

Биология

УДК 577.3

М. А. ЭЛИЗБАРЯН

ИССЛЕДОВАНИЕ СМЕШАННОЙ КИНЕТИКИ АДСОРБЦИИ ЛИГАНДОВ НА ДНК

В работе построена математическая модель кинетики адсорбции лигандов на дуплексах ДНК с учетом как диффузионной стадии, так и кинетической. Рассмотрен случай, когда объемный раствор непосредственно примыкает к иммобилизованным молекулам ДНК. Численный анализ системы нелинейных уравнений, описывающей процесс адсорбции, показывает, что в зависимости от соотношения между константами скоростей адсорбции и десорбции лигандов на ДНК и скоростью диффузии лигандов в растворе могут реализоваться различные варианты адсорбции.

Введение. В связи с разработкой ДНК-биосенсоров возникает необходимость в теоретическом анализе влияния физико-химических условий среды на их работу [1–3]. ДНК-биосенсоры, как правило, функционируют в жидкой среде и в окружении большого числа низкомолекулярных веществ, лигандов. Поскольку их работа связана с диффузионным перемещением лигандов и односторонней ДНК к подложке, на которой иммобилизована комплементарная односторонняя молекула ДНК, то становятся важными исследования возникающих при этом кинетических проблем [4–6]. Процессу непосредственного связывания лиганда с адсорбционным центром на ДНК предшествует диффузия лиганда из глубины раствора к адсорбционному центру, поэтому в первую очередь следует выяснить, как влияет диффузия в растворе на кинетику адсорбции лиганда. Для выяснения этого вопроса следует решить совместные уравнения диффузии и собственно адсорбции, т.е. рассмотреть смешанную кинетику, которая включает в себя две стадии адсорбции: диффузионную и кинетическую. В работе [7] была получена система уравнений, описывающая кинетику перемещения небольших лигандов через непроницаемый слой к подложке и их адсорбции на ДНК-дуплексе. В этой работе рассмотрим случай, когда объемный раствор непосредственно примыкает к иммобилизованным молекулам ДНК, а систему уравнений запишем в переменных, удобных для анализа смешанной кинетики адсорбции.

Теоретическая часть. По аналогии с [7] запишем следующую систему уравнений, которая описывает кинетику адсорбции лигандов на ДНК с учетом как диффузионной стадии, так и кинетической:

$$\frac{\partial c_L(x,t)}{\partial t} = D_L \frac{\partial^2 c_L(x,t)}{\partial x^2} - k_1 c_L(x,t)(c_{A_0} - c_{LA}(x,t)) + k_{-1} c_{LA}(x,t), \quad (1)$$

$$\frac{\partial c_{LA}(x,t)}{\partial t} = k_1 c_L(x,t)(c_{A_0} - c_{LA}(x,t)) - k_{-1} c_{LA}(x,t), \quad (2)$$

$$c_L(x,0) = 0, \quad c_{LA}(x,0) = 0, \quad (3)$$

$$\left(\frac{\partial c_L(x,t)}{\partial x} \right)_{x=0} = 0, \quad c_L(l,t) = c_{L_0}, \quad (4)$$

где $c_L(x,t)$ – концентрация лигандов в растворе, D_L – коэффициент диффузии лигандов, $c_{LA}(x,t)$ – концентрация адсорбированных лигандов, k_1 и k_{-1} – константы скоростей адсорбции и десорбции лигандов соответственно, c_{A_0} – начальная концентрация адсорбционных центров (число пар оснований), c_{L_0} – концентрация лигандов в объемном растворе, l – толщина слоя, в котором иммобилизованы молекулы ДНК. Начало координат находится на поверхности подложки, а ось x перпендикулярна к ней и направлена вглубь раствора. Введем обозначения:

$$c_1 = c_L / c_{L_0}, \quad c_2 = c_{LA} / c_{A_0}, \quad \xi = x / l, \quad \tau = t l^2 / D_L,$$

перепишем (1)–(4) в виде

$$\frac{\partial c_1(\xi, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 c_1(\xi, \tau)}{\partial \xi^2} - \alpha (c_1(\xi, \tau)(1 - c_2(\xi, \tau)) - \alpha_1 \beta_1 c_2(\xi, \tau)), \quad (1a)$$

$$\frac{\partial c_2(\xi, \tau)}{\partial \tau} = \alpha \left(\frac{c_1(\xi, \tau)(1 - c_2(\xi, \tau))}{\beta_1} - \alpha_1 c_2(\xi, \tau) \right), \quad (2a)$$

$$c_1(\xi, 0) = 0, \quad c_2(\xi, 0) = 0, \quad (3a)$$

$$\left(\frac{\partial c_1(\xi, \tau)}{\partial \xi} \right)_{\xi=0} = 0, \quad c_1(1, \tau) = 1, \quad (4a)$$

$$\alpha = k_1 c_{A_0} l^2 / D_L, \quad \alpha_1 = k_{-1} / (k_1 c_{A_0}), \quad \beta_1 = c_{A_0} / c_{L_0}. \quad (5)$$

Численно решив уравнения (1a)–(4a), можно определить кинетику заполнения адсорбционных центров на ДНК-дуплексе по формуле

$$\theta(\tau) = \int_0^1 c_2(\xi, \tau) d\xi. \quad (6)$$

Результаты и их обсуждение. Из (5) следует, что параметр β_1 меньше единицы, поскольку в подавляющем большинстве случаев $c_{A_0} < c_{L_0}$, а параметры α и α_1 могут быть как больше, так и меньше единицы. Примем, что заданы концентрации лигандов в объеме раствора и число адсорбционных центров. В этом случае для анализа влияния диффузионной стадии на кинетику

тику адсорбции лигандов на ДНК-дуплексы зафиксируем параметр β_1 и будем варьировать параметры α и α_1 . По результатам численного интегрирования уравнений (1a)–(4a) и (6) построены зависимости θ от τ (рис. 1). Из рис. 1, а видно, что с увеличением константы скорости десорбции степень заполнения уменьшается (от верхней кривой к нижней). Этот эффект должен сдвинуться по временной шкале вправо при уменьшении скорости диффузионной стадии. Это обстоятельство продемонстрировано на рис. 1, б.

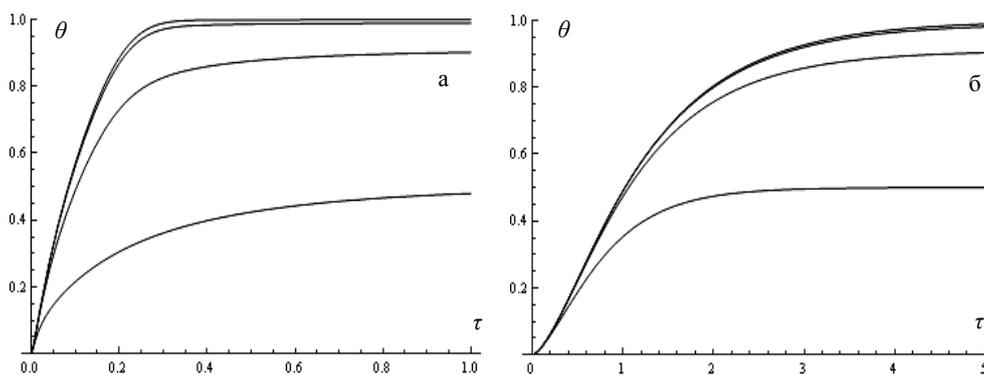


Рис. 1. Смешанная кинетика адсорбции лигандов на ДНК при $\beta_1=0,1$ и $\alpha_1=0,01; 0,1; 1; 10$ (сверху вниз). τ – безразмерное время, θ – степень заполнения ДНК. а) $\alpha=10$, б) $\alpha=0,1$.

Из рис. 1, б видно также, что смешанная кинетика может привести к неэкспоненциальной кинетике заполнения дуплексов лигандами. Анализ уравнений (1a)–(4a) показывает, что в случае быстрой диффузии реализуется экспоненциальная кинетика связывания лигандов с ДНК. Таким образом, в данной работе построена математическая модель смешанной кинетики адсорбции лигандов на дуплексах ДНК для случая, когда объемный раствор непосредственно примыкает к иммобилизованным молекулам ДНК. Показано, что в зависимости от соотношения между константами скоростей адсорбции и десорбции лигандов на ДНК и скоростью диффузии лигандов в растворе могут реализоваться различные варианты адсорбции.

Кафедра биофизики

Поступила 20.10.2009

ЛИТЕРАТУРА

1. Hagan M.F., Chakraborty A.K. J.Chem. Phys., 2004, v. 120, p. 4958–4968.
2. Chan V., Graves D.J., Fortina P. Langmuir, 1997, v. 13, p. 320–329.
3. Drummond T.G., Hill M.G., Barton J. Nature Biotechnology, 2003, v. 21, № 10, p. 1192–1199.
4. Bishop J., Blair S., Chagovetz A.M. Biophysical J., 2006, v. 90, p. 381–840.
5. Erickson D., Li D., Krull U.J. Analytical Biochemistry, 2003, v. 317, p. 186–200.
6. Arakelyan V.B., Babayan S.Yu., Tairyan V.I., Arakelyan A.V., Parsadanyan M.A., Vardanyan P.O. JBSD, 2006, v. 24, № 2, p. 479–484.
7. Arakelyan V.B., Elizbaryan M.A., Asatryan D.G. International Conference “Biotechnology and Health”-3 & DAAD Alumni Seminar, Yerevan, 2009, 15–17 October, p. 10–13.

Մ. Ա. ԷԼԻԶԲԱՐՅԱՆ

ԴՆԹ-Ի ՎՐԱ ԼԻԳԱՆԴՆԵՐԻ ԱԳՍՈՐԲՄԱՆ ԽԱՌԸ ԿԻՆԵՏԻԿԱՅԻ
ՀԵՏԱԶՈՏՈՒՄԸ

Ա մ փ ո փ ո մ

Աշխատանքում կառուցված է երկշրթա ԴՆԹ-ի վրա լիգանդների ադսորբման մաթեմատիկական մոդել, որում հաշվի են առնվել ինչպես դիֆուզիոն, այնպես էլ կինետիկ փուլերը: Զննարկվել է այն դեպքը, երբ ծավալային լուծույթը անմիջականորեն հարում է ԴՆԹ-ի մոլեկուլներին: Ադսորբման պրոցեսը նկարագրող ոչ գծային հավասարումների համակարգի թվային վերլուծությունը ցույց է տալիս, որ ԴՆԹ-ի հետ միացման և պոկման արագությունների հաստատունների և լուծույթում լիգանդների դիֆուզիայի արագության հարաբերակցությունից կախված կարող են իրացվել ադսորբման մի քանի տարբերակներ:

M. A. ELIZBARYAN

INVESTIGATION OF MIXED KINETICS OF LIGANDS ADSORPTION
ON DNA

Summary

In this work the mathematical model of kinetics of ligands adsorption on duplexes of DNA with the account of diffusion as well as kinetic stages is constructed. The case when the volume solution directly adjoins to immobilized molecules of DNA is considered. The numerical analysis of nonlinear equations system describing the process of adsorption shows that various variants of adsorption can be realized in a solution depending on a parity between constants of ligands adsorption and desorption rates on DNA, as well as ligands rate diffusion.