



Биол. журн. Армении, 4 (61), 2009

ВЛИЯНИЕ ПОГРАНИЧНОГО СЛОЯ НА КИНЕТИКУ АДСОРБЦИИ ЛИГАНДА НА ДНК

М.А. ЭЛИЗБАРЯН

*Российско-армянский (славянский) университет, кафедра математической
кибернетики*

Исследовано влияние пограничного слоя на кинетику адсорбции лиганда на ДНК. Связывание лиганда с ДНК представлено как двухстадийный процесс – диффузия лиганда в неперемешиваемом слое и собственно его адсорбция на ДНК. В результате численного решения системы уравнений, описывающих адсорбцию лиганда, показано, что в зависимости от местонахождения адсорбционного слоя кинетика адсорбции изменяется в широких пределах – от быстрого заполнения до кривой с сильной задержкой заполнения в малых временных отрезках.

*Адсорбция лигандов - ДНК – кинетика адсорбции лигандов -
нелинейные уравнения - пограничный слой*

Աշխատանքում ուսումնասիրված է ԴՆԹ-ի հետ լիգանդների կապման կինետիկայի վրա սահմանային շերտի ազդեցությունը: ԴՆԹ-ի հետ լիգանդների կապումը ներկայացվում է որպես երկփուլ պրոցես, որը կազմված է չխառնվող շերտում լիգանդի մոլեկուլների դիֆուզիայից և ԴՆԹ-ի հետ դրանց կապումից: ԴՆԹ-ի հետ լիգանդների կապումը նկարագրող հավասարումների համակարգի թվային լուծման արդյունքում ցույց է տրված, որ ադսորբցիոն շերտի տեղաբաշխումից կախված, ԴՆԹ-ի հետ լիգանդների կապման կինետիկան փոփոխվում է լայն միջակայքում արագ հագեցումից մինչև փոքր ժամանակամիջոցների ընթացքում հագեցման խիստ ուշացման կորերը:

*ԴՆԹ – լիգանդների ադսորբցիա - լիգանդների ադսորբցիայի կինետիկա -
նչ գծային հավասարումներ - սահմանային շերտ*

The influence of a boundary layer on kinetics of ligand adsorptions on DNA is investigated in the work. Binding process of ligand to DNA is presented as two-stage process – diffusion of ligand in not mixed layer and its actual adsorption on DNA. As a result of solution of a system of the equations describing ligand adsorption, it is shown that the layer kinetics of adsorptions varies largely depending on a site of adsorption - from fast filling to a curve with a strong delay of filling in small time pieces.

*DNA – adsorption of ligands – diffusion boundary layer -
kinetics of ligands adsorption – non linear equations*

Известно, что работа ДНК-биосенсоров связана с диффузионным перемещением лигандов и одонитовой ДНК к подложке, на которой иммобилизована коплементарная одонитовая молекула ДНК. В этой связи становятся важными исследования с возникающими при этом кинетическими проблемами [2-4].

С подложкой, к которой прилегают иммобилизованные одонитовые ДНК, контактирует слой раствора, в котором отсутствует конвекция. В этом слое перемещение молекул лиганда осуществляется диффузионным путем.

При этом толщина пограничного слоя много больше размеров иммобилизованных молекул ДНК. За этим слоем находится объемный раствор, в котором идет его перемешивание за счет конвекции. Поскольку процессу непосредственного связывания лиганда с адсорбционным центром на ДНК предшествует диффузия лиганда из глубины раствора к адсорбционному центру, то 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. рассматривать смешанную кинетику, которая включает в себя две стадии адсорбции – диффузионную и кинетическую.

В работе [1] была получена система уравнений, описывающая кинетику перемещения небольших лигандов через неперемешиваемый слой к подложке и его адсорбции на ДНК дуплексе. В нашей работе в результате численного решения системы уравнений, полученных в [1], исследовано влияние неперемешиваемого слоя на кинетику адсорбции лигандов на ДНК.

Теоретическая часть. Система уравнений, которая описывает кинетику перемещения лиганда через неперемешиваемый слой к подложке и его адсорбцию на ДНК дуплексе, имеет следующий вид [1].

$$\frac{\partial c_L(x,t)}{\partial t} = D_L \frac{\partial^2 c_L(x,t)}{\partial x^2} - (u(x-l_1) - u(x-l_2)) \cdot (k_1 c_L(x,t) c_A(x,t) - k_{-1}(c_{A_0} - c_A(x,t))) \quad (1)$$

$$\frac{\partial c_A(x,t)}{\partial t} = -(u(x-l_1) - u(x-l_2)) \cdot (k_1 c_L(x,t) c_A(x,t) - k_{-1}(c_{A_0} - c_A(x,t))) \quad (2)$$

$$c_L(x,0) = 0, \quad c_A(x,0) = c_{A_0} \quad (3)$$

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

где $c_L(x,t)$ - концентрация лиганда в неперемешиваемом слое равна; D_L - коэффициент диффузии лиганда; $u(x)$ - функция Хевисайда; $c_A(x,t)$ - концентрация свободных (не занятых лигандами) адсорбционных центров; k_1 и k_{-1} - константы скоростей адсорбции и десорбции лиганда; c_{A_0} - начальная концентрация адсорбционных центров (число пар оснований); c_{L_0} - концентрация лиганда в объемном растворе; l - толщина неперемешиваемого слоя; $l_2 - l_1$ толщина слоя, в котором находятся адсорбционные центры ($l > l_2 > l_1$). Начало координат находится на поверхности подложки, а ось x перпендикулярна к поверхности подложки и направлена вглубь раствора. Введя очевидные обозначения

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

перепишем (1-4) в виде

$$\frac{\partial c_1(\xi, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 c_1(\xi, \tau)}{\partial \xi^2} - (u(\xi - \xi_1) - u(\xi - \xi_2)) \cdot (\alpha \cdot c_1(\xi, \tau) \cdot c_2(\xi, \tau) - \beta \beta_1 (1 - c_2(\xi, \tau))) \quad (1)$$

$$\frac{\partial c_2(\xi, \tau)}{\partial \tau} = -(u(\xi - \xi_1) - u(\xi - \xi_2)) \cdot \left(\frac{\alpha}{\beta_1} c_1(\xi, \tau) \cdot c_2(\xi, \tau) - \beta (1 - c_2(\xi, \tau)) \right) \quad (2)$$

$$c_1(\xi, 0) = 0, \quad c_2(\xi, 0) = 1 \quad (3)$$

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

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

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

$$\theta(\tau) = 1 - \int_{\xi_1}^{\xi_2} c_2(\xi, \tau) d\xi \quad (6)$$

Результаты и обсуждение. Из анализа (5) следует, что параметр β_1 меньше единицы, поскольку в подавляющем большинстве случаев $c_{A0} < c_{L0}$, параметры α и α_1 могут быть как больше, так и меньше единицы. Для анализа влияния неперемешиваемого слоя на кинетику адсорбции, удобно зафиксировать толщину неперемешиваемого слоя l и слоя $l_2 - l_1$, в котором находятся адсорбционные центры, а затем варьировать местонахождение адсорбционного слоя $l_2 - l_1$ в неперемешиваемом слое. Рассмотрим три положения адсорбционного слоя, когда он находится вблизи подложки, в центре неперемешиваемого слоя и на краю неперемешиваемого слоя, близ объемной фазы. На рис.1 представлены результаты численного решения системы уравнений (1a - 4a) и численного интегрирования (6), который представляет кинетику заполнения адсорбционных центров на ДНК дуплексе.

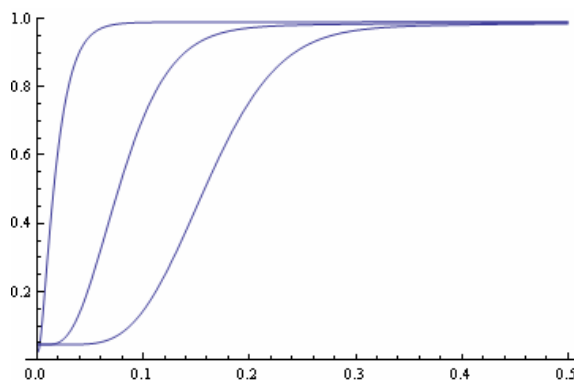


Рис. 1. Влияние неперемешиваемого слоя на кинетику адсорбции лигандов на ДНК. По оси X безразмерное время T , по оси Y степень заполнения ДНК θ . На всех кривых $\alpha = 10$, $\beta = 1$, $\beta_1 = 0.1$. Толщина адсорбционного слоя $\xi_2 - \xi_1 = 0.01$, его местонахождение в области 0.01–0.02 (левая кривая), в области 0.51–0.52 (средняя кривая) и в области 0.91–0.92 (правая кривая).

Как видно из рис. 1, диффузия лиганда в пограничном слое может сильно влиять на кинетку адсорбции. В зависимости от местонахождения адсорбционного слоя вид кривой изменяется - от быстрого заполнения (левая кривая на рис.) к кривой с сильной задержкой заполнения на малых временных отрезках.

ЛИТЕРАТУРА

1. Arakelyan V.B., Elizbaryan M.A., Asatryan D.G. International Conference DAAD Alumni Seminar «Biotechnology and Health -3», Yerevan, Armenia, p.10-13, 2009.
2. Drummond T.G., Hill M.G., Barton J. Nat. biotechnology, 21, 10, p.1192-1199, 2003.
3. Palecek E., Fojta M., Jelen F. Bioelectrochemistry, 56, p.85-90, 2002.
4. Wang J. Anal.Chem.Acta, 469, p.63-71, 2002.

Поступила 24.09.2009.