

УДК 519.9

Терент'єва Ю.Г.¹, к.ф.-м.н., доц..
Сніцєрова О.М.², асп.

Y.G. Terent'yeva¹, PhD.,
O.M. Snitserova², PhD stud.

Високотемпературна флуоресценція аденозину

Room temperature fluorescence of adenosin

^{1,2}Київський національний університет імені
Тараса Шевченка, 01601, м. Київ, вул.
Володимирська 64/13,
e-mail: juliaTer@i.ua

^{1,2}Taras Shevchenko National University of Kyiv,
01601, Kyiv, Volodymyrska st. 64/13,
e-mail: juliaTer@i.ua

Записано спектри поглинання водного розчину аденозин-5'-монофосфату (АМФ) та аденозин-трифосфату (АТФ) в діапазоні 200-400 нм. Отримано спектри флуоресценції АТФ та АМФ при кімнатній температурі для різних концентрацій їх водних розчинів. Виявлено, що така флуоресценція аденозинів виникає при високій концентрації розчину ($C=2 \cdot 10^{-2}$ М) та має максимум λ_{max} в області 410 нм. Запропоновано пояснення механізму високотемпературної флуоресценції, який полягає в формуванні аденін-аденінових ексимерів.

Ключові слова: флуоресценція, аденозин-5'-монофосфату, АТФ, ексимер

We registered the room temperature fluorescence of high concentration ($C \geq 10^{-2}$ M) of adenosine-5'-monophosphate (AMP) water solution with λ_{max} in region from 404 to 412 nm. In our opinion, the appearance of high-temperature fluorescence is associated with the formation of excimer pairs. Unlike dimers, the excimer does not create an additional band in adenosine absorption spectrum, which is confirmed by our data. The fluorescence from the deactivation of the excimer pair is excited by a continuous spectrum in a wide range, in our case, up to 350 nm. Absorption by free molecules of adenine dramatically weakens the incident flow, creating "failures" in the fluorescence excitation spectrum, which coincide with the adenine absorption bands. According to our results, the excimers creation is a threshold of concentration. According to literary data, adenine π -electronic systems in the excimer are seems to be a sandwich-like orientation with an extremely small distance of 2 Å. Therefore, during an active irradiation in the case of deactivation of the excimer adenine molecules do not have time to move away and the excimer is formed again.

Key Words: fluorescence, adenosine-5'-monophosphate, ATP, excimer

Статтю представив д.ф.-м.н., проф. Макарець М. В.

Вступ

Протягом останніх півтора десяти років з'явилися публікації, в яких димеризація аденіна докладно вивчалась як з експериментальної так і теоретико-розрахункової позиції. Розглядаються різні умови виникнення димерів – як у водному розчині так і у більш екзотичних системах. Наприклад, в роботі [1] аналізується стійкість двовимірних молекулярних ланцюгів, утворених при адсорбції аденіну на високоорієнтовану піролітичну графітову (HOPG) поверхню. Виявилось, що процес самоутворення стабільних двовимірних аденінових моношарів зумовлений утворенням сильних водневих аденін-аденінових зв'язків. Ці зв'язки, власне, є відповідальними за утворення ДНК-пар в живих об'єктах і, таким чином, можуть з'єднувати також і окремі молекули АМФ у водному розчині у ди- або тримери.

Загальновідомим є факт, що водні розчини аденозинів (АМФ, АДФ, АТФ) не флуоресціюють при кімнатній температурі, хоча при низьких температурах їх флуоресценція має доволі великий квантовий вихід. Однак, в роботі [2] було вперше зафіксовано флуоресценцію водного

розчину АМФ при кімнатній температурі. Автори вважають, що джерелом такої флуоресценції слід вважати присутні в розчині достатньо стабільні аденінові димери. Нами експериментально була виявлена високотемпературна флуоресценція водних розчинів аденозинів з надзвичайно високим квантовим виходом, яка, однак, на наш погляд, має іншу природу.

Обладнання і матеріали

В якості досліджуваного матеріалу використувався 1) хімічно чистий порошок динатрієвої солі 5'-аденозин монофосфату, який розводили в бідистильованій воді, 2) водний розчин натрію аденозинтрифосфату в стандартній аптечній концентрації (10 мг/мл). Для запису спектрів поглинання водних розчинів АМФ та АТФ використувався серійний двопроменевий спектрофотометр Specord UV-VIS. Запис проводився в стандартних кварцевих кюветах товщиною 5 см, 1 см та 1 мм (діапазон пропускання 170-1000 нм). Спектри флуоресценції при кімнатній температурі записувались на спектрофлюориметрі Cary Eclipse (Varian Inc., Agilent Tech.); використовували стандартні кварцові кювети розміром 1×1 см.

Експериментальні результати та їх аналіз

Було приготовлено дві групи зразків, Г1 та Г2, водні розчини АМФ різної концентрації в діапазоні $C=10^{-4}$ - 10^{-1} М, третя, Г3, аналогічно, водні розчини АТФ. Технологія приготування зразків групи Г1 полягала в розчиненні для кожного зразка у воді каліброваної кількості порошку АМФ. Технологія приготування зразків іншої групи (Г2) полягала в послідовному розведенні базового висококонцентрованого ($C=10^{-1}$ М) зразка 1:10 до зменшення стартової концентрації в 10^5 разів. Третя група (Г3) представляла собою також набір зразків розведених водою в пропорції 1:10, 1:100, 1:1000, 1:10000 з базового аптечного розчину АТФ. Для усіх зразків було записано спектри поглинання, які для усіх концентрацій виявились типовими. Унормований спектр поглинання представлений на рис.1 (кр. 1) містить дві смуги поглинання, з максимумами при 260 та 212 нм, які відносяться, відповідно, до першого та другого електронних переходів аденінової π -електронної системи. Для усіх зразків при кімнатній температурі в режимі флюоресценції були записані спектри випромінювання. Для зразків АМФ групи Г1 з концентраціями $C=2 \cdot 10^{-2}$ М і більше було виявлено низькотемпературну флюоресценцію. При менших концентраціях свічення не зафіксовано. Для зразків груп Г2 та Г3 аутофлюоресценція АМФ та АТФ була виявлена в усіх зразках, причому її інтенсивність зменшувалась із зменшенням у зразку концентрації АМФ і виходила на рівень шумів при розведенні стартового розчину в 10000 разів. На нашу думку поява високотемпературної флюоресценції пов'язана з утворенням ексимерних (ексиплексних) пар. На відміну від димерів, ексимери не створюють в спектрі додаткової смуги поглинання, що підтверджується на-

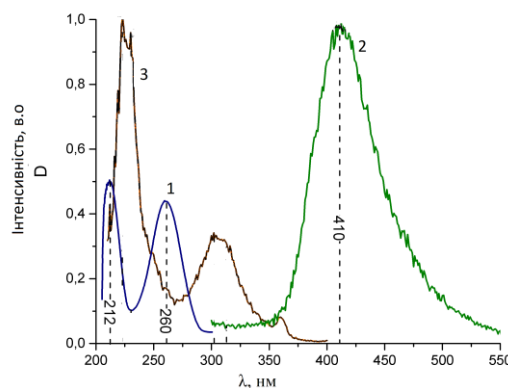


Рис. 1. Унормовані спектр поглинання (кр. 1), флюоресценції (кр. 2) та збудження флюоресценції (кр. 3) АМФ при $T=293$ К.

шими даними. Флюоресценція від деактивації ексимерної пари збуджується неперервним спектром в широкому діапазоні, в нашому випадку до 350 нм. Поглинання вільними молекулами аденіна драматично ослаблює падаючий потік, створюючи «провали» у спектрі збудження флюоресценції, які співпадають зі смугами поглинання аденіна. Створення ексимерів, згідно з нашими результатами, носить пороговий характер по концентрації. Крім того, згідно розрахунків [3] аденінові π -електронні системи в ексимері мають швидше за все сандвіч-орієнтацію із надзвичайно малою відстанню – 2Å . Тому під час активного опромінення в разі деактивації ексимера молекули аденіна не встигають віддалитись і ексимер утворюється знову.

Висновки

Зареєстрована високотемпературна флюоресценція водних розчинів аденозинів з високим квантовим виходом, що виникає при високих концентраціях, надано пояснення її механізму.

Список використаних джерел

1. Bald I. Two-dimensional network stability of nucleobases and amino acids on graphite under ambient conditions: adenine, L-serine and L-tyrosine/ Ilko Bald, Sigrid Weigelt, Xiaojing Ma, Pengyang Xie, Ramesh Subramani, Mingdong Dong, Chen Wang, Wael Mamdouh, Jianguo Wang and Flemming Besenbacher// *Phys. Chem. Chem. Phys.* PCCP, - 2010.-Vol.12.- №14.- pp. 3616–3621.
2. Kononov A. Luminescence excitation spectra reveal low-lying excited states in stacked adenine bases/ A. I. Kononov and M. N. Bukina // *J Biomol Struct Dyn*, -2002.-Vol. 20.- № 3.- pp. 465–471
3. Plasser F. Electronic excitation and structural relaxation of the adenine dinucleotide in gas phase and solution/ Felix Plasser, Hans Lischka// *Photochem. Photobiol. Sci.*, -2013.-Vol.12. -pp.1440-1452.

References

1. ILKO BALD, SIGRID WEIGELT, XIAOJING MA, PENGYANG XIE, et al. (2010) Two-dimensional network stability of nucleobases and amino acids on graphite under ambient conditions: adenine, L-serine and L-tyrosine. *Phys. Chem. Chem. Phys. PCCP* .12(14). p. 3616–3621.
2. A. I. KONONOV AND M. N. BUKINA (2002) Luminescence excitation spectra reveal low-lying excited states in stacked adenine bases. *J Biomol Struct Dyn*. 20(3). p. 465–471.
3. FELIX PLASSER, HANS LISCHKA (2013) Electronic excitation and structural relaxation of the adenine dinucleotide in gas phase and solution. *Photochem. Photobiol. Sci.*12. p.1440-1452.

Надійшла до редколегії 22.02.2018