

Оригінальна стаття

<https://doi.org/10.26565/2075-3810-2019-42-05>

УДК 577.3+543.64

## ВЛИЯНИЕ АДСОРБЦИИ ЛИГАНДОВ НА ВЫХОДНОЙ СИГНАЛ ДНК-БИОСЕНСОРА

В.Б. Аракелян<sup>1</sup>, А.Т. Карапетян<sup>2</sup>, П.О. Вардеванян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Ереванский государственный университет, А. Манукяна 1, Ереван, 0025, Армения

<sup>2</sup>Национальный университет архитектуры и строительства Армении, Теряна 105, Ереван, 0009, Армения

e-mail: [p.vardevanyan@ysu.am](mailto:p.vardevanyan@ysu.am)

Поступила в редакцию 8 октября 2018 г.

Принята 7 ноября 2018 г.

**Актуальность.** Важное преимущество применения ДНК-биосенсоров по сравнению с традиционными молекулярно-биологическими методами связано с миниатюризацией исследуемых образцов и анализаторов, что значительно снижает стоимость анализа и время его проведения. Однако миниатюризация неизбежно приводит как к уменьшению величины выходного сигнала ДНК-биосенсора, так и к повышению уровня шумов сигнала. Поэтому становятся актуальными исследования, посвященные влиянию различных факторов, в частности лигандов, на величину выходного сигнала ДНК-биосенсоров и уровень шумов.

**Цель работы.** Теоретически рассчитать зависимость выходного сигнала ДНК-биосенсора от концентрации лигандов в растворе. Исследовать характерные особенности выходного сигнала ДНК-биосенсора.

**Теория.** Модель, в рамках которой проводятся теоретические расчеты, следующая. Имеется подложка, на которой иммобилизованы одноцепочечные молекул ДНК-мишеней. Подложка граничит с раствором, где имеются как комплементарные с ДНК-мишенью одноцепочечные ДНК, так и лиганды, способные адсорбироваться на дуплексы ДНК. Величина выходного сигнала ДНК-биосенсора пропорциональна числу дуплексов ДНК. Адсорбция лигандов на дуплексы ДНК приводит к изменению выходного сигнала ДНК-биосенсора. Принимаем, что адсорбированный лиганд увеличивает выходной сигнал ДНК-биосенсора. Поскольку образование и распад комплекса лигандов с дуплексом ДНК происходит случайным образом, то число связанных с дуплексом ДНК лигандов будет изменяться случайным образом, что неизбежно приведет к флуктуации выходного сигнала ДНК-биосенсора.

**Результаты.** Показано, что с увеличением концентрации лигандов в растворе выходной сигнал ДНК-биосенсоров монотонно растет, а время релаксации выходного сигнала уменьшается. Показано также, что дисперсия выходного сигнала ДНК-биосенсора с увеличением концентрации лигандов в растворе вначале увеличивается, а затем, проходя через максимум, уменьшается и стремится к нулю при дальнейшем увеличении концентрации лигандов в растворе.

**Выводы.** Полученные данные могут быть использованы на практике при изготовлении микро ДНК-биосенсоров и анализе результатов измерений.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ДНК-биосенсоры; адсорбция лигандов; средний выходной сигнал; дисперсия сигнала; время релаксации сигнала.

## ВПЛИВ АДСОРБЦІЇ ЛІГАНДІВ НА ВИХІДНИЙ СИГНАЛ ДНК-БІОСЕНСОРА

В.Б. Аракелян<sup>1</sup>, А.Т. Карапетян<sup>2</sup>, П.О. Вардеванян<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Єреванський державний університет, А. Манукяна 1, Єреван, 0025, Вірменія

<sup>2</sup>Національний університет архітектури та будівництва Вірменії, Теряна 105, Єреван, 0009, Вірменія

**Актуальність.** Важлива перевага застосування ДНК-біосенсорів в порівнянні з традиційними молекулярно-біологічними методами пов'язана з мініатюризацією досліджуваних зразків і аналізаторів, що значно знижує вартість аналізу і час його проведення. Однак мініатюризація неминує призводить як до зменшення величини вихідного сигналу ДНК-біосенсора, так і до підвищення рівня шумів сигналу. Тому стають актуальними дослідження, присвячені впливу різних чинників, зокрема лігандів, на величину вихідного сигналу ДНК-біосенсорів і рівень шумів.

**Мета роботи.** Теоретично розрахувати залежність вихідного сигналу ДНК-біосенсора від концентрації лігандів у розчині. Дослідити характерні особливості вихідного сигналу ДНК-біосенсора.

**Теорія.** Модель, в рамках якої проводяться теоретичні розрахунки, наступна. Є підложка, на якій іммобілізовані одноланцюгові молекули ДНК-мішеней. Підложка межує з розчином, де є як комплементарні з ДНК-мішенню одноланцюгові ДНК, так і ліганди, здатні адсорбуватися на дуплекси ДНК. Величина вихідного сигналу ДНК-біосенсора пропорційна числу дуплексів ДНК. Адсорбція лігандів на дуплекси ДНК призводить до зміни вихідного сигналу ДНК-біосенсора. Приймаємо, що адсорбований ліганд збільшує вихідний сигнал ДНК-біосенсора. Оскільки утворення і розпад комплексу лігандів з дуплексом ДНК відбувається випадковим чином, то число пов'язаних з дуплексом ДНК лігандів буде змінюватись випадковим чином, що неминуче приведе до флуктуації вихідного сигналу ДНК-біосенсора.

**Результати.** Показано, що зі збільшенням концентрації лігандів в розчині вихідний сигнал ДНК-біосенсорів монотонно зростає, а час релаксації вихідного сигналу зменшується. Показано також, що дисперсія вихідного сигналу ДНК-біосенсора зі збільшенням концентрації лігандів в розчині спочатку збільшується, а потім, проходячи через максимум, зменшується і прямує до нуля при подальшому збільшенні концентрації лігандів в розчині.

**Висновки.** Отримані дані можуть бути використані на практиці при виготовленні мікро ДНК-біосенсорів і аналізі результатів вимірювань.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ДНК-біосенсори; адсорбція лігандів; середній вихідний сигнал; дисперсія сигналу; час релаксації сигналу.

## INFLUENCE OF ADSORPTION OF LIGANDS ON OUTPUT SIGNAL OF DNA-BIOSENSOR

V.B. Arakelyan<sup>1</sup>, A.T. Karapetyan<sup>2</sup>, P.O. Vardevanyan<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Yerevan State University, A. Manoogian 1, Yerevan, 0025, Armenia

<sup>2</sup>National University of Architecture and Construction of Armenia, Teryan 105, Yerevan, 0009, Armenia

**Background:** The important advantage of the application of DNA-biosensors as compared to traditional molecular-biological methods is connected to the miniaturization of the studied samples and analyzers, which significantly decreases the analysis value as well as the time of its realization. Though, the miniaturization inevitably results in both decreasing the DNA-biosensor output signal value and increasing the noise signal level. That is why the studies devoted to the influence of different factors, particularly ligands on the output signal value and noise level of DNA-biosensors become actual tasks.

**Objectives:** To theoretically calculate the dependence of DNA-biosensor output signal on the concentration of ligands in the solution. To study the characteristic peculiarities of DNA-biosensor output signal.

**Theory:** The model, in the frame of which the theoretical calculations were carried out, is described here. There is an underlayer, on which the single-stranded molecules of DNA-targets are immobilized. The underlayer borders on the solution, where there are both single-stranded DNA molecules complementary to DNA-targets and ligands able to be adsorbed on DNA duplexes. The value of output signal DNA-biosensor is proportional to the number of DNA duplexes. Adsorption of ligands on DNA duplexes results in changing the output signal of DNA-biosensor. It is accepted that the adsorbed ligand enhances DNA-biosensor output signal. Taking into account that the formation and decomposition of the complex of ligands with DNA duplex occur in a random way, the number of bound ligands to DNA duplexes will change randomly as well, which will inevitably result in DNA-biosensor output signal fluctuations.

**Results:** It has been shown that along with increasing the concentration of ligands in the solution the output signal of DNA-biosensors rises monotonously and the relaxation time of the output signal decreases. It was also shown that the output signal dispersion of DNA-biosensor increases at first with the concentration increase of ligands in the solution, then passing through the maximum decreases and tends to zero at the further concentration enhancement of ligands in the solution.

**Conclusions:** The obtained data can be applied practically in the preparation of micro DNA-biosensors and analysis of the measurement results.

**KEY WORDS:** DNA-biosensors; adsorption of ligands; average output signal; signal dispersion; signal relaxation time.

В настоящее время ДНК-биосенсоры интенсивно применяются в различных областях медицины, сельского хозяйства, а также в области диагностики генетических заболеваний [1-4]. С их помощью достигнуты впечатляющие успехи. Однако все же остается нерешенным целый ряд задач, связанных как с усилением выходного сигнала

ДНК-биосенсора, так и с влиянием шумов различной природы на его выходной сигнал. Принцип работы ДНК-биосенсора весьма прост – одноцепочная ДНК-мишень иммобилизуется на подложке, а находящиеся в растворе одноцепочные ДНК, комплементарные ДНК-мишеням, связываются с ДНК-мишенью, образуя дуплексы ДНК [5]. Дуплексы ДНК в свою очередь активизируют сигнал, величина которого пропорциональна их числу. В подавляющем большинстве случаев, среда, в которой проводятся измерения с использованием ДНК-биосенсоров, содержит лиганды, которые могут адсорбироваться как на одноцепочные ДНК-мишени, так и на дуплексы ДНК, что может привести к изменению выходного сигнала ДНК-биосенсора. Следует отметить, что проблеме взаимодействия различных лигандов с ДНК посвящено множество теоретических и экспериментальных работ [6-10]. В данной работе рассмотрено влияние адсорбции лигандов на дуплексы ДНК на выходной сигнал ДНК-биосенсора. Важность этого обусловлена тем, что часто генерация и усиление выходного сигнала ДНК-биосенсора связана именно с адсорбцией соответствующих лигандов на дуплексы ДНК [11-13]. Заметим, что поскольку связывание лиганда с дуплексами ДНК происходит в результате случайного столкновения лиганда с адсорбционным местом на дуплексе ДНК, а распад комплекса лиганд-ДНК происходит в случайный момент времени, то число адсорбированных лигандов на дуплексах ДНК флуктуирует. Это в свою очередь может приводить к флуктуациям выходного сигнала ДНК-биосенсора. Шум, обусловленный такими флуктуациями, принято называть внутренним шумом, характерная особенность которого состоит в том, что с уменьшением размеров системы увеличиваются относительные флуктуации [14]. В данной статье рассмотрено влияние адсорбции лигандов на дуплексы ДНК на характерные особенности выходного сигнала ДНК-биосенсора.

### ТЕОРИЯ

Опишем модель, в рамках которой теоретически исследуется влияние адсорбции лигандов на дуплексы ДНК на выходной сигнал ДНК-биосенсора. Подложка, на которой иммобилизовано  $N_d$  одноцепочечных молекул ДНК-мишеней, граничит с раствором, где имеются как комплементарные с ДНК-мишенью одноцепочные ДНК, так и лиганды, способные адсорбироваться на дуплексы ДНК. Максимальное число дуплексов  $N_d$ . Считая, что величина выходного сигнала от одного дуплекса равна  $I_d$ , для максимальной величины выходного сигнала ДНК-биосенсора имеем  $I_0 = N_d I_d$ . Адсорбция лиганда на дуплексы ДНК изменяет величину выходного сигнала  $I_d$  на величину, пропорциональную числу связанных с одним дуплексом ДНК лигандов  $x(t)$ . В принципе, адсорбированный лиганд может как увеличить, так и уменьшить выходной сигнал ДНК-биосенсора. Будем рассматривать случай увеличения сигнала. Учитывая это обстоятельство, выходной сигнал ДНК-биосенсора можно представить в виде  $I(t) = I_0 + N_d \beta \cdot x(t)$ , где  $\beta$  – коэффициент пропорциональности. Поскольку образование и распад комплекса лигандов с дуплексом ДНК происходит случайным образом, то число связанных с дуплексом ДНК лигандов будет изменяться случайным образом, что неизбежно приведет к флуктуации выходного сигнала ДНК-биосенсора. Дуплекс ДНК представим в виде одномерной решетки с  $N_p$  числом центров адсорбции. Лиганд при адсорбции занимает  $n$  подряд расположенных адсорбционных центров на дуплексе ДНК. Образование комплекса лиганда ( $L$ ) с дуплексом ДНК и его распад представим в виде квазихимической реакции [15]



где  $M$  – адсорбционное место на дуплексе ДНК,  $(LM)$  – комплекс лиганда с дуплексом ДНК,  $k_1$  и  $k_{-1}$  – константы скоростей образования и распада комплекса.

Далее, следуя работе [15], можно определить кинетику заполнения дуплекса лигандами, а затем получить следующие окончательные выражения для среднего значения выходного сигнала ДНК-биосенсора  $\overline{I(t)}$  и его дисперсии  $\overline{\Delta I^2}$  в виде

$$\overline{I(t)} = I_0 + N_d \beta \cdot \frac{k_1 c_f N_p}{k_{-1} + (2n-1)k_1 c_f} (1 - \exp(-(k_{-1} + (2n-1)k_1 c_f)t)), \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \overline{\Delta I^2} = N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot \frac{k_1 c_f N_p (k_{-1} - (2n-1)k_1 c_f)}{(k_{-1} + (2n-1)k_1 c_f)^2} \cdot (1 - \exp(-(k_{-1} - (2n-1)k_1 c_f)t)) + \\ + \frac{k_1^2 c_f^2 N_p (2n-1)}{(k_{-1} + (2n-1)k_1 c_f)^2} \cdot (1 - \exp(-2(k_{-1} - (2n-1)k_1 c_f)t)) \end{aligned} , \quad (3)$$

где  $c_f$  - концентрация лигандов в растворе.

Из (2) и (3) легко найти стационарные значения среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора  $\overline{I_{st}}$  и его дисперсии  $\overline{\Delta I_{st}^2}$  в виде

$$\overline{I_{st}} = I_0 + N_d \beta \cdot \frac{K c_f N_p}{1 + (2n-1)K c_f} , \quad (4)$$

$$\overline{\Delta I_{st}^2} = N_d^2 \cdot \beta^2 \cdot N_p \frac{K c_f}{(1 + (2n-1)K c_f)^2} , \quad (5)$$

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

Важной характеристикой выходного сигнала ДНК-биосенсора является время выхода сигнала на стационарный уровень. Это время можно оценить из анализа уравнений, описывающих кинетику связывания лигандов с ДНК дуплексами [16]. Следуя [16], из (2) можно получить следующее выражение для времени релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора в виде

$$\tau_{\overline{I}} = (k_{-1} + (2n-1)k_1 c_f)^{-1} . \quad (6)$$

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Из (4) и (5) видно, что если в растворе отсутствует лиганд, то стационарные значения среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора и его дисперсия равны соответственно  $I_0$  и  $\overline{\Delta I_{st}^2} = 0$ . Из (4) видно также, что с увеличением концентрации лигандов в растворе увеличивается стационарное значение среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора. На рис. 1 приведен график зависимости относительного значения стационарного среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов, построенный по формуле (4). Из рис. 1 и (4) следует, что предельное относительное увеличение выходного сигнала ДНК-биосенсора зависит от параметра  $N_d \beta N_p$  и с его ростом усиливается стационарное значение среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора. Из рис. 1 видно также, что с ростом  $n$  стационарное значение среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора уменьшается.

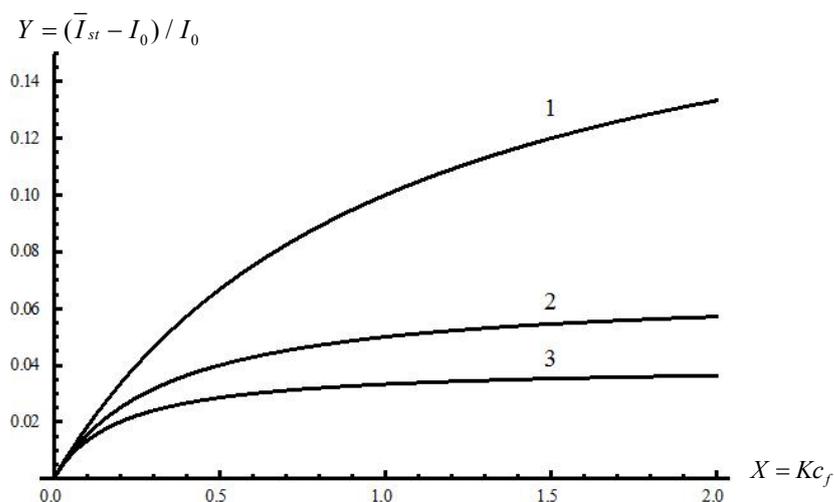


Рис. 1. Зависимость увеличения относительного значения стационарного среднего выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов в растворе при различных значениях  $n$ . Цифры на кривых соответствуют значениям  $n=1$ ,  $n=2$  и  $n=3$ . На всех кривых параметр  $(N_d\beta \cdot N_p)/I_0 = 0.2$ .

Анализ выражения (6) показывает, что время релаксации среднего значения выходного сигнала ДНК-биосенсора  $\tau_{\bar{I}}$  уменьшается как с ростом концентрации лигандов в растворе  $c_f$ , так и с ростом числа мест, с которыми связывается одна молекула лиганда  $n$ . Из (6) видно также, что  $\tau_{\bar{I}}$  уменьшается с ростом констант скоростей образования и распада комплекса лиганда с дуплексом ДНК. Зависимость безразмерного времени релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов в растворе, построенная по формуле (6), представлена на рис. 2.

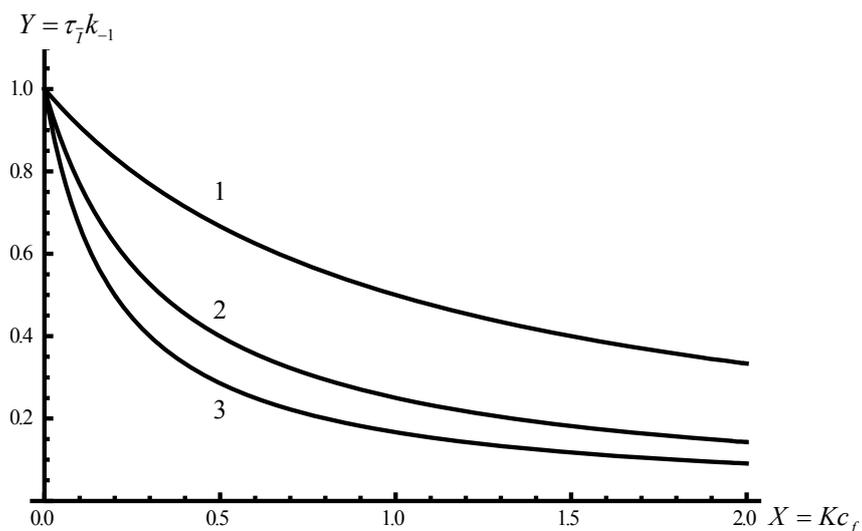


Рис. 2. Зависимость безразмерного времени релаксации выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации свободных лигандов. Цифры на кривых соответствуют значениям  $n=1$ ,  $n=2$  и  $n=3$ .

Из (5) видно, что при малых концентрациях лиганда дисперсия линейно растет с увеличением концентрации. Дальнейшее увеличение концентрации лиганда приводит к

тому, что дисперсия достигает максимального значения и далее при стремлении концентрации лиганда к бесконечности дисперсия стремится к нулю. Такая зависимость дисперсии от концентрации лиганда в растворе физически понятна и связана с тем, что в начале процесса адсорбции с увеличением концентрации лигандов в растворе растет и число адсорбированных лигандов на дуплексе ДНК, и, соответственно, должна расти и дисперсия. При больших концентрациях лиганда в растворе число адсорбированных лигандов на дуплексе ДНК выходит на некоторое постоянное значение, что и приводит к выходу дисперсии на ноль. Зависимость безразмерной стационарной дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов в растворе, построенная по формуле (5), представлена на рис. 3.

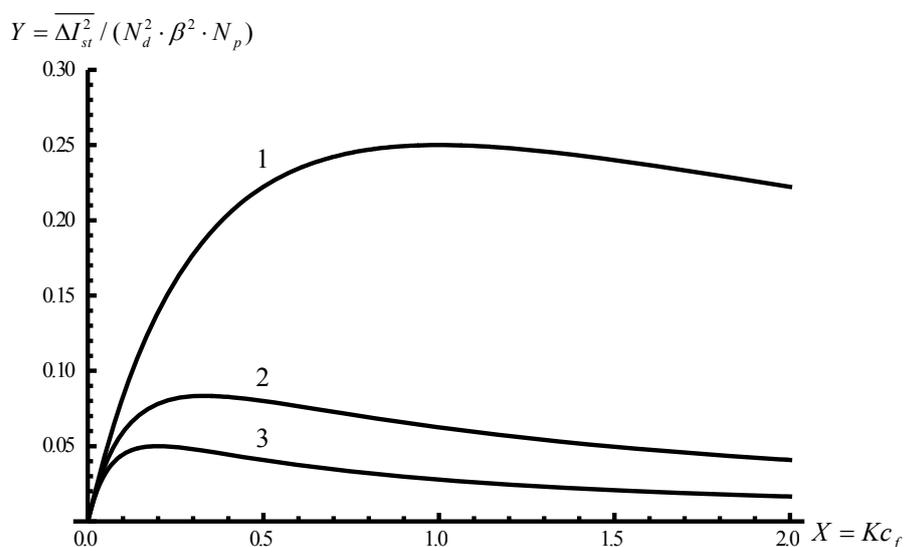


Рис. 3. Зависимость безразмерной дисперсии выходного сигнала ДНК-биосенсора от безразмерной концентрации лигандов при различных значениях  $n$ . Цифры на кривых соответствуют значениям  $n=1$ ,  $n=2$  и  $n=3$ .

Из рис. 3 видно, что высота максимума кривой и его положение зависят от  $n$  – с ростом  $n$  уменьшается высота максимума, а положение максимума сдвигается в область малых значений концентраций. Следует отметить, что характерные особенности кривых, представленных на рис. 3, могут быть использованы при идентификации источника шума выходного сигнала ДНК-биосенсора.

### ВЫВОДЫ

Таким образом, в работе вычислены среднее значение выходного сигнала ДНК-биосенсора и его дисперсия при учете внутреннего шума биосенсора. Показано, что среднее значение выходного сигнала ДНК-биосенсора монотонно зависит от концентрации лигандов в растворе, а зависимость дисперсии от концентрации имеет вид кривой с максимумом. Вычислено время релаксации среднего значения выходного сигнала ДНК-биосенсора и показано, что оно уменьшается с ростом концентрации лигандов в растворе. Полученные результаты могут быть использованы при изготовлении микро ДНК-биосенсоров и полезны для анализа результатов измерений.

### БЛАГОДАРНОСТИ

Статья посвящена памяти профессора Ю.П. Благого.

**КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ**

Авторы заявляют, что не существует никакого конфликта интересов.

**Author's ORCID ID**

Poghos Vardevanyan  <https://orcid.org/0000-0003-2541-9337>

**REFERENCES**

1. Mullen, W.H., & Evans, G.P. (1988). Biosensors in laboratory. *Int. Labmate*, 13, 15-17.
2. Turner, E., Carube, I., & Wilson, J. (1992). Biosensory, osnovy i prilozhenija. Moskow: Mir. (In Russian).
3. Drummond, T.G., Hill, M.G., & Barton, J. (2003). Electrochemical DNA sensors. *Nat. biotechnol.*, 21(10), 1192-1199.
4. Domany, E. (2005). Analysis of DNA-chip and antigen-chip data: studies of cancer, stem cells and autoimmune diseases. *Comp. Phys. Commun.*, 169, 183-187.
5. Yevdokimov, Y.M. (1998). Biosensors Based on Single-and Double-Stranded Linear DNA Molecules. *Sensory systems*, 12(1), 1-13.
6. Vardevanyan, P.O., Antonyan, A.P., Parsadanyan, M.A., Shahinyan, M.A., & Melkonyan, G.A. (2015). Behavior of ethidium bromide-Hoechst 33258-DNA and ethidium bromide-methylene blue-DNA triple systems by means of UV melting. *International Journal of Spectroscopy*, 2015, 1-5. doi: 10.1155/2015/586231.
7. Karapetian, A.T., Grigoryan, Z.A., Mamasakhlov, Y.S., Minasyants, M.V., & Vardevanyan, P.O. (2016). Theoretical treatment of helix-coil transition of complexes DNA with two different ligands having different binding parameters. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 34(1), 201-205.
8. Vardevanyan, P.O., Antonyan, A.P., Parsadanyan, M.A., Torosyan, M.A., & Karapetian, A.T. (2016). Joint interaction of ethidium bromide and methylene blue with DNA. The effect of ionic strength on binding thermodynamic parameters. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 34(7), 1377-1382.
9. Vardevanyan, P.O., Antonyan, A.P., Parsadanyan, M.A., Shahinyan, M.A., & Sahakyan, V.G. (2017). Peculiarities of interaction of synthetic polyribonucleotide poly(rA)-poly(rU) with some intercalators. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 36(14), 3607-3613. doi: 10.1080/07391102.2017.1402708
10. Mamasakhlov, Y., Sngryan, H., Tonoyan, Sh., Hakobyan, A., & Vardevanyan, P. (2018). The double-stranded DNA stability in presence of a flexible polymer. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, Published online: 23 Apr 2018. DOI: 10.1080/07391102.2018.1459320.
11. Tonoyan, Sh.A., Hakobyan, A.A., Andreassian, A.K., Morozov, V.F., & Mamasakhlov, Y.Sh. (2018). Sensitivity of DNA sensors in the presence of charged ligands. *Journal of Contemporary Physics*, 53(2), 179-186.
12. Evtjugin, G.A., Budnikov, G.K., Porfir'eva, A.V. (2008). Jelektrohimicheskie DNK-sensory dlja opredelenija biologicheskij aktivnyh nizkomolekuljarnyh soedinenij. *Rossijskij himicheskij zhurnal (Zhurnal rossijskogo himicheskogo obshhestva im. D.I. Mendeleeva)*, LII(2), 66-79. (In Russian)
13. Cai, H., Cao, X., Jiang, Y., He, P., & Fang Y. (2003). Carbon nanotube-enhanced electrochemical DNA biosensor for DNA hybridization detection. *Anal. Bioanal. Chem.*, 375(2), 287-235.
14. R. Kubo. (1967). *Statisticheskaja mehanika*. M.: Mir. (In Russian)
15. Arakelyan, V., Babayan, Yu., & Potikyan, G. (2000). Determination of constant rates of adsorption of ligand on DNA by analysis of correlation functions. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 18(2), 231-235.
16. Arakelyan, V.B., Babayan, S.Yu., Tairyan, V.I., Arakelyan, A.V., Parsadanyan, M.A., & Vardevanyan, P.O. (2006). Kinetics of Ligand Binding to Nucleic Acids. *J. Biomol. Struct. Dyn.*, 23(4), 479-483.