

Квантово-химическое моделирование радиационных повреждений компонентов ДНК при неупругом взаимодействии с медленными электронами. Облучение дезоксирибозы

Б. Ф. Минаев, Ю. В. Евтухов, В. А. Минаева¹

Черкасский государственный технологический университет
Бульвар Шевченко, 460, Черкасы, 18006, Украина
E-mail: leta@chiti.uch.net

¹Черкасский национальный университет им. Б. Хмельницкого
Бульвар Шевченко, 81, Черкасы, 18031, Украина

Методом молекулярных орбиталей самосогласованного поля в приближении AM1 рассчитаны полные энергии и теплоты образования продуктов распада дезоксирибозы при ее взаимодействии с монохроматическим электронным пучком. Диссоциативное присоединение медленных электронов наступает уже при энергии, близкой к нулю, хотя электронное сродство молекулы дезоксирибозы отрицательно (порядка -2 эВ). Это указывает на туннельный механизм реакции взаимодействия электрона с молекулой. Расчет энергий для всех каналов распада анионных полупродуктов дает хорошее качественное согласие с экспериментом для эффективного сечения диссоциативного захвата электрона.

Ключевые слова: 2-дезокси- β -D-рибоза, метод AM1, энергия распада, анионные продукты, электрон.

Введение. 2-дезокси- β -D-рибоза (ДР) является одним из важнейших компонентов дезоксирибонуклеиновых кислот клеточных ядер, из которых ее выделяют гидролизом [1]. Фуранозное кольцо ДР занимает центральное место в химической структуре ДНК, связывая фосфатные группы в двойную спираль и присоединяя азотистые основания, замещающие ОН группу у атома С1 (рис. 1).

Облучение ДНК и ее отдельных компонент ионизирующей радиацией представляет значительный интерес для моделирования их поведения в реальных биосистемах, так как радиационные повреждения ДНК вызывают генетические мутации

[2, 3]. Первичная ионизация создает вторичные электроны с кинетическими энергиями до 20 эВ. При этом повреждения генома живых клеток ионизирующей радиацией примерно на одну треть обусловлены прямым эффектом и на две трети — вторичными электронами. Реакции сольватированных электронов с белками и ДНК уже давно изучают методом импульсного радиолиза [2]. В последние годы применение техники скрещенных молекулярных пучков дало много интересных данных о взаимодействии частиц первичной и вторичной радиации с изолированными аминокислотами и компонентами ДНК и РНК в газовой фазе [3—5]. Способность свободных баллистических электронов (с энергиями от 3 до 20 эВ) разрывать двойную

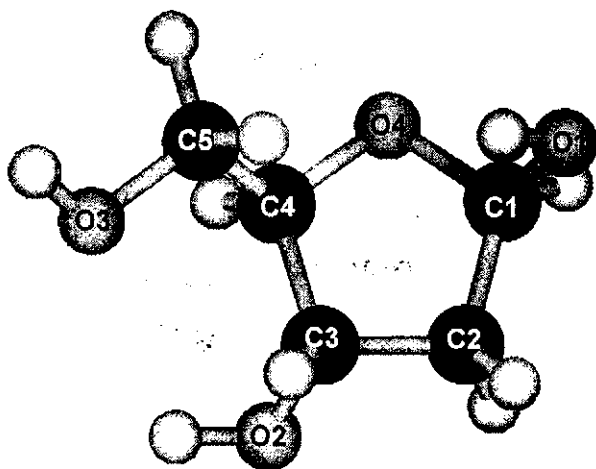


Рис. 1. Молекула 2-дезоксид- β -D-рибозы в основном конформационном состоянии по данным квантово-химических расчетов методом AM1

спираль ДНК относится к числу наиболее важных результатов в этой области [4].

Наиболее уязвимым звеном при атаке медленных электронов спирали ДНК является фуранозное кольцо ДР [3—4]. В работе [3] показано, что молекула ДР в газовой фазе подвергается эффективному распаду при взаимодействии со свободными электронами с очень низкой энергией. Этот канал распада обусловлен, главным образом, отщеплением двух молекул воды и образованием аниона $C_5H_6O_2^-$; имеются также дополнительные каналы с участием сложных анионов [3]. В отличие от других исследованных биомолекул, распад ДР не связан с дегидрогенизацией [3—5]. Самым удивительным является тот факт, что диссоциация ДР происходит при нулевой кинетической энергии электронов [3].

При высоких энергиях (20 эВ) идет ионизация и распад на катионы; эти процессы можно объяс-

нить известными теоретическими данными, приведенными в работе [6]. В представленной работе мы попытались дать свое объяснение этим «странным» аномалиям, происходящим при распаде ДР под действием медленных электронов. Для этого проведены квантово-химические расчеты анионов ДР, определены тепловые эффекты различных каналов распада анионов и на этой основе сделано предположение о механизмах диссоциативного присоединения электронов.

Материалы и методы. Для расчетов мы использовали метод молекулярных орбиталей самоогласованного поля (МО ССП) в приближении AM1 [7, 8]. Молекула дезоксирибозы имеет несколько возможных конформаций. Метод AM1 даст близкие теплоты образования α и β конформеров ДР (порядка -205 ккал/моль). Присоединение электрона к молекуле 2-дезоксид- β -D-рибозы приводит к распаду на ряд возможных продуктов; наш расчет методом AM1 позволил сравнить тепловые эффекты для разных каналов и сделать вывод о механизме диссоциативного присоединения электрона. При этом среди множества конформационных вариантов структуры каждого продукта проводили поиск наиболее стабильного состояния, имеющего глобальный минимум полной энергии. Так, для аниона $C_5H_6O_2^-$, например, рассмотрены пять вариантов структуры. Минимальной энергией обладает циклическая структура (рис. 2). Ее энергия всего на 1,5 ккал/моль меньше энергии плоской развернутой структуры; остальные варианты структуры также отличаются по энергии на 2—7 ккал/моль.

Причина разрушения молекулы ДР после захвата электрона может быть найдена с использованием анализа молекулярных орбиталей. Метод AM1 позволяет рассчитать энергии и формы как занятых, так и свободных орбиталей (что важно

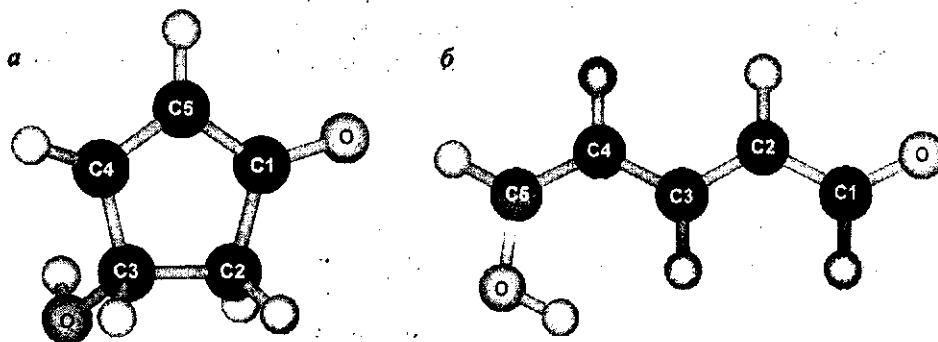


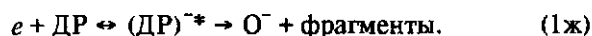
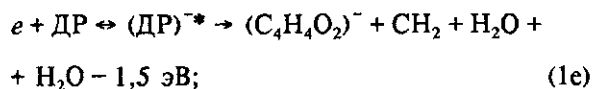
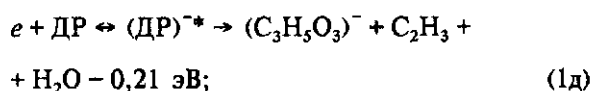
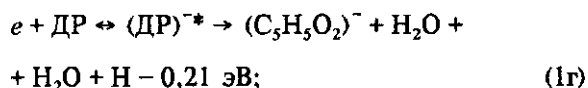
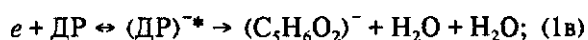
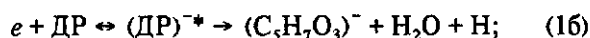
Рис. 2. Два варианта структуры аниона $C_5H_6O_2^-$, рассчитанные методом AM1: а — циклическая, с полной энергией, равной $-31461,87$ ккал/моль; б — плоская ациклическая структура с полной энергией, равной $-31460,36$ ккал/моль

Полные энергии и тепловые эффекты продуктов распада

Соединение	Полная энергия, ккал/моль	Энергия связи, ккал/моль	Теплота образования, ккал/моль	Тепловой эффект реакций (1а)–(1е), ккал/моль
C ₅ H ₁₀ O ₄ (ДР)	-47535,41	-1818,37	-204,66	0
H ₂ O	-8038,22	-223,03	-59,27	—
H	-262,81	0	52,09	—
C ₂ H ₃	-6798,37	-437,69	60,43	—
CH ₂	-3509,62	-197,88	77,22	—
(1а) C ₅ H ₉ O ₄ ⁻ + H	-47505,19	-1788,14	-174,44	-30,22
(1б) C ₅ H ₇ O ₃ ⁻ + H ₂ O + H	-47503,26	-1786,20	-172,51	-32,15
(1в) C ₅ H ₆ O ₂ ⁻ + 2H ₂ O	-47538,31	-1821,25	-207,55	2,9
(1г) C ₅ H ₅ O ₂ ⁻ + 2H ₂ O + H - 0,21 эВ	-47495,23	-1778,17	-164,49	-40,18
(1д) C ₃ H ₅ O ₃ ⁻ + C ₂ H ₃ + H ₂ O - 0,21 эВ	-47497,42	-1780,37	-166,63	-37,99
(1е) C ₄ H ₄ O ₂ ⁻ + CH ₂ + 2H ₂ O - 1,5 эВ	-47492,40	-1775,35	-161,69	-43,01

для определения электронного сродства), а также тепловые эффекты реакций, вызванных присоединением электрона к молекуле ДР.

Результаты и обсуждение. В работе [3] приведены следующие экспериментально обнаруженные каналы распада 2-дезоксид-β-D-рибозы при столкновении с медленными электронами (с энергиями до 20 эВ):



По данным этого же эксперимента, наибольшим эффективным сечением, равным 12 \AA^2 , при нулевой энергии электрона обладает канал (1в). Для канала (1б) эффективное сечение составляет $0,94 \text{ \AA}^2$ также при нулевой энергии электрона, а для остальных каналов — не более $0,17 \text{ \AA}^2$, причем каналы (1г) и (1д) имеют заметные резонансы при

энергии электрона, равной 0,21 эВ, а канал (1е) — при 1,5 эВ. Этот факт мы учли при дальнейшей обработке результатов. Канал (1ж) начинает работать только после того, как энергия падающего электрона превышает 7,3 эВ, и далее мы рассматривать его не будем.

Результаты расчета тепловых эффектов всех указанных каналов представлены в таблице. Тут же приведены энергии составных продуктов, входящих в эти каналы. Например, образующаяся молекула воды входит почти во все каналы реакций распада, кроме канала (1а), а атом водорода — в каналы (1а), (1б) и (1г), поэтому энергия этих частиц необходима для расчета тепловых эффектов соответствующих реакций.

Расчеты нейтральной молекулы ДР показывают, что присоединение к ней электрона является эндотермическим процессом, поскольку энергия электронного сродства равна $-2,36 \text{ эВ}$ (по теореме Купменса [7] она равна энергии нижней вакантной молекулярной орбитали, взятой с обратным знаком). Сравнение конформеров ДР, различающихся ориентацией CH₂OH группы, приводит к небольшим отклонениям в энергии электронного сродства в пределах 0,3 эВ, что не влияет на качественные выводы. Прямой расчет аниона, выполненный при оптимальной геометрии нейтральной молекулы ДР, дает энергию вертикального сродства к электрону, равную $-1,66 \text{ эВ}$ (рис. 3), что полуколичественно воспроизводит результат теоремы Купменса. Таким образом, оба теоретических подхода приводят к

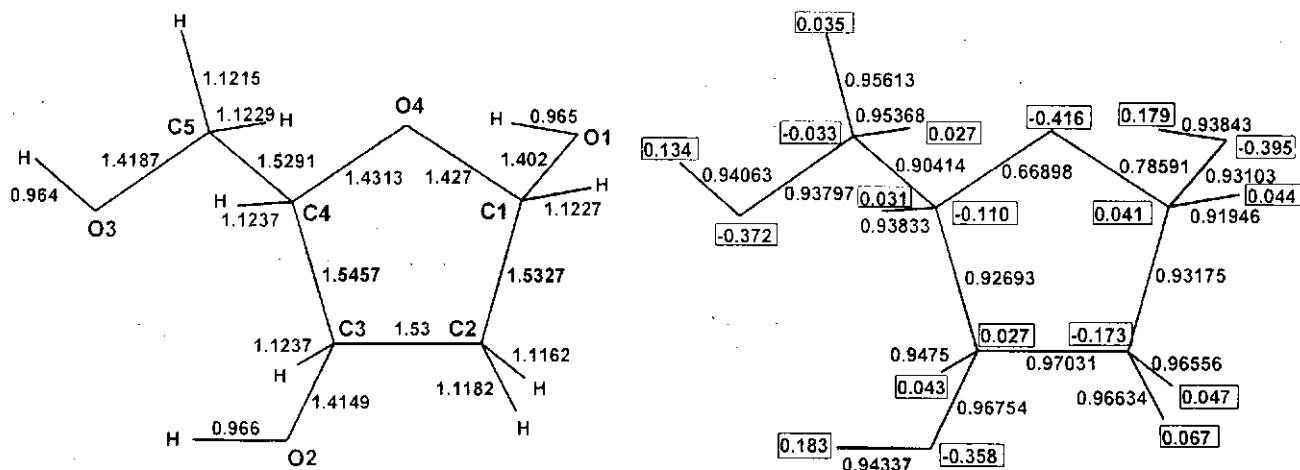


Рис. 3. Результат AM1 расчета длин связей (Å) (а) для нейтральной молекулы дезоксирибозы (ДР), а также зарядов на атомах и порядков связей (б) (значения зарядов взяты в рамки) для аниона в той же геометрии; для ДР полная энергия равна $E_{\text{ДР}} = -47535,41$ ккал/моль; для $\text{ДР}^- - E_{\text{ДР}^-} = -47497,12$ ккал/моль

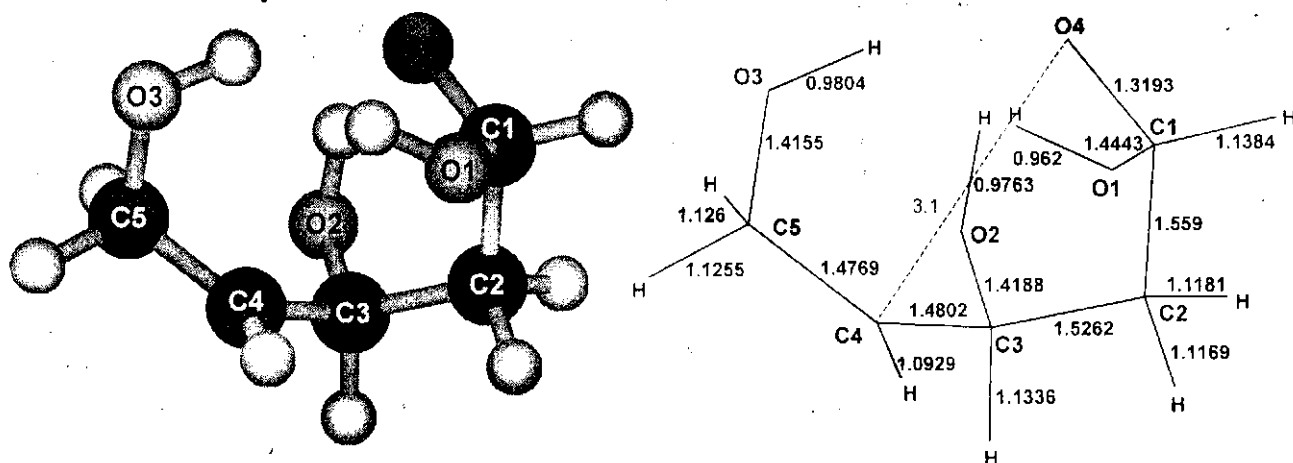


Рис. 4. Оптимизированная методом AM1 геометрия аниона дезоксирибозы (ДР^-) (а) с указанием длин связей (Å) (б); полная энергия $E_{\text{ДР}^-} = -47539,98$ ккал/моль

выводу о том, что присоединение электронов с нулевой энергией к молекуле ДР оказывается невозможным. Но данный вывод однозначно противоречит имеющимся экспериментальным данным [3].

Объяснение этому противоречию мы получаем при оптимизации геометрии аниона ДР^- . Расчеты методом AM1 показывают, что данный анион нестабилен и распадается по связи C4—O4 (рис. 4).

Рассмотрение формы самой высокой однократно занятой молекулярной орбитали восстановленной молекулы дезоксирибозы (ДР^-) позволяет предположить, что разрушение циклической структуры молекулы вызвано ослаблением связей атома

кислорода O4, входящего в фуранозное кольцо. Как видно из данных рис. 5, волновая функция молекулярной орбитали, занятой присоединившимся электроном, меняет знак в межсвязной области связей O4—C4 и O4—C1, что свидетельствует о разрыхляющем характере упомянутой орбитали. Рассчитанный порядок для связей O4—C4 и O4—C1 после присоединения электрона равен 0,669 и 0,786 соответственно (рис. 3), что значительно меньше единицы — величины, характерной для однократно насыщенной химической связи. Именно по наименее прочной из этих связей происходит разрыв кольца дезоксирибозы в анионе ДР^- .

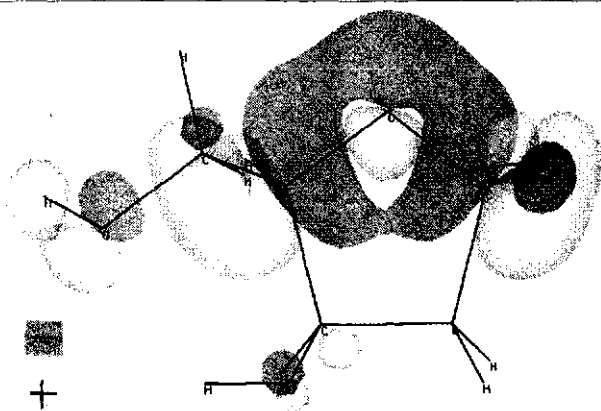


Рис. 5. Волновая функция самой высокой однократно занятой молекулярной орбитали аниона DR^- , полученная для геометрии нейтральной молекулы методом AM1. Темные и светлые области соответствуют отрицательным и положительным значениям Ψ -функции

Сравнение энергии исходной молекулы (плюс нулевая энергия свободного электрона) и энергии аниона с разорванным кольцом показывает, что данный процесс является практически термонейтральным с тенденцией к экзотермическому:

При полной энергии нейтральной молекулы DR, составляющей $E_{DR} = -47535,41$ ккал/моль, и полной энергии для оптимизированной геометрии аниона DR^- $E_{DR^-} = -47539,98$ ккал/моль получаем тепловой эффект реакции, равный $\Delta E = E_{DR} - E_{DR^-} = 4,57$ ккал/моль.

Для объяснения экспериментальных данных [3] необходимо предположить, что присоединение электрона к молекуле DR идет по туннельному механизму, преодолевая потенциальный барьер, определяемый отрицательной энергией электронного сродства (рис. 6). До точки A идет сближение электрона с молекулой. От точки B вправо координата x сводится к таковой реакции разрыва связи аниона. Тот факт, что волновая функция электрона имеет ненулевое значение на участке от точки A до B и правее, позволяет применить потенциал, описывающий распад аниона. Другими словами, как только электрон просачивается под барьером и «прилипает» к молекуле DR, образовавшийся анион разрывается по связи C4—O4, вновь приобретая энергию, близкую к энергии начальной системы, поскольку продукт распада DR^- почти изоэнергетичен исходному реагенту.

Присоединение электрона с мгновенным разрывом C—O связи может сопровождаться таким

возбуждением внутренних колебательных степеней свободы, при котором поглощается избыток энергии $E = 4,57$ ккал/моль. Хотя образовавшийся ациклический анион и характеризуется минимумом на потенциальной поверхности, однако метод масс-спектрометрии, примененный в [3], не выявил сколько-нибудь значительной концентрации этого продукта (аниона DR^- с массой 134 а. е. м.).

Полученный результат объясняется тем, что активационный барьер для распада данного ациклического аниона невелик. Распад по каналу (1в) является экзотермическим с тепловым эффектом, равным 2,9 ккал/моль (таблица). Таким образом, ациклический анион самопроизвольно распадается по каналу (1в): тепловой эффект его образования расходуется на преодоление небольшого активационного барьера и можно ожидать большой выход продуктов этого канала и отсутствие сигнала для образования исходного аниона.

Отрыв гидроксогруппы O2—H и одного атома водорода, связанного с атомом C2, вследствие которого отщепляется первая молекула воды, легко предсказать, проанализировав длины связей в ациклическом анионе DR^- (рис. 4): связь C3—O2 существенно длиннее, например, связи C5—O3, сохраняемой в продуктах распада. Связь C1—O1 в анионе DR^- значительно ослаблена, что следует из разрыхляющего характера молекулярной орбитали для неспаренного электрона в этом анионе (рис. 5). Разрыхление этой орбитали по связи C1—O1 в ациклическом анионе DR^- сохраняется. Тот же результат следует и из данных рис. 4: длина связи C1—O1 является наибольшей среди всех C—O связей (1,444 Å). Поэтому она легко рвется с отщеплением второй молекулы воды за счет одновременного разрыва слабой C—H связи у атома C5 ($R_{C5-H} = 1,126$ Å). Важную роль в понимании реакции (1в) играет и полярный характер C—H⁺ связей у атомов C2 и C5.

Рассчитанный тепловой эффект для всех остальных каналов распада аниона DR^- , как видно из таблицы, отрицателен и находится в диапазоне от -30 до -43 ккал/моль, что согласуется с малым эффективным сечением этих реакций. Самая эндотермическая реакция (1e) имеет наименьшее значение эффективного сечения ($0,003$ Å²) и фактически ею можно пренебречь. Эндотермический эффект в -30 и -32 ккал/моль для реакций (1a) и (1б) согласуется с широкими дополнительными пиками на кривых зависимости эффективного сече-

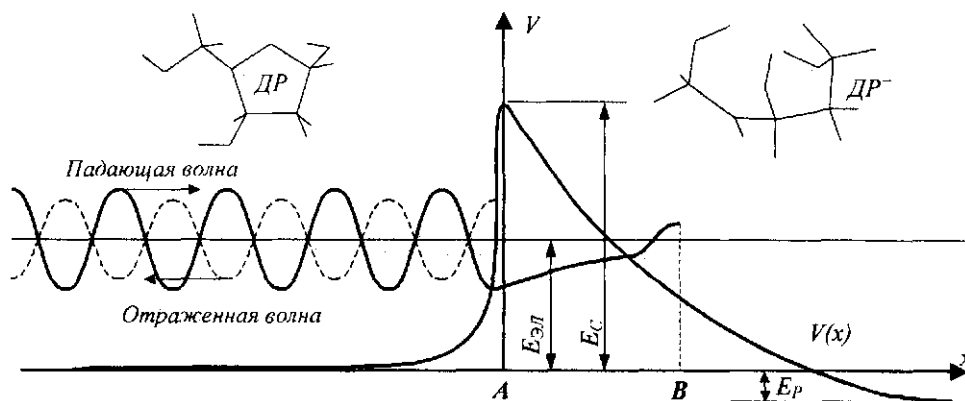


Рис. 6. Схема туннельного механизма присоединения медленного электрона к молекуле дезоксирибозы ($E_{эл}$ — энергия летящего электрона; E_c — вертикальная энергия сродства к электрону; E_p — разница энергий начального и конечного состояний)

ния от энергии налетающих электронов в участке 1,4 эВ, что равно 32,3 ккал/моль. Механизм таких реакций нами не рассматривался. Эндотермический барьер реакций можно преодолеть за счет участия промежуточных продуктов, их столкновений и дополнительных электронных перестроек, которые при этом могут произойти, а также под влиянием вторичных электронов.

Выводы. Произведенные расчеты взаимодействия молекулы дезоксирибозы с медленным электроном объяснили экспериментальные данные работы [3] и ее вывод о том, что углеводный остаток, формирующий скелет ДНК, — очень неустойчивое соединение в отношении взаимодействия с медленными электронами. Именно его разрушение является первой стадией при разрыве спирали. Если диссоциативное присоединение электрона к нуклеотидным основаниям и аминокислотам ведет лишь к отсоединению нейтрального атома водорода [9], то для ДР наиболее вероятный анион образуется вследствие отделения двух молекул воды. Вторая особенность состоит в том, что разложение начинается уже при нулевых энергиях электрона.

На основании квантово-химических расчетов нами показано, что присоединение электрона к молекуле ДР требует энергии порядка 2 эВ и процесс диссоциативного присоединения электрона протекает по механизму туннельного эффекта за счет того, что анион ДР⁻ физически нестабилен. Рассмотренные нами каналы распада этого аниона позволяют объяснить все наблюдаемые масс-спектры при взаимодействии медленных электронов с дезоксирибозой.

Полученные результаты имеют большое значение для выяснения вопроса о том, что происходит с нуклеиновыми кислотами под действием ионизи-

рующей радиации. Повреждения ДНК или РНК, наносимые баллистическими электронами, преимущественно будут начинаться с повреждения рибозного скелета. Разрушение дезоксирибозы — это первая стадия разрыва спирали, что является самой тяжелой формой повреждения ДНК и ведет впоследствии к смерти клетки [2].

B. F. Minaev, Y. V. Yevtukhov, V. A. Minaeva

Quantum-chemical modelling radiation damage of DNA components during inelastic interaction with slow electrons. Desoxyribose irradiation

Summary

The total energies and heat of formation of intermediates of the deoxyribose dissociation during its interaction with a monochromatic electron beam have been calculated by the method of molecular orbitals of self-consistent field (SCF) with AM1 approximation. Dissociative attachment of slow electrons begins at the energy close to zero, although the electron affinity of deoxyribose is negative (near -2 eV), which points to the tunnelling mechanism of the reaction. The calculation of energies for all channels of dissociation of anion halfproducts closely fits the experiment for the effective cross section of the dissociative electron capture.

Key words: 2-deoxy-β-D-ribose, AM1 method, dissociation energy, anion products, electron.

Б. П. Минаев, Ю. В. Евтухов, В. О. Минаева

Квантово-хімічне моделювання радіаційних ушкоджень компонентів ДНК при непружній взаємодії з повільними електронами. Опромінення дезоксирибози

Резюме

Методом молекулярних орбіталей самоузгодженого поля у наближенні AM1 розраховано повні енергії та теплоти утворення продуктів розпаду дезоксирибози при її взаємодії з монохроматичним електронним пучком. Диссоціативне приєднання повільних електронів має місце вже при енергії, близькій до нуля, хоча електронна спорідненість молекули дезоксирибози негативна (-2 eV), що вказує на тунельний механізм реакції взаємодії електрона з молекулою. Результати розрахунку енергій для всіх каналів розпаду аніонних напівпродуктів

добре якісно узгоджуються з експериментом для ефективного перетину дисоціативного захоплення електрона.

Ключові слова: 2-дезоксi-β-D-рибоза, метод AM1, енергія розпаду, аніонні продукти, електрон.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Дюга Г., Пенни К. Биоорганическая химия. Химические подходы к механизму действия ферментов.—М.: Мир, 1983.—512 с.
2. Von Sonntag C. The chemical basis of radiation biology.—London: Taylor and Francis, 1987.—116 p.
3. Ptasinska S., Denifl S., Scheier P., Mark T. D. Inelastic electron interaction (attachment/ionization) with deoxyribose // J. Chem. Phys.—2004.—120, N 18.—P. 8505—8511.
4. Boudaïffa B., Cloutier P., Hunting D., Huels M. A., Sanche L. Resonant formation of DNA strand breaks by extremely low-energy (3 to 20 eV) electrons // Science.—2000.—287, N 5458.—P. 1658—1660.
5. Abouaf R., Pommier J., Dunet H. Negative ions in thymine and 5-bromouracil produced by low energy electrons // Int. J. Mass Spectrom.—2003.—226, N 3.—P. 397—403.
6. Barrios R., Skurski P., Simons J. Mechanism for damage to DNA by low-energy electrons // J. Phys. Chem. B.—2002.—106, N 33.—P. 7991—7994.
7. Dewar M. J. S., Thiel W. The MNDO method. Approximations and parameters // J. Amer. Chem. Soc.—1977.—99, N 15.—P. 4899—4914.
8. Dewar M. J. S., Zoebisch E. G., Healy E. F., Stewart J. J. P. AM1: A general purpose quantum mechanical molecular model // J. Amer. Chem. Soc.—1985.—107, N 13.—P. 3902—3909.
9. Deeble D. J., Schulz D., von Sonntag C. Reactions of OH radicals with poly(U) in deoxygenated solutions: sites of OH radical attack and the kinetics of base release // Int. J. Radiat. Biol.—1986.—49, N 6.—P. 915—926.

УДК 539.1.047

Надійшла до редакції 06.10.04