

ИССЛЕДОВАНИЕ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНОЙ ФРАКЦИИ ДНК НА ИМПУЛЬСНЫХ СИЛЬНОТОЧНЫХ УСКОРИТЕЛЯХ.

Н.И. Завада, В.В. Платонов

Российский федеральный ядерный центр "Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной физики", г.Саров, Россия

Общеизвестно, что ДНК является носителем генетической информации, и основное ее количество в клетке сосредоточено в ядре, в основном в хромосомах. Однако в последнее время установлено, что небольшие количества ДНК (несколько нг/мл) могут находиться и вне клеток - так называемая внеклеточная ДНК [1-3]. Ее функция и биологическое предназначение не ясны, имеются лишь предположения. Одни авторы считают, что наличие внеклеточной ДНК в биологических жидкостях (в частности, в плазме крови) является следствием программированной гибели клеток по завершении их жизненного цикла [4], другие авторы склонны считать, что таким путем возможна передача генетической информации "по горизонтали" для управления биологической активностью некоторых клеточных сообществ и тканей [5].

Особый интерес представляет низкомолекулярная фракция ДНК [6]. Молекулы такой ДНК содержат около 180-200 пар нуклеотидов. В норме такая ДНК в плазме крови отсутствует (по крайней мере, не определяется существующими методами анализа), но она появляется при воздействии ряда экстремальных факторов. В частности, низкомолекулярная фракция ДНК в плазме крови появляется после воздействия ионизирующих излучений [7]. Причем в определенном диапазоне доз облучения этот эффект имеет дозозависимый характер, что открывает перспективы использования этого явления в качестве биологического дозиметра [8].

Целью данной работы является разработка кинетических методов исследования процессов генерации низкомолекулярной фракции ДНК. Основным элементом такой установки является импульсный источник излучения, который должен обеспечить за время одного импульса дозу облучения более 100 Гр, на площади до 1000 см². В представленной работе описаны два ускорителя прямого действия «ОРИОН-1» и «РИУС-5», разработанных в РФЯЦ-ВНИИЭФ, использованные в экспериментах по изучению ДНК.

Ускоритель «ОРИОН-1» был разработан в 1977г. В состав ускорителя входят генератор импульсных напряжений (ГИН), двойная формирующая линия (ДФЛ) и вакуумный диод (ВД) [9]. ГИН рассчитан на напряжения до 3,7 МВ. Особенностью ДФЛ является, использование в качестве изолирующей среды высокополярного диэлектрика: глицерин ($\epsilon = 42$). Внутренний электрод ДФЛ установлен на верхнем торце ВД (рис.1). Наружный электрод размещен на внутренней поверхности стеклокерамического цилиндра. Зарядная емкость ДФЛ выбрана примерно равной разрядной емкости ударных

контуров и составляет 55 нФ. Коммутация ДФЛ осуществляется при пробое двухэлектродного глицеринового разрядника между промежуточным и внутренним электродами. Волновое сопротивление ДФЛ 6,6 Ом, расчетная амплитуда напряжения на вакуумном диоде 3,6 МВ (согласованный режим). Для коммутации ДФЛ использован газонаполненный разрядник на SF₆ с секционированным изолятором.

Катод диода выполнен из трубы диаметром 12 см. Нижняя кромка трубы, обращенная к плоскому аноду, заострена. В ускорителе использовались два режима зарядки ДФЛ: общепринятый, где вакуумный диод шунтируется индуктивностью, и безындуктивный - с зарядкой внутренней линии через предимпульсный разряд в диоде [9]. Во втором режиме (двухтактном) ток в предимпульсе достигает 40 кА, что приводит к образованию ограниченной в пространстве и во времени плазмы. Характерная особенность работы диода в двухтактном режиме - генерация тормозного излучения на спаде тока в диоде.

В настоящее время разработан более эффективный диод. В этом диоде сплошной катод заменен многомодульным. Он образован системой из *n*-труб, начинающихся от верхнего торца изолятора, каждая длиной $\approx 1,5$ м. На нижних торцах труб смонтированы одинаковые насадки, образующие систему однотипных ускоряющих промежутков с анодной мишенью. Отдельные катоды расположены равномерно по окружности. В условиях значительного выноса материала анода, в том числе и в виде крупных фрагментов, такая конструкция обеспечивает формирование симметричного электронного пучка. И только тогда, когда усы из распыленного материала анода перекрывают зазоры между элементарными катодами, устройство снижает свои показатели.

Дополнительно потребовалось принять меры для сохранения симметрии пучка в условиях газовыделения. Для этого мишень-анод выполнена составной. Периферийная часть мишени состоит из одинаковых секторов, закрепленных на нижней крышке разрядной камеры с помощью винтов. Винты крепления всех секторов находятся на одинаковом расстоянии от оси диода. Щели стыка отдельных секторов закрыты полосами из одинакового материала. Центральная часть мишени ($D = 15$ см) регулярно сменяется из-за разрушения. Ее крепление производится винтами с одинаковой азимутальной плотностью.

Диод с многомодульным катодом и симметрично армированной мишенью обеспечил

высокоэффективную работу ускорителя в режиме с максимальным предимпульсным разрядом. Существенным его показателем является подавление роли газовой выделенности, разного для различных по порядку следования импульсов. Фактически оно проявляется в изменении размера фокусного пятна $r_\phi = 3-4$ см. Фокусное пятно сохраняет симметрию при $r \geq 1,5-2,0$ см. При большей степени сжатия пучка требуется более тщательное соблюдение принципов, заложенных в основу диода. Среди простых приемов, опробованных на ускорителе, можно отметить стабилизирующую роль тонкого кольца из Al, Ti диаметром больше диаметра многомодульного катода, размещенного на периферийной части мишени [10].

Методы рентгеновской диагностики сыграли определяющую роль при отработке диода этого типа. Кроме сведений о динамике пучка, потребовались дополнительные сведения об основных параметрах электронов в пучке: спектре, угле их вхождения в мишень. Ввиду малой информативности метода с измерением тока и ускоряющего напряжения, в дополнение к нему, разработан независимый способ определения E_e , I , ϕ по угловому распределению тормозного излучения. Сведения, полученные таким образом, впервые потребовали поиска геометрий с формированием пучка хорошего качества [9].

Из расчетно-теоретического анализа следует, что для систем с использованием тормозного излучения из переднего полупространства очень важно обеспечить малый угол вхождения электронов в мишень, так как снижение выхода в приосевой области для больших значений E_e может достигать 3-5 раз (рис.2). С учетом данных по трем параметрам была произведена более глубокая оптимизация процессов в диоде. Сопоставление данных для оптимизированного варианта показано на рис. 3.

Малое значение $\phi \approx 15-20^\circ$, совпадение или близость E_e и I , определенных по тормозному излучению и регистрацией тока и напряжения, свидетельствуют об отсутствии или подавлении релаксационных процессов в анодной плазме. На ускорителе при мишени из Ta, $x = 1$ мм достигнуты значения доз на $R = 1$ м от мишени $D_{1м} = 250-270$ Р, а в близкофокусной зоне - $D_{б.ф} = 200-300$ кР при длительности импульса $\tau_{0,5} \approx 1,1 \cdot 10^{-7}$ с. С учетом размеров фокусного пятна и радиального распределения доз в плоскости мишени выход тормозного излучения в переднее полупространство $W_\gamma = 1,8$ кДж, а КПД преобразования энергии электронов в тормозное излучение $\eta \approx 3,6\%$. Эта величина находится в согласии с расчетным значением η , полученным в рамках одно-частичного приближения.

Расчетно-теоретический анализ показывает, что для толстых мишеней (Ta, $x = 1$ мм) средняя энергия квантов \overline{E}_γ тормозного излучения для переднего и заднего полупространств может аппроксимироваться выражением $\overline{E}_\gamma^i = 0,36 E_e^{0,55}$;

$\overline{E}_\gamma^o = 0,11 E_e^{0,55}$, где E_e взято в мегаэлектронвольтах.

Существенное различие спектров в различных зонах пространства полезно при проведении радиационных экспериментов с ДНК. С этой целью в корпусе разрядной камеры диода предусмотрены окна для использования излучения из тыльного полупространства в диапазоне углов $\Theta = 100-150^\circ$.

Разработанный диод с заземленным катодом обеспечивает более удачное использование излучения. В тормозном излучении широко представлен участок спектра в диапазоне энергии квантов до 0.1 МэВ. Причем доля энергии на этом участке спектра может достигать до 30 – 40% от полного выхода.

Ускоритель РИУС-5 одно из нескольких устройств, где в качестве источника высокого напряжения применен резонансный трансформатор "Тесла". Внутри бака установки расположены: рентгеновская трубка, электрод-кондуктор, обмотки резонансного трансформатора. Обмотки резонансного трансформатора вместе с емкостью первичной обмотки C_1 и емкостью вторичной обмотки C_2 представляют собой индуктивно связанные контуры. Они работают в режиме свободных колебаний при ударном возбуждении. Коэффициент связи обмотки $K = 0,47$. В качестве емкости первичного контура $C_1 = 5$ мкФ используется батарея конденсаторов, расположенная вне бака. Коммутация батареи производится управляемыми разрядниками P_1 и P_2 . Емкость вторичного контура $C_2 = 284$ пФ образована кондуктором со стенками бака. Первичная обмотка с индуктивностью $L_1 = 5 \cdot 10^{-6}$ Гн имеет 4 витка. Вторичная обмотка размещена на каркасе из оргстекла. Она содержит 500 витков провода в полиэтиленовой изоляции с индуктивностью $L_2 = 0,09$ Гн. Коэффициент трансформации равен 125 [11].

Энергоемкость батареи конденсаторов первичного контура составляет 10 кДж. В момент максимума напряжения на кондукторе производится его коммутация разрядником на трубку.

В настоящее время на установках используется ряд методик для измерения характеристик тормозного излучения. К ним относятся методы измерения дозы, мощности дозы, спектра тормозного излучения [12,13]. Также разработаны методики для определения параметров электронов в пучке ускорителя путем измерения одной или нескольких характеристик тормозного излучения. К ним относятся: определение изменения во времени энергии, тока и угла вхождения электронов в мишень по угловому распределению мгновенного значения мощности дозы тормозного излучения; использование детекторов мощности дозы в нескольких точках пространства с вариацией z детекторов и толщины фильтра [14], измерение поперечных размеров электронного пучка по тормозному излучению из мишени [15].

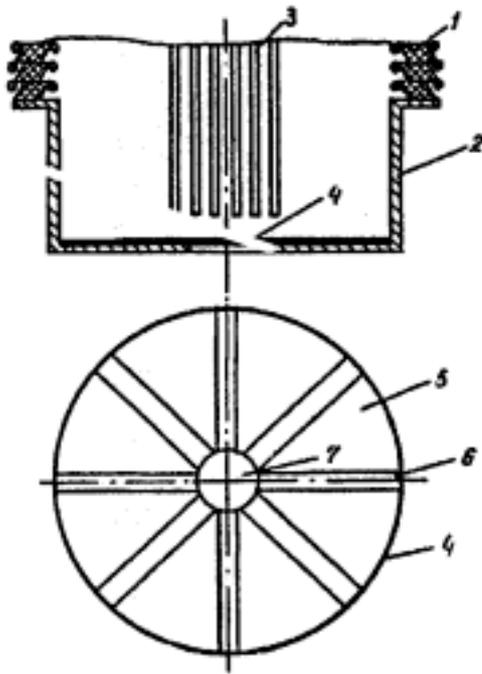


Рис.1. Конфигурация ускоряющего диода с многомодульным катодом и симметризацией газовыделения из мишени: 1 – секционированный изолятор; 2 – корпус разрядной камеры; 3 – элементы многомодульного катода; 4 – крышка с мишенью; 5 – сектор мишени; 6 – пластины крепления сектора; 7 – центральная часть мишени

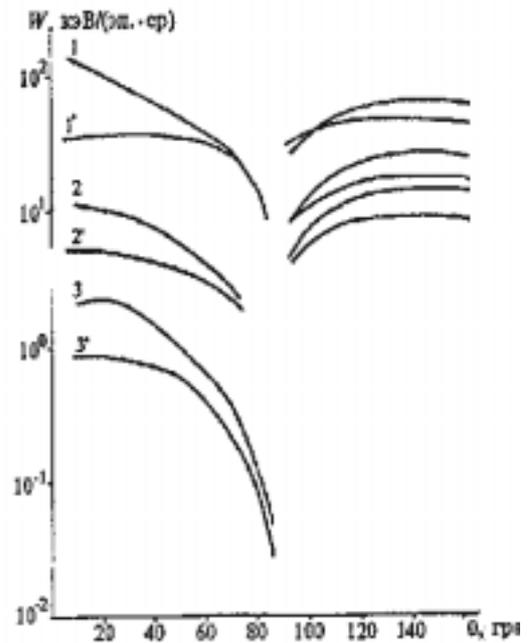


Рис.2. Области вариации пространственного распределения флюенсов энергетического выхода тормозного излучения из Та мишени при изменении ϕ от 0 до 70°: 1, 2, 3 - $\phi = 0^\circ$; 1', 2', 3' - $\phi = 75^\circ$,
1, 1' - $E_c = 3$ МэВ; 2, 2' - $E_c = 2$ МэВ;
3, 3' - $E_c = 1$ МэВ;

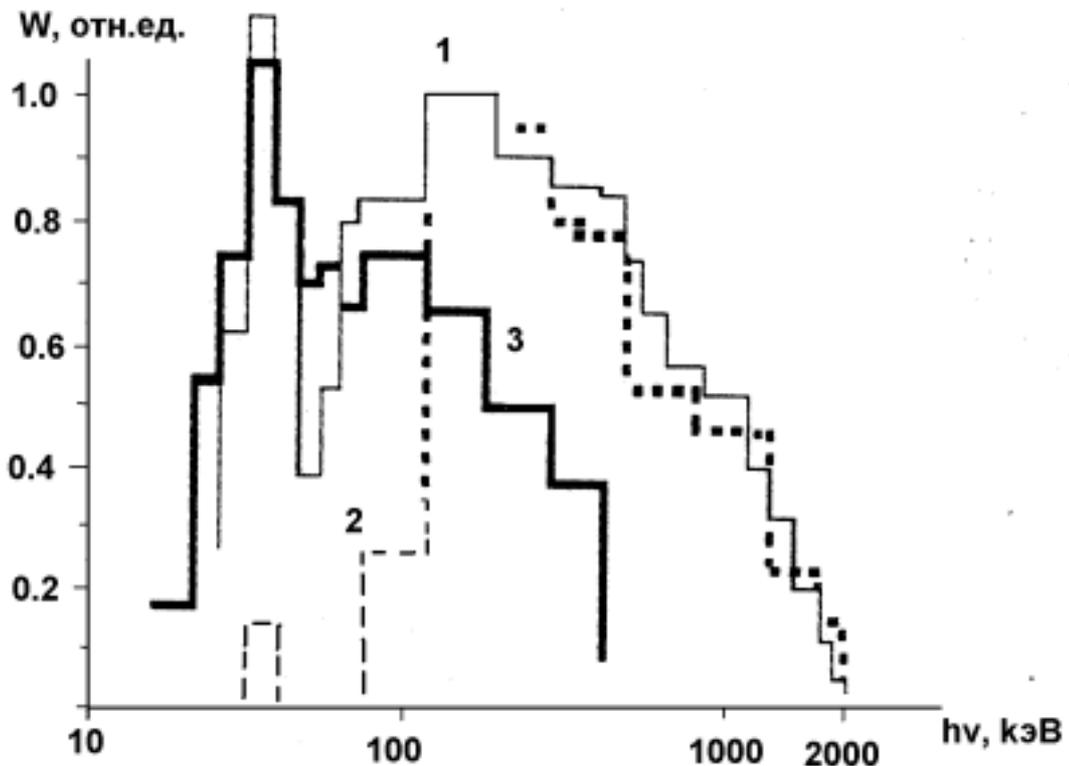


Рис.3. 1 – оптимизированная мишень $E_c = 2$ МэВ;
2 – толстая мишень $E_c = 2$ МэВ;
3- каскадная система

Последний метод позволяет определить локальные значения энергии и плотности тока по сечению электронного пучка, а следовательно, и устанавливать локальные значения флюенсов при локальном облучении различных участков тела экспериментальных животных.

В ускорителе для режима генерации тормозного излучения используется несколько разновидностей электродной системы. Они позволяют при одном и том же напряжении на вводе трубки в широких пределах варьировать спектр тормозного излучения, рис. 3. Каскадная система предназначена для получения максимального энергетического выхода в спектральном диапазоне до 100 кэВ и существенного увеличения его доли в полном выходе излучения. В ней верхняя граница квантов в спектре не превышает 0,5 МэВ, а энергетические флюенсы излучения $\Phi_\gamma \sim 10^{-3}$ кал/см² при площади пятна $S = 30$ см².

Работа была выполнена при частичной поддержке Международного научно-технического центра, проект 1282.

Литература

1. Н.А.Федоров, Л.С.Янева, О.И.Скотникова, В.И. Панков Определение концентрации ДНК в плазме крови человека//Бюлл. эксп. биол. и мед.,1986, т.52, N.9, с.281-283.
2. P.Rumore., V.Muralidhar, M.Lin. et. al. Haemodialysis as a model for studying endogenous plasma DNA: oligonucleosome- like structure and clearance//Clin.Exp.Immunol.,1992,vol.90,N.1,p.56
3. Ch.R Steinman. Free DNA in serum and plasma from normal adults//J.Clin.Invest.,1975,vol.56, N.2, p.512-515.
4. J.Zh.Li, Ch.R.Steinman Plasma DNA in systemic lupus erythematosus//Arthritis and rheumatism, 1989, vol.32, N.6, p.726-733.
5. D.Adams The problem of cytoplasmic DNA: its extrusion/up-take by cultured cells and its possible role in cell-cell information transfer//Int. J. Biochem., 1985, vol.17, N.11, p.1133-1142.
6. M.Stroun., Ph.Anker, J.Lyantey et.al. Isolation and characterization of DNA from the plasma of cancer patients//Eur.J.Cancer Clin.Oncol., 1987, vol.23, N.6,p.707-712.
7. В.Г.Владимиров., А.С.Белохвостов, С.С.Шерлина и др. Содержание внеклеточной ДНК в крови облученных крыс// Бюлл. эксп. биол. и мед.,1992, т.62, N.2, с.188-191.
8. V.G.Vladimirov, A.S. Belokhvostov., S.S. Sherlina et.al. Extracellular DNA level in the blood of irradiated rats// Int.J.Radiat.Biol., 1992, vol.62, N.6, p.667-671.
9. Н.И.Завада и др., Сильноточные ускорители электронов прямого действия// Физика и техника импульсных источников ионизирующего излучения для исследования быстропротекающих процессов. Саров, ВНИИЭФ, 1996, с.49-159.
10. Е.К.Бонюшкин, Н.И.Завада, С.А.Новиков, А.Я.Учаев, Кинетика динамического разрушения металлов в режиме импульсного облучения// Научное издание, Саров, ВНИИЭФ, 1998, с.275.
11. Е.А.Абрамян., С.Б. Вассерман., В.Н. Долгушин и др. Генератор коротких импульсов жесткого рентгеновского излучения высокой интенсивности// Докл. АН СССР, 1970, т. 191, N 1, с. 76.
12. И.А. Бочвар., Т.И.Гимадова, И.Б.Кеирим-Маркус и др. Метод дозиметрии ИКС. М.: Атомиздат, 1977.
13. А.И.Веретенников, В.М.Горбачев, Б.А.Предин. Методы исследования импульсных излучений. М.: Энергоатомиздат, 1985.
14. Н.И.Завада., П.Л. Комаров., В.А. Цукерман., Е.Н.Донской Характеристики тормозного излучения и связь их с параметрами сильноточных электронных пучков// Физика и техника импульсных источников ионизирующих излучений для исследования быстропротекающих процессов. Саров: ВНИИЭФ, 1995.
15. В.М.Горбачев, Н.И.Завада, В.Н. Королев и др. Система для исследования конфигурации электронного пучка по тормозному излучению из мишени// ПТЭ, 1992, N 5, с. 163-166.