

БИОФИЗИКА

УДК 577.3

А. Т. Карапетян<sup>1</sup>, Г. А. Аветисян<sup>2</sup>, В. Б. Аракелян<sup>2</sup>

Влияние ланжевенковского шума на ДНК-биосенсоры

(Представлено чл.-кор. НАН РА А. А. Трчуняном 21/IV 2010)

**Ключевые слова:** ДНК-биосенсоры, ланжевенковский шум, адсорбция лигандов на ДНК

**Введение.** В основе всех молекулярных ДНК-биосенсоров лежит регистрация высокоспецифического распознавания последовательностей распределения нуклеиновых кислот [1-3]. Специфичность и достаточная прочность взаимодействия между двумя комплементарными цепями ДНК служат основой для того, чтобы признать молекулу последней наиболее подходящей для использования в биосенсорах. В типичной конфигурации одноцепочная ДНК-мишень иммобилизована на подложке, образуя слой для распознавания. Если в растворе есть одноцепочные ДНК, комплементарные ДНК-мишеням, то образуются дуплексы ДНК. Образование дуплекса активизирует сигнал, который, преобразовываясь в электрические импульсы, передается регистрирующему устройству. Как правило, дуплексы и иммобилизованные на подложке одиночные цепи ДНК окружены большим количеством лигандов разного типа. Адсорбция лигандов на одиночные цепи ДНК может влиять на взаимодействие между двумя комплементарными цепями и образование дуплексов ДНК, что неизбежно повлечет за собой процесс формирования выходного сигнала биосенсора. Адсорбция лигандов на дуплексах ДНК может влиять также на процесс формирования выходного сигнала биосенсора. Несмотря на значительные достижения в использовании ДНК-биосенсоров в научных и прикладных исследованиях [4], некоторые задачи, связанные с усовершенствованием методов определения и идентификации параметров ДНК-биосенсора, остаются нерешенными. В первую очередь это задача усиления выходного сигнала ДНК-биосенсора, тесно

связанная с проблемой шумов выходного сигнала. ДНК-биосенсор обычно "работает" в среде, где всегда существует случайно флуктуирующий тепловой шум, от которого практически невозможно избавиться. Поэтому исследование влияния внешних шумов на выходной сигнал ДНК-биосенсора весьма актуально.

В настоящей работе рассмотрена теоретическая модель формирования выходного сигнала ДНК – биосенсора в пространственно-однородной среде, где влиянием на выходной сигнал внутренних флуктуаций можно пренебречь.

**Теоретическая часть.** Влияние внешнего шума на величину выходного сигнала ДНК-биосенсора исследовано в рамках следующей модели формирования выходного сигнала. Примем, что величина выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорциональна числу ДНК дуплексов и равна  $I_0$ ; при связывании лиганда с ДНК дуплексами она изменяется на величину, пропорциональную числу связанных с одним дуплексом ДНК лигандов  $x(t)$ . Таким образом, величину выходного сигнала системы ДНК-биосенсора в зависимости от времени  $I(t)$  можно представить в виде

$$I(t) = I_0 + \alpha \cdot x(t), \quad (1)$$

где  $\alpha$  – коэффициент пропорциональности. Заметим, что перед  $\alpha$  может быть знак "минус", если при адсорбции лиганда на ДНК дуплексе величина выходного сигнала уменьшается.

Рассмотрим задачу влияния внешнего шума на величину выходного сигнала ДНК-биосенсора в такой флуктуирующей среде, где исключено воздействие осложняющих факторов. Допустим, что: 1) ДНК-биосенсор работает в пространственно-однородной среде, т. е. нет диффузионных ограничений в кинетике связывания субстрата с ДНК; 2) ДНК-биосенсор работает в такой макроскопической среде, где можно пренебречь внутренними флуктуациями. Тогда квазихимическая реакция, описывающая взаимодействие лиганда с адсорбционным участком на ДНК, будет иметь вид



где  $(LM)$  – комплекс лиганда ( $L$ ) с адсорбционным центром на ДНК ( $M$ ),  $k_1$  и  $k_{-1}$  – константы скоростей образования и распада комплекса соответственно. ДНК дуплекс представим в виде одномерного кристалла с  $N$  числом адсорбционных центров связывания. Лиганд, имеющий намного меньшие линейные размеры, при адсорбции занимает  $n$  адсорбционных центров на ДНК дуплексе. Ранее нами было показано, что для случая малого заполнения уравнение, описывающее изменение во времени числа

адсорбированных на ДНК лигандов в единичном объеме, имеет вид [5]

$$\frac{dx}{dt} = k_1 c_f (N - (2n - 1)x) - k_{-1} x, \quad (3)$$

где  $c_f$  — число свободных лигандов в растворе. Из полученного соотношения следует, что флуктуации параметров переводят уравнение (3) в класс стохастических дифференциальных уравнений (СДУ), причем в зависимости от того, какой параметр флуктуирует, СДУ будет ланжевеновским, когда случайная функция прибавляется к правой части уравнения, или же мультипликативным, когда случайная функция умножается на переменную  $x$ . Рассмотрим случай, когда флуктуирует число адсорбционных центров  $N$ , что может происходить в результате изменения сродства адсорбционного центра под воздействием случайно изменяющихся факторов внешней среды. Флуктуации в среде могут возникнуть вследствие действия множества независимых факторов, и если вклад каждого из них мал, то их суммарное воздействие согласно центральной предельной теореме имеет гауссовское распределение. Следовательно,  $N(t)$  можно представить в виде суммы среднего  $\bar{N}$  и гауссовского шума  $\xi(t)$ , среднее значение которого равно нулю, т. е.  $\overline{\xi(t)} = 0$  [6]. Имеем следующее выражение для  $N(t)$ :

$$N(t) = \bar{N} + \sigma_N \cdot \xi(t), \quad (4)$$

где  $\xi(t)$  — гауссовский шум, среднее значение которого  $\overline{\xi(t)} = 0$  [6];  $\sigma_N^2$  — интенсивность шума, а индекс  $N$  указывает, какой из параметров адсорбции подвержен действию внешнего шума.  $\sigma_N$  не зависит от времени, так как рассматривается случай стационарного внешнего шума. Учитывая, что в подавляющем большинстве случаев время корреляции флуктуаций внешней среды много меньше характерного времени изменения переменной в системе, "быстрые" флуктуации среды можно заменить шумом без "памяти", т. е. переходить к пределу белого шума. Такая замена позволяет рассмотреть гауссовский белый шум с характеристиками:  $\overline{\xi(t)} = 0$ ,  $\overline{\xi(0) \cdot \xi(t)} = \delta(t)$ , где  $\delta(t)$  — дельта-функция и все коммулянты выше второго равны нулю [6]. Подставив (4) в (3), получим

$$\frac{dx}{dt} = -(k_{-1} + (2n - 1)k_1 c_f)x + k_1 c_f \bar{N} + k_1 c_f \sigma_N \xi(t). \quad (5)$$

Из (5) видно, что внешний шум является аддитивным и СДУ имеет классический ланжевеновский вид. Решив уравнение (5), можно определить среднее число адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов и его дисперсию. Для этого сначала определяется точное решение уравнения (5) при начальном

условии  $x(0) = 0$ , которое имеет вид

$$x(t) = \exp(-(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t) \times \int_0^t \{k_1c_f\bar{N} + k_1c_f\sigma_N\xi(t')\} \exp((k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t') dt'. \quad (6)$$

Усредняя решение (6) и учитывая, что  $\overline{\xi(t)} = 0$ , для среднего числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов  $\overline{x(t)}$  получим

$$\overline{x(t)} = \frac{k_1c_f\bar{N}}{k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f} (1 - \exp(-(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t)). \quad (7)$$

Для стационарного значения среднего числа связанных с ДНК дуплексом лигандов  $(\bar{x})_{st}$  в случае, когда под воздействием внешнего шума флуктуирует число адсорбционных центров на ДНК дуплексе, уравнение (7) дает

$$(\bar{x})_{st} = \frac{Kc_f\bar{N}}{1 + (2n - 1)Kc_f}, \quad (8)$$

где  $K = k_1/k_{-1}$  — константа равновесия квазихимической реакции (2).

Вычислим дисперсию числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов при наличии ланжевеновского внешнего шума. Решение (6) представим в виде

$$x(t) = \overline{x(t)} + \gamma(t), \quad (9)$$

где

$$\gamma(t) = \exp(-(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t) \int_0^t k_1c_f\sigma_N\xi(t') \exp((k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t') dt'. \quad (10)$$

Дисперсия связанных с ДНК дуплексом лигандов определяется из соотношения

$$\overline{\Delta x^2(t)} = \overline{(x(t) - \overline{x(t)})^2}. \quad (11)$$

Учитывая (10) и (9), из (11) получим выражение для нестационарной дисперсии связанных с ДНК дуплексом лигандов

$$\overline{\Delta x^2(t)} = \frac{(k_1c_f\sigma_N)^2}{2(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)} \{1 - \exp(-2(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)t)\}. \quad (12)$$

Из (12) можно получить выражение для стационарной дисперсии числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов

$$(\overline{\Delta x^2})_{st} = \frac{k_{-1}(Kc_f\sigma_N)^2}{2(1 + (2n - 1)Kc_f)}. \quad (13)$$

Время релаксации дисперсии  $\tau_d$ , в течение которого дисперсия выходит на стационарный уровень, как видно из (12), равно обратной величине коэффициента при  $t$  в экспоненциальном множителе

$$\tau_d = (2(k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f))^{-1}. \quad (14)$$

Аналогичным образом из (7) получим выражение для оценки времени релаксации среднего числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов  $\tau_{\bar{x}}$

$$\tau_{\bar{x}} = (k_{-1} + (2n - 1)k_1c_f)^{-1}. \quad (15)$$

Из (14) и (15) следует, что время релаксации дисперсии  $\tau_d$  в два раза меньше, чем время релаксации для среднего числа адсорбированных на ДНК дуплексе лигандов  $\tau_{\bar{x}}$ .

**Результаты и их обсуждение.** Стационарное значение среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора при наличии ланжевеновского внешнего шума равно

$$\overline{I(t)} = I_0 + \alpha \cdot \frac{Kc_f\bar{N}}{1 + (2n - 1)Kc_f}. \quad (16)$$

Из (16) следует, что стационарное значение среднего выходного сигнала  $\overline{I(t)}$  не зависит от интенсивности шума. Это обстоятельство является прямым следствием ланжевеновского шума. Из (16) следует также, что с увеличением концентрации лигандов в растворе ( $c_f$ ) стационарное значение среднего выходного сигнала увеличивается, достигая величины

$$\overline{I(t)} = I_0 + \alpha \cdot \bar{N}/(2n - 1). \quad (17)$$

Анализ выражения (14) показывает, что время релаксации дисперсии  $\tau_d$  зависит от числа мест, с которыми связывается одна молекула лиганда, концентрации лигандов в растворе, констант скоростей образования и распада комплекса лиганда с ДНК. Зависимость  $\tau_d$  от безразмерной концентрации лигандов в растворе представлена на рис.1.

Как видно из рис.1, с увеличением концентрации время релаксации  $\tau_d$  уменьшается. Из (1) и (13) можно показать, что стационарное значение дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора при наличии ланжевеновского внешнего шума равно

$$(\overline{\Delta I^2})_{st} = \alpha^2 \cdot \frac{k_{-1}(Kc_f\sigma_N)^2}{2(1 + (2n - 1)Kc_f)}. \quad (18)$$

Из (17) следует, что дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорциональна интенсивности внешнего шума  $\sigma_N^2$ . Зависимость дисперсии

выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе представлена на рис.2.

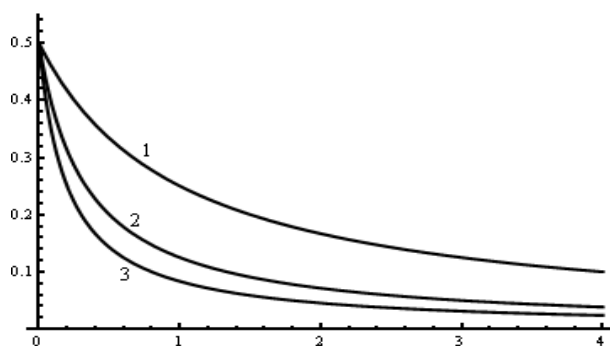


Рис.1. Зависимость времени релаксации дисперсии  $\tau_d$  (в единицах  $k_{-1}$ ) от концентрации свободных лигандов  $c_f$ , выраженной в единицах константы связывания  $K$  при различных значениях  $n$ . На кривой 1  $n = 1$ , на кривой 2  $n = 2$ , на кривой 3  $n = 3$ .

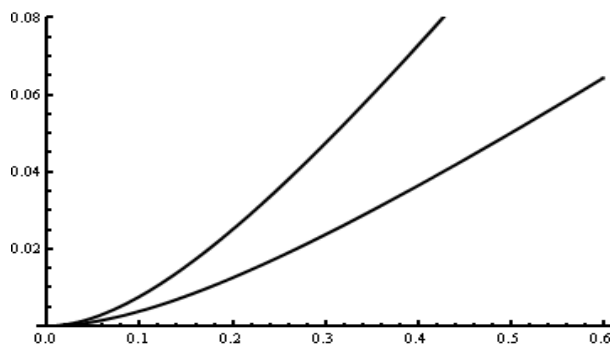


Рис.2. Зависимости безразмерной дисперсии  $(\overline{\Delta I^2})_{st}$  от концентрации свободных лигандов  $c_f$ , выраженной в единицах константы связывания  $K$ . По оси  $Y$  отложены значения  $(\overline{\Delta I^2})_{st}/(\alpha^2 k_{-1} \sigma_N^2)$ , по оси  $X$  – значения  $Kc_f$ . Кривые построены при  $n = 2$ . На верхней кривой интенсивность шума в два раза выше, чем на нижней.

Полученные на рис.2 зависимости безразмерной дисперсии от концентрации свободных лигандов свидетельствуют, что дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора при малых значениях  $Kc_f$  пропорциональна  $(Kc_f)^2$ , а при больших значениях  $Kc_f$  линейно растет с увеличением  $Kc_f$ . Дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорционально растет с ростом интенсивности шума. Поскольку наряду с ланжевенковским шумом на ДНК-биосенсоры могут действовать и другие шумы (мультипликативный шум, внутренний шум и др.), то выявленные особенности ланжевенковского шума могут служить основой для идентификации шума, действующего на выходной сигнал ДНК-биосенсора.

<sup>1</sup>Ереванский государственный университет архитектуры и строительства

<sup>2</sup>Ереванский государственный университет

**Ա. Թ. Կարապետյան, Գ. Ա. Ավետիսյան, Վ. Բ. Արակելյան**

### **Влияние ланжевеновского шума на ДНК-биосенсоры**

Определены характерные особенности влияния ланжевеновского шума на выходной сигнал ДНК-биосенсора. Показано, что с увеличением концентрации лигандов в растворе время релаксации дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора уменьшается. Показано также, что дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора при малых значениях концентрации лигандов имеет квадратичную зависимость от концентрации, при больших же значениях эта зависимость линейная. Дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорционально растет с ростом интенсивности шума.

**Ա. Թ. Կարապետյան, Գ. Ա. Ավետիսյան, Վ. Բ. Արակելյան**

### **Լանժեւենյան աղմուկի ազդեցությունը ԴՆԹ-կենսասենսորների վրա**

Որոշվել են ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի վրա աղմուկի ազդեցության բնութագրական առանձնահատկությունները: Ցույց է տրվել, որ լուծույթում լիգանդների կոնցենտրացիայի աճին զուգընթաց ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի դիսպերսիայի ռելաքսացիայի ժամանակը փոքրանում է: Ցույց է տրված նաև, որ լիգանդների կոնցենտրացիայի փոքր արժեքների դեպքում ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի դիսպերսիան ունի բառակուսային կախվածություն կոնցենտրացիայից, մեծ արժեքների դեպքում, սակայն, այդ կախվածությունը գծային է: ԴՆԹ-կենսասենսորի ելքային ազդակի դիսպերսիան համեմատականորեն աճում է աղմուկի ինտենսիվության աճին զուգընթաց:

**A. T. Karapetian, G. A. Avetisyan, V. B. Arakelyan**

### **The Influence of Lanzhevin's Noise on DNA-Biosensors**

It has been determined the characteristic peculiarities of noise effect on output signal of DNA-biosensor in this work. It has been shown, that with increasing of ligand concentration in solution, the relaxation time of dispersion of output signal of DNA-biosensor decreases. It has been also shown that the dispersion of output signal of DNA-biosensor has a quadratic dependence on concentration at low values of ligand concentration, on the other hand at high values, this dependence is linear. Dispersion of output signal of DNA-biosensor increases proportionally with increasing of noise intensity.

## Литература

1. Chan V., Graves D.J., Fortina P., McKenzie. - Langmuir. 1997. V. 13. P. 320-329.
2. Drummond T.G., Hill M.G., Barton J. - Nat. biotechnology. 2003. V. 21. N 10. P. 1192-1199.
3. Hagan M.F., Chakraborty A.K. - J.Chem. Phys. 2004. V. 120. P. 4958-4968.
4. Palecek E., Fojta M., Jelen F. - Bioelectrochemistry. 2002. V. 56. P. 85-90.
5. Arakelyan V. B., Babayan Yu. S., Potikyan G. - J. Biomol. Str. Dyn. 2000. V. 18. N2. P. 231-235.
6. Hoesthemke W., Lefever R. Noise-Induced Transitions. Berlin, Heidelberg, N. Y. 1984.