю. М., Скуридин С. Г., Саянов В. И., Рыбин В. К., Палумбо М. Принципы создания биодатчиков на основе жидких кристаллов нуклеиновых кислот // Биофизика.—1990.—35, № 5.—С. 731—738.
7. Edwards G., Ying G., Tribble J. Role of counterions in the gigahertz relaxation of wet DNA // Phys. Rev. A.—1992.—45, № 12.—Р. 45—48.
8. Малеев В. А., Семенов М. А., Гасан А. И., Каштур В. А. Физические свойства системы ДНК—вода // Биофизика.—1993.—38, № 5.—С. 1504—1524.
9. Bao J.-Zh., Davis Ch. C., Swicord M. I. Microwave dielectric measurements of erythrocyte suspensions // Biophys. J.—1994.—66, N 6.—Р. 2173—2180.
10. Чичак С. А., Суховія М. І., Шафраньош І. І., Кикинеші А. А. Изучение дисперсии оптических и электрических параметров биообъектов для моделирования изменений их

структуры // Пробл. физ. и биомед. электроники.—Киев: Изд-во КПИ, 1996.—С. 46—48.

11. Торнуев Ю. В., Хачатрян Р. Г. Электрический импеданс биологических тканей.—М.: Изд-во ВЗПИ, 1990.—154 с.
12. Андреев Е. А., Белый М. У., Ситько С. П. Реакция организма человека на электромагнитное излучение миллиметрового диапазона // Вестн. АН СССР.—1985.—№ 1.—С. 24—32.
13. Сташук В. Д., Таранун В. А. Анализ основ импедансной томографии // Электроника и связь.—1997.—1, № 2.—С. 203—204.
14. Григорьев Ю. Г. Человек в электромагнитном поле (существующая ситуация, ожидаемые биоэффекты и оценка опасности) // Радиацион. биология. Радиоэкология.—1997.—37, № 4.—С. 690—702.
15. Надь Ш. Б. Диэлектрометрия.—М.: Энергия, 1976.—200 с.
16. Шапаронов М. И. Механизмы быстрых процессов в жидкостях.—М.: Высш. школа, 1980.—352 с.
17. Ахадов Я. Ю. Диэлектрические свойства бинарных растворов.—М.: Наука, 1977.—281 с.
18. Зенгер В. Принципы структурной организации нуклеиновых кислот.—М.: Мир, 1987.—584 с.
19. Porschke D. Elementary steps of base recognition and helix-coil transitions in nucleic acids // Mol. Biol. Biochem. and Biophys.—1977.—24, N 2.—Р. 191—218.
20. Богатина Н. И., Чмутов В. М. Аномалии диэлектрических свойств монокристаллов моногидрата цитозина и текстурированных поликристаллов безводного цитозина // Биофизика.—1980.—25, N 4.—С. 600—604.
21. Говорун Д. М., Данчук В. Д., Мищук Я. Р. Дзеркально-симметричні конформаційні стани канонічних нуклеотидних основ // Доп. АН України.—1992.—№ 2.—С. 66—69.
22. Говорун Д. М., Данчук В. Д., Мищук Я. Р. Про неплоскоцильність та дипольну нестійкість канонічних нуклеотидних основ, метильованих по глікозидному азоту // Доп. АН України.—1995.—№ 6.—С. 117—119.
23. Говорун Д. М., Мищук Я. Р., Кондратюк І. В., Желтовський М. В. Динамічна стереоізомерія Уотсон—Криківських пар нуклеотидних основ // Доп. АН України.—1995.—№ 11.—С. 121—123.
24. Brown R. D., Godfrey P. D. Tautomers of cytosine by microwave spectroscopy // J. Amer. Chem. Soc.—1989.—111, N 6.—Р. 2308—2310.
25. Sponer J., Hobza P. Nonplanar geometries of DNA bases // Phys. Chem.—1994.—98.—Р. 3161—3164.
26. Суховія М. І., Шевєра В. С. Ініціювання лазерним излучением дефектов вторичной структуры ДНК // Биофизика.—1980.—25, № 5.—С. 913—914.
27. Желтовский П. В., Данилов В. И. Современное состояние излучения электронных механизмов фотохимических реакций нуклеиновых кислот и их компонентов // Структура и функции биополимеров.—К.: Наук. думка, 1979.—Вып. 23.—С. 13—22.
28. Patrick M., Snow J. M. Studies on thymine derived UV photoproducts in DNA // Photochem. and Photobiol.—1977.—25, N 4.—Р. 373—384.
29. Karle I. L. Crystal and molecular structure of photo-products from nucleic acids // Photochemistry and photobiology of nucleic acids / Ed. S. Y. Wang.—New York: Acad press, 1976.—Vol. 1.—Р. 483—519.
30. Берсукер И. Б. Эффект Яна—Теллера и вибронные взаимодействия в современной химии.—М.: Наука, 1987.—344 с.

УДК 577.2:539.196
Надійшла до редакції 05.02.98