

СОЗДАНИЕ НАНОБИОСЕНСОРА НА БАЗЕ ЛИПИДНОЙ БИОМЕМБРАНЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ЕЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ С БЕЛКОМ ЦИТОХРОМОМ b_5

А.Н. Аблеев¹

И.Д. Шумов¹

В.В. Шумянцева¹

В.С. Зиборов²

В.Ю. Татур³

А.А. Лукьяница⁴

А.А. Аносов⁵

А.И. Арчаков¹

Ю.Д. Иванов¹

ableev@mail.ru

shum230988@yandex.ru

viktoria.shumyantseva

@ibmc.msk.ru

ziborov.vs@yandex.ru

v_tatur@mail.ru

andrei_luk@mail.ru

anosov_a_a@staff.sechenov.ru

alexander.archakov

@ibmc.msk.ru

yurii.ivanov.nata@gmail.com

¹ ИБМХ, Москва, Российская Федерация

² ОИВТ РАН, Москва, Российская Федерация

³ ФПТН, Москва, Российская Федерация

⁴ МГУ, Москва, Российская Федерация

⁵ ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация

Аннотация

Разработана экспериментальная установка биосенсора с чувствительным элементом на базе биомембраны из фосфолипида 1,2-дифитаноил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина для изучения ее взаимодействия с мембранным белком — цитохромом b_5 . Проведены исследования электрофизических характеристик биомембраны. Созданная установка позволяет регистрировать взаимодействие биомембраны (представляющей собой фосфолипидный бислой, сформированный в биосенсоре) с мембранным белком посредством измерения электрической проводимости биомембраны. Электрическую проводимость мембраны определяли при наличии белка и его отсутствии. Экспериментально продемонстрировано, что такой биосенсор позволяет определять взаимодействие цитохрома b_5 с фосфолипидной мембраной в реальном времени. С использованием

Ключевые слова

Биосенсор, липидные мембраны, цитохром b_5 , электропроводность, фосфолипиды

установки определено, что полноразмерный белок цитохром b_5 ($d-b_5$), содержащий в структуре гидрофобный домен, существенно влияет на проводимость мембраны, приводя к возникновению каналов проводимости. В случае отсутствия у цитохрома b_5 мембранного фрагмента ($t-b_5$) взаимодействие белка с липидным слоем практически не наблюдалось. Полученные результаты можно использовать при создании биосенсоров на базе липидных слоев для моделирования взаимодействия белков с липидными мембранами в организме человека

Поступила 14.05.2025

Принята 08.10.2025

© Автор(ы), 2026

*Работа выполнена при поддержке Минобрнауки России
(соглашение № 075-15-2024-643)*

Введение. В последнее время актуальной задачей является создание электрохимических биосенсоров для изучения взаимодействия липидных структур с белками. Это связано с тем, что такие биосенсоры позволяют напрямую исследовать взаимодействие липидных бислоев с мембранными белками, моделируя процессы, которые происходят в живых клетках.

В живых организмах клеточная мембрана отделяет внутреннюю среду клетки от внеклеточной среды, обеспечивая контроль транспорта различных соединений в клетку [1] и сообщение клетки с окружающей средой [2]. Мембрана служит барьером, препятствующим прониканию нежелательных веществ в клетку. Клеточные мембраны представляют собой сложные структуры, содержащие липиды и белки [3]. Различные мембраны включают в себя белки и липиды разных типов [1] и характеризуются разным соотношением белок/липид [3]. Эти факты объясняют различие функций мембран [4]. Кроме того, взаимодействие клеточной мембраны с белками имеет решающее значение при изучении развития патологий у человека, например, болезни Альцгеймера [5]. Поэтому исследование взаимодействий белок–липид является одной из ключевых задач современной биомедицины.

Для изучения взаимодействия белков с биомембранами последние часто моделируют с использованием искусственных липидных бислоевых мембран [6, 7]. С химической точки зрения большинство мембранообразующих липидов относятся к фосфолипидам [3]. Соответственно, тщательное изучение взаимодействий фосфолипидных мембран с белками обеспечивает понимание процессов в клеточных структурах организма [3].

Включение белков в искусственные фосфолипидные мембраны изучается различными методами, которые основаны на флуоресцентной спектроскопии [8], двумерной инфракрасной корреляционной спектро-

скопии [9], рамановской спектроскопии [10] и т. д. В исследованиях взаимодействия белок–липидная мембрана используется оптическая улавливающая конфокальная рамановская микроскопия [11]. Электрические и электрохимические методы также применяются для исследования взаимодействий белок–липидная мембрана [1]. В связи с этим подчеркнута важность подходов с использованием одной молекулы для исследования белков и ферментов [12]. Такие подходы позволяют преодолеть ограничения, связанные с усреднением измеряемых параметров по большому молекулярному ансамблю [12]. При исследовании отдельных молекул белков и ферментов применяется метод атомно-силовой микроскопии (АСМ) [13]. Однако для исследования белков с липидными бислойнными мембранами использование АСМ требует подготовки поддерживаемых фосфолипидных бислоев (ПФЛБ) [14, 15]. При рассмотрении ПФЛБ кроме взаимодействий белок–липид задействованы взаимодействия исследуемых липидов и белков с поверхностью подложки для АСМ. Таким образом, в случае ПФЛБ условия измерения далеки от нативных: взаимодействия липид–субстрат и белок–субстрат могут исказить истинную картину липид-белкового взаимодействия. Эту трудность можно преодолеть электрическими методами на основе пор, которые не требуют приготовления ПФЛБ и, следовательно, позволяют изучать белок-липидные взаимодействия в условиях, близких к нативным. Электрические методы на основе пор дают возможность различать отдельные события взаимодействия белка с мембраной [16], что представляет собой многообещающий подход к исследованию отдельных молекул.

В организмах млекопитающих цитохром b_5 относится к микросомальным ферментным белкам. У человека цитохром b_5 регулирует активность ряда цитохромов P450, участвуя в цитохром P450-опосредованном метаболизме различных ксенобиотиков, к которым относится большинство лекарственных препаратов [17]. Цитохром b_5 также действует как окислительно-восстановительный партнер цитохрома P450 2B4 [18]. Кроме того, цитохром b_5 участвует в синтезе андрогенов [19], а именно регулирует активность цитохрома P450c17, который рассматривается как целевой фермент при лечении рака простаты [19]. Полноразмерный фермент (называемый формой d - b_5) состоит из двух доменов: 1) каталитически активного полярного домена; 2) гидрофобного неполярного. Последний используется для встраивания в мембрану [10, 20]. Каталитически активный полярный домен может быть выделен протеолитическим перевариванием микросомальных мембран и упоминается как трипсин-солубилизированный

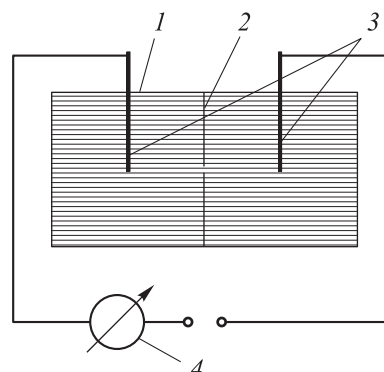
цитохром b_5 ($t-b_5$). Для микросомального $d-b_5$ печени молекулярная масса мономера составляет 16 кДа, для агрегата $d-b_5$ — ~ 100 кДа, для его формы $t-b_5$ — ~ 11 кДа [10].

Взаимодействие цитохрома P450 и его партнеров, включая цитохром b_5 , с фосфолипидной мембраной рассмотрено в [21, 22]. Организация этой ферментной системы очень сложна. Поэтому механизм взаимодействия системы цитохрома P450 с фосфолипидными мембранами до сих пор остается недостаточно изученным и для его понимания требуются дальнейшие исследования.

В настоящей работе предложен биосенсор на базе липидного бислоя. С его использованием проведены измерения проводимости этого бислоя с целью изучить взаимодействие цитохрома b_5 с фосфолипидной мембраной из 1,2-дифитаноил-*sn*-глицеро-3-фосфохолина (ДФФХ) и влияние гидрофобного неполярного домена фермента на это взаимодействие. Разработанный биосенсор включает в себя жидкостную ячейку, разделенную на две камеры перегородкой с отверстием, в котором формировали липидный бислой. Экспериментально выполнена проверка электропроводности липидной бислойной мембраны. Изготовленная таким образом кювета характеризуется отсутствием проводимости через липидную биомембрану, в то время как полноразмерный $d-b_5$, добавленный в одну из камер, может взаимодействовать с мембраной из ДФФХ, что регистрируется по увеличению ее проводимости. Напротив, $t-b_5$ не привел к какому-либо изменению проводимости мембраны. Полученные данные важны для моделирования взаимодействия мембранных белков с фосфолипидными мембранами. Результаты могут быть использованы в дальнейших исследованиях, направленных на понимание механизма взаимодействия ферментов, относящихся к системе цитохрома P450, с клеточными мембранами.

Материалы и методы решения задач, принятые допущения. Для исследования взаимодействия фосфолипидного слоя на базе мембраны из ДФФХ с цитохромом b_5 создана экспериментальная установка на базе биосенсора, схема которого представлена на рис. 1. Разработанный биосенсор включает в себя измерительную ячейку 1 с перегородкой 2, измерительные Ag/AgCl-электроды 3, подключенные к усилителю 4 (VA-10X, NPI Electronics GmbH, Германия). Оцифровку токового сигнала с частотой 1 кГц проводили с помощью 16-битного аналого-цифрового преобразователя *L-Card* (L-Card, Российская Федерация). Время интегрирования 20 мс.

Рис. 1. Схема биосенсора на базе бислойной липидной биомембраны



Препарат полноразмерного мембранного белка цитохрома *d-b₅* приготовлен согласно [23]. Удельное содержание цитохрома *d-b₅* в препарате составило 48...52 нмоль/мг белка и имело $A_{276}/A_{413} = 0,6$. Очищенные триптические фрагменты цитохрома *b₅* (форма *t-b₅*) получены из микросом печени кролика после их обработки трипсином по методике из [24]. Концентрации *d-b₅* определяли по методике из [25].

Для формирования плоского липидного бислоя использован фосфолипид ДФФХ (Avanti Polar Lipids, США). Липидная бислойная мембрана формировалась при температуре 21 °С. Мембранообразующий раствор содержал 25 мг/мл ДФФХ в декане (чистота 99,999 %, «Реахим», Российская Федерация). Бислой ДФФХ, сформированный в отверстии перегородки между двумя камерами измерительной ячейки, обладает высокими электрическим сопротивлением и стабильностью. Значение электрического тока через ионный канал обычно находится в диапазоне нескольких пА [26, 27]. Мембранная система на основе ДФФХ, полученная в экспериментах, имела низкую проницаемость для воды и ионов [28].

Эксперимент с биосенсором с фосфолипидной мембраной для исследования ее взаимодействия с ферментом проведен следующим образом. В отверстии перегородки, разделяющей измерительную ячейку на две камеры, формировали липидную бислойную мембрану. В течение первых 15 минут проводили контрольные измерения (холостые опыты в отсутствие исследуемого фермента) при напряжении – 25, – 50, 25 и 50 мВ. Далее одну из камер заполняли 2,5 мл раствора фермента в 2 мМ фосфатно-солевом буферном растворе (ФСБД, в модификации Дульбекко, рН = 7,4), который дополнительно содержал 0,1 М KCl (далее рабочий буфер). Для того чтобы избежать перепада гидростатического давления и разрушения мембраны, вторую камеру измерительной ячейки заполняли равным объемом чистого рабочего буфера без фермента. Измерения заключались в регистрации флуктуаций электрического тока через мембрану при постоянно приложенном к ней напряжении. Эти флуктуации объяснялись изменениями проводимости мембраны.

Результаты. Схема измерительной ячейки биосенсора на базе липидной бислойной биомембраны показана на рис. 2.

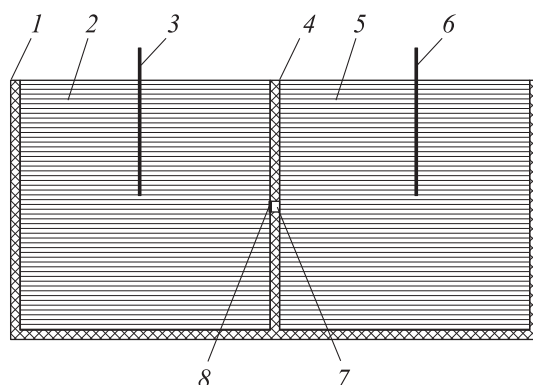


Рис. 2. Схема измерительной ячейки биосенсора на базе липидной бислойной биомембраны

Измерительная ячейка 1 из политетрафторэтилена разделена на камеру 2 с раствором белка и камеру 5 с чистым буферным раствором перегородкой 4 толщиной 1 мм с круглым отверстием 7. Площадь отверстия $0,5 \text{ мм}^2$. Липидную бислойную биомембрану 8 на этом отверстии формировали при температуре 21°C . Процесс формирования биомембраны контролировали с помощью измерительных электродов 3, 6.

Созданный биосенсор, включающий в себя измерительную ячейку с фосфолипидной бислойной биомембраной, использован для экспериментов по исследованию этого бислоя и его взаимодействия с молекулами белка цитохрома b_5 .

Типичные вольт-амперные характеристики (ВАХ) фосфолипидных мембран из ДФФХ приведены на рис. 3. В холостых опытах с мембраной из ДФФХ при отсутствии исследуемого фермента электрический ток через ионный канал в мембране находится в диапазоне нескольких пА. Вольт-амперные характеристики мембраны из ДФФХ в холостом опыте без фермента (см. рис. 3, штрихпунктирная линия) практически симметричны. На основании полученной ВАХ проводимость мембраны составила $7 \pm 2 \text{ пСм}$ без фермента.

Далее выполнены эксперименты по измерению ВАХ в присутствии в одной из камер измерительной ячейки цитохрома b_5 . Вольт-амперная характеристика, измеренная после добавления цитохрома b_5 в камеру при очень низкой концентрации 10^{-9} М , практически неотличима от полученной без фермента (данные не показаны). Добавление цитохрома b_5 до кон-

центрации 10^{-7} М привело к значительному увеличению наклона ВАХ и соответствующей проводимости мембраны до 50 ± 5 пСм (см. рис. 3, сплошная линия). Типичная временная зависимость тока, регистрируемого при подаче на камеру с раствором фермента напряжений ± 25 и ± 50 мВ при низкой (10^{-8} М) и высокой (10^{-7} М) концентрациях полного фермента цитохрома b_5 ($d-b_5$), приведена на рис. 4. На вставке показан увеличенный фрагмент временной зависимости тока, зарегистрированной при напряжении -50 мВ, приложенном к камере с раствором фермента.

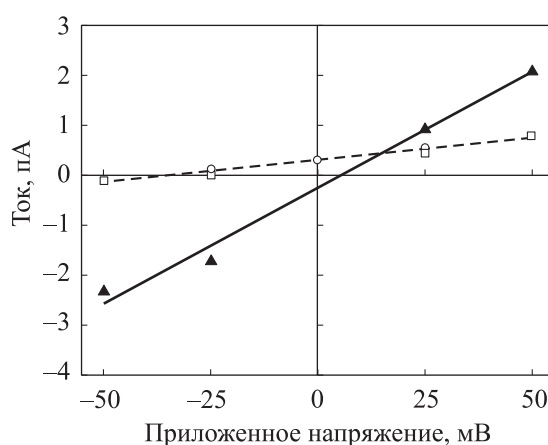


Рис. 3. Типичные ВАХ фосфолипидных мембран из ДФФХ, полученные в холостых опытах с мембраной в отсутствие цитохрома b_5 (°, штрихпунктирная линия) и в экспериментах при низкой (10^{-8} М, □ и штрихпунктирная линия) и высокой (10^{-7} М, ▲, сплошная линия) концентрациях цитохрома b_5 в одной из камер (условия эксперимента: 2 мМ ФСБД, 0,1 М КСl (рН = 7,4), температура 25 °С)

Зависимость, представленная на рис. 4, свидетельствует об отсутствии изменения проводимости мембраны при концентрации $d-b_5$ 10^{-8} М и приложенных напряжениях. При этом амплитуда колебаний тока была низкой и составляла 0,02...0,04 пА.

Увеличение концентрации фермента до 10^{-7} М привело к значительному возрастанию проводимости мембраны, а амплитуда колебаний тока увеличилась до 2 пА (см. рис. 4). На вставке рис. 4 можно увидеть спонтанные дискретные изменения тока, соответствующие изменениям проводимости мембраны до 20 пСм. Кроме того, при изменении полярности напряжения, приложенного к камере с раствором фермента, на противоположную (50 мВ) наблюдались значительные (~ 2 пА) колебания тока.

При более низком напряжении той же полярности (25 мВ) амплитуда колебаний тока составляла примерно 0,8 пА. После изменения полярности приложенного напряжения (– 25 мВ) наблюдалось увеличение проводимости мембраны, сопровождавшееся повышением (до 4 пА) амплитуды колебаний тока. Повторное изменение полярности приложенного напряжения на противоположную (25 и 50 мВ) приводило к колебаниям тока (от 0,2 до 1 пА). Таким образом, при повышенной (10^{-7} М) концентрации $d-b_5$ параллельно с ростом проводимости мембраны наблюдалось увеличение стандартного отклонения флуктуаций тока.

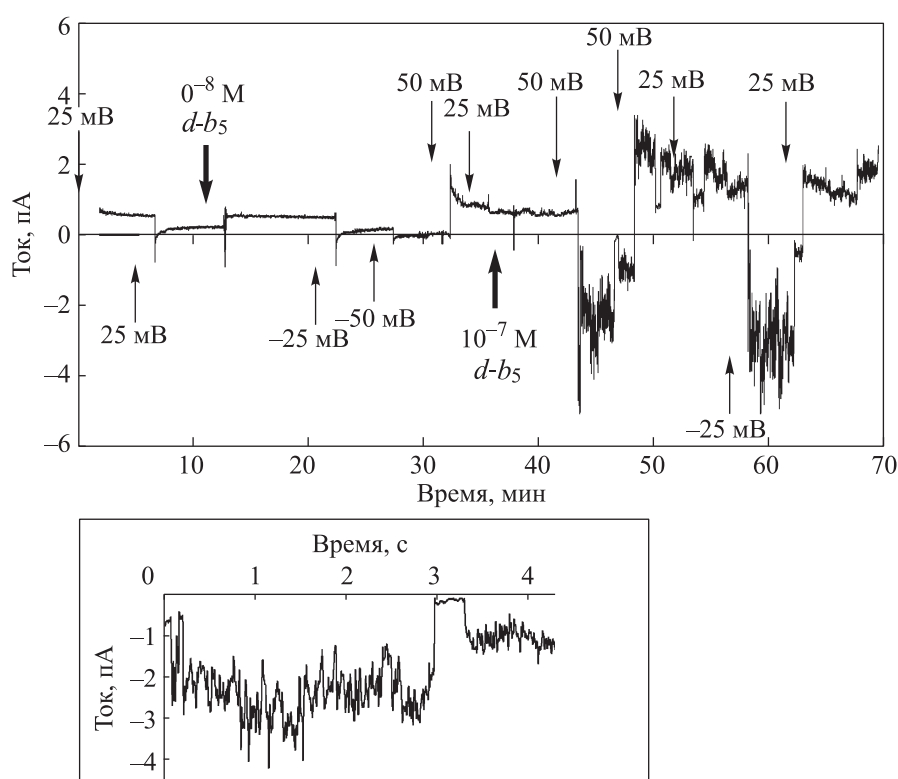


Рис. 4. Типичная временная зависимость тока, зарегистрированного при подаче напряжений на камеру с раствором полноразмерного фермента цитохрома b_5 ($d-b_5$):

→ — изменение приложенного напряжения, ➡ — добавление фермента в камеру (условия эксперимента: 2 мМ ФСБД, 0,1 М КСl (рН = 7,4), температура 25 °С)

Зависимость стандартного отклонения флуктуаций тока от его значения при различных концентрациях $d-b_5$ приведена на рис. 5. Данные свидетельствуют о том, что в холостых опытах, проведенных без добавления

фермента, стандартное отклонение флуктуаций тока было небольшим и составляло менее 0,1 пА. Это отклонение аналогично отклонению при низкой концентрации $d-b_5$ (10^{-9} М). При более высоких значениях концентрации фермента (10^{-7} М) стандартное отклонение флуктуаций тока увеличивалось, достигая 0,5...0,7 пА. Следует отметить, что при повышении концентрации фермента зависимость стандартного отклонения флуктуаций тока, показанная на рис. 5, возрастала быстрее, чем линейная функция.

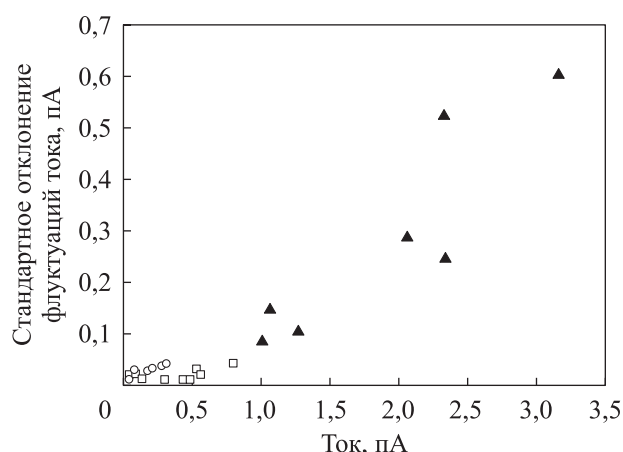


Рис. 5. Зависимость стандартного отклонения флуктуаций тока от его значения при концентрации $d-b_5$ 0 (холостой опыт, о), 10^{-8} (низкая концентрация фермента, □) и 10^{-7} М (высокая концентрация фермента, ▲) (условия эксперимента: 2 мМ ФСБД, 0,1 М KCl (pH = 7,4), температура 25 °С)

Типичная временная зависимость тока, зарегистрированного при добавлении $t-b_5$ до концентрации 10^{-7} М в камере измерительной ячейки, показана на рис. 6. Зависимость указывает на отсутствие изменения проводимости мембраны при напряжении ± 25 мВ, приложенном к камере с раствором очищенных триптических фрагментов фермента цитохрома b_5 ($t-b_5$). Приложение напряжения ± 50 мВ также не привело к изменению проводимости в присутствии $t-b_5$.

Обсуждение полученных результатов. Создан биосенсор с чувствительным элементом на базе фосфолипидной мембраны. Биосенсор использован для исследования взаимодействия мембраны с ферментом цитохромом b_5 . В холостых опытах с мембраной из ДФФХ в отсутствие фермента электрический ток через ионный канал в мембране находится в диапазоне нескольких пА. В холостом опыте ВАХ мембраны из ДФФХ (см. рис. 3)

практически симметрична. Основываясь на полученной ВАХ, расчетная проводимость мембраны составила 7 ± 2 пСм без добавления фермента. Таким образом, биосенсор характеризуется низким (на уровне пА) ионным током через мембрану в отсутствие фермента.

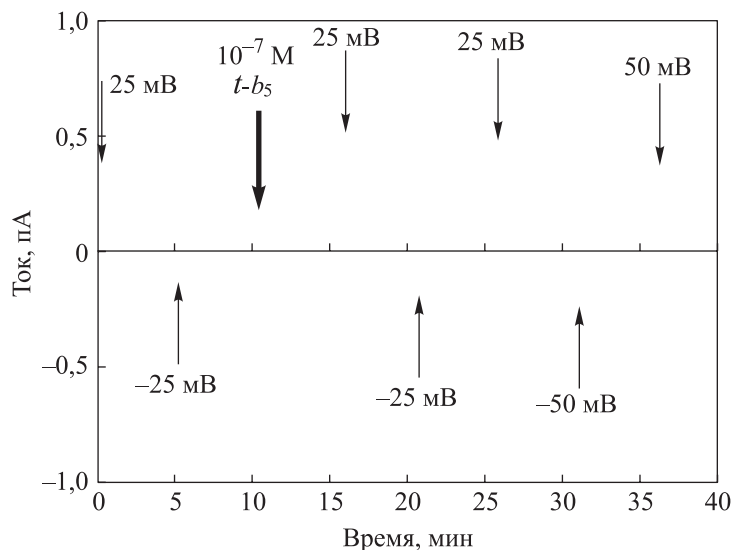


Рис. 6. Типичная временная зависимость тока, зарегистрированного при подаче напряжений на камеру с раствором очищенных триптических фрагментов фермента цитохрома b_5 ($t-b_5$) при низких и высоких концентрациях $t-b_5$:
 → — изменение приложенного напряжения; ➔ — добавление фермента в камеру
 (условия эксперимента: 2 мМ ФСБД, 0,1 М KCl (pH = 7,4), температура 25 °C)

Полученные в экспериментах зависимости с полноразмерным ферментом $d-b_5$ указывают на существенное влияние концентрации фермента на проводимость мембраны. Так, если низкая (10^{-8} М) концентрация $d-b_5$ практически не вызывала изменения проводимости мембраны, то десятикратное (до 10^{-7} М) ее увеличение приводило к появлению электрического тока через мембрану: наблюдалось увеличение стандартного отклонения флуктуаций тока по возрастанию проводимости мембраны после добавления фермента. Это свидетельствует о том, что фермент цитохром b_5 играет важную роль в модуляции проницаемости бислоистой липидной биомембраны для неорганических ионов (в рассматриваемом случае K^+ и Cl^-). В экспериментах наблюдали существенное увеличение проводимости мембраны при концентрации полноразмерного фермента ($d-b_5$) 10^{-7} М в измерительной ячейке. Изменение проводимости мембраны в присутствии полноразмерного фермента (по сравнению с холостыми опытами без добав-

ления фермента) сопровождалось дискретными скачками тока через мембрану от $-3,3$ до $-0,2$ пА (см. рис. 4). Это можно объяснить сложным процессом взаимодействия фермента с фосфолипидной мембраной. Один из возможных путей такого взаимодействия схематически показан на рис. 7.

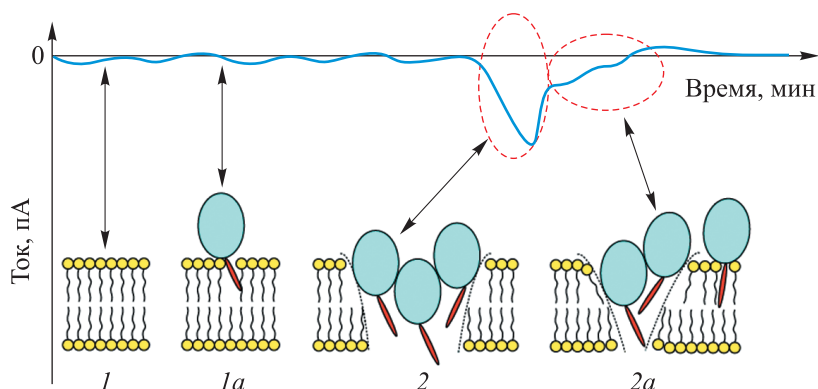


Рис. 7. Схематическое изображение возможного пути взаимодействия полноразмерного фермента цитохрома b_5 ($d-b_5$) с фосфолипидной мембраной: желтым цветом показаны полярные группы фосфолипида, бирюзовым и красным — полярные и гидрофобные домены молекул фермента

Так ионный канал в мембране не образуется, когда фермента в мембране либо нет (случай 1 на рис. 7), либо фермент в мембрану встроен, но погружен в нее неглубоко (случай 1a на рис. 7).

В случае 2 наблюдаемый импульс тока большой, что свидетельствует об образовании ионного канала вследствие встраивания в мембрану агрегата из нескольких молекул фермента. В свою очередь этот канал начинает разрушаться в результате дезагрегации фермента за счет взаимодействия его молекул, составляющих встроенный в мембрану агрегат, с липидным бислоем: случай 2a на рис. 7, когда агрегат разрушается и одна из составлявших его молекул переходит в липидный бислои. Отметим, что взаимодействие агрегата фермента с мембраной приводит к его полной дезагрегации и восстановлению липидного бислоя (целостности мембраны).

Наблюдаемое изменение проводимости мембраны, обусловленное ионной проницаемостью, можно объяснить смещением молекул фермента в мембране. Более глубокое погружение молекулы фермента в мембрану соответствует лучшей ее проницаемости для ионов и, следовательно, большему значению тока вследствие возникновения дефектов в мембране (случай 2 на рис. 7). В этой интерпретации менее глубокое погружение соответствует разрушению агрегата (случай 2a на рис. 7), что приводит к меньшему значению тока. Следует еще раз отметить, что увеличение проводимости

мембраны, вызванное добавлением фермента, сопровождалось возрастанием стандартного отклонения флуктуаций тока (см. рис. 5). Этот факт может указывать на возникновение различных форм взаимодействий мембрана–фермент в процессе погружения (заглубления) молекул фермента в фосфолипидный бислой. Более глубокое либо более поверхностное (менее глубокое) проникание фермента в липидный бислой изменяет форму регистрируемого сигнала (регистрируемый электрический ток, см. рис. 7, случай 2). Такое объяснение не исключает и влияния на этот процесс изменения поверхностного заряда.

Следует отметить, что обсужденные результаты наблюдались только для полноразмерной (d - b_5) формы фермента, содержащей гидрофобный фрагмент, и не наблюдались для его формы t - b_5 , лишенной этого фрагмента. Таким образом, в работе сконструирована экспериментальная установка биосенсора с чувствительным элементом на основе биомембраны из ДФФХ. Эта установка использована для анализа взаимодействия фосфолипидной биомембраны с цитохромом b_5 . Экспериментально продемонстрировано, что гидрофобный фрагмент молекулы фермента цитохрома b_5 играет важную роль в ее взаимодействии с липидной биомембраной и, что немаловажно, в модуляции ее проводимости. Полученные результаты указывают на важную роль гидрофобного фрагмента полноразмерного цитохрома b_5 в модуляции проводимости клеточной мембраны.

Возможный механизм этой модуляции заключается в образовании ионных каналов вследствие возникновения дефектов в липидной мембране при более глубоком погружении молекулы фермента в мембрану. Объяснение проницаемости липидных мембран для ионов, обусловленное дефектами, было дано в [29], где также затронут другой механизм изменения проницаемости липидной мембраны, заключающийся в образовании сквозных пор в мембране. Последнее не имеет места в рассмотренных экспериментах, однако следует иметь в виду оба этих механизма. Значительное влияние неканальной конформации трансмембранного белка на проницаемость полярной молекулы липидной мембраны продемонстрировано в [30].

Здесь на примере цитохрома b_5 отмечено значительное влияние гидрофобных взаимодействий белок–мембрана на проницаемость этой мембраны для неорганических ионов (K^+ и Cl^-), а также учтены гидрофобные взаимодействия белок–мембрана для биомедицины. Так, в [5] подчеркнута важность учета гидрофобных взаимодействий белок–мембрана

в развитии болезни Альцгеймера, которая встречается у пожилых пациентов. Амилоид β представляет собой короткий гидрофобный пептид, олигомеры которого встраиваются в мембрану за счет гидрофобных взаимодействий. Связывание олигомеров амилоида β приводит к образованию каналов в мембране или к ее покрытию амилоидными олигомерами. Оба процесса изменяют проницаемость мембраны для ионов. В проведенных экспериментах продемонстрировано определяющее значение наличия гидрофобного фрагмента в молекуле полноразмерного фермента цитохрома b_5 в его взаимодействии с мембраной. В рассмотренном случае также установлено, что это взаимодействие изменяет проницаемость мембраны для ионов K^+ и Cl^- . Следует отметить, что цитохром b_5 , кроме его жизненно важного участия в детоксикации ксенобиотиков цитохром Р450-содержащих систем у животных и человека [10], известен связью с синтезом андрогенов у человека [19].

Заключение. Создан биосенсор с чувствительным элементом на базе фосфолипидной бислойной биомембраны, состоящий из измерительной ячейки, которая разделена перегородкой с отверстием. В отверстии формировали фосфолипидную биомембрану. Эта перегородка с мембраной разделяла ячейку на две камеры. Биосенсор позволил проанализировать взаимодействие фосфолипидной бислойной биомембраны с цитохромом b_5 . Продemonстрировано, что наличие гидрофобного фрагмента в молекуле полноразмерного фермента ($d-b_5$) играет важную роль в его взаимодействии с биомембраной. Экспериментально показано, что взаимодействие молекул цитохрома b_5 с липидной биомембраной модулирует ее проводимость.

Полученные результаты могут представлять интерес для специалистов, изучающих процессы старения у мужчин. Данные о модуляции липидной проводимости мембран полноразмерным цитохромом b_5 могут быть полезны при моделировании взаимодействия как мембранных, так и цитозольных белков с клеточными мембранами.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Khan M.S., Dosoky N.S., Williams J.D. Engineering lipid bilayer membranes for protein studies. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, vol. 14, iss. 11, pp. 21561–21597.
DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms141121561>
- [2] Robinson M., Filice C.T., McRae D.M., et al. Atomic force microscopy and other scanning probe microscopy methods to study nanoscale domains in model lipid membranes. *Adv. Phys. X*, 2023, vol. 8, iss. 1, art. 2197623.
DOI: <https://doi.org/10.1080/23746149.2023.2197623>

- [3] Singer S.J. Architecture and topography of biologic membranes. *Hosp. Pract.*, 1973, vol. 8, no. 5, pp. 81–90. DOI: <https://doi.org/10.1080/21548331.1973.11707910>
- [4] Carey P.R. Biochemical applications of Raman and Resonance spectroscopies. Academic Press, 1982.
- [5] Viles J.H. Imaging amyloid- β membrane interactions: ion-channel pores and lipid-bilayer permeability in Alzheimer's disease. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2023, vol. 62, no. 25, art. e202215785. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.202215785>
- [6] Rascol E., Devoisselle J.-M., Chopineau J. The relevance of membrane models to understand nanoparticles–cell membrane interactions. *Nanoscale*, 2016, vol. 8, no. 9, pp. 4780–4798. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5NR07954C>
- [7] Broda J., Setzler J., Leifert A., et al. Ligand-lipid and ligand-core affinity control the interaction of gold nanoparticles with artificial lipid bilayers and cell membranes. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2016, vol. 12, no. 5, pp. 1409–1419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.12.384>
- [8] Tuominen E.K.J., Wallace C.J.A., Kinnunen P.K.J. Phospholipid-cytochrome c interaction: evidence for the extended lipid anchorage. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 11, pp. 8822–8826. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M200056200>
- [9] Bernabeu A., Contreras L.M., Villalaín J. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy study of the interaction of oxidized and reduced cytochrome c with phospholipid model membranes. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 2007, vol. 1768, iss. 10, pp. 2409–2420. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.05.002>
- [10] Archakov A.I., Bachmanova G.I. Cytochrome P450 and active oxygen. Taylor & Francis, 1990.
- [11] Belikova N.A., Vladimirov Yu.A., Osipov O.N., et al. Peroxidase activity and structural transitions of cytochrome c bound to cardiolipin-containing membranes. *Biochemistry*, 2006, vol. 45, iss. 15, pp. 4998–5009. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi0525573>
- [12] Cecconi C., Shank E.A., Bustamante C., et al. Direct observation of the three-state folding of a single protein molecule. *Science*, 2005, vol. 309, pp. 2057–2060. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1116702>
- [13] Kuznetsov V.Yu., Ivanov Yu.D., Archakov A.I. Atomic force microscopy revelation of molecular complexes in the multiprotein cytochrome P450 2B4-containing system. *Proteomics*, 2004, vol. 4, iss. 8, pp. 2390–2396. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.200300751>
- [14] Lv Z., Banerjee S., Zagorski K., et al. Supported lipid bilayers for atomic force microscopy studies. In: Lyubchenko Y. (eds). *Nanoscale Imaging. Methods in Molecular Biology*, vol. 1814. New York, NY, Humana Press, 2018, pp. 129–143. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8591-3_8
- [15] Mingot-Leclercq M.P., Deleu M., Brasseur R., et al. Atomic force microscopy of supported lipid bilayers. *Nat. Protoc.*, 2008, vol. 3, pp. 1654–1659. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.149>

- [16] Wu J., Yamashita T., Hamilton A.D., et al. Single-molecule nanopore dielectrophoretic trapping of α -synuclein with lipid membranes. *Cell Rep. Phys. Sci.*, 2023, vol. 4, art. 101243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2022.101243>
- [17] Zhang H., Gao N., Liu T., et al. Effect of cytochrome b_5 content on the activity of polymorphic CYP1A2, 2B6, and 2E1 in human liver microsomes. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0128547. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128547>
- [18] Zhang M., Le Clair S.V., Huang R., et al. Insights into the role of substrates on the interaction between cytochrome b_5 and cytochrome P450 2B4 by NMR. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, art. 8392. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep08392>
- [19] Simonov A.N., Holien J.K., Yeung J.C.I., et al. Mechanistic scrutiny identifies a kinetic role for cytochrome b_5 regulation of human cytochrome P450c17 (CYP17A1, P450 17A1). *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 11, art. e0141252. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141252>
- [20] Kleinfeld A.M., Lukacovic M.F. Energy-transfer study of cytochrome b_5 using the anthroyloxy fatty acid membrane probes. *Biochemistry*, 1985, vol. 24, iss. 8, pp. 1883–1890. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi00329a012>
- [21] Scott E.E., Wolf C.R., Otyepka M., et al. The role of protein-protein and protein-membrane interactions on P450 function. *Drug Metab. Dispos.*, 2016, vol. 44, no. 4, pp. 576–590. DOI: <https://doi.org/10.1124/dmd.115.068569>
- [22] Mustafa G., Nandekar P.P., Bruce N.J., et al. Differing membrane interactions of two highly similar drug-metabolizing cytochrome P450 isoforms: CYP 2C9 and CYP 2C19 *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, iss. 18, art. 4328. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20184328>
- [23] Spatz L., Strittmatter P. A form of cytochrome b_5 that contains an additional hydrophobic sequence of 40 amino acid residues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1971, vol. 68, no. 5, pp. 1042–1046. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.68.5.1042>
- [24] Omura T., Takesue S. A new method for simultaneous purification of cytochrome b_5 and NADH-cytochrome b_5 reductase from rat liver microsomes. *J. Biochem.*, 1970, vol. 67, iss. 2, pp. 249–257. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a129248>
- [25] Bachmanova G.I., Kanaeva I.P., Stepanova N.V., et al. [Role of cytochrome b_5 in microsomal soluble reconstituted monooxygenase system]. *Abstracts of 9th ICCP450*, Zürich, 1995, p. 232.
- [26] Johnson M.E., Simon S., Kauffman J.W., et al. A synthetic lecithin containing branched-chain fatty acids: physical properties and membrane studies. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 1973, vol. 291, iss. 3, pp. 587–591. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(73\)90463-X](https://doi.org/10.1016/0005-2736(73)90463-X)
- [27] Wang S., Larson R.G. Water channel formation and ion transport in linear and branched lipid bilayers. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, vol. 16, no. 16, pp. 7251–7262. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CP55116D>

[28] Tristram-Nagle S., Kim D.J., Akhunzada N., et al. Structure and water permeability of fully hydrated diphytanoylPC. *Chem. Phys. Lipids*, 2010, vol. 163, iss. 6, pp. 630–637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2010.04.011>

[29] Vorobyov I., Olson T.E., Kim J.H., et al. Ion-induced defect permeation of lipid membranes. *Biophys. J.*, 2014, vol. 106, iss. 3, pp. 586–597. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2013.12.027>

[30] Xiang T.X., Anderson B.D. Influence of a transmembrane protein on the permeability of small molecules across lipid membranes. *J. Membrane Biol.*, 2000, vol. 173, iss. 3, pp. 187–201. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002320001019>

Аблеев Александр Нариманович — ведущий инженер лаборатории нанобиотехнологии ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Шумов Иван Дмитриевич — канд. биол. наук, научный сотрудник ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Шумянцева Виктория Васильевна — д-р биол. наук, профессор, заведующая лабораторией биоэлектрохимии ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Зиборов Вадим Серафимович — канд. физ.-мат. наук, старший научный сотрудник лаборатории № 6.2 ударно-волновых воздействий ОИВТ РАН (Российская Федерация, 125412, Москва, Ижорская ул., д. 13, стр. 2); ведущий специалист лаборатории нанобиотехнологии ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Татур Вадим Юрьевич — исполнительный директор ФПТН (Российская Федерация, 125315, Москва, 2-й Амбулаторный пр., д. 8, стр. 1).

Лукьяница Андрей Александрович — д-р техн. наук, ведущий научный сотрудник факультета вычислительной математики и кибернетики МГУ (Российская Федерация, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1).

Аносов Андрей Анатольевич — д-р физ.-мат. наук, профессор, заведующий кафедрой медицинской и биологической физики ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Российская Федерация, 119048, Москва, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2).

Арчаков Александр Иванович — академик РАН, д-р биол. наук, профессор, научный руководитель ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Иванов Юрий Дмитриевич — д-р биол. наук, профессор, заведующий лабораторией нанобиотехнологии ИБМХ (Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская ул., д. 10, стр. 8).

Просьба ссылаться на эту статью следующим образом:

Аблеев А.Н., Шумов И.Д., Шумянцева В.В. и др. Создание нанобиосенсора на базе липидной биомембраны для исследования ее взаимодействия с белком цитохромом *b₅*. Вестник МГТУ им. Н.Э. Баумана. Сер. Естественные науки, 2026, № 1 (124), с. 97–117. EDN: VOTYNO

DEVELOPMENT OF NANOBIOSENSOR BASED ON A LIPID BIOMEMBRANE FOR STUDY OF ITS INTERACTION WITH CYTOCHROME *b₅* PROTEIN

A.N. Ableev¹

I.D. Shumov¹

V.V. Shumyantseva¹

V.S. Ziborov²

V.Yu. Tatur³

A.A. Lukyanitsa⁴

A.A. Anosov⁵

A.I. Archakov¹

Yu.D. Ivanov¹

ableev@mail.ru

shum230988@yandex.ru

viktoriashumyantseva

@ibmc.msk.ru

ziborov.vs@yandex.ru

v_tatur@mail.ru

andrei_luk@mail.ru

anosov_a_a@staff.sechenov.ru

alexander.archakov

@ibmc.msk.ru

yurii.ivanov.nata@gmail.com

¹ IBMC, Moscow, Russian Federation

² JIHT, Moscow, Russian Federation

³ Foundation of Perspective Technologies and Novations,

Moscow, Russian Federation

⁴ MSU, Moscow, Russian Federation

⁵ Sechenov University, Moscow, Russian Federation

Abstract

The article proposes an experimental setup of a biosensor with a sensitive element based on a biomembrane made of the phospholipid 1,2-diphytanoyl-*sn*-glycero-3-phosphocholine (DPhPC) to study its interaction with the membrane protein cytochrome *b₅*. The electrophysical characteristics of the biomembrane are being investigated. The created setup makes it possible to register the interaction of a biomembrane (which is a phospholipid bilayer formed in a biosensor) with a membrane protein by measuring the electrical conductivity of the biomembrane. The electrical conductivity of the membrane is determined by the presence of protein and its absence. It is experimentally demonstrated that

Keywords

*Biosensor, lipid membranes, cytochrome *b₅*, electrical conductivity, phospholipids*

such a biosensor makes it possible to determine the interaction of cytochrome b_5 with the phospholipid membrane in real time. Using the installation, it is determined that the full-size cytochrome b_5 ($d-b_5$) protein, containing a hydrophobic domain in the structure, significantly affects the membrane conductivity, leading to the appearance of conduction channels. In the absence of cytochrome b_5 membrane fragment ($t-b_5$), protein interaction with the lipid layer is practically not observed. The results can be used to create biosensors based on lipid layers to simulate the interaction of proteins with lipid membranes in the human body

Received 14.05.2025

Accepted 08.10.2025

© Author(s), 2026

The work was carried out with the support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (agreement no. 075-15-2024-643)

REFERENCES

- [1] Khan M.S., Dosoky N.S., Williams J.D. Engineering lipid bilayer membranes for protein studies. *Int. J. Mol. Sci.*, 2013, vol. 14, iss. 11, pp. 21561–21597. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms141121561>
- [2] Robinson M., Filice C.T., McRae D.M., et al. Atomic force microscopy and other scanning probe microscopy methods to study nanoscale domains in model lipid membranes. *Adv. Phys. X*, 2023, vol. 8, iss. 1, art. 2197623. DOI: <https://doi.org/10.1080/23746149.2023.2197623>
- [3] Singer S.J. Architecture and topography of biologic membranes. *Hosp. Pract.*, 1973, vol. 8, no. 5, pp. 81–90. DOI: <https://doi.org/10.1080/21548331.1973.11707910>
- [4] Carey P.R. Biochemical applications of Raman and Resonance spectroscopies. Academic Press, 1982.
- [5] Viles J.H. Imaging amyloid- β membrane interactions: ion-channel pores and lipid-bilayer permeability in Alzheimer's disease. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2023, vol. 62, no. 25, art. e202215785. DOI: <https://doi.org/10.1002/anie.202215785>
- [6] Rascol E., Devoisselle J.-M., Chopineau J. The relevance of membrane models to understand nanoparticles–cell membrane interactions. *Nanoscale*, 2016, vol. 8, no. 9, pp. 4780–4798. DOI: <https://doi.org/10.1039/C5NR07954C>
- [7] Broda J., Setzler J., Leifert A., et al. Ligand-lipid and ligand-core affinity control the interaction of gold nanoparticles with artificial lipid bilayers and cell membranes. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.* 2016, vol. 12, no. 5, pp. 1409–1419. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.12.384>
- [8] Tuominen E.K.J., Wallace C.J.A., Kinnunen P.K.J. Phospholipid-cytochrome c interaction: evidence for the extended lipid anchorage. *J. Biol. Chem.*, 2002, vol. 277, no. 11, pp. 8822–8826. DOI: <https://doi.org/10.1074/jbc.M200056200>

- [9] Bernabeu A., Contreras L.M., Villalaín J. Two-dimensional infrared correlation spectroscopy study of the interaction of oxidized and reduced cytochrome *c* with phospholipid model membranes. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 2007, vol. 1768, iss. 10, pp. 2409–2420. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2007.05.002>
- [10] Archakov A.I., Bachmanova G.I. Cytochrome P450 and active oxygen. Taylor & Francis, 1990.
- [11] Belikova N.A., Vladimirov Yu.A., Osipov O.N., et al. Peroxidase activity and structural transitions of cytochrome *c* bound to cardiolipin-containing membranes. *Biochemistry*, 2006, vol. 45, iss. 15, pp. 4998–5009. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi0525573>
- [12] Cecconi C., Shank E.A., Bustamante C., et al. Direct observation of the three-state folding of a single protein molecule. *Science*, 2005, vol. 309, pp. 2057–2060. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1116702>
- [13] Kuznetsov V.Yu., Ivanov Yu.D., Archakov A.I. Atomic force microscopy revelation of molecular complexes in the multiprotein cytochrome P450 2B4-containing system. *Proteomics*, 2004, vol. 4, iss. 8, pp. 2390–2396. DOI: <https://doi.org/10.1002/pmic.200300751>
- [14] Lv Z., Banerjee S., Zagorski K., et al. Supported lipid bilayers for atomic force microscopy studies. In: Lyubchenko Y. (eds). *Nanoscale Imaging. Methods in Molecular Biology*, vol. 1814. New York, NY, Humana Press, 2018, pp. 129–143. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8591-3_8
- [15] Mingeot-Leclercq M.P., Deleu M., Brasseur R., et al. Atomic force microscopy of supported lipid bilayers. *Nat. Protoc.*, 2008, vol. 3, pp. 1654–1659. DOI: <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.149>
- [16] Wu J., Yamashita T., Hamilton A.D., et al. Single-molecule nanopore dielectrophoretic trapping of *a*-synuclein with lipid membranes. *Cell Rep. Phys. Sci.*, 2023, vol. 4, art. 101243. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.xcrp.2022.101243>
- [17] Zhang H., Gao N., Liu T., et al. Effect of cytochrome *b*₅ content on the activity of polymorphic CYP1A2, 2B6, and 2E1 in human liver microsomes. *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 6, art. e0128547. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128547>
- [18] Zhang M., Le Clair S.V., Huang R., et al. Insights into the role of substrates on the interaction between cytochrome *b*₅ and cytochrome P450 2B4 by NMR. *Sci. Rep.*, 2015, vol. 5, art. 8392. DOI: <https://doi.org/10.1038/srep08392>
- [19] Simonov A.N., Holien J.K., Yeung J.C.I., et al. Mechanistic scrutiny identifies a kinetic role for cytochrome *b*₅ regulation of human cytochrome P450c17 (CYP17A1, P450 17A1). *PLoS ONE*, 2015, vol. 10, no. 11, art. e0141252. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141252>
- [20] Kleinfeld A.M., Lukacovic M.F. Energy-transfer study of cytochrome *b*₅ using the anthroyloxy fatty acid membrane probes. *Biochemistry*, 1985, vol. 24, iss. 8, pp. 1883–1890. DOI: <https://doi.org/10.1021/bi00329a012>

- [21] Scott E.E., Wolf C.R., Otyepka M., et al. The role of protein-protein and protein-membrane interactions on P450 function. *Drug Metab. Dispos.*, 2016, vol. 44, no. 4, pp. 576–590. DOI: <https://doi.org/10.1124/dmd.115.068569>
- [22] Mustafa G., Nandekar P.P., Bruce N.J., et al. Differing membrane interactions of two highly similar drug-metabolizing cytochrome P450 isoforms: CYP 2C9 and CYP 2C19 *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, vol. 20, iss. 18, art. 4328. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms20184328>
- [23] Spatz L., Strittmatter P. A form of cytochrome b_5 that contains an additional hydrophobic sequence of 40 amino acid residues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1971, vol. 68, no. 5, pp. 1042–1046. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.68.5.1042>
- [24] Omura T., Takesue S. A new method for simultaneous purification of cytochrome b_5 and NADH-cytochrome b_5 reductase from rat liver microsomes. *J. Biochem.*, 1970, vol. 67, iss. 2, pp. 249–257. DOI: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jbchem.a129248>
- [25] Bachmanova G.I., Kanaeva I.P., Stepanova N.V., et al. [Role of cytochrome b_5 in microsomal soluble reconstituted monooxygenase system]. *Abstracts of 9th ICCP450*, Zürich, 1995, p. 232.
- [26] Johnson M.E., Simon S., Kauffman J.W., et al. A synthetic lecithin containing branched-chain fatty acids: physical properties and membrane studies. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.*, 1973, vol. 291, iss. 3, pp. 587–591. DOI: [https://doi.org/10.1016/0005-2736\(73\)90463-X](https://doi.org/10.1016/0005-2736(73)90463-X)
- [27] Wang S., Larson R.G. Water channel formation and ion transport in linear and branched lipid bilayers. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 2014, vol. 16, no. 16, pp. 7251–7262. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3CP55116D>
- [28] Tristram-Nagle S., Kim D.J., Akhunzada N., et al. Structure and water permeability of fully hydrated diphytanoylPC. *Chem. Phys. Lipids*, 2010, vol. 163, iss. 6, pp. 630–637. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chemphyslip.2010.04.011>
- [29] Vorobyov I., Olson T.E., Kim J.H., et al. Ion-induced defect permeation of lipid membranes. *Biophys. J.*, 2014, vol. 106, iss. 3, pp. 586–597. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bpj.2013.12.027>
- [30] Xiang T.X., Anderson B.D. Influence of a transmembrane protein on the permeability of small molecules across lipid membranes. *J. Membrane Biol.*, 2000, vol. 173, iss. 3, pp. 187–201. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002320001019>

Ableev A.N. — Leading Engineer, IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Shumov I.D. — Cand. Sc. (Biol.), Scientist, IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Shumyantseva V.V. — Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of Laboratory of Bioelectrochemistry, IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Ziborov V.S. — Cand. Sc. (Phys.-Math.), Senior Scientist, Laboratory No. 6.2 Shock Wave Impacts, IIHT (Izhorskaya ul. 13, str. 2, Moscow, 125412 Russian Federation); Leading Specialist, Laboratory of Nanobiotechnology, IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Tatur V.Yu. — Executive Director of Foundation of Perspective Technologies and Novations (2-y Ambulatorniy pr. 8, str. 1, Moscow, 125315 Russian Federation).

Lukyanitsa A.A. — Dr. Sc. (Eng.), Leading Researcher, Faculty of Computational Mathematics and Cybernetics, MSU (Leninskie Gory 1, Moscow, 119991 Russian Federation).

Anosov A.A. — Dr. Sc. (Phys.-Math.), Professor, Head of Department of Medical and Biological Physics, Sechenov University (Trubetskaya ul. 8, str. 2, Moscow, 119048 Russian Federation).

Archakov A.I. — Academician of RAS, Dr. Sc. (Biol.), Professor, Scientific Leader of IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Ivanov Yu.D. — Dr. Sc. (Biol.), Professor, Head of Laboratory of Nanobiotechnology, IBMC (Pogodinskaya ul. 10, str. 1, Moscow, 119121 Russian Federation).

Please cite this article in English as:

Ableev A.N., Shumov I.D., Shumyantseva V.V., et al. Development of nanobiosensor based on a lipid biomembrane for study of its interaction with cytochrome b_5 protein. *Herald of the Bauman Moscow State Technical University, Series Natural Sciences*, 2026, no. 1 (124), pp. 97–117 (in Russ.). EDN: VOTYNO