

УДК 577.

## ЭЛЕКТРИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МОЛЕКУЛЫ БЕЛКА В СОСТАВЕ ДВУХТЕРМИНАЛЬНОГО УСТРОЙСТВА

В.И. Акимов<sup>1</sup>, А.В. Шестопалова<sup>2</sup>, В.Н. Тулупенко<sup>1</sup>, Е. Alfinito<sup>3</sup>, С. Penneta<sup>3</sup>,  
L. Reggiani<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Донецкая Государственная Машиностроительная Академия, Украина, 84313, Краматорск, ул. Шкадинова 72.

<sup>2</sup>Институт Радиофизики и Электроники НАН Украины, Украина, 61085, Харьков, ул. Академика Проскуры, 12

<sup>3</sup>Dipartimento di Ingegneria dell'Innovazione, Università di Lecce, Via Arnesano, Lecce 73100, Italy.

Email: [avi@laser.donetsk.ua](mailto:avi@laser.donetsk.ua)

Поступила в редакцию 2 октября 2006 года

Представлена разработанная нами математическая модель нерегулярной сети элементарных импедансов в применении к изучению электрических свойств молекулы белка в составе двухтерминального устройства. Модель использована, в частности, для прогнозирования действия электронного нанобиосенсора, основанного на белке типа GPCR. Молекула белка моделируется как сложная сеть элементарных импедансов, вершины (узлы) которой соответствуют атомам альфа-углерода составляющих аминокислотных остатков, а ребра (связи) отражают некоторое электрическое взаимодействие между ними. Ребра соединяют каждую пару аминокислот, расположенных достаточно близко в пространстве друг от друга и каждому ребру ставится в соответствие элементарный импеданс. Значение импеданса может зависеть от свойств соответствующей ему пары аминокислот и расстояния между ними. Соответственно, структурные изменения молекулы белка-рецептора преобразуются в изменение его электрических свойств. Рассчитано изменение импеданса молекулы родопсина при захвате фотона. Рассмотрены результаты для разного значения параметров модели.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** белки, импеданс, аминокислоты, сложные сети, электрические свойства, структурные изменения.

Со времен первого одномолекулярного эксперимента на биомолекулах, выполненного в 1970 году [1] интерес к созданию гибридных молекулярно-электронных устройств растет стабильно и стремительно. Причиной является огромное количество технологических применений [2–6]. Поэтому в последнее время этой теме посвящается большое количество экспериментальных и теоретических работ [2–12]. Вместе с тем, во многих случаях атомная сложность биоэлектронных систем чрезвычайно затрудняет теоретическое изучение их микро- и наноэлектронных свойств. Поэтому представляется оправданным поиск приближенных, достаточно простых методов, описывающих поведение рассматриваемых объектов. В настоящей работе представлена разработанная нами модель нерегулярной сети элементарных импедансов, которая использована для изучения электрических свойств молекулы белка в составе двухтерминального устройства. Такое устройство, в частности, может стать хорошим кандидатом для создания нанобиосенсора [13]. Оно состоит из белка семейства GPCR (рецептор, сопряженный с G-белком) [9–12,14], встроенного в билипидный слой, подобный мембране клетки, и помещенного между двумя идеальными электродами. В частности, мы публикуем результаты для коровьего родопсина [4,15–18] (зрительного рецептора). Такие же результаты могут быть получены для любого рецептора семейства GPCR, в которое входят и обонятельные рецепторы млекопитающих [3,5,6,19–21]. Фактически, все GPCR имеют сходную структуру, показанную на Рис. 1 (справа – общий вид, слева – развернутый в плоскости).

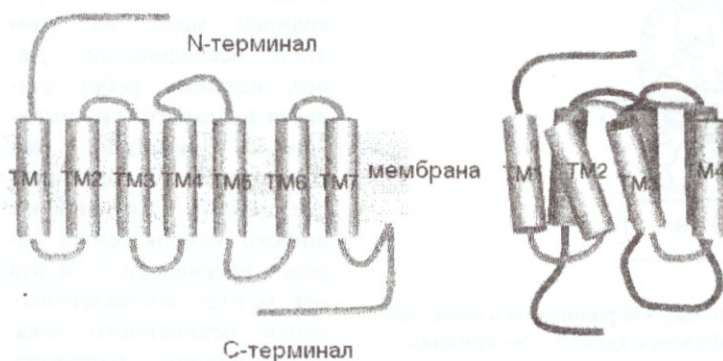


Рис. 1. Схематическое представление белка GPCR в естественной среде.

Семь трансмембранных доменов (ТМ), образованных альфа-спиралями, соединены гибкими неструктурированными циклами и образуют трансмембранное ядро. В естественном состоянии N-терминал расположен вне клетки, а C-терминал – внутри [9–12,14–16]. Отметим, что понимание электрических свойств GPCR необходимо для разработки электронного нанобиосенсора на основе молекулы белка [13]. Информация об атомной

пространственной структуре GPCR в настоящее время существует только для коровьего родопсина [11,15,16,22]. Связано это с тем, что получается такая информация путем рентгеноструктурного анализа [15,16], для чего необходимо кристаллизовать исследуемый белок. Белки же вообще, а мембранные в особенности, крайне трудно подвергнуть кристаллизации без их денатурирования. Тем не менее, пространственную структуру белков GPCR можно смоделировать на основе известного гомолога – родопсина.

Сенсорное действие рецепторов типа GPCR основано на структурных изменениях молекулы. При захвате фотона родопсином, или молекулы пахучего вещества обонятельным рецептором [6,23-25], молекула рецептора претерпевает структурные изменения и переходит в некоторое метастабильное состояние, что приводит к изменению ее электрических свойств. Изучение и прогнозирование такого изменения электрических свойств на основе развитой нами модели и является основной целью наших усилий.

### МОДЕЛЬ И РЕЗУЛЬТАТЫ

В дальнейшем мы будем использовать для моделирования коровий родопсин, т.к. это наиболее изученный представитель семейства GPCR [9-12,14,15-18]. Рассмотрим двухтерминальное устройство, состоящее из одной молекулы родопсина, встроенной в небольшой фрагмент клеточной мембраны, помещенной между двумя металлическими контактами, с приложенным переменным напряжением. Захват фотона приводит к переходу молекулы родопсина из основного в активированное состояние. В случае рассматриваемого двухтерминального устройства это проявляется в изменении импеданса между контактами. Устройство схематически изображено на Рис.2. Левая и правая части рисунка соответствуют различным состояниям молекулы родопсина: основному и наиболее стабильному из активированных, т.н. Мета-II-родопсину [17], соответственно. Видно, что различие между ними невелико. Атомные координаты коровьего родопсина были взяты из Protein Data Bank (PDB) [22], где представлены данные нескольких независимых экспериментов (мы использовали данные с PDB ID: 1F88 [15] и 1JFP [16]). Оттуда же взяты данные по Мета-II-родопсину (PDB ID 1LN6) [17].

Устройство было смоделировано как нерегулярная сеть элементарных импедансов, сконструированная следующим образом. Во-первых, из файла формата PDB получены пространственные координаты  $C_{\alpha}$  атомов каждого аминокислотного остатка (348 для коровьего родопсина). Положения этих атомов приняты как узлы сети. Допускается, что аминокислоты электрически взаимодействуют друг с другом. При этом происходит перенос заряда между соседними аминокислотными остатками [7,23] и/или изменение их поляризации [26]. Соответственно, ребра сети соединяют каждую пару вершин, расположенных друг от друга на расстоянии не большем, чем  $d = 2R_a$ , где  $R_a$  – радиус взаимодействия, ключевой параметр модели. Таким образом, в зависимости от этого параметра сеть может варьироваться от цепочки последовательных связей при  $2R_a \approx 4\text{Å}$  (длина пептидной связи), до насыщенной сети (каждая вершина соединена со всеми остальными), когда радиус достигает характеристических размеров молекулы родопсина (порядка десятка нанометров). Наиболее реалистичным нам представляется  $R_a \approx 5\text{Å}$ , что соответствует характеристическому радиусу Ван дер Ваальса для аминокислот. Далее, мы вводим два узла, соответствующие идеальным контактам. Эти узлы

соединяются с узлами аминокислот, согласно взаимному расположению контактов устройства и молекулы белка. Влияние среды не учитывается (по крайней мере, на этом этапе исследований). Далее, каждому ребру ставится в соответствие импеданс, принятый как сопротивление, параллельное емкости. Это наиболее широко используемый вариант пассивного элемента для метода эквивалентных цепей переменного тока, используемого, например, в электрохимии. Пусть  $Z_{i,j}$ ,

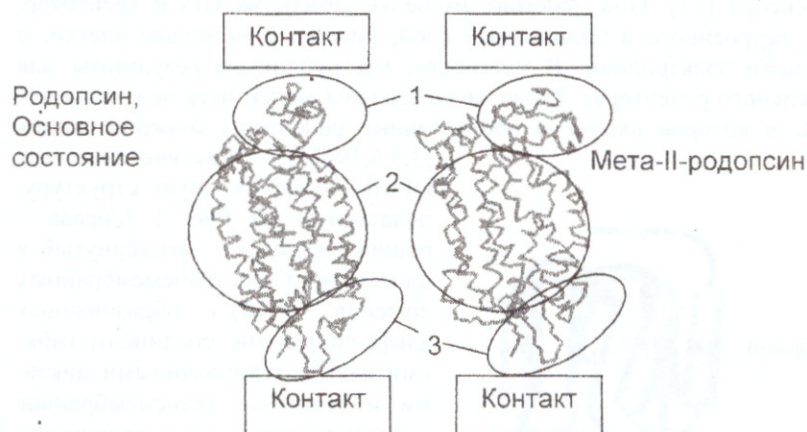


Рис. 2. Схема двухтерминального устройства с молекулой родопсина в масштабе в двух состояниях. 1 – С-терминал; 2 – трансмембранное ядро; 3 – N-терминал.

$R_{i,j}$ ,  $C_{i,j}$  – импеданс, сопротивление и емкость соответственно для ребра соединяющего  $i$ -й и  $j$ -й узлы (см. Рис. 3).

## Электрические свойства молекулы белка в составе двухтерминального устройства

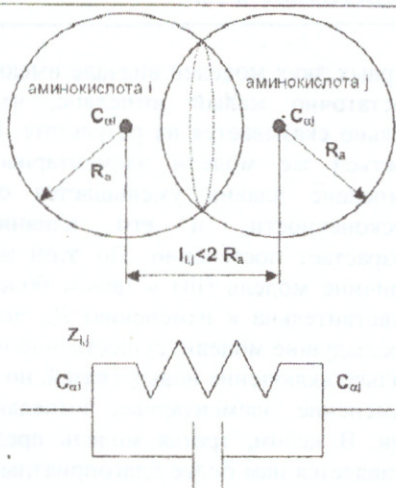


Рис. 3. Связь между узлами аминокислот  $i$  и  $j$  включается, когда расстояние между ними не более  $2R_a$ . Связи соответствует элементарный импеданс.

третьей модели (iii) площадь сечения равна площади пересечения сфер радиуса  $R_a$  с центрами на расстоянии  $l_{i,j}$  ( $A_{i,j} = \pi[R_a^2 - l_{i,j}^2/4]$ ) – см. Рис. 3.

Для учета различия диэлектрических свойств аминокислот диэлектрическая проницаемость принята зависимой от пары аминокислот:  $\epsilon_{i,j} = 1 + g[(\alpha_i + \alpha_j)/2 - 1]$ , где  $\alpha_i$  и  $\alpha_j$  характеризуют внутрибелковую поляризуемость соответствующих аминокислот и посчитаны для всех 20-и аминокислот [26]. Множитель  $g = 4.647$  был выбран так, чтобы значения  $\epsilon_{i,j}$  были не меньше 1 (вакуум) и не больше 80 (вода) для любой пары аминокислот.

Полный импеданс сети вычислялся решением системы уравнений Кирхгофа аналогично [27]. Наиболее удобно в нашем случае (нерегулярная сеть со сложной топологией) составить уравнения суммы токов в каждом узле, выразив их через потенциалы узлов и импедансы, определённые в соответствии с (1). В результате имеем систему линейных алгебраических уравнений с размерностью равной числу аминокислот в белке, которая может быть решена, например, методом Гаусса. На Рис. 4 показан модуль сетевого импеданса  $|Z|$  структуры родопсина для трех моделей как функция радиуса взаимодействия  $R_a$ . В нашем случае в вычислениях использовалось  $\rho = 10^6 \Omega$ ,  $\omega$  – циклическая частота, соответствующая 50 Гц. Импеданс приведен в относительных единицах, поскольку с одной стороны сравнивать абсолютные значения для различных моделей элементарного импеданса не имеет смысла, а с другой – абсолютное значение импеданса зависит, главным образом, от  $\rho$ , которое является параметром модели и должно быть получено из эксперимента. Для качественного ориентира можно указать, что модуль обратного сетевого импеданса при  $R_a = 5 \text{ \AA}$  имеет величину порядка модуля среднего обратного элементарного импеданса для всех моделей. Систематическое уменьшение  $|Z|$  с увеличением  $R_a$  связано с увеличением числа параллельных связей в сети по сравнению с последовательными. Из Рис. 4 видно, что в моделях (i) и (ii) импеданс меняется скачкообразно, тогда как модель (iii) обеспечивает гладкое поведение функции. Это связано с тем, что по мере роста радиуса взаимодействия, новые, включающиеся связи для

Для элементарного импеданса мы рассмотрели три модели, качественно покрывающие, по нашему мнению, весь спектр разумных возможностей взаимодействий аминокислот белка. Первая – простейшая – модель (i): все импедансы равны  $-Z_{i,j} = Z_0$ . Во второй (ii) и третьей (iii) моделях  $R_{i,j}$  – простой однородный омический резистор, а  $C_{i,j}$  – плоский однородный конденсатор:  $C_{i,j} = \frac{\epsilon\epsilon_0 A}{l_{i,j}}$  и

$$R_{i,j} = \frac{\rho l_{i,j}}{A}, \text{ где } l_{i,j} \text{ расстояние между узлами } i \text{ и } j, \rho -$$

удельное сопротивление резистора,  $A$  – площадь сечения и резистора, и конденсатора,  $\epsilon_0$  – электрическая постоянная,  $\epsilon$  – диэлектрическая проницаемость среды. Соответственно,

$$Z_{i,j} = \frac{l_{i,j}}{A} \times \frac{1}{\rho^{-1} + i\omega\epsilon\epsilon_0}, \quad (1)$$

где  $\omega$  – циклическая частота внешнего переменного напряжения. При этом, для второй модели (ii) площадь сечения принимается постоянной ( $A = \pi R_a^2$ ), тогда как для

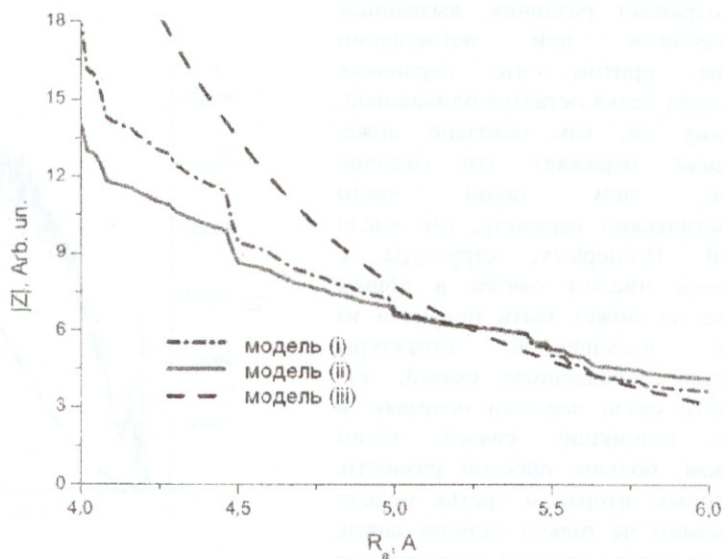


Рис. 4. Модуль сетевого импеданса, как функция радиуса взаимодействия для структуры родопсина.

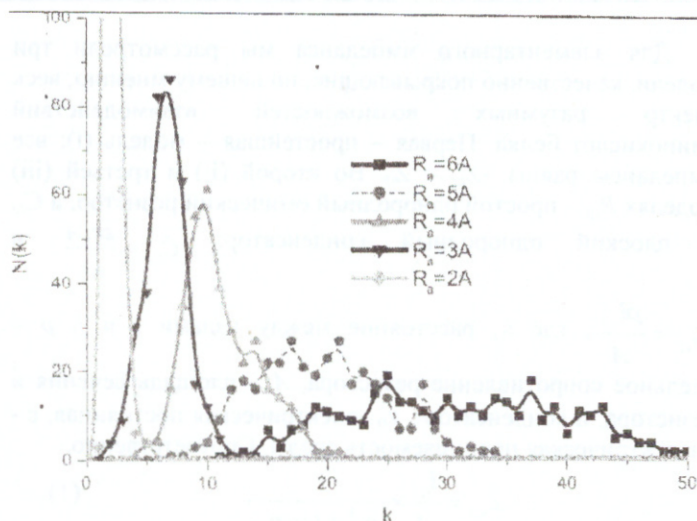


Рис. 5. Распределение степеней графа структуры родопсина для разных  $R_a$ .  $k$  – степень (число связей)  $N$  – количество узлов с таким числом связей.

распределения числа связей по узлам (в терминах теории графов – распределение степеней сети родопсина) для различных значений радиуса взаимодействия. Распределение степеней во всех случаях подобно распределению Пуассона, что является характеристическим признаком случайной сети [28,29]. На такое распределение накладываются флуктуации, связанные с конечным размером структуры, они отражают индивидуальные особенности структуры, а также делают распределение труднонаблюдаемым на графике для  $R_a > 6\text{Å}$ . Для малых  $R_a$ , когда  $2R_a$  приближается к размеру пептидной связи, и структура вырождается в последовательную цепь, степень всех узлов, кроме крайних, равна двум. Для больших  $R_a$ , когда удвоенный радиус больше характерных размеров молекулы, граф структуры становится насыщенным (все узлы соединены со всеми) и степень всех узлов равна числу узлов (аминокислот в белке) минус один, что для родопсина равно 347. Для нас наиболее интересна область, где индивидуальные особенности структуры могут проявиться наиболее ярко, и структурные изменения могут быть детектированы. Область вокруг ожидаемого значения  $R_a = 5\text{Å}$  с этой точки зрения представляется достаточно удачной.

На Рис. 6 показано общее число связей сети,  $N$ , как функция радиуса взаимодействия для основного состояния родопсина и для мета-II-родопсина. Видно, что в общем случае  $N$  двух структур отличается, что отражает различия, вызванные изменениями при поглощении фотона, притом, что первичная структура белка остается одинаковой. К тому же, как показано ниже, импеданс отражает эти отличия лучше, чем такой чисто статистический параметр, как число связей. Во-первых, структура с большим числом связей в общем случае не может быть получена из менее насыщенной структуры простым добавлением связей, т.к. какие-то связи все-таки исчезают и число возникших связей, таким образом, больше простой разности. Во-вторых, вторая и третья модели учитывают не только наличие связи, но и ее длину, которая меняется для сохранившихся связей. В-третьих, различные связи в зависимости от индивидуальных особенностей топологии сети имеют различное влияние на импеданс: возможно возникновение в структуре т.н. «бутылочных горлышек», т.е. узких мест. График

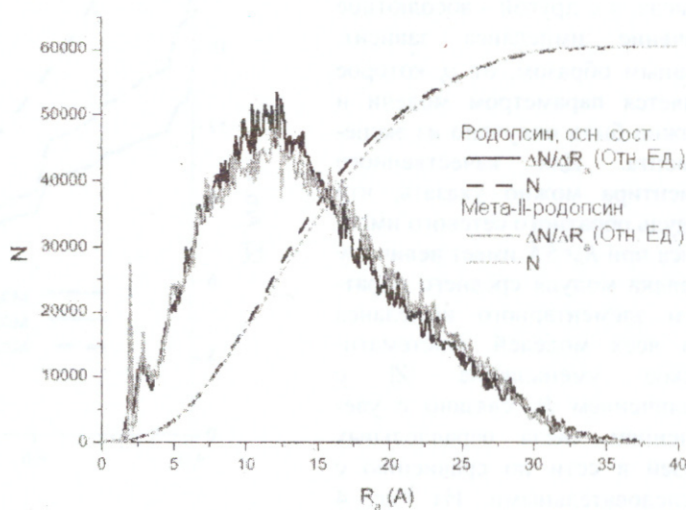


Рис. 6. Общее количество связей сети и их относительное приращение от радиуса взаимодействия.

первых двух моделей вначале имеют достаточно малый импеданс, что сильно сказывается на результате. В третьей же модели элементарный импеданс плавно уменьшается от бесконечности, и его влияние возрастает постепенно. По этой же причине модель (iii) в целом более чувствительна к изменению  $R_a$ , чем предыдущие модели: существенно не только включение новых связей, но и изменение элементарных импедансов. В целом, третья модель представляется нам более благоприятным объектом для численных исследований, однако обрывистость и зашумленность первых двух может отражать некоторые свойства, существенные для таких систем, и пренебрегать ими также не следует.

На рис. 5 представлена функцию

## Электрические свойства молекулы белка в составе двухтерминального устройства

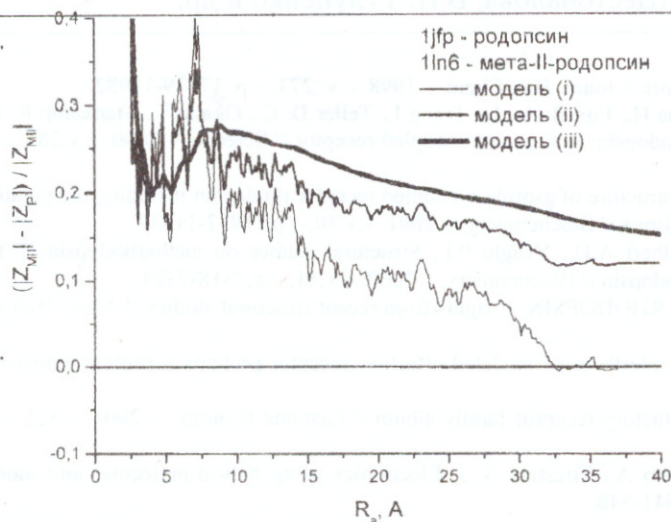


Рис. 7. Разность модуля сетевого импеданса активированного и основного состояния родопсина в зависимости от радиуса взаимодействия.

значению радиуса взаимодействия: импеданс родопсина в активированном состоянии примерно на 20% больше его импеданса в основном состоянии. Первая модель не учитывает длину связей, поэтому при выходе на состояние, близкое к насыщенному графу, импедансы структур становятся почти идентичными, остальные модели сохраняют разницу и в этом случае.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Предложена сравнительно простая математическая модель электрических свойств молекулы белка. Рассмотрено влияние параметров модели на структуру сети и прогнозируемый электрический отклик. Модель представляет собой нерегулярную сеть импедансов, структурно подобную исследуемой молекуле. Не претендуя на полную микроскопическую корректность описания электронной структуры молекулы, модель не требует запредельных вычислительных мощностей, необходимых для расчета объектов такой сложности из первых принципов. В то же время от нее можно ожидать верные прогнозы некоторых закономерностей за счет структурного подобия. Сделан конкретный прогноз: при захвате фотона модуль импеданса молекулы коровьего родопсина увеличивается на 20%. Таким образом, модель способна выразить трудноуловимые структурные изменения в потенциально измеримой величине – общем импедансе молекулы. Будущие эксперименты и их трактовки позволят уточнить область применения и параметры предлагаемой модели сети элементарных импедансов.

### ССЫЛКИ

1. Hladky S.B., Haydon D.A. Discreteness of conductance change in biomolecular lipid membranes in the presence of certain antibiotics // *Nature*. – 1970. – v.225. – p. 451-453.
2. Alon U. Biological networks: the tinkerer as an engineer // *Science*. – 2003. – v.301. – p. 1866-1867.
3. Tzong-Zeng Wu. A piezoelectric biosensor as an olfactory receptor for odour detection: electronic nose // *Biosensors and Bioelectronics*. – 1999. – v.14. – p. 9-18.
4. Joachim C., Gimzewski J.K., Aviram A. Electronics using hybrid-molecular and mono-molecular devices // *Nature*. – 2000. – v.408. – p. 541-548.
5. Bayley H., Cremer P.S. Stochastic sensors inspired by biology // *Nature*. – 2001. – v.413. – p. 226-230.
6. Firestein S. How the olfactory system makes sense of scents // *Nature*. – 2001. – v.413. – p. 211-218.
7. Xie Q., Archontis G., Skourtis S. S. Protein electron transfer: a numerical study of tunneling through uctuating bridges // *Chem. Phys. Lett.* – 1999. – v. 12. – p.237-246.
8. Bezrukov S.M., Winterhalter W. Examining noise sources at the single-molecule level: 1/f noise of an open maltoporin channel // *Phys. Rev. Lett.* – 2000. – v.85. – p. 202-205.
9. Lameh J., Cone R. I., Maeda S., Philip M., Corbani M., N'adasdi L., Ramachandran J., Smith G. M., Sad'ee W. Structure and function of G protein coupled receptors // *Pharmaceutical Research*. – 1990. – v.7. – p.1213-1221.
10. Shacham S., Topf M., Avisar N., Glaser F., Marantz Y., Bar-Haim S., Noiman S., Naor Z., Becher O. M. Modeling the 3D structure of GPCRs from sequence // *Medical Research Reviews*. – 2001. – v.21. – p. 472-483.
11. Vaidchi N., Floriano W. B., Trabanino R., Hall S. E., Freddolino P., Choi E. J., Zamanakos G., Goddard III W. A. Prediction of structure and function of G protein coupled receptors // *PNAS*. – 2002. – v.99. – p. 12622-12627.
12. Chou K. C., Elrod D. W. Bioinformatical analysis of G-protein-coupled receptors // *Journal of Proteome Research*. – 2002. – v.1. – p.429-433.
13. SPOT - NOSED. Single Protein Nanobiosensor Grid Array, publisher V Framework Programme of European Community, address <http://www.nanobiolab.pcb.ub.es/projectes/Spotnosed/>. 2003-2005

$N$  выходит на насыщение, когда все узлы связаны со всеми. Очевидно, для всех состояний родопсина максимальное число связей одинаково  $N_{max} = 348 \times (348 - 1) / 2 = 60378$ . Далее, на Рис. 6 показано относительное приращение числа связей  $\Delta N / \Delta R_a$  для тех же форм родопсина. В целом, из поведения графиков, можно ожидать наибольшую чувствительность сети к структурным изменениям в области  $R_a = 10 \div 18 \text{ \AA}$ .

Рис. 7 отражает разность модуля сетевого импеданса активированного при захвате фотона и основного состояния родопсина в зависимости от радиуса взаимодействия. Видно, что результат качественно стабилен к модели элементарного импеданса и

14. Gether U., Kobilka B.K. G protein-coupled receptors // *Journ. Bio. Chem.* – 1998. – v. 273. – p. 17979-17982.
15. Palczewski K., Hori T., Behnke C. A., Motoshima H., Fox B. A., Le Trong I., Teller D. C., Okada T., Stenkamp R. E., Yamamoto M., Miyano M. Crystal structure of Rhodopsin: A G protein-coupled receptor // *Science*. – 2000. – v.289. – p. 739-745.
16. Yeagle P.L., Choi G., Albert A.D. Studies on the structure of g-protein-coupled receptor rhodopsin including the putative g-protein binding site in unactivated and activated forms // *Biochemistry*. – 2001. – v.40. – p.11932-11937.
17. Choi G., Landin J., Galan J. F., Birge R.R., Albert A.D., Yeagle P.L. Structural studies on metharhodopsin II, the activated form of the g-protein coupled receptor rhodopsin // *Biochemistry*. – 2002. – v.41. – p.7318-7324.
18. Şakmar T.P., Menon S.T., Marin E.P., Awad E.S. RHODOPSIN: Insights from recent structural studies // *Annu. Biomol. Struct.* – 2002. – v.31. – p. 443-482.
19. Pilpel Y., Lancet D. The variable and conserved interfaces of modeled olfactory receptor proteins // *Protein Science*. – 1999. – v.8. – p. 969-977.
20. Crasto C., Singer M. S., Shepherd G. M. The olfactory receptor family album // *Genome Biology*. – 2001. – v.2. – p. 1027.1-1027.4.
21. Liu A. H., Zhang X., Stolovitzky G. A., Califano A., Firestein S. J. Electronics using hybrid-molecular and mono-molecular devices // *Nature*. – 2000. – v. 408. – p. 541-548.
22. Research Collaboratory for Structural Bioinformatics, Protein data bank, publisher State University of New Jersey , address <http://www.rcsb.org/pdb>
23. Yang H., Luo G., Karnehanaphanurach P., Louie T.M., Rech I., Cova S., Xun L., Xie X. S. Protein conformational dynamics probed by single-molecule electron transfer // *Sciences*. – 2003. – v.302. – p. 262-266.
24. Kobilka B., Gether U., Seifert M., Lin S., Ghanouni P. Examination of ligand-induced conformational changes in the beta 2 adrenergic receptor // *Life Sciences*. – 1998. – v. 62. – p. 1509-1512.
25. Kobilka B., Gether U., Seifert M., Lin S., Ghanouni P. Characterization of ligand- induced conformational states in the beta 2 adrenergic receptor // *J. Receptor and Signal Transduction Reseach*. – 199. – v.19. – p. 293-300.
26. Xueyu Song. An inhomogeneous model of protein dielectric properties: intrinsic polarizabilities of amino acids // *J. Chem. Phys.* – 2002. – v.116. – p. 9359-9383.
27. Rammal R., Tannous C., Tremblay A.M.S. 1/f noise in random resistor networks: fractals and percolating systems // *Phys. Rev.A*, - 1985. – v.31. – p. 2662-2671.
28. Jeong H., Tombor B., Albert R., Oltvai Z.N., Barabasi A. L. The large-scale organization of metabolic networks // *Nature*. – 200. – v.407. – p. 651-654.
29. Albert R., Barabasi A. L. Statistical mechanics of complex networks // *Rev. Mod. Phys.* – 2002. – v.74. – p. 47-97.