

МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ МОЛЕКУЛИ ТИМІНУ

П.М. Вічний

Кафедра твердотільної електроніки

Мас-спектрометричний метод використовує основну фізичну властивість речовини – масу молекул (атомів), а точніше – відношення маси до заряду: m/e . За допомогою мас-спектрометра можна отримати інформацію про склад як залишкових газів, так і молекулярного пучка речовин, що випаровуються.

ВСТУП

Сучасний науково-технічний прогрес нерозривно зв'язаний з пошуком і розробкою нових матеріалів, які були б високочутливими, економними і водночас екологічно чистими. Тому увага вчених зараз концентрується на біоорганічних речовинах, перш за все на важливих біополімерних молекулах – білках і нуклеїнових кислотах, які могли б успішно замінити сучасні технологічні елементи. Починають розвиватися такі перспективні наукові напрямки, як молекулярна електроніка, в тому числі біоелектроніка, а також біосенсорика та біоніка. В цих розробках в поєднанні з технічними пристроями використовуються молекулярні, клітинні та тканинні біологічні об'єкти. Не викликає сумніву те, що для успішної розробки і застосування цих сучасних біотехнічних пристроїв необхідно мати всесторонню інформацію про фізичні властивості біосистем. Насамперед, важливо знати електричні, оптичні та мас-спектрометричні характеристики біомолекулярних об'єктів і їх залежність від різних фізичних впливів.

Крім прикладних аспектів, вивчення фізичних властивостей біоорганічних молекул має і загальнонаукове значення. Це пов'язане з тим, що практично всі біологічно важливі процеси починаються на рівні молекул, і первинна стадія біологічних процесів є, по суті, фізичною стадією.

Важливими біомолекулами є азотисті основи нуклеїнових кислот, оскільки саме вони визначають фізичні та біологічні властивості ДНК і РНК.

Завдання даної кваліфікаційної роботи – проаналізувати наукову літературу про властивості та структуру гетероциклічних сполук; виконати процедуру оптимізації геометрії структури героциклічних молекул: піридину, піримідину, тиміну та 5-бромурацилу

МЕТОДИКА ЕКСПЕРИМЕНТУ

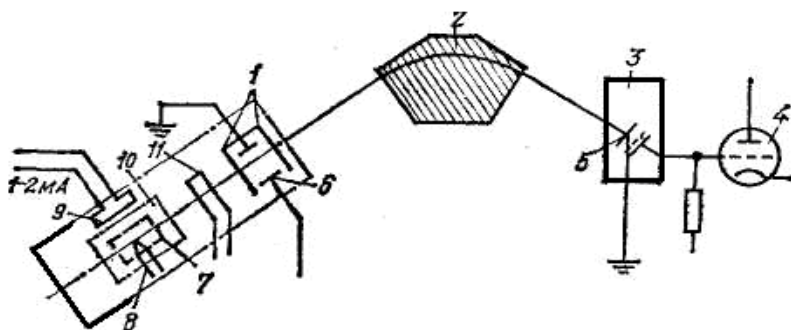


Рис. 1. Принципова схема мас-спектрометра МИ-1305: 1-прискорюючий електрод, 2- електромагніт, приймач іонів, 4- підсилювач, 5- вхідна щілина приймача, 6-відхилюючий електрод, 7-підкладка, 8- випаровувач, 9- катод, 10- іонізаційна камера, 11-витягуючий електрод;

Під дією електронів молекули залишкових газів або пари досліджуваної речовини іонізуються. Для ідентифікації

іонів, що утворилися, використовується розділення у просторі або в часі часток аналізованої речовини у відповідності до відношення m/e маси до заряду в умовах високого вакууму.

У мас-спектрометрі МІ-1305 (рис. 1) молекули аналізованої речовини іонізуються в іонізаційній камері під дією електронів, що емітували з катода. Іони, що утворилися прискорюються в електростатичному полі U і фокусуються у вузький пучок в іонно-оптичній системі мас-спектрометра. Потім іони проходять через камеру аналізатора, що поміщена в поперечне однорідне магнітне поле секторного типу, створюване електромагнітом з полюсними наконечниками трапеціальної форми.

Якщо зневажити початковими швидкостями іонів, то можна вважати, що у всіх іонів після прискорення однакова енергія:

$$eU = \frac{mV^2}{2} \quad (1)$$

де m — маса іона; e — його заряд; V — швидкість іона на виході з іонного джерела; U — прискорювальна різниця потенціалів. У поперечному магнітному полі іони рухаються під дією сили Лоренца по криволінійній траєкторії, внаслідок чого виникає доцентрове прискорення:

$$eVH = \frac{mV^2}{R}, \quad (2)$$

де H - індукція магнітного поля; R - радіус іонної траєкторії. З (1) і (2) одержуємо:

$$R = \left(\sqrt{\frac{2U}{H}} \right) \left(\sqrt{\frac{m}{e}} \right) \quad (3)$$

Таким чином, у магнітному полі іонний пучок розділяється на кілька траєкторій, у кожній з яких є іони тільки з одним значенням m/e .

У мас-спектрометрі МІ-1305 радіус основної траєкторій іонів постійний і дорівнює 200 мм. Іони з різним відношенням m/e можна вводити послідовно (тобто розділяючи в часі й просторі) у щілину колектора, змінюючи прискорювальну різницю потенціалів U або величину магнітного поля H . Звичайно при незмінній прискорювальній напрузі ($U = \text{const}$) міняють індукцію магнітного поля. Пройшовши камеру аналізатора, іонний промінь через вузьку щілину в приймачі іонів попадає на колектор, утворюючи в його ланцюзі електричний струм. Міняючи індукцію магнітного поля H , із усіх іонів можна вибрати іони, що мають потрібне відношення m/e (маси до заряду), і, таким чином, по величині магнітного поля можна судити про масове число ізотопу.

Мірою вмісту даного ізотопу в аналізованій речовині є сила струму в ланцюзі колектора (звичайно $10^{-18} - 10^{-9}$ А). Такі малі струми вимірюються після попереднього їх посилення їхнім підсилювачем постійного струму з лінійною характеристикою. Також використовуються лічильники іонів.

Якщо безупинно змінювати індукцію магнітного поля (змінюючи струм живлення електромагніта), можна записати спектр мас на самописному електронному потенціометрі. Така результуюча діаграма називається мас-спектром. Щоб зручно було визначати масові числа аналізованих компонентів, у мас-спектрометрі встановлений індикатор масових чисел.

Щоб уникнути значного розсіювання іонів аналізованої речовини при зіткненні з молекулами газу, залишковий тиск у камері, де проходить іонний пучок, дорівнює $10^{-3} - 10^{-5}$ Па.

Сила іонного струму I_i пов'язана з парціальним тиском пари наступним співвідношенням:

$$I_i = Kp, \quad (4)$$

де p — парціальний тиск, створений даним видом часток; K — коефіцієнт пропорційності, що залежить від ефективного перерізу іонізації й геометрії приладу.

Роздільна здатність мас-спектрометра характеризується можливістю роздільно реєструвати іони, близькі по масових числах досліджуваних речовин, і визначається величиною $Mm / \sigma M$, де Mm — верхня межа діапазону вимірів по масових числах для однозарядних іонів; σM — мінімальна різниця мас іонів, роздільно реєструємих приладом.

Величина роздільної здатності мас-спектрометра залежить від якості фокусування “зображення”. Якість же характеризується розширенням іонного пучка в площині вхідної щілини приймача іонів за рахунок аберацій і кута відхилення від паралельності “об'єкта” і “зображення”. Крім того, що пропускаюча сила залежить від режиму роботи приладу: величини залишкового тиску в камері аналізатора, стабільності прискорювальної напруги, стабільності й однорідності магнітного поля, точності юстировки магніту, а також від напруги й конфігурації розсіяних магнітних полів на шляху руху іонів.

Щоб отримати більший роздільну здатність, потрібно використовувати можливо більше вузькі вихідну S_1 і вхідну S_2 щілини (кілька тисячних часток міліметра), а також установлювати їх строго паралельно. Теоретична межа

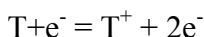
роздільної здатності приладу за умови, що інтенсивність між піками миттєво знижується до нуля,

$$\frac{M_m}{M} = \frac{R}{(S_1 + S_2)} \quad (5)$$

Недосконала форма піка робить таке теоретичне визначення роздільної здатності непридатним, оскільки різні аберації призводять до розширення піка, розсіювання на молекулах остаточного газу.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На рис 3.2. ми бачимо мас-спектр молекули тиміну, отриманий внаслідок зіткнень повільних електронів з енергією 70 еВ. Як бачимо найбільш інтенсивний пік з $m/e = 126$ а.о.м. відповідає молекулярному іонові молекули тиміну. Спостерігаються також інші іони з масами 27, 28,55, 83 та ін. Отже, домінуючим каналом взаємодії повільних електронів з молекулами тиміну – є утворення молекулярного іону молекули тиміну – іонізація молекули тиміну.



Іони з іншими масами відповідають за мультиканальну фрагментацію молекули з руйнуванням піримідинового кільця (рис. 3.).

В умовах клітинної ДНК це означає депіримідизацію, що може служити причиною клітини або функціональної активності ДНК.

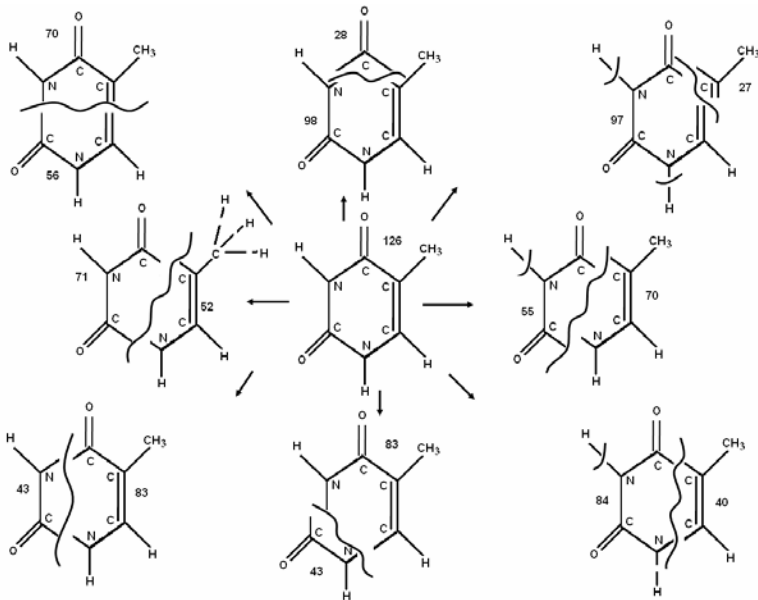


Рис 2. Модель фрагментації молекули тиміну

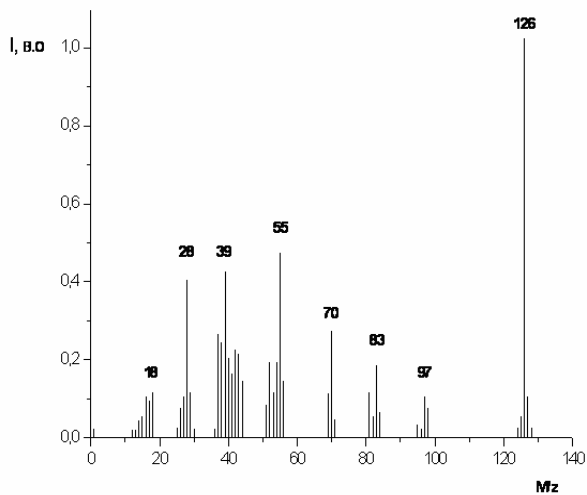


Рис 3. Мас-спектр молекули тиміну

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано літературу по проблемі взаємодії повільних електронів з молекулами складових нуклеїнових кислот.
2. Освоєно методику газо фазної мас-спектроскопії з іонізацією електронним ударом для дослідження електронно-молекулярних зіткнень.
3. Отримали мас-спектри позитивних іонів молекули тиміну при енергії налітаючих електронів 79 еВ.
4. Домінуючим наслідком взаємодії повільних електронів з енергією 70 еВ з молекулами тиміну є утворення молекулярного іону($m/e=126$ а.о.м.). Меншу ймовірність має мультиканальна фрагментація піримідинового кільця($m/e= 28, 55, 70$ та ін.).
5. В умовах клітинної ДНК це може призвести до депіримідизації, що в свою чергу, викличе загибель клітини і(або) зміну функціональної активності ДНК.

ЛІТЕРАТУРА

1. Евдокимов Ю. М., Суридин С. Г., Семенов В.И., Семейкин А. С, М. Палумбо М.. Нуклеиновые кислота как основа для создания биосенсоров// Молекулярная биология. 1989- Т.23, вып 6.- С 1581-1588.
2. Органическая химия// В. Г. Жиряков.- 5-е изд., и доп. М., "Химия", 1974. 408 с., 6 табл., 29 рис.
3. Тейлор Г. - Основы органической химии для студентов нехимических специальностей: Пер. с англ. – М.: Мир, 1989.- 384 с., ил.
4. Теория строения органических соединений/ Ю.А. Жданов.- изд. "Высшая школа", Москва 1971, 287 с.
5. Дж. Уотсон. – Молекулярная биология гена., Издательство Мир.- 1967.- 463 с.

6. Ландау Л.Д., Лифшиц Е.М. Механика.- М.: Наука, 1965.- 204 с., - Гл. 1-2.
7. Кларк Т. Компьютерная химия.- М.: Мир, 1990. – 383 с. – Гл. 1-3.
8. Буркерт У., Эллинджер И. Молекулярная механика. – М.: Мир, 1986.- 364 с. – Гл. 1-3.
9. Говорун Д.М. Прототропна таутомерія азотистих основ: новий погляд на стару проблему// Біополімери і клітина.- 1997, № 13, с. 191-196 с.
10. М. Дьюар, Р. Догерти,- Теория возмущений молекулярных орбиталей в органической химии., Изд. Мир, Москва, 1977.- 696 с.
11. Ресурси Всесвітньої мережі Інтернет:
<http://www.krugosvet.ru/>
<http://www.chemistry.ssu.samara.ru/>